



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA
Departamento de Medicina

***“NUTRIGENÉTICA DE LA RESPUESTA LIPÍDICA,
INFLAMATORIA Y DEL METABOLISMO DE LA
GLUCOSA EN PACIENTES CON SÍNDROME
METABÓLICO”***

Trabajo presentado por Francisco Gómez Delgado, licenciado en Medicina,
para optar al grado de Doctor.

Fdo.: Francisco Gómez Delgado
Córdoba, 5 de Septiembre de 2014

TITULO: *Nutrigenética de la respuesta lipídica, inflamatoria y del metabolismo de la glucosa en pacientes con síndrome metabólico*

AUTOR: *Francisco Gómez Delgado*

© Edita: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba. 2014
Campus de Rabanales
Ctra. Nacional IV, Km. 396 A
14071 Córdoba

www.uco.es/publicaciones
publicaciones@uco.es



TÍTULO DE LA TESIS: NUTRIGENÉTICA DE LA RESPUESTA LIPÍDICA, INFLAMATORIA Y DEL METABOLISMO DE LA GLUCOSA EN PACIENTES CON SÍNDROME METABÓLICO.

DOCTORANDO: FRANCISCO GÓMEZ DELGADO.

INFORME RAZONADO DE LOS DIRECTORES DE LA TESIS:

D.PABLO PÉREZ MARTÍNEZ, PROFESOR TITULAR DEL DEPARTAMENTO DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA Y D. JOSÉ LÓPEZ MIRANDA, CATEDRÁTICO DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA,

HACEN CONSTAR:

Que el trabajo titulado “NUTRIGENÉTICA DE LA RESPUESTA LIPÍDICA, INFLAMATORIA Y DEL METABOLISMO DE LA GLUCOSA EN PACIENTES CON SÍNDROME METABÓLICO” ha sido realizado por D. Francisco Gómez Delgado, bajo nuestra dirección, en la Unidad de Lípidos y Arteriosclerosis del Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba. Este trabajo ha conseguido un nivel científico de suficiente relevancia como para derivar en la publicación de dos artículos en revistas internacionales, una de ellas en D1 de su categoría (*Molecular Nutrition and Food Research. 2014, Jul;58(7):1519-27*) y otra incluida dentro de Q1 de su categoría (*Chronobiology International. 2014, 31(3):401-8*), con unos índices de impacto de 4,310 y 4,350 respectivamente en el momento de la publicación.

A nuestro juicio reúne los méritos suficientes para ser defendido ante el tribunal correspondiente y poder optar al grado de Doctor.

Por todo ello, se autoriza la presentación de la tesis doctoral.

Córdoba, a 5 de Septiembre de 2014

Firma de los directores

Fdo.: Dr. Pablo Pérez Martínez

Fdo.: Dr. Prof. José López Miranda

*"La ignorancia genera confianza más frecuentemente que el conocimiento.
Son aquellos que saben poco, y no esos que saben más,
quienes tan positivamente afirman que este o aquel problema
nunca será resuelto por la ciencia"*

Charles Darwin

"Dime y lo olvido, enséñame y lo recuerdo, involúcrame y lo aprendo"

Benjamin Franklin

*A ISABEL, por que solo ella sabe el trabajo que ha costado llegar hasta aquí,
por ser el motor de mi vida y la que me guía cada día por el camino de la felicidad.*

AGRADECIMIENTOS:

Cuando comencé a escribir esta tesis nunca pensé que las líneas que escribo ahora serían las más difíciles de escribir por los sentimientos que evocan en mí y por la gran cantidad de gente que de una u otra manera ha contribuido a este trabajo.

En primer lugar agradecer a mis directores de tesis el **Dr. López Miranda** y el **Dr. Pérez Martínez** el apoyo y cercanía en la elaboración de este trabajo. Al Dr. López Miranda por darme la oportunidad de formar parte de este grupo y por enseñarme un solo camino...“*hacerlo bien*”. A Pablo, por su amistad, su inagotable ayuda y sacrificio en dar forma a esta tesis y por iniciarme en el mundo de la investigación, no importa cuando sea el momento y el lugar, siempre está ahí.

Al **Dr. Pérez Jiménez**, un referente para mí, capaz de transmitir su interés por la ciencia con “*infinita pasión*” y por su valor humano. Necesitaríamos 7 vidas para poder parecernos a él y aún así, no lo conseguiríamos.

A **Javier Delgado Lista, Antonio García Ríos y Juan Francisco Alcalá Díaz** por encarnar a la perfección como debe ser un médico en el futuro, por su trabajo incansable, su cariño y por hacer posible lo imposible día tras día. Son un ejemplo para mí, y sobre todo mis amigos, por eso elegí nuestro despacho para redactar estas líneas y por que espero y deseo trabajar con ellos muchos años.

A los **Dres. Francisco Fuentes Jiménez, Rafael Angel Fernández de la Puebla, Jose Luis Ogea** y a la **Dra. Blanco Molina**, claves en mi formación médica. En especial a la Dra. Blanco Molina, ella sabe lo que aprecio que me enseñase la medicina que “*no está en los libros*”.

A mis compañeros de residencia **Angela Gómez, Vanessa Lorenzo, Cristina Arenas** y **Justo Sánchez** por acompañarme en el comienzo de esta aventura.

Al **resto de mis compañeros de la Unidad de Medicina Interna** por confirmarme que la decisión que tome ya hace 6 años era la correcta.

A mis padres **Juan y María Dolores** por darlo todo en su vida para que llegase hasta aquí, este trabajo y el resto de cosas que consiga en la vida es gracias a vosotros. A mis hermanos **Juan y María**, en especial a ella, por que encarna el significado de familia desde el principio hasta el final y por que, además de su cariño, me ha dado uno de los regalos más importantes de mi vida, mis sobrinos. A **Pedro Javier Quesada**, por cuidar de ella de forma exquisita y pos sus sabios consejos.

A mis compañeros de Facultad: **Pedro, Pablo, Juan Salvador, Juan, Jose Luis y Enoc** por el vínculo tan fuerte que nos une y por que no importa el tiempo que llevemos sin vernos, parece que fue ayer mismo.

A mis amigos de la infancia por el enorme imaginario de momentos felices que atesoro con ellos y en especial a **Juan Luis y Juan Antonio**, el destino ha hecho que sean los que mas lejos estén de mí pero pueden estar tranquilos, son insustituibles.

Muchos son los que ya no están, en el recuerdo permanente de los momentos felices que pasé con ellos camino con el convencimiento de que nos miran y ayudan desde arriba.

A resto de mi familia y a todos los que lean estas líneas sepan, que si lo están haciendo, son especiales para mí, por lo que a todos ellos....

MIL GRACIAS.

ÍNDICE.

I. <u>RESUMEN</u>	18
II. <u>INTRODUCCIÓN</u>	22
1. SÍNDROME METABÓLICO	24
1.1 Introducción y contexto histórico.....	24
1.2 Evolución conceptual síndrome metabólico.....	27
1.3 Definición actual de síndrome metabólico.....	33
1.4 Epidemiología y relación del síndrome metabólico con la enfermedad cardiovascular.....	35
1.5 Otras alteraciones relacionadas con el síndrome metabólico.....	39
1.5.1 Obesidad y sobrepeso.....	39
1.5.2 Diabetes Mellitus.....	44
1.5.3 Otros potenciales marcadores de síndrome metabólico.....	45
1.6 Importancia de la inflamación en el síndrome metabólico.....	45
1.6.1 Reacción inflamatoria.....	46
1.6.2 Citoquinas inflamatorias.....	47
1.6.2.1 Interleuquina 1 (IL-1).....	47
1.6.2.2 Interleuquina 6 (IL-6).....	48
1.6.2.3 Factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α).....	48
1.6.3 Reactantes de fase aguda: proteína C reactiva (PCR).....	49
1.6.4 Efecto de la inflamación sobre el metabolismo lipídico en pacientes con síndrome metabólico.....	50
1.6.5 Efecto de la inflamación sobre la arteriosclerosis y su relación con la enfermedad cardiovascular.....	52
1.7 Abordaje terapéutico del síndrome metabólico.....	55

1.7.1	Modificación de los estilos de vida y terapias farmacológicas.....	55
1.7.1.1	Efecto de la actividad física en el síndrome metabólico.....	55
1.7.1.2	Tratamiento farmacológico en el síndrome metabólico.....	56
1.7.2	Intervención nutricional en el síndrome metabólico. Modelos de dieta cardiosaludable.....	58
1.7.2.1	Dieta baja en grasa (BG) y su impacto sobre el síndrome metabólico.....	61
1.7.2.2	Dieta Mediterránea (DMed) y su impacto sobre el síndrome metabólico.....	64
2.	NUTRIGENÉTICA Y CRONOBIOLOGÍA EN EL SÍNDROME METABÓLICO.....	67
2.1	Nutrigenética.....	67
2.1.1	Nutrigenética: <i>“la puerta hacia una nutrición personalizada”</i>	67
2.1.2	Relación de la nutrigenética con el metabolismo lipídico.....	70
2.1.3	Relación de la nutrigenética con el metabolismo de los hidratos de carbono	74
2.1.4	Nutrigenética en el síndrome metabólico.....	77
2.2	Cronobiología.....	82
2.2.1	Conceptualización	82
2.2.2	Organización estructural y funcional del reloj circadiano.....	82
2.2.3	El principal “reloj periférico”: el adipocito.....	85
2.2.4	Causas de cronodisrupción.....	87
2.2.5	Cronobiología, obesidad, síndrome metabólico y su relación con la enfermedad cardiovascular.....	88
3.	ESTADO POSTPRANDIAL.....	93

3.1 Respuesta postprandial y síndrome metabólico.....	94
3.2 Nutrigenética del metabolismo postprandial y su relación con la enfermedad cardiovascular.....	97
4. APLICACIÓN ACTUAL DE LA NUTRIGENÉTICA EN LA MEDICINA MODERNA.....	100
III. <u>HIPÓTESIS</u>.....	102
IV. <u>OBJETIVOS</u>.....	106
1. OBJETIVO PRINCIPAL.....	107
2. OBJETIVOS SECUNDARIOS.....	107
V. <u>DISEÑO Y METODOLOGÍA</u>.....	110
1. DISEÑO DEL ESTUDIO.....	112
2. POBLACIÓN DEL ESTUDIO.....	112
2.1 Tabla 4. Criterios de inclusión/exclusión del estudio CORDIOPREV.....	114
2.2 Tabla 5. Características basales de pacientes del estudio CORDIOPREV...	115
2.3 Figura 6. Diagrama de flujo en el estudio CORDIOPREV.....	116
3. INTERVENCIÓN DIETÉTICA.....	116
3.1 Generalidades.....	116
3.2 Descripción de la intervención.....	117
3.2.1 Visita basal.....	117
3.2.2 Visita de seguimiento.....	119
3.2.3 Sesiones de grupo.....	119
3.3 Descripción de los modelos dietéticos.....	122
3.3.1 Dieta mediterránea (DMed).....	122
3.3.2 Dieta baja en grasa (BG).....	124

3.4 .Cuestionarios de seguimiento y adherencia a la intervención.....	125
3.4.1 Cuestinario de frecuencia de consumo (FFQ).....	125
3.4.2 Cuestionario de 14-ítems de adherencia a la dieta Mediterránea.....	125
3.4.3 Cuestionario de 9-ítems de adherencia a la dieta baja en grasa.....	126
4. DETERMINACIONES ANALÍTICAS Y BIOQUÍMICAS.....	126
5. ESTUDIO POSTPRANDIAL.....	127
6. ANÁLISIS GENÉTICO.....	128
6.1 Aislamiento del ADN.....	128
6.2 Genotipado de los polimorfismos.....	129
6.2.1 Genotipado de gen TNF- α (<i>rs1799964</i> , <i>rs1800629</i>).....	130
6.2.2 Genotipado del gen CLOCK (<i>rs1801260</i> , <i>rs3749474</i> , <i>rs4580704</i>).....	130
7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	133
8. MÉTODOS DE OBTENCIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	134
VI. <u>RESULTADOS</u>.....	135
1. CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES BASALES Y TRAS 12 MESES DE INTERVENCIÓN.....	137
1.1 Características basales y tras 12 meses de intervención con la dieta baja en grasa (BG).....	138
1.2 Características basales y tras 12 meses de intervención con la dieta mediterránea (DMed).....	139
1.3 Características basales y tras 12 meses de intervención en función del género.....	140
1.3.1 Características basales y tras 12 meses de intervención en hombres....	140
1.3.2 Características basales y tras 12 meses de intervención en mujeres.....	141

2. EFECTO DE LOS SNPs DEL GEN PROMOTOR DEL TNF-α SOBRE EL METABOLISMO LIPÍDICO, EL METABOLISMO DE LA GLUCOSA Y LOS PARÁMETROS INFLAMATORIOS DE PACIENTES CON SÍNDROME METABÓLICO.....	142
2.1 Distribución y frecuencia de los SNPs del gen promotor del TNF- α	142
2.2 Evaluación del SNP <i>rs1799964</i>	143
2.2.1 Asociación del SNP <i>rs1799964</i> con parámetros lipídicos, glucémicos e inflamatorios.....	144
2.2.2 Interacción del SNP <i>rs1799964</i> con los patrones dietéticos del estudio CORDIOPREV.....	146
2.2.3 Relación del SNP <i>rs1799964</i> con la respuesta lipémica postprandial.....	147
2.3 Evaluación del SNP <i>rs1800629</i>	148
2.3.1 Asociación del SNP <i>rs1800629</i> con parámetros lipídicos, glucémicos e inflamatorios.....	148
2.3.2 Interacción del SNP <i>rs1800629</i> con los patrones dietéticos del estudio CORDIOPREV.....	149
2.3.3 Relación del SNP <i>rs1800629</i> con la respuesta lipémica postprandial.....	154
3. EFECTO DE LOS SNPs DEL GEN PROMOTOR DE LA PROTEÍNA CLOCK SOBRE EL METABOLISMO LIPÍDICO, EL METABOLISMO DE LA GLUCOSA Y LOS PARÁMETROS INFLAMATORIOS DE PACIENTES CON SÍNDROME METABÓLICO.....	155
3.1 Distribución y frecuencia de los SNPs del gen promotor de la proteína CLOCK.....	155

3.2 Evaluación del SNP <i>rs1801260</i>	156
3.2.1 Asociación del SNP <i>rs1801260</i> con parámetros lipídicos, glucémicos e inflamatorios.....	156
3.2.2 Interacción del SNP <i>rs1801260</i> con los patrones dietéticos del estudio CORDIOPREV.....	157
3.2.3 Relación del SNP <i>rs1801260</i> con la respuesta lipémica postprandial...162	
3.3 Evaluación del SNP <i>rs3749474</i>	163
3.3.1 Asociación del SNP <i>rs3749474</i> con parámetros lipídicos, glucémicos e inflamatorios.....	163
3.3.2 Interacción del SNP <i>rs3749474</i> con los patrones dietéticos del estudio CORDIOPREV.....	164
3.3.3 Relación del SNP <i>rs3749474</i> con la respuesta lipémica postprandial.....	165
3.4 Evaluación del SNP <i>rs4580704</i>	165
3.4.1 Asociación del SNP <i>rs4580704</i> con parámetros lipídicos, glucémicos e inflamatorios.....	165
3.4.2 Interacción del SNP <i>rs4580704</i> con los patrones dietéticos del estudio CORDIOPREV.....	167
3.4.3 Relación del SNP <i>rs4580704</i> con la respuesta lipémica postprandial.....	171
VII. <u>DISCUSIÓN</u>.....	172
VIII. <u>CONCLUSIONES</u>.....	192
1. CONCLUSIÓN PRINCIPAL.....	194
2. CONCLUSIONES SECUNDARIAS.....	194

IX. <u>LISTADO DE ABREVIATURAS</u>	196
X. <u>BIBLIOGRAFÍA</u>	203
XI. <u>PRODUCCIÓN CIENTÍFICA</u>	261
1. PRESENTACIONES A CONGRESOS	263
2. PUBLICACIONES EN REVISTAS CIENTÍFICAS	269

I. RESUMEN

Introducción: El síndrome metabólico es una enfermedad heterogénea, caracterizada por un bajo grado de inflamación crónica en el que permanecen inciertos los mecanismos responsables de la variabilidad individual en la expresión de sus manifestaciones y en la respuesta que se obtiene tras la intervención dietética.

Nuestra **hipótesis** es que las variaciones en determinados genes candidatos podrían interactuar con determinados modelos de alimentación modificando la respuesta sobre el perfil inflamatorio sistémico, el perfil lipídico y el metabolismo de la glucosa en pacientes con síndrome metabólico.

Objetivos: Estudiar si el consumo a largo plazo de una alimentación Mediterránea, rica en aceite de oliva (38% grasa, 22% MUFA), frente a una dieta pobre en grasa, (<28% grasa, 12% MUFA) interactúa con diferentes polimorfismos (SNPs) de genes relacionados con el síndrome metabólico (gen TNF- α y gen CLOCK), para modificar las concentraciones finales de los marcadores plasmáticos involucrados en dichas rutas metabólicas. Además analizaremos la flexibilidad metabólica tras una sobrecarga oral de grasa, y si la respuesta postprandial podría ser modulada por la interacción con los genes.

Población, diseño y metodología: 581 pacientes con síndrome metabólico serán aleatorizados a cada uno de los dos grupos de intervención dietética señalados. Se genotiparán 5 SNPs en los genes TNF- α , y CLOCK. Tras 12 meses de intervención se estudiarán los efectos diferenciales observados entre los portadores de los distintos genotipos estudiados en la respuesta inflamatoria (PCR-us, IL-6, TNF- α), perfil lipídico (CT, c-LDL, c-HDL, apoA1, apoB, TG, homocisteína, Lpa) y metabolismo de la glucosa (glucosa, insulina, HbA1c y los índices HOMA-IR y QUICKI). Antes de comenzar la intervención a todos los pacientes se les administrará una comida grasa

(1g/kg de peso corporal y 7 mg de colesterol/kg de peso), con un 60% de calorías como grasa, un 15% como proteínas y un 25% como hidratos de carbono (HC).

Resultados: El consumo a largo plazo de la dieta Mediterránea, a diferencia de la dieta baja en grasa, indujo un mayor descenso en los niveles plasmáticos de TG y PCR-us en los portadores del genotipo G/G del SNP *rs1800629* del gen TNF- α que en los portadores del alelo minoritario A. Por otro lado, la dieta baja en grasa indujo un descenso en los niveles plasmáticos de insulina y de HOMA-IR y aumento del QUICKI en los portadores del genotipo T/T del SNP *rs1801260* del gen CLOCK comparados con los portadores del alelo minoritario C. Por último, el consumo a largo plazo de la dieta baja en grasas indujo un aumento en los niveles plasmáticos de c-HDL, ratio c-HDL/apoA1 y un descenso en los niveles plasmáticos de apoA1 y PCR-us en los portadores del genotipo C/C del SNP *rs4580704* en comparación con los portadores del alelo minoritario G. En relación al estudio postprandial, los portadores del genotipo G/G del SNP *rs1800629* del gen TNF- α mostraron una respuesta postprandial exagerada con mayores niveles de TG postprandiales que los portadores de alelo minoritario A.

Conclusiones: Nuestros resultados demuestran que algunos SNPs (*rs1800629*, *rs1801260*, *rs4580704*) interaccionan con la dieta en pacientes con síndrome metabólico modificando los parámetros de inflamación sistémica, lipídicos y de glucosa. Este cuerpo de evidencia sugiere la importancia de identificar poblaciones de riesgo con necesidades nutricionales específicas, así como la posible respuesta a determinados patrones de dieta basados en el estudio genético individual.

Este trabajo carece de conflicto de interés.

II. INTRODUCCIÓN

1. SÍNDROME METABÓLICO:

1.1 Introducción y contexto histórico:

El síndrome metabólico (SMet) es un estado fisiopatológico multifactorial que engloba una constelación de factores como son: obesidad abdominal, resistencia a la insulina, hipertensión arterial (HTA), dislipemia aterogénica (aumento de triglicéridos y disminución del colesterol HDL (c-HDL), disfunción endotelial y un estado sistémico protrombótico y proinflamatorio que incrementan el riesgo de desarrollar diabetes mellitus tipo 2 (DM2) y enfermedad cardiovascular (ECV) (1, 2). En nuestra sociedad actual constituye un problema de salud creciente debido a estilos de vida poco saludables. Su patogenia no está completamente establecida y congrega una compleja interacción entre factores genéticos, alteraciones metabólicas, factores ambientales como: nutrientes, toxinas alimentarias, contaminación ambiental y hábitos de vida sedentarios (**Figura 1**) (3-5).

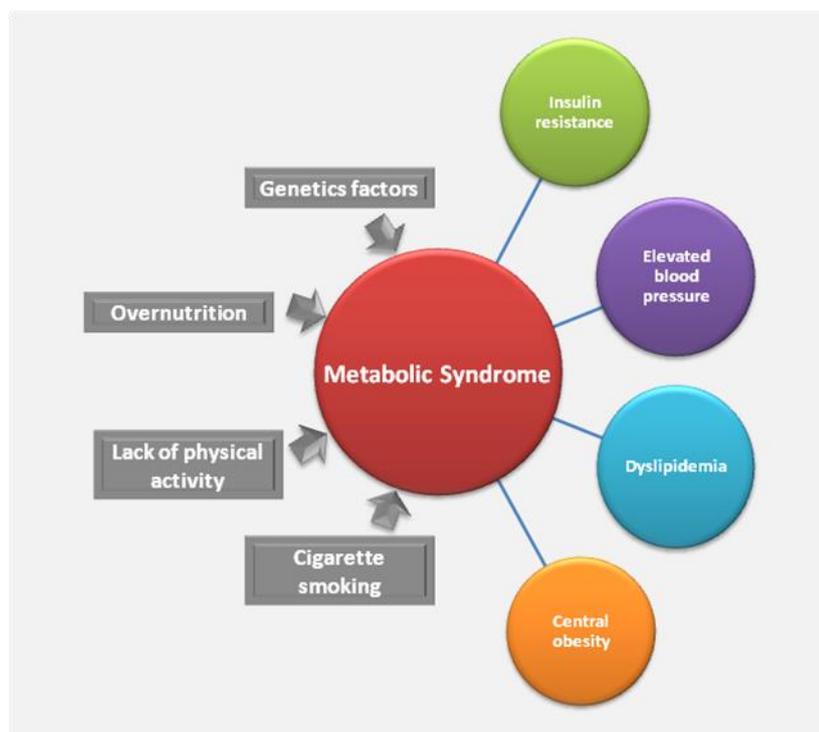


Figura 1: Factores genéticos y ambientales que intervienen en el desarrollo del SMet. Imagen obtenida de Perez-Martinez P. et al. *Mol. Nutr. Food Res.* 2012;56:68.

Evidencias previas apoyan las hipótesis de que el SMet es una enfermedad sistémica que genera una pérdida de la homeostasis metabólica en distintos órganos y tejidos del organismo mediante distintos mecanismos fisiopatológicos. Independientemente de que el síndrome metabólico se considere o no una entidad única, no se cuestiona la necesidad de identificar y manejar sus componentes de manera individual y específica para disminuir la morbilidad y mortalidad asociada a la diabetes y la ECV (6, 7).

La primera referencia literaria sobre el SMet data de hace más de tres siglos cuando Morgagni (8), describió la asociación entre obesidad abdominal, hiperuricemia y HTA en pacientes con ECV. Sin embargo hasta 1923, Kylin (9) no retomaría este concepto asociando HTA, hiperglucemia y gota. En nuestro país, Marañón (10) señaló en 1927 que la conjunción de varios fenómenos como la HTA, la obesidad y la hiperuricemia eran estados prediabéticos y que la prevención de dicho estados con modificaciones en el estilo de vida eran esenciales para prevenir la DM2. Posteriormente Vague, en 1947 introdujo el concepto de obesidad abdominal como un indicador de mayor riesgo para la DM2 y la ECV (11) y demostró que la existencia de una obesidad de tipo central o abdominal se asociaba de forma considerable con las anomalías metabólicas que se observan en estas patologías. En 1963 Reaven *et al.* (12) describieron en pacientes no diabéticos que habían sufrido previamente un infarto agudo de miocardio (IAM), mayores glucemias basales, una alteración en la tolerancia de la glucosa y mayores niveles de triglicéridos (TG) en comparación con sujetos controles. En 1967, Avogaro y Crepaldi (13) acuñaron por primera vez el que aunaba el estado fisiopatológico multifactorial que define el SMet, “*síndrome plurimetabólico*” y que incluía la confluencia de obesidad, HTA, hiperuricemia, enfermedad arterial coronaria y diabetes. No sería hasta 8 años más tarde cuando Leonhardt corroboró la confluencia de estos

desórdenes cardiometabólicos con una mayor prevalencia de arteriosclerosis y este mismo autor en 1981, junto con Hanefeld, acuñó por vez primera el término de *síndrome metabólico* para describir la asociación entre DM2, hiperinsulinemia, obesidad, HTA, hiperlipemia, gota y trombofilia, subrayando la predisposición genética y algunos factores ambientales como el exceso de dieta y el sedentarismo como la base de la génesis de este síndrome. En 1988 Reaven (14), define el “*síndrome X*” como un conjunto de alteraciones que incluyen la intolerancia a la glucosa, niveles elevados de insulina y colesterol unido a lipoproteínas de muy baja densidad (c-VLDL) y TG, bajos niveles de c-HDL e HTA, y es a partir de entonces cuando la concurrencia de factores de riesgo comunes a la DM2 y ECV (obesidad abdominal, hiperglucemia, dislipemia y HTA sugieren la existencia de un “*síndrome metabólico*” como patología específica (15-17). Kaplan (18) lo denominó en 1989 “*cuarteto mortal*”, refiriéndose a la confluencia de factores de riesgo de enfermedad arterial coronaria, intentando además relacionar la presencia de obesidad abdominal o central con la existencia de resistencia periférica a la insulina. Otros conceptos utilizados para definir el concepto de SMet fueron, además de los mencionados “*cuarteto mortal*” y “*síndrome X*”, el “*síndrome de resistencia a la insulina*” o “*síndrome de dislipemia-obesidad*” (19). En 1991, el mismo año en el que Bjorntorp plantea la necesidad de incluir la obesidad abdominal como componente del SMet, DeFronzo y Ferrannini plantean que la patogenia fundamental de este síndrome reside en la resistencia a la insulina y que a raíz de este mecanismo fisiopatológico se podrían desarrollar las alteraciones del SMet (20). Basados en esta hipótesis, en 1992, Haffner *et al.* lo denominaron “*síndrome de resistencia a la insulina*” tal y como ya hemos mencionado. Por último y tal y como sugirió Ferrannini (15), el término “*síndrome metabólico*” sería finalmente el aceptado

para definir la alteración del metabolismo lipídico e hidrocarbonado que predisponía a la persona a padecer DM2 y ECV.

1.2 Evolución conceptual del síndrome metabólico:

A pesar de que ya en 1991, el concepto de SMet estaba establecido, no fue hasta 1998 cuando la Organización Mundial de la Salud (OMS) (21) lo introdujo como entidad diagnóstica con criterios bien definidos. Un aspecto central en esta definición era la descripción de la resistencia a la insulina, aunque pronto se convirtió en una de sus propias limitaciones. La más importante de estas se refería a la necesidad de la técnica del «pinzamiento» o *clamp* euglucémico hiperinsulinémico para determinar la sensibilidad a la insulina. Esta complicada técnica hizo que fuera prácticamente imposible el uso de esta definición, tanto en la práctica clínica como en los estudios epidemiológicos. Considerando esto, el Grupo Europeo para el estudio de la Resistencia a la Insulina (EGIR) (22) desarrolló en 1999 una versión modificada de la definición de la OMS, que proponía la determinación de insulinemia en situación basal para determinar el nivel de resistencia a la insulina, y que se pudiera aplicar con mayor facilidad, manteniéndola así como el determinante principal en la génesis del SMet. Sin embargo, los pacientes con DM2 quedaban excluidos dada la falta de fiabilidad que había en estos casos para medir la sensibilidad vs resistencia a la insulina debido a la disfunción de la célula beta presente en algunos de estos pacientes.

Durante los años 2001 y 2002 se publicó el Tercer Informe del panel de expertos del Programa de Educación Nacional sobre Colesterol (ATP III-NCEP) (23, 24). Este informe introdujo una definición de SMet que pretendía hacerla más aplicable a la práctica clínica por lo que se suprimió la cuantificación específica de la sensibilidad a la insulina incluyendo las cifras de glucosa basal o el diagnóstico previo de DM2.

Además, todos los componentes de SMet fueron considerados iguales sin conceder mayor peso específico a ninguno de ellos a la hora de realizar el diagnóstico clínico. El parámetro de cuantificación de la obesidad fue el perímetro de cintura que ya había sido introducido por el EGIR (94 cm en los varones y 80 cm en las mujeres), aunque en el caso de la definición ATP-III se aumentaron los puntos de corte (102 cm en hombres y 88 en las mujeres). La definición ATP-III alcanzó una gran popularidad debido a su sencillez y hoy en día su definición de SMet es la más usada (25). Sin embargo, esta definición sería puesta en tela de juicio por la Asociación Americana de Endocrinología Clínica (AACE), que en 2003 publicó una versión modificada de la ATP-III para definir el SMet (26). De nuevo la resistencia a la insulina se incluía en los componentes que constituían el SMet y por otro lado se suprimía la obesidad como criterio definitorio; esta última modificación generó mucha controversia debido a la evidencia, ya establecida por aquella fecha, de la obesidad como factor de riesgo para el desarrollo de DM2 y consecuentemente de ECV (2). A pesar de los avances que se habían hecho con el fin de simplificar la definición de SMet y a la vez hacerla útil y fácil de aplicar, la modificación que realizó la AACE no hizo sino retrasar los avances que se habían realizado hasta la fecha. A este fenómeno se unía la dificultad de aplicar de manera universal los puntos de corte para la obesidad abdominal debido a las diferencias raciales y étnicas existentes en el mundo, especialmente en la raza asiática (27, 28). En este contexto surgió la propuesta de la Federación Internacional de Diabetes (29) para la creación de una herramienta diagnóstica sencilla y transferible cuya aplicación en la práctica clínica fuera suficientemente fácil. En esta nueva definición, la obesidad central representaba un requisito imprescindible consecuencia de la enorme evidencia establecida hasta la fecha en la relación que tiene la grasa abdominal con los distintos componentes del SMet (17). En este trabajo se definieron distintos puntos de corte para

el perímetro de cintura según grupos raciales debido a que los estudios epidemiológicos demostraban que los grados de índice de masa corporal para los cuales comienza a aumentar el riesgo de las complicaciones derivadas del SMet eran diferentes en función de la raza (27, 28, 30, 31). En medio de este caos generado por las diferentes definiciones de SMet, la Asociación Americana de Diabetes (ADA) y la Asociación Europea para el Estudio de la Diabetes (EASD) publicaron un informe conjunto (32), en el que realizaban una revisión sistemática de los criterios utilizados por la OMS (21) y por el ATP-III (23, 24) para definir el SMet. Este trabajo expresaba una serie de “preocupaciones” con respecto a la definición y el uso del concepto de SMet en la práctica clínica e incluso cuestionaba su existencia como tal debido a una serie de aspectos:

- Criterios definitorios ambiguos e incompletos. Falta de consenso en la definición de los valores umbral.
- El peso específico de la DM2 como criterio definitorio puesto que esta patología incrementa de por sí el riesgo de ECV.
- Consideración errónea de la resistencia a la insulina como mecanismo patogénico común a todos los componentes del SMet.
- La no existencia de una base clara para incluir/excluir otros factores de riesgo de ECV.
- La variabilidad interindividual del riesgo cardiovascular (RCV), dependiente de la presencia de factores de riesgo específicos y de la intensidad de los mismos.

- La equivalencia entre el RCV global asociado y el resultante de la suma de sus componentes. De hecho, el tratamiento del mismo equivale al tratamiento de sus componentes.

En base a estos razonamientos surgió una corriente crítica que cuestionaba la validez del SMet y la conveniencia de utilizarlo como herramienta diagnóstica en la práctica clínica (33, 34). Sin embargo, en 2006 la IDF realizó una defensa de este concepto alegando la estrecha relación que existía entre la suma de estos componentes y el riesgo de desarrollar DM2 y ECV, subrayando la necesidad de identificar a estos pacientes de alto RCV por cumplir los criterios diagnósticos de SMet. Además, el hecho de no tener una etiología claramente definida no constituía un impedimento para considerar al SMet como una enfermedad establecida; sin ir más lejos la DM2 es considerada una enfermedad a pesar de que se tiene un conocimiento incompleto de su etiología. Por otro lado está el hecho de que la confluencia de estas anormalidades metabólicas es más frecuente de lo que cabría esperar por mera casualidad y su agrupación provoca un efecto sumatorio sobre el RCV más allá del que aporta cada una por separado (35). Este planteamiento ha sido corroborado posteriormente gracias al estudio *INTERHEART* (36), un estudio de casos y controles realizado sobre 26.903 pacientes con diferencias étnicas y raciales de 52 países diferentes que atribuyó un riesgo dos veces mayor de padecer IAM en pacientes con SMet, tanto si se utilizaba la definición de la OMS (OR: 2,69; intervalo de confianza [IC] al 95%: 2,45-2,95) como la de la IDF (OR: 2,20; 95% IC: 2,03-2,38). Siendo este riesgo muy similar al de padecer diabetes (OR: 2,72; 95% IC: 2,53-2,92) o HTA (OR: 2,60; 95% IC: 2,46-2,76) y muy superior que si se consideran por separado los distintos componentes del SMet.

Por último la *American Heart Association* (AHA) y el *National Heart, Lung, and Blood Institute* (NHLBI) han publicado declaraciones científicas acerca del SMet (37), en las que se recoge una clasificación ATP-III con una serie de modificaciones:

- La disminución del umbral para la glucosa en ayunas a 100 mg/dl, que corresponden a los criterios de la ADA para definir el punto de corte de normalidad en la glucemia basal.
- Incluyendo explícitamente el diagnóstico de diabetes como equivalente a la glucemia basal alterada.
- Incluyendo explícitamente el uso de medicamentos hipolipemiantes o antihipertensivos en los criterios de dislipemia e hipertensión respectivamente.
- No se considera el perímetro de cintura elevado como criterio imprescindible para el diagnóstico en aquellos pacientes que cumplan al menos 3 de los criterios restantes.
- Considerar distintos puntos de corte en el perímetro de cintura en relación al riesgo según diferencias raciales, fundamentalmente en personas asiáticas y americanas.

A esta clasificación se han unido otras sociedades científicas (25). La versión actualizada de la definición ATP-III y los criterios propuestos por la IDF permiten establecer el diagnóstico de SM básicamente en los mismos pacientes, pues los criterios y las recomendaciones respecto al tratamiento son virtualmente idénticos (**Tabla 2**).

Tabla 1: Evolución conceptual del SMet.

Parámetros	OMS (1998)	EGIR (1999)	AACE (2003)	NCEP ATP-III (2005)	IDF (2006)
Requerido	Glucosa en ayunas ≥ 110 mg/dL (6,1 mmol / L) RI > 25 %	RI > 25 %	\uparrow riesgo de RI \diamond ó IMC ≥ 25 kg/m ² ó PC ≥ 102 cm (H) ó ≥ 88 cm (M)		PC ≥ 94 cm (H) ó ≥ 80 cm (M) ■
Número de criterios	$y \geq 2$	$y \geq 2$	$y \geq 2$	≥ 3	$y \geq 2$
Perímetro de cintura	cintura/cadera >0.9 (H) ó >0.85 (M) ó IMC > 30 kg/m ²	PC > 94 cm (H) ó > 80 cm (M)		PC ≥ 102 cm (H) ó ≥ 88 cm (M) ■	
c-HDL	< 35 mg/dL (0.9 mmol/L) (H); <50 mg/dL (1.3 mmol/L) (M)	<40 mg/dL (1.0 mmol/L)	<40 mg/dL (1.0 mmol/L) (H); <50 mg/dL (1.3 mmol/L) (M)	<40 mg/dL (1.0 mmol/L) (H); <50 mg/dL (1.3 mmol/L) (M) * ¹	<40 mg/dL (1.0 mmol/L) (H); <50 mg/dL (1.3 mmol/L) (M) * ¹
Glucosa basal		110-125 mg/dL (6.1-6.9 mmol/L)	≥ 110 mg/dL (6.1 mmol/L)	≥ 100 mg/dL (5.6 mmol/L) * ²	≥ 100 mg/dL (5.6 mmol/L) * ³
TG	≥ 150 mg /dL (1.7 mmol/L)	≥ 200 mg /dL (2.0 mmol/L) * ⁴	≥ 150 mg /dL (1.7 mmol/L) ó	≥ 150 mg /dL (1.7 mmol/L) * ⁵	≥ 150 mg /dL (1.7 mmol/L) * ⁵
HTA	$\geq 140/90$ mmHg	$\geq 140/90$ mmHg * ⁶	$\geq 130/85$ mmHg	$\geq 130/85$ mmHg * ⁶	$\geq 130/85$ mmHg * ⁶

AACE: American Association of Clinical Endocrinologists; ATP III - NCEP: Adult Treatment Panel III - National Cholesterol Education Program EGIR: Grupo Europeo para el estudio de la Resistencia a la Insulina; H: hombre; c-HDL: colesterol vehiculizado en lipoproteínas de alta densidad; HTA: hipertensión arterial; IDF: International Diabetes Federation; IMC: índice de masa corporal; Kg/m²: kilogramos/metro cuadrado; M: mujer; mg/dL: miligramos/decilitro; mmol/L: milimoles/litro; OMS: Organización Mundial de la Salud; RI: resistencia a la insulina; PC: perímetro de cintura; TG: triglicéridos.

\diamond El riesgo de resistencia a la insulina viene determinado por la presencia de la menos uno de los siguientes criterios: diagnóstico de ECV, HTA, síndrome de ovario poliquístico, esteatosis hepática, historia familiar de DM², historia de diabetes gestacional o intolerancia hidrocabonada, sedentarismo, IMC > 25 kg/m², PC > 94 cm en H ó 80 cm en M y edad superior a 40 años.

■ Se recomienda el uso de los puntos de corte de la IDF para sujetos no europeos: H > 90 cm, M > 80 cm; e indistintamente los puntos de corte de la IDF o de la AHA/NHLBI para personas europeas (31).

*¹: tratamiento para aumentar los niveles de c-HDL.

*²: tratamiento para disminuir los niveles de glucosa.

*³: diagnóstico de DM2.

*⁴: tratamiento hipolipemiente.

*⁵: tratamiento con fibratos y/o ácidos grasos ω -3 a altas dosis.

*⁶: tratamiento antihipertensivo.

(25). Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, *et al.* Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation*. 2009 Oct 20;120(16):1640-5.

1.3 Definición actual del síndrome metabólico:

Como acabamos de mencionar la definición más adecuada y utilizada para el SMet es la proporcionada por la versión actualizada de la ATP-III (**Tabla 2**) (37). Sin embargo no puede decirse que existan unos criterios “definitivos” para diagnosticar al SMet (38, 39).

Tabla 2. Criterios para el diagnóstico clínico del SMet.

Parámetros	Valores
Perímetro de cintura elevado *	Definiciones específicas en función de variaciones raciales
TG elevados o tratamiento farmacológico para la hipertrigliceridemia †	≥ 150 mg/dL (1.7 mmol/L)
c-HDL bajo	<40 mg/dL (1.0 mmol/L) en hombres; <50 mg/dL (1.3 mmol/L) en mujeres
Presión arterial elevada o tratamiento farmacológico en un paciente con HTA	Sistólica ≥ 130 mmHg y/o diastólica ≥ 85 mmHg
Glucemia basal alterada o tratamiento farmacológico para la hiperglucemia ‡	≥ 100 mg/dL

c-HDL: colesterol unido a lipoproteínas de alta-densidad, *TG*: triglicéridos, *HTA*: hipertensión arterial.

* Se recomienda el uso de los puntos de corte de la IDF para sujetos no europeos: H ≥ 90 cm, M ≥ 80 cm; e indistintamente los puntos de corte de la IDF o de la AHA/NHLBI para personas europeas (31).

† Los fármacos más frecuentemente usados para el tratamiento de la hipertrigliceridemia son los fibratos y los ácidos grasos ω -3 a altas dosis.

‡ La mayor parte de los pacientes con DM2 tendrá el SMet por los criterios definidos.

El consenso ATP III-NCEP, considera a la presencia de obesidad central medida por el perímetro de la cintura (PC) como un criterio más, mientras que el establecido por la IDF considera la obesidad abdominal como condición imprescindible y que debe estar presente para poder diagnosticar a un individuo de SMet. Adicionalmente, la propuesta de la IDF reduce las medidas del PC y les otorga un umbral distinto según el origen racial. Aunque la ATP III considera a la HTA, el tabaquismo, los bajos niveles de c-HDL, los elevados niveles de c-LDL y el envejecimiento como factores principales en el desarrollo de ECV, a lo largo de la evolución conceptual del SMet se ha pasado de una visión centrada en la resistencia a la insulina (RI) a una visión centrada en la presencia de un perímetro de cintura elevado como factor denominador en la génesis de esta patología. Sin embargo múltiples factores se postulan actualmente como básicos en la fisiopatología del SMet y que lógicamente deben de ser tenidos en cuenta para explicar el daño vascular que se produce en los pacientes con SMet.

Como acabamos de mencionar, los criterios definatorios de SMet más usado en la actualidad son los de la ATP III e IDF y resulta interesante analizar si el uso de unos u otros criterios puede variar la sensibilidad para detectar si un individuo presenta o no SMet y si una u otra opción puede influir en términos pronósticos y de manejo de estos individuos. Por un lado, existen evidencias por las cuales el uso de los criterios ATP III no difieren en exceso a la hora de detectar el porcentaje de individuos con SMet. Este fenómeno fue analizado en una población adulta estadounidense incluida en la *National Health and Nutrition Examination Survey* durante los años 1999 a 2002; en este trabajo vieron que el 39% de los individuos de esta población cumplía criterios IDF para SMet frente al 34,5 % que cumplían criterios ATP III (40). Estas dos definiciones coincidían en clasificar al 93 % del total de SMet haciendo una sobrestimación en los criterios de la IDF frente a la definición establecida por la ATP III. Otros trabajos como el realizado

por Adams en 2005 (41) en población general, indicaban un incremento del 15 al 20 % más de individuos con criterios de SMet al utilizar los criterios de la IDF frente a los ATP III. Tras estos hallazgos surgió la pregunta de indagar si el uso de unos u otros criterios de SMet influía en el pronóstico y en el riesgo de ECV de estos pacientes. Lawlor *et al.* en 2006 (42) examinaron una cohorte de mujeres británicas sin enfermedad vascular con una edad comprendida entre los 60 y los 79 años, y determinaron el porcentaje de mujeres que cumplían criterios de SMet utilizando los criterios OMS, IDF y ATP III. Pues bien, en dicho estudio observaron en los tres grupos una similitud con relación al riesgo de enfermedad coronaria ajustado por edad: OR (95% IC) 1,32 (1,03-1,70) para los criterios IDF, 1,45 (1,00-2,10) para OMS y 1,38 (1,00-1,93) para ATP III. Por otro lado encontraron similares resultados en función de factores socioeconómicos, consumo de tabaco y sedentarismo. Hallazgos similares se obtuvieron en el análisis de la cohorte Framingham (43), 2.803 pacientes de esta población fueron examinados utilizando los criterios ATP III, IDF y EGIR observándose una incidencia de DM2 y ECV muy parecida entre los 3 grupos seguidos durante 11 años.

1.4 Epidemiología y relación del síndrome metabólico con la enfermedad cardiovascular:

La presencia de SMet en la población mundial, al igual que la obesidad, crece de forma exponencial constituyendo el nexo de unión principal con el desarrollo de DM2 y provocando que la ECV sea la primera causa de muerte en el mundo tal y como ya hemos mencionado anteriormente. Los primeros datos destacables sobre su impacto en la población general se publicaron en 2002 a través del estudio NHANES III (44) (de 1988 a 1994) utilizando los criterios ATP III en 8814 individuos estadounidenses. La

prevalencia global en este registro fue del 22 % con un incremento lineal asociado a la edad y que llegaba a una prevalencia del 43 % en pacientes entre los 60 y los 69 años. Este trabajo supuso una importante muestra del impacto de esta enfermedad sobre la población general, además de mostrar las diferencias interraciales en la prevalencia del SMet. Análisis posteriores siguen indicando que la prevalencia sigue aumentando y especialmente en mujeres (45). En nuestro país se analizó la prevalencia del SMet a través del registro MESYAS (46) con una prevalencia bruta del 10,2 % entre 7256 trabajadores activos sanos (82,4 % varones). En este registro, la prevalencia de SMet también aumentaba linealmente con la edad siendo mayor en varones con respecto a mujeres, sin embargo en función del IMC se vio que en personas obesas, la prevalencia de SMet era mayor en mujeres aunque no se obtuvieron resultados significativos (Figura 2: A y B).

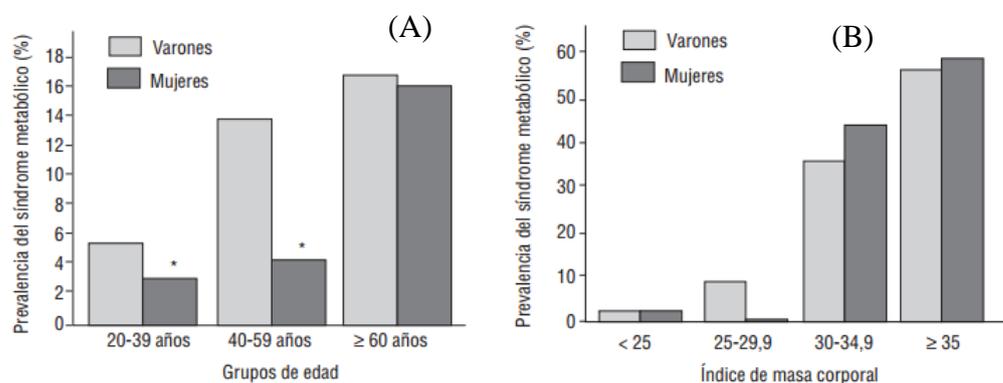


Figura 2: (A) Prevalencia de SMet obesidad en el registro MESYAS en función de grupos de edad. (B) Prevalencia de SMet según el IMC. * $p < 0,05$. Imagen obtenida de Alegria E, Cordero A, Laclaustra M, Grima A, Leon M, Casasnovas JA, *et al.* [Prevalence of metabolic syndrome in the Spanish working population: MESYAS registry]. Rev Esp Cardiol. 2005 Jul;58(7):797-806.

Múltiples evidencias soportan la relación del SMet con el desarrollo de ECV como corroboran 2 meta-análisis que muestran como la presencia de SMet duplica el riesgo de ECV (47, 48). En el registro NAHNES III, la prevalencia de ECV (cardiopatía isquémica) era mayor en los individuos con SMet que los diabéticos (13,9 frente al

7,5%; $P < 0,001$; respectivamente). En los individuos que presentaban ambas entidades, la prevalencia de cardiopatía isquémica aumentaba hasta el 19 %. Subestudios obtenidos del registro NHANES III han mostrado también la relación del SMet con la enfermedad cerebrovascular y la afectación renal de origen vascular (49, 50). Junto a estos hallazgos, otras cohortes poblacionales como: WOSCOPS (51), San Antonio Heart Study (52) y el ya mencionado INTERHEART (53), han demostrado una relación significativa entre la prevalencia del SMet y la ECV.

Un dato muy importante en los pacientes con SMet es el riesgo añadido que presentan de desarrollar DM2, como ya hemos mencionado con anterioridad, la presencia de esta enfermedad constituye prácticamente un estado prediabético debido, entre otros fenómenos fisiopatológicos, a la resistencia a la insulina que se genera en estos individuos. Concretamente en un meta-análisis llevado a cabo sobre 16 estudios pacientes con SMet, el riesgo relativo (RR) de desarrollar DM2 variaba de 3,53 a 5,17 en algunas poblaciones (54). También el número de componentes de SMet se relaciona de forma lineal con un mayor riesgo de desarrollar diabetes (55, 56). El estudio WOSCOPS demostró que el riesgo de desarrollar DM2 era 4 veces mayor en pacientes con SMet y en especial en aquellos cuyos niveles plasmáticos de PCR-us eran elevados lo que indica el papel que juega el estado proinflamatorio de estos individuos en el desarrollo de la DM2. Este fenómeno se ha podido observar también en el *Women's Health Study* (57), en donde los valores de PCR-us y el número de componentes de SMet se relacionaban con mayor incidencia de DM2.

Existe una discordancia importante con respecto a la prevalencia del SMet en distintas zonas geográficas del mundo, ello se debe a la aplicación universal de los criterios de SMet y fundamentalmente del perímetro de cintura, lo que provoca que los puntos de corte de 102 cm en hombres y 88 cm en mujeres infraestimen la verdadera

prevalencia del SMet en determinados países como Japón. Por ello en 2009 (25) se intentó armonizar este hecho mediante la elaboración de criterios diagnósticos concretos para determinadas zonas geográficas. Estos se diferencian básicamente en los puntos de corte que consideran la existencia de obesidad abdominal y que se ajustan a los estándares poblacionales de esa zona geográfica concreta como en el caso de Japón en donde los valores límite de perímetro de cintura descienden hasta 90 cm en hombres y 80 cm en mujeres.

Además de la edad, el peso y las diferencias raciales, otros factores también se asocian con un mayor riesgo de padecer SMet. En el NHANES III (58), el tabaco, la menopausia, la ingesta en exceso de carbohidratos en la dieta y los hábitos de vida sedentarios aumentaban el riesgo de desarrollar SMet. Otros factores en relación con el desarrollo de esta enfermedad son: el consumo de refrescos azucarados (59) y la actividad física aeróbica escasa (60).

Cabe pensar que si el SMet se ha relacionado con el desarrollo de ECV, la prevalencia de este en poblaciones en prevención secundaria cardiovascular, es decir, en pacientes con cardiopatía isquémica o enfermedad cerebrovascular establecida, sea mucho mayor con respecto a la población general. El ensayo clínico CORDIOPREV sobre el que versa este trabajo, se lleva a cabo en una población de pacientes en prevención secundaria cardiovascular. La prevalencia de SMet en esta población es del 58 %, en consonancia con evidencias previas que elevan a porcentajes similares la prevalencia del SMet en pacientes con ECV (61, 62).

1.5 Otras alteraciones relacionadas con el síndrome metabólico:

La obesidad y la DM2 son dos entidades relacionadas fisiopatológicamente con el SMet y que muchas veces confluyen entre si favoreciendo el riesgo de desarrollar la ECV.

1.5.1 Obesidad y sobrepeso:

La obesidad y el exceso de peso constituyen un factor de riesgo mayor para el desarrollo de SMet y otras enfermedades crónicas, tales como el cáncer y la DM2. En 2003, Park *et al.* estudiaron la relación entre la obesidad y el SMet, describiendo una prevalencia de SMet del 5% en sujetos con normopeso, 22% en los que tenían sobrepeso y hasta un 60 % de personas obesas dentro del *Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III)* (58). Por otro lado, estudios de cohorte muestran cómo la existencia de obesidad en un individuo aumenta el riesgo de muerte prematura con respecto a aquellos individuos cuyo IMC se encuentra entre 20-25 kg/m² (63). La existencia de una mayor adiposidad a nivel central-abdominal determina un mayor riesgo de desarrollar SMet y por consiguiente un mayor riesgo de ECV. Tal es así que hasta un 46 % de individuos que desarrollan SMet presentan un perímetro de cintura elevado según se definen en los criterios ya mencionados (64).

La OMS define el sobrepeso como un Índice de Masa Corporal (IMC) igual o superior a 25 kg/m², y la obesidad como un IMC igual o superior a 30 kg/m². Los últimos datos de la *International Association for the Study of Obesity / International Obesity Task Force (IASO / IOTF)* (www.iaso.org), cifran, en el año 2010, en 1 billón de personas adultas con un IMC entre 25-29,9 kg/m² y una prevalencia mundial de 474 millones de personas obesas con un IMC > 30 kg/m² ajustada por diferencias étnicas. Además, la prevalencia de obesidad se está incrementando de forma exponencial como

describe Finucane *et al.* (65) mediante el análisis poblacional de sujetos mayores de 20 años de 199 países. Los resultados de dicho trabajo muestran que entre los años 1980 y 2008, la media de IMC ajustada por edad se ha incrementado en prácticamente todas las regiones del mundo con excepción de África y el sur de Asia. Dentro de los países desarrollados, el mayor aumento por década se encuentra en los Estados Unidos (1,1 kg/m²) seguido de Reino Unido (1,0 kg/m²). Basándose en estos datos, Stevens (66) estimó el aumento de prevalencia de obesidad en estos 199 países entre los años 1980 y 2008. La prevalencia de la obesidad en términos globales, ajustada por edad, pasó de un 6,4 % en 1980 al 12 % en 2008. Por género, entre 1980 y 2008, la prevalencia de obesidad ajustada por edad sigue siendo mayor en mujeres que en hombres (1980: 4,8 % H; 7,9 % M / 2008: 9,8 % H, 13, 8 % M). Los últimos cálculos de la OMS indican que en 2015 habrá en todo el mundo aproximadamente 2.300 millones de adultos (mayores de 15 años) con sobrepeso y al menos 700 millones de adultos obesos. El IMC > 30 kg/m² es uno de los 8 factores de riesgo que representan el 61% de las muertes por ECV (1ª causa actual de muerte en el mundo) y el 75 % de la cardiopatía isquémica (67). En nuestro país, la prevalencia de la obesidad se encuentra entre las más altas de Europa. El registro *MESYAS (Metabolic Syndrome in Active Subjects)* sobre 18.778 trabajadores sanos (78% varones) demostró un porcentaje de sobrepeso en hombres y mujeres del 46,8 y del 23,6%, respectivamente. El porcentaje de obesidad fue del 16,9% en hombres y 8,9% en mujeres. El porcentaje total de sobrepeso fue 33,9%, y el de obesidad 12,5% (46). El incremento de la prevalencia de la obesidad en España en las últimas décadas también se ha investigado en trabajos como el de Gutiérrez Fisac *et al.* (68) en donde la prevalencia de la obesidad en nuestro país aumentó de forma significativa en un 3,9% ($P < 0.01$), 4,6% en hombres ($P < 0,01$) y 3,2% en mujeres ($P < 0,01$). El mayor aumento por grupos de edad se vio en hombres

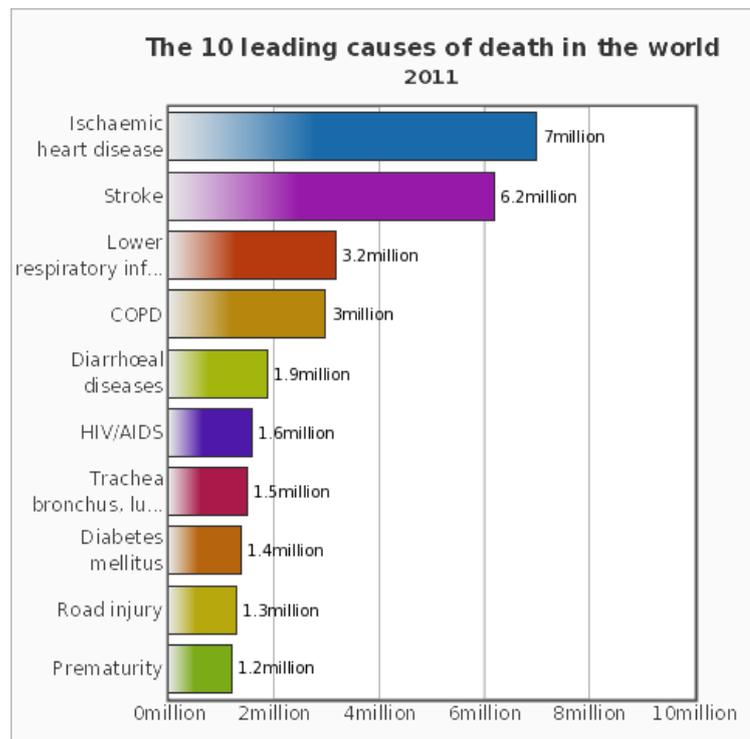
con edades comprendidas entre los 45-54 años (6,5%, $P < 0,01$) y en mujeres con edades entre los 25-34 (2,2%, $P < 0,05$). Por otro lado, el trabajo de Basterra-Gortari (69) realizado entre 1997 y 2003 en 49.113 sujetos a través de la Encuesta Nacional de Salud (ENS) muestra un incremento considerable en la prevalencia de obesidad en la población española, así como en otras patologías asociadas a ella como son: HTA, DM2 y dislipemia.

La prevalencia de la obesidad aumenta asociada a determinados factores como son la edad, el género y factores socioeconómicos. En nuestro país, datos procedentes de la ENS (Encuesta Nacional de Salud) y del estudio DORICA (Dislipemia, Obesidad y Riesgo Cardiovascular) muestran un mayor porcentaje de obesidad en mujeres. Sin embargo, la ENS de los años 2011 y 2012 muestra una inversión en este dato apareciendo una mayor prevalencia de obesidad en hombres (18 %) con respecto a mujeres (16 %). Recientemente el estudio ENRICA (70) indica que la prevalencia de la obesidad en la población española es de un 24,4 % en hombres y del 21,4 % en mujeres mayores de 65 años. Además del género, la edad y factores socioeconómicos también influyen en la frecuencia con la que la obesidad aparece en determinadas poblaciones. De esta forma, en edades superiores a los 50 años, la prevalencia de sobrepeso y obesidad es mucho mayor que por debajo de esta edad (71).

El sobrepeso y la obesidad tienen graves consecuencias para la salud. La incidencia de determinadas enfermedades entre las que destacan las ECV, aumenta de forma lineal con el IMC. Las ECV y en especial la cardiopatía isquémica y la enfermedad cerebrovascular constituyen la principal causa de muerte en todo el mundo, con 13 millones de muertes anuales (**Figura 3**).

La obesidad ha sido relacionada con un mayor riesgo de ECV en múltiples estudios y dentro de la obesidad, un mayor acumulo de adiposidad a nivel de abdomen, con respecto a la grasa corporal total, se ha descrito con un efecto más nocivo en el desarrollo de DM2 y el consecuente daño a nivel cardiovascular. El estudio de casos y controles *INTERHEART* que aglutinaba 27.098 pacientes de 52 países, confirmó la asociación existente entre la adiposidad abdominal, medida con el perímetro de cintura, y el riesgo de IAM (53).

Figura 3: Principales causas mundiales de muerte según OMS en el año 2011 (<http://who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en>).



Posteriormente, en 2009, el estudio EUROASPIRE (I, II y III) (72) intentó definir aquellos factores que se relacionaban etiológicamente con el daño CV. Para ello analizaron la

prevalencia de distintos factores de riesgo como: obesidad, hábito tabáquico, DM2 y HTA en pacientes con enfermedad coronaria establecida. En el caso concreto de la obesidad ($IMC > 30 \text{ kg/m}^2$) observaron un incremento significativo en la prevalencia durante las tres fases del estudio: I=25%, II=32,6 % y III=38 % ($P = 0,0006$). De igual modo, el estudio IDEA (73) (*International Day for the Evaluation of Abdominal obesity*) sobre más de 170.000 pacientes de distintos países, demostró como el perímetro de cintura estaba fuertemente relacionado con el desarrollo de ECV y DM2 sin verse afectado por factores como el IMC y la edad. Por otro lado, cabe destacar al

estudio INSPIRE ME/IAA (74) llevado a cabo en 4.504 pacientes de 29 países y que ha permitido demostrar la relación de la obesidad abdominal y el riesgo de ECV y DM2. De esta forma, aquellos pacientes que presentaban una mayor adiposidad abdominal presentaban mayores alteraciones en el metabolismo de la glucosa y consecuentemente una mayor incidencia de DM2 y mayor riesgo de ECV.

Sin embargo, evidencias recientes sugieren la existencia de determinados “fenotipos metabólicos” en los que no todos los sujetos obesos muestran las alteraciones metabólicas típicas de estos pacientes: resistencia a la insulina, adiposidad central, bajas cifras de c-HDL y elevadas concentraciones de TG, así como HTA; del mismo modo, no todos los sujetos con un IMC normal presentan un metabolismo saludable (75-77). Resulta interesante observar como individuos con un IMC normal ($< 30 \text{ kg/m}^2$) pero metabólicamente obesos se caracterizan por presentar hiperinsulinismo y resistencia a la insulina lo que les confiere un mayor riesgo de desarrollar DM2 y ECV (78, 79).

En resumen, la obesidad fue etiquetada como epidemia mundial por la OMS en el año 1998, y en la actualidad no muestra señales de disminución sino todo lo contrario. Existen múltiples factores que intervienen en el aumento mundial de esta enfermedad y entre ellos destaca la instauración de hábitos dietéticos poco saludables como un exceso en el aporte calórico total y un mayor aumento de la proporción de grasas saturadas en la dieta; todo ello asociado a un menor consumo de productos vegetales y hábitos de vida sedentarios. De esta forma, la epidemia de la obesidad se postula como el principal reto para la medicina moderna puesto que su presencia determina una concatenación de estados patológicos que desembocan en el daño a nivel CV.

1.5.2 Diabetes Mellitus:

La epidemia de DM2 se extiende exponencialmente por todo el mundo tanto en países industrializados como en aquellos en vías de desarrollo. Las estimaciones realizadas por Wild *et al.* en 2004 indicaban un aumento de la prevalencia global de DM2 del 2,8% en el año 2000 al 4,4% en el 2030. El número total de diabéticos en todo el mundo se estima que pase de los 171 millones en el año 2000 a los 366 millones en el año 2030. Además los cálculos indican que el incremento de la prevalencia de DM2 en la población mundial se deberá al aumento de la proporción de individuos con edades superiores a los 65 años (80). En el continente europeo, la prevalencia de diabetes en 2013 se cifra en un 8,5 % lo que corresponde a 56 millones de casos (edades comprendidas entre los 20 y los 79 años) incluyendo tanto a la diabetes tipo 1 como a la diabetes tipo 2 (81). En nuestro país, el estudio Di@bet.es (82) es el más reciente en analizar la situación de esta patología en la población española. Los datos que proporciono este trabajo en el año 2012 indican una prevalencia global de DM2 ajustada por edad y sexo del 13,8 % (IC 95%: 12,8-14,7 %) de los cuales aproximadamente la mitad no estaban diagnosticados de diabetes: 6,0 % (IC del 95%: 5,4-6,7 %). Por otro lado también observaron como la prevalencia de diabetes y alteraciones en el metabolismo de la glucosa se incrementaban significativamente con la edad ($P < 0,0001$) y con el género siendo mayor en hombres que en mujeres ($P < 0,001$). Así, entre los años 2011 y 2013, la prevalencia estimada en España ha aumentado del 8,1% al 10,8 % lo que pone a nuestro país en una situación de emergencia sanitaria (83, 84).

La preocupación surgida del alarmante crecimiento de la prevalencia de diabetes en la población mundial deriva de la mayor morbimortalidad que esta patología confiere a los individuos que la padecen. Las complicaciones CV fundamentales que producen los

elevados niveles de glucosa en la DM2 derivan de la enfermedad microangiopática (nefropatía (85) y retinopatía, presente hasta en el 28 % de los pacientes diabéticos (86) y neuropatía diabéticas con prevalencias que oscilan entre el 18 y el 35 % (87-89)) y las ECV (macroangiopatía diabética). Entre éstas se incluyen la enfermedad coronaria, la enfermedad cerebrovascular y la enfermedad arterial periférica que aglutinan hasta el 80 % de las complicaciones macrovasculares de esta enfermedad (90). Estudios poblacionales como el de Ringborg *et al.* (91) publicado en 2008 estiman una prevalencia de ECV establecida en pacientes con DM2 del 13,8 % en mujeres y del 18,0% en varones.

1.5.3 Otros potenciales marcadores de síndrome metabólico:

Por otro lado, el SMet se ha reconocido como un estado proinflamatorio crónico de baja intensidad (niveles elevados de proteína C reactiva ultrasensible (PCR-us) e interleuquina 6 (IL-6)) (57, 92-101) y un estado protrombótico (niveles elevados de fibrinógeno e inhibidor del activador tisular del plasminógeno (PAI)). Estos marcadores protrombóticos y proinflamatorios se asocian con una mayor incidencia de ECV y DM2 (95-98), aunque el estado inflamatorio que se atribuye al SMet, sólo explica en parte la asociación entre este y la mortalidad por ECV (102). Junto a estos, otros tales como la esteatosis hepática (103), la disfunción endotelial (104) y el estrés oxidativo (105) participan en el complejo entramado que supone el desarrollo del SMet.

1.6 Importancia de la inflamación en el síndrome metabólico:

Nuestro sistema inmune innato está constituido por barreras epiteliales que junto con distintos tipos de células y proteínas circulantes nos defienden de agresiones externas. Alguna de estas células, en especial macrófagos y linfocitos, desencadenan la

reacción inflamatoria con una gran cantidad de mecanismos fisiológicos involucrados que, mantenidos en el tiempo, provocan la lesión del tejido afecto. De forma asociada, la reacción inflamatoria genera diversas alteraciones a otros niveles del organismo como son el metabolismo de lipoproteínas y glucosa que junto con el proceso inflamatorio por se favorecen el daño vascular como analizaremos más adelante. En los últimos años el estudio del estado proinflamatorio en pacientes con SMet ha alcanzado un gran auge derivado de la influencia que tiene sobre el desarrollo de ECV.

1.6.1 Reacción inflamatoria:

La respuesta inflamatoria constituye el primer mecanismo de respuesta para luchar contra agentes exógenos como los microorganismos o las sustancias generadas por estos y poder erradicarlos del organismo. De esta manera, a nivel local donde el patógeno contacta con el organismo se genera una reacción local favorecida por los reactantes de fase aguda (RFA) entre los que destaca la PCR. Estos reactantes de fase aguda pueden estar presentes en procesos inflamatorios agudos y crónicos y sus niveles pueden estar elevados en multitud de situaciones como infecciones, traumatismos, enfermedades autoinmunes y hasta procesos neoplásicos. Esta respuesta local genera una serie de señales que atraerán a las distintas células del sistema inmune fundamentalmente a los leucocitos que serán los que en última instancia se encarguen de erradicar al agente externo.

Los cambios en los niveles de RFA están inducidos por una serie de moléculas antiinflamatorias llamadas citoquinas. Estas citoquinas son secretadas por los macrófagos, monocitos y otras células inmunitarias implicadas en las fases iniciales de la respuesta inflamatoria. La actuación de estas citoquinas se limita a nivel local a excepción de la interleucina (IL)-6 e IL-1 y del factor de necrosis tumoral alfa

(TNF- α) que son las principales citoquinas proinflamatorias de nuestro sistema inmune y que además constituyen auténticas hormonas participando en múltiples procesos fisiológicos del organismo. Estas citoquinas favorecen una reacción sistémica que conlleva una gran cantidad de alteraciones fisiológicas y bioquímicas que generan cambios como: el aumento de la temperatura corporal (fiebre) (106), modificaciones neuroendocrinas como por ejemplo el aumento de corticotropina (ACTH) (107), alteraciones en el nivel de conciencia, alteraciones hematopoyéticas como anemia (108) etc.

De esta forma, la respuesta inflamatoria se puede dividir en 3 etapas (109):

- 1) Producción de citoquinas proinflamatorias que actúan como señalizadores para favorecer la quimiotaxis de las células del sistema inmune, fundamentalmente los macrófagos, así como favorecer fenómenos protrombóticos y de reparación a este nivel.
- 2) Reacción inflamatoria sistémica que, a distintos niveles del organismo, amplifican o atenúan el proceso inflamatorio mediante una función claramente endocrina.
- 3) Liberación masiva al torrente sanguíneo de mediadores inflamatorios que pueden llegar incluso a generar un daño tisular si persisten en el tiempo.

1.6.2 Citoquinas inflamatorias:

1.6.2.1 Interleuquina 1 (IL-1):

IL-1 se constituye por un grupo de 11 proteínas diferentes codificadas por su correspondiente gen y que se localiza en el cromosoma 2. Su producción está inducida por el lipopolisacárido (LPS) bacteriano, otras citoquinas inflamatorias como TNF e IL (2,3 y 12), factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos, el plasminógeno, la trombina etc. De esta forma, la IL-1 además de tener un papel muy importante en procesos inflamatorios, está involucrada en mecanismos de proliferación celular y

apoptosis. Por otro lado, la IL-1 también favorece la síntesis de otras citoquinas inflamatorias, fundamentalmente la IL-6 de manera que puede favorecer la perpetuación de la respuesta inflamatoria.

1.6.2.2 Interleuquina 6 (IL-6):

Esta citoquina se secreta por las células mononucleares, linfocitos T y otras células de nuestro sistema inmune. En gran parte de estos casos se debe al estímulo generado por la IL-1 y el TNF- α sobre estas células. Su función le permite regular la respuesta humoral y celular de nuestro sistema inmune además de desempeñar un papel clave en la inflamación y el daño tisular (110). A nivel de los hepatocitos induce la síntesis de varias proteínas plasmáticas como el fibrinógeno y por otro lado se encarga de estimular la proliferación y la maduración de las células B. Debido a su papel proinflamatorio, también es una citoquina que se expresa en el proceso de arteriosclerosis de manera que sus niveles van a estar elevados en la placa de ateroma. Se sabe que constituye uno de los principales estímulos sobre los RFA como la PCR (111), además de regular la expresión de otras citoquinas como la IL-1 y el TNF- α .

1.6.2.3 Factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α):

TNF- α es una citoquina proinflamatoria secretada por macrófagos fundamentalmente aunque también puede ser producida por otros tipos celulares como los linfocitos T, las células *natural killer*, las células de la musculatura lisa y endoteliales. Esta citoquina está involucrada en gran cantidad de procesos fisiológicos de nuestro organismo como ya hemos mencionado. Entre estos destacan la proliferación, diferenciación y apoptosis celular, el metabolismo lipídico y la coagulación (112, 113) de manera que la alteración en los niveles sanguíneos de esta citoquina juega un papel fundamental en la génesis de distintas enfermedades. El gen

encargado de codificar a esta citoquina se localiza en el cromosoma 6. Su función se realiza gracias a la unión a receptores de membrana: TNFR 1 y 2. El TNFR-1 se expresa en varios tipos celulares y el TNFR-2 se expresa fundamentalmente en células endoteliales e inmunológicas.

Su papel en la respuesta inflamatoria viene determinado por la secreción por parte de los macrófagos activados lo que conduce a un incremento en la permeabilidad vascular y favorecer así los fenómenos de quimiotaxis que se dan en la respuesta inflamatoria local. De esta forma el TNF- α ejerce una labor de contención local, sin embargo en aquellos casos en los que la infección se extiende a otras partes del organismo y desencadena el proceso de sepsis, el TNF- α se libera al torrente sanguíneo y provoca una serie de efectos sistémicos entre los que destacan una vasodilatación y una pérdida de volumen plasmático debido al aumento de la permeabilidad vascular. Junto con estas funciones propias, el TNF- α también favorece la secreción de IL-6 favoreciendo de nuevo la perpetuación de la respuesta inflamatoria.

1.6.3 Reactantes de fase aguda: proteína C reactiva (PCR):

La proteína C reactiva (PCR) fue el primer RFA en describirse en 1930 (114). Sus niveles aumentan en situaciones tales como infecciones bacterianas, traumatismos, patologías inflamatorias agudas y sistémicas, además presenta una elevada sensibilidad como marcador sistémico de inflamación y daño tisular. Al igual que otros RFA, la PCR desempeña su función en distintos estados del proceso inflamatorio (115) y su expresión en la respuesta inflamatoria se produce de forma muy precoz. Perteneciente a la familia de las pentraxinas, proteínas compuestas de 5 subunidades (protómeros) estructuralmente idénticos. Su expresión está regulada, a nivel de los hepatocitos, por la IL-6. Su vida media en plasma oscila en torno a las 19 horas (h) y los niveles en sangre

oscilan en personas adultas en torno a los 0,8 mg/L, el percentil 90 se sitúa en los 3,0 mg/L y el percentil 99 en los 10 mg/L (116). Su función principal es la de unirse a la fosfocolina expresada en la superficie de las células en el proceso de apoptosis y a otros patógenos con el fin de activar el sistema del complemento, por la vía del complejo C1q (117). Además de activar el sistema del complemento, la PCR puede por otro lado unirse a macrófagos para iniciar el proceso de eliminación de aquellos patógenos y células marcadas en distintos procesos como el de apoptosis interaccionando con la inmunidad humoral por un lado y la celular por el otro (115, 118).

1.6.4 Efecto de la inflamación sobre el metabolismo lipídico en pacientes con síndrome metabólico:

Los distintos procesos que acontecen en el proceso inflamatorio presentan una incidencia directa sobre el metabolismo lipídico, entre otros. De esta forma, la dislipemia constituye uno de los componentes esenciales que determinan que los pacientes con SMet presenten un riesgo más elevado de ECV (119). La alteración lipídica típica del SMet viene definida por una elevación de los niveles de TG junto con descenso en los niveles de c-HDL y la producción de partículas de c-LDL pequeñas y densas. La aparición de la dislipemia en el SMet se debe, entre otros mecanismos, a una mayor producción de ácidos grasos libres no esterificados (AGNE) derivados de una mayor actividad lipolítica en estos pacientes que como ya hemos mencionado suelen presentar una mayor adiposidad sobre todo a nivel abdominal. A nivel hepático, estos NEFAs aumentan la síntesis de partículas ricas en TG (LRT) y c-VLDL. El aumento de los niveles de c-VLDL favorece un descenso del c-HDL debido a la actuación de la proteína transportadora de ésteres de colesterol, que enriquece de TG a

las partículas de c-HDL que disminuyen su tamaño y aumentan su densidad favoreciéndose su catabolismo por parte de la lipasa hepática (120). Lo mismo ocurre con las partículas de c-LDL, un mayor enriquecimiento de TG las hace de menor tamaño y con una densidad superior a la de individuos sanos; esta características en las partículas de c-LDL las hace más oxidables de manera que su afinidad por los receptores celulares disminuye reduciéndose su aclaramiento del torrente sanguíneo.

En uno de los trabajos más importantes publicados en población diabética, el *United Kingdom Perspectiva Diabetes Study* (UKPDS) la presencia de dislipemia en estos individuos y sobre todo en el género femenino se asoció con una mayor incidencia de DM2 y ECV (121). Por otro lado la presencia de partículas de c-LDL pequeñas y densas se han relacionado con una mayor incidencia de cardiopatía isquémica (122) y de DM2 (123). Estas características en las partículas de c-LDL les confieren una mayor aterogenicidad puesto que el aclaramiento de torrente sanguíneo en estos caso es mucho más difícil y se favorece por tanto su acumulo en la pared vascular.

Otro factor importante en la dislipemia de pacientes con SMet es la existencia de niveles elevados de TG. La hipertrigliceridemia ocasiona diversas alteraciones a nivel endovascular mediante alteraciones en la función endotelial. El aumento en la producción de anión superóxido provoca el descenso de uno de los componentes fundamentales del endotelio vascular, el óxido nítrico (ON).

Del mismo modo, también existen alteraciones importantes en el metabolismo lipídico generadas por citoquinas inflamatorias. Los niveles circulantes de TNF- α se relacionan de forma inversa con el tamaño y la densidad de las partículas de c-LDL con los efectos proaterogénicos que ya hemos comentado. Además, las citoquinas inflamatorias modulan los niveles de lipoproteínas, uno de los mecanismos es el

producido por el TNF- α y la IL-1, capaces de disminuir el transporte reverso de colesterol mediante la reducción en la expresión celular de la proteína *ATP binding cassette A1* (ABCA1) (124). Por otro lado, los niveles circulantes elevados de estas citoquinas son capaces de inhibir el correcto funcionamiento de los receptores de c-LDL (125).

El TNF- α tiene potentes efectos metabólicos en relación con una sobreproducción a nivel del tejido adiposo de pacientes obesos. Por un lado favorece el aumento en los niveles de TG al favorecer su síntesis a nivel hepático (126) así como una inhibición de la lipoproteína lipasa (LPL) (127); derivado también de un aumento de la adiposidad en pacientes obesos, el TNF- α ha sido implicado también en la aparición de la resistencia a la insulina mediante la inhibición de la fosforilación del receptor de la insulina impidiendo así su activación (128). Por último cabe destacar la relación que existe entre la PCR y el metabolismo de lipoproteínas ricas en TG debido fundamentalmente a la alteración en el aclaramiento de quilomicrones (Qm) a nivel hepático que se ve reducida en aquellos pacientes que presentan niveles elevados de PCR (129).

1.6.5 Efecto de la inflamación sobre la arteriosclerosis y su relación con la enfermedad cardiovascular:

Existe una estrecha relación entre la inflamación y la génesis del proceso arteriosclerótico puesto que la formación de la placa de ateroma, su inestabilidad y los fenómenos aterotrombóticos no son ni mas ni menos que procesos inflamatorios a nivel intravascular (130, 131). En los pacientes con SMet existe un estado proinflamatorio cuya relación con la RI, la dislipemia o la HTA estan perfectamente descritas (132-135). Por todo ello y aunque la inflamación no es considerada un criterio en el diagnóstico de

SMet, si se establece su relación con el SMet y por tanto su participación en la fisiopatología de la arteriosclerosis. Varios estudios han demostrado como en pacientes con SMet, las concentraciones sanguíneas de moléculas proinflamatorias como IL-6, TNF- α y PCR se encuentran elevadas con respecto a la población general debido entre otros mecanismos al aumento de macrófagos activados en el tejido adiposo (136). Estas citoquinas inhiben de forma potente la producción de adiponectina (132-134), una adipocitina expresada a nivel de los adipocitos y encargada de inhibir la adhesión de los monocitos a las células endoteliales y la transformación de macrófagos a células espumosas con un claro efecto anti-arteriosclerótico. Además, la adiponectina aumenta la actividad de la óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS) (137) y sus bajos niveles en sangre provocado por el aumento de TNF- α , IL-6 y PCR, como ya hemos comentado, se asocian con la aparición de obesidad, sobrepeso, RI y DM2 y dislipemia (138-142), todas ellas características del SMet. Por otro lado, la actividad física regular (143) y el consumo moderado de alcohol (144) inciden de manera positiva en la reducción de los niveles de PCR circulante.

Los mecanismos que relacionan la PCR con la arteriosclerosis y la ECV no están perfectamente definidos. Sin embargo ya desde los años 80, las posibles asociaciones que se postulaban variaban entre una unión directa a las partículas lipídicas especialmente a la lecitina y a otras lipoproteínas circulantes como el c-LDL y el c-VLDL (145, 146) favoreciendo su aterogenicidad al inducir la oxidación del c-LDL (147). También se apunta al depósito en la placa de ateroma y formación de agregados que activan la cascada del complemento ejerciendo un efecto proinflamatorio a este nivel (148, 149). También se ha establecido el hecho de que la PCR es capaz de estimular la producción de factor tisular a través de los monocitos en sangre periférica teniendo así un efecto procoagulante (118). Todos estos mecanismos favorecidos por

factores tanto genéticos como adquiridos pueden determinar la existencia de una variabilidad interindividual en la respuesta del organismo tanto a citoquinas inflamatorias como a RFA de manera que algunos sujetos presenten una mayor respuesta a estas moléculas generándose un mayor daño a nivel CV. Existe una fuerte relación entre los niveles de PCR y la ECV demostrada ya en trabajos llevados a cabo en las décadas de los 80 y los 90. Estos trabajos muestran un efecto directo entre los niveles de PCR y el pronóstico de pacientes con IAM (150) y SCA (151). Posteriormente gran cantidad de trabajos han corroborado la relación entre los niveles de PCR elevados y un mayor riesgo futuro de ECV (enfermedad cerebrovascular, cardiopatía isquémica y enfermedad arterial periférica) (152-154). En el año 2000, Danesh *et al.* publicaron un meta-análisis sobre un total de 1.953 eventos coronarios observando que un valor de PCR superior a 2,4 mg/L en comparación con unos niveles < 1,0 mg/L, duplicaba el riesgo (RR=2,0) de padecer un evento cardiovascular en el futuro (155). Otros estudios observacionales como el *Reykjavik Icelandic Hearth Study* llevado a cabo sobre 19.000 sujetos que incluían 2.459 eventos coronarios seguidos durante una media de 20 años; han permitido establecer una estrecha relación entre los niveles de PCR y el pronóstico de estos pacientes (156). La PCR se correlaciona con otros marcadores inflamatorios cuya participación, aunque menos significativa, en el daño a nivel cardiovascular, también ha quedado demostrada (157, 158). El papel de la inflamación como componente del SMet y su participación en la formación de la placa de ateroma está aumentando debido a los hallazgos, entre otros, de Ridker en 2001 en donde demostró el efecto reductor de las estatinas sobre el riesgo de padecer un evento cardiovascular era muy similar en aquellos pacientes que tenían unos niveles de PCR elevados independientemente de que los niveles de c-LDL estuviesen elevados o en un rango normal (159). Si estos hallazgos son ciertos, en un futuro podría ser necesaria la

medición de los valores de PCR y la indicación de un tratamiento hipolipemiante en aquellos pacientes que aparentemente tengan un RCV bajo. Por último los niveles PCR son útiles como marcador de la severidad de determinados ECV como es el caso del IAM. La necrosis miocárdica que se produce durante el infarto provoca una reacción inflamatoria en la que la PCR aumenta sus niveles en sangre alcanzando unos valores pico en las 48 h posteriores al evento. De esta manera, la PCR constituye un buen predictor de la severidad, extensión y pronóstico del IAM (160, 161).

1.7 Abordaje terapéutico del síndrome metabólico:

El manejo terapéutico de los pacientes con SMet engloba una serie de recomendaciones (37, 56, 162) que se centran en tres pilares fundamentales:

- Abordar el sobrepeso, la obesidad y el sedentarismo mediante la actividad física y la incorporación de hábitos dietéticos saludables.
- Modificar todos aquellos estilos de vida que supongan un riesgo añadido para el desarrollo de DM2 y ECV.
- Controlar mediante tratamiento farmacológico, en caso de precisar, los distintos componentes del SMet.

1.7.1 Modificación de los estilos de vida y terapias farmacológicas:

1.7.1.1 Efecto de la actividad física en el síndrome metabólico:

La realización de actividad física periódica debe constituir una de las primeras actuaciones en el tratamiento de pacientes con SMet ya que favorece el control del peso y sobre todo ayuda a eliminar el exceso de adiposidad abdominal (163). La actividad

física recomendable se basa en la realización de una actividad aeróbica diaria de mínimo 30 minutos de duración con una intensidad moderada (164). La actividad física mantenida en estos pacientes mejora el control de los distintos componentes del SMet como muestran evidencias previas en donde el ejercicio físico reduce las cifras de tensión arterial (165), aumenta los niveles plasmáticos de c-HDL y reduce los de TG (166). La actividad física también mejora el control glucémico al reducir las cifras de HbA1c y mejorar la distribución de la grasa corporal disminuyendo el acúmulo adiposo visceral (167). En este sentido, Pattyn *et al.* en 2013 (168) analizaron distintos estudios de intervención con ejercicio físico en pacientes con SMet, corroborando el efecto beneficioso que éste provoca en la reducción de tensión arterial, PC (con una correlación positiva entre ambos) y por otro lado en un aumento significativo en los niveles de c-HDL. La mejora de las distintas alteraciones metabólicas que acontecen en el SMet ha sido corroborada también en trabajos como los realizados dentro del *Diabetes Prevention Program (DPP)* (178), llevado a cabo sobre 3.234 pacientes con glucemias basales alteradas. En dicho estudio se demostró una reducción del riesgo de padecer DM2 del 58 % en el grupo de intervención con actividad física en comparación con el grupo de intervención con metformina en donde se obtuvo un 31 % (178). La superioridad de la actividad física sobre el tratamiento farmacológico en la prevención de la DM2 se mantuvo a lo largo del tiempo (169, 170). Todas estas evidencias apoyan el hecho de que la actividad física regular y la modificación de otros hábitos de vida, tales como la dieta deben constituir la base en el manejo de pacientes con SMet.

1.7.1.2 Tratamiento farmacológico en el síndrome metabólico:

Además de la modificación del estilo de vida, en algunas ocasiones es necesario tratar enérgicamente las alteraciones metabólicas secundarias al SMet. En relación al metabolismo de la glucosa, existen numerosas evidencias sobre la importancia de

utilizar determinados fármacos hipoglucemiantes, entre los que destaca el uso de metformina, que aumenta la sensibilidad a la insulina a nivel muscular y hepático constituyendo la primera línea de tratamiento farmacológico en la DM2.

Los trabajos mencionados previamente dentro del DPP, demostraron un efecto beneficioso en la reducción del riesgo de desarrollar DM2 en aquellos pacientes que presentan un estado de prediabetes (169, 170). Diversos estudios han confirmado el efecto beneficioso en el control glucémico de estos pacientes (171) y entre ellos destaca el *United Kingdom Prevention Diabetes Study* (UKPDS) que mostró los efectos beneficiosos del tratamiento con metformina en una población de 4.075 pacientes en donde el tratamiento con metformina mejoró el control glucémico de estos pacientes en comparación con sulfonilureas e insulina, junto con una reducción en las complicaciones derivadas de la DM2 y consecuentemente en la mortalidad atribuible a esta enfermedad (172).

La presión arterial es otro de los factores que deben estar estrechamente controlados en los pacientes con SMet. En este sentido, el objetivo de reducir farmacológicamente las cifras de tensión arterial se establece cuando superan los valores de 140/90 mmHg. Los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina I en angiotensina II (IECA) o los antagonistas de los receptores de angiotensina II (ARA-II) constituyen el escalón inicial en el tratamiento antihipertensivo de estos pacientes. Su uso está justificado, porque en estos pacientes se ha objetivado que el aumento del PC y la obesidad inducen la activación del sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona (SRAA) (173, 174). En este sentido, la espironolactona permite una sinergia en el bloqueo del SRAA por lo que puede ser beneficiosa en aquellos pacientes en los que no se consiga un control adecuado de la tensión arterial con IECA y ARA-II (173). El uso de otros fármacos para el control de la TA, tales como tiazidas y betabloqueantes, parece controvertido por su

efecto pernicioso sobre la sensibilidad a la insulina y debe reservarse en ciertas indicaciones como en el caso de pacientes que además sufran cardiopatía isquémica (173).

Por último es importante un adecuado control del perfil lipídico en los pacientes con SMet. La alteración característica de estos pacientes se basa en la existencia de niveles elevados de TG y niveles bajos de c-HDL. El uso de fibratos también es importante en el manejo de la dislipemia aterogénica en pacientes con SMet debido, además de la reducción del riesgo de ECV derivado de la reducción de los niveles de TG (175) , al efecto pleiotrópico que tiene sobre la disminución de la resistencia a la insulina en estos pacientes (176, 177). En estos pacientes también es importante el control de los niveles de c-LDL, en este sentido, los objetivos terapéuticos varían en función del RCV del individuo llegando a ser < 70-100 mg/dL en pacientes con DM2 y ECV establecida (coronaria, cerebrovascular o arterial periférica). Para este objetivo, la primera línea de tratamiento se centra en el uso de estatinas (178-181) en monoterapia o en combinación con un inhibidor en la absorción de colesterol (ezetimibe) (182) o un secuestrador de ácidos biliares (colestiramina, colesevelam o colestipol) (183).

1.7.2 Intervención nutricional en el SMet. Modelos de dieta cardiosaludable:

La prevención y reducción del sobrepeso y de la obesidad, particularmente la abdominal debe ser un objetivo terapéutico primordial en estos pacientes. La importancia de la reducción de peso en la prevención y control de los componentes del SMet ha quedado demostrada en el estudio CARDIA (*The Coronary Artery Risk Development in Young Adults*) en donde el aumento del IMC durante los 15 años de seguimiento del estudio se asoció a un empeoramiento de los distintos componentes del SMet en comparación con el grupo en el que su IMC se mantuvo estable desde el inicio

(184). La reducción del peso se apoya en la dieta y el ejercicio. Dentro de los hábitos dietéticos saludables destaca el modelo de dieta Mediterráneo (DMed), en el que profundizaremos posteriormente, y que demuestra un efecto beneficioso, entre otros; sobre la reducción de peso, el descenso de la presión arterial, la mejora del metabolismo lipídico y la resistencia a la insulina, así como el estado proinflamatorio que generalmente subyace en estos pacientes (185-188). Las evidencias existentes demuestran que la intervención dietética en los pacientes con SMet deriva en otros efectos beneficiosos que no están directamente relacionados con la reducción de peso y la disminución de la adiposidad central. Richard *et al.* han puesto de relieve el efecto beneficioso de la DMed en los pacientes con SMet independientemente de la pérdida de peso, tanto a nivel del metabolismo del c-LDL (189) y c-HDL (190), como en el estado proinflamatorio (191). El consumo de una DMed, con una composición energética igual a la dieta control favorecía un aumento en el tamaño de las partículas c-LDL (disminuyendo su aterogenicidad), una reducción en sus niveles plasmáticos, así como un aumento en los niveles de c-HDL. Dichos efectos se objetivaron sin pérdida de peso. El último trabajo de esta autora en relación a este punto muestra como el consumo de una DMed en pacientes con SMet reduce de forma significativa las concentraciones plasmáticas de PCR-us, mejorando el estado proinflamatorio mediado por otros marcadores como: IL-6, TNF- α e interleuquina 18 (IL-18). Junto a lo indicado, en la actualidad existen fundamentalmente dos alternativas para el manejo de estos pacientes desde el punto de vista nutricional y que abogan, por un lado, por una alimentación pobre en grasa con un mayor porcentaje de HC procedente de frutas u otros vegetales tal y como se propone en las recomendaciones del ATP III–NCEP y la AHA (24, 192) y por otro lado se propugna un modelo de alimentación más rico en grasa, a expensas de

ácidos grasos monoinsaturados (MUFA), típico del patrón mediterráneo y que ha demostrado reducir el riesgo de desarrollar SMet (186).

Como ya hemos comentado previamente, los cambios en el estilo de vida han demostrado jugar un papel fundamental y muchas veces decisivo en el abordaje de estos pacientes. Además de la realización de una actividad física aeróbica regular, la dieta es el pilar fundamental en el tratamiento de los pacientes con SMet.

Varios patrones dietéticos se han postulado como beneficiosos en el abordaje terapéutico de estos pacientes. Tanto la cantidad como el tipo de grasa en la dieta influye en el desarrollo del SMet, tal y como se han sugerido en estudios observacionales. Además, varios estudios de intervención han determinado el efecto de la dieta sobre la incidencia y prevalencia de SMet (185, 187). Estos estudios analizaron el efecto de una DMed y una dieta rica en vegetales y pobre en productos animales, en comparación con la terapéutica dietética habitual. En todos estos estudios, la intervención dietética indujo un descenso en la prevalencia de SMet aunque en la mayoría se observó además un descenso de peso corporal. Además, existe una relación estrecha entre el tipo de grasa consumida en la dieta y el grado de sensibilidad periférica a la insulina, un factor clave en el desarrollo del SMet. Por otro lado, el consumo de dietas ricas en MUFA e HC mejoran la sensibilidad periférica a la insulina mientras que el consumo de grasa saturada induce una resistencia a la misma. Además, estudios recientes sugieren que el consumo de *AG* ω -3, reduce el riesgo de muerte por enfermedad cardiovascular y de desarrollo de SMet, por sus efectos antiarrítmicos y antiinflamatorios (187).

Con todo esto, y como ya mencionamos anteriormente, existen dos alternativas fundamentales para la intervención nutricional de pacientes con SMet, por un lado, una

alimentación pobre en grasa con un mayor porcentaje de HC procedente de frutas u otros vegetales (recomendaciones del ATP III–NCEP y la AHA (24, 192)) y por otro lado, la alimentación rica en MUFA, como el que propugna el modelo de alimentación mediterráneo.

1.7.2.1 Dieta baja en grasa (BG) y su impacto sobre el síndrome metabólico:

La reducción de la grasa contenida en la dieta ha demostrado, a grandes rasgos, tener un efecto beneficioso sobre la pérdida de peso y la mejora del perfil lipídico con el fin de poder reducir el riesgo de complicaciones derivadas de la obesidad y el SMet.

La ingesta de grasa diaria recomendadas por la ATP III – NCEP oscilan entre el 25-35 % (óptimo < 30%) del aporte calórico total. En especial se busca reducir la ingesta de ácidos grasos saturados (SFA) y de grasas “trans” puesto que son las más implicadas en el aumento de los niveles de c-LDL cuando su consumo es excesivo.

Las grasas “trans” son obtenidas de la hidrogenación de aceites de origen vegetal con el fin de poder ser utilizados en la producción industrial de bollería y snacks. Su consumo excesivo se considera perjudicial para la salud y son múltiples las evidencias que muestran su relación con un aumento en los niveles de c-LDL incluso por encima del efecto que tienen sobre este los SFA (193, 194). Por tanto, la ingesta elevada de ácidos grasos “trans” en la dieta provoca alteraciones desfavorables en el perfil lipídico que llevan a una mayor incidencia de ECV en aquellos individuos que las consumen (195).

Junto a la recomendación de suprimir los ácidos grasos “trans” de la dieta, las recomendaciones de la ATP III – NCEP se dirigen a reducir al máximo la ingesta de SFA debido a su efecto perjudicial sobre la salud (196), de hecho, un incremento del 1 % en el aporte calórico total en forma de SFA genera un incremento del colesterol

sérico en torno al 1-2 % fundamentalmente a expensas de c-LDL. La ingesta de una dieta rica en SFA, como en el caso anterior, ha demostrado aumentar el riesgo de ECV como ya demostró Ancel Keys en 1986 que estableció una correlación positiva entre el consumo de SFA en la dieta y distintas causas de muerte entre las que se encuentra la cardiovascular (coronaria y cerebrovascular) dentro del “*Seven Countries Study*” siendo una de las primeras evidencias clínicas al respecto. De esta forma, la reducción de SFA permite, entre otros efectos, reducir los niveles de c-LDL tal y como se demostró en el estudio DELTA-1 (197) en donde reducciones del porcentaje de SFA del 15 al 6,1 % obtuvieron reducciones del 11 % en los niveles de c-LDL. Datos publicados en el año 2013 (198) corroboran el descenso que produce la dieta BG sobre los niveles de CT y c-LDL a largo plazo comparado con dietas con un mayor contenido graso.

Además de los efectos sobre el perfil lipídico y la pérdida de peso, la dieta BG ha demostrado efectos beneficiosos a otros niveles además de sobre el riesgo de padecer SMet, sobre el riesgo de DM2 y el estado proinflamatorio asociado a estas patologías. Una de las cohortes más implicadas en aportar evidencias sobre los efectos beneficiosos de la dieta BG ha sido la *Women’s Health Initiative* (WHI). En el año 2011, Margolis *et al.* (199) publicaron un trabajo sobre esta cohorte en donde demostraron que el consumo de una dieta baja en grasa se asociaba con un menor riesgo de desarrollar DM2. Curiosamente, esta relación se acrecentaba en mujeres con un IMC elevado. A pesar de este hallazgo y al hecho de que la intervención dietética produjo una reducción ponderal a los 3 años, los autores no achacaron la reducción del riesgo de DM2 a la pérdida de peso al no encontrar relación entre esta y la ingesta de alimentos bajos en grasas. Este trabajo coincide con estudios previos que muestran como el consumo de una dieta baja en grasa reduce el riesgo de desarrollar DM2 (200, 201) e incluso la incidencia tal y como demostró Knowler en 2002 (169) en una población de 3.234 sujetos con la

glucemia basal alterada. Posteriormente, en 2012, otro trabajo extraído de la cohorte WHI aportó evidencias del efecto de la dieta BG sobre el riesgo de padecer SMet. En concreto, las mujeres asignadas a la dieta BG, con un porcentaje del 20 % de calorías aportadas por este macronutriente, mostraron un riesgo menor de SMet en el año 3 de seguimiento (OR=0,83, 95 % IC 0,59-1,18), aunque los resultados no fueron significativos. La dieta BG ha mostrado tener un efecto positivo en la reducción del estado proinflamatorio asociado a los pacientes con SMet tal y como se describió en el año 2010 en donde se observó cómo este patrón dietético obtenía un descenso significativo en los valores de PCR-us en pacientes con SMet (202), este trabajo coincide con el llevado a cabo por Davis *et al.* (202) en pacientes diabéticos de manera que muestran como la dieta BG reduce de forma significativa uno de los principales marcadores subclínicos de ECV, la PCR-us.

Por último, también existen trabajos en donde la intervención dietética BG tiene un efecto saludable a nivel CV. En este apartado destaca el trabajo de Varady *et al.* (203) que demostró que una intervención dietética con un aporte calórico graso del 25 % durante 6 semanas mejoraba la función endotelial. Los autores achacaron este resultado a una mejora en el funcionamiento de la masa adipocitaria ya que estos resultados iban acompañados de un aumento significativo en los niveles de adiponectina que como ya hemos mencionado tiene un claro efecto antiarteriosclerótico derivado. Además del aumento en los niveles de adiponectina, los niveles de resistina y leptina se redujeron (efecto proaterogénico) en el grupo de individuos obesos sometidos a una dieta BG. Estos resultados son congruentes con otros estudios que muestran el efecto beneficioso de la dieta BG sobre la biología vascular (204). Sin embargo, existen resultados contradictorios en relación a este efecto de la dieta BG (205), lo que hace necesaria la realización de nuevos estudios de intervención a más largo plazo y con un

tamaño de muestra mayor, con el fin de poder comprobar el efecto beneficioso de la dieta BG a nivel vascular.

Los efectos beneficiosos de este tipo de recomendaciones se basan fundamentalmente en los efectos derivados de la pérdida de peso y de la redistribución de la grasa corporal. La modificación de la composición grasa corporal determina de forma fundamental una reducción en la cantidad de grasa abdominal, tanto a nivel subcutáneo como visceral y que favorece la regulación de los distintos procesos fisiopatológicos que se generan derivados del acúmulo de grasa abdominal subcutánea y sobre todo visceral.

1.7.2.2 Dieta Mediterránea (DMed) y su impacto sobre el síndrome metabólico:

En los últimos años se han generado gran cantidad de estudios epidemiológicos que soportan el hecho de que los MUFA como nutriente, el aceite de oliva entre otros alimentos y la DMed están asociados con una reducción del riesgo de obesidad, SMet y DM2. En relación con el la DMed, en 2008 se publicó un meta-análisis que aglutinaba a más de 1 millón de personas para demostrar que una adherencia elevada a esta dieta estaba asociada con una reducción de la mortalidad global, la mortalidad de causa cardiovascular y mortalidad e incidencia global de cáncer entre otras enfermedades (206). Otros estudios han permitido mostrar como la adherencia a la DMed, reduce la prevalencia de las distintas alteraciones metabólicas que acompañan al SMet (207-210).

Los resultados de múltiples estudios observacionales muestran que la adherencia a una DMed rica en aceite de oliva reduce la incidencia de obesidad (211, 212). Este efecto de la DMed ha sido corroborado en 500.000 sujetos de diferentes países europeos en donde se observó que la adherencia a la DMed se asociaba de forma inversa con el

perímetro de cintura (213). Además del trabajo mencionado, Romaguera *et al.* (214) llevaron a cabo un estudio prospectivo sobre una cohorte europea en donde comprobaron que la adherencia a la DMed se traducía en un descenso del 10 % en el riesgo de desarrollar sobrepeso u obesidad y un descenso en el peso medio en torno a los 0.16 kilogramos (Kg) en comparación con aquellos individuos con una baja adherencia a la DMed. Estas evidencias epidemiológicas muestran el hecho de que la dieta con un contenido elevado de grasa en forma de MUFA, como ocurre con el modelo mediterráneo, no contribuye al aumento de peso sino todo lo contrario.

Al igual que ocurre con la obesidad, existen estudios que relacionan el consumo de una DMed con una menor prevalencia (187, 215) e incidencia de SMet (186). En nuestro país, el estudio PREDIMED (PREvención con DIeta MEDiterránea), demostró que intervención con la DMed enriquecida con nueces inducía una reducción de la prevalencia de SMet al año. Además de estos hallazgos, dentro de esta cohorte, el consumo elevado de alimentos típicos de la DMed como el vino, las legumbres y el aceite de oliva se asociaron con una menor prevalencia de SMet (216). Por lo tanto, los datos derivados de dicho estudio sugieren que los alimentos ricos en grasa MUFA constituyen una de las herramientas fundamentales en el manejo del SMet.

Una de las principales causas-consecuencias del SMet es el desarrollo de DM2. A este nivel, existen evidencias epidemiológicas que indican que la DMed reduce la incidencia de DM2 tanto en sujetos sanos (217) como en individuos que han sufrido un evento cardiovascular (218). Uno de los principales efectos beneficiosos de una dieta rica en MUFA deriva de la relación positiva que esta tiene con la secreción de insulina, de tal manera que el consumo de una dieta rica en MUFA aumenta la funcionalidad de la célula β pancreática (219). Como ya comentamos anteriormente, existe un efecto pernicioso de los SFA de la dieta a nivel metabólico en la DM2 de manera que las

recomendaciones actuales abogan por la sustitución de estos nutrientes en la dieta por otros mas “cardiosaludables”. Esta tendencia ha derivado en gran cantidad de trabajos que buscan un patrón dietético mas favorable para estos pacientes. En este sentido, los estudios analizados por Ros en 2003 (220) mostraron un efecto similar en el control glucémico de pacientes diabéticos tanto en dietas ricas en MUFA como en aquellas en las que los SFA eran sustituidos por HC complejos. Adicionalmente, las dietas ricas en MUFA mostraron un efecto más favorable en el control de las distintas alteraciones metabólicas que acompañan a la DM2 (dislipemia, estrés oxidativo, inflamación etc.) y que tienen un efecto proaterogénico en estos pacientes.

El aceite de oliva constituye uno de los principales alimentos de la DMed. Los efectos cardiosaludables de esta dieta pasan, además del alto contenido en MUFA, por diversos micronutrientes o componentes minoritarios, aportados por el aceite de oliva virgen y que le confieren un efecto regulador sobre la función endotelial y el estado proinflamatorio asociado a determinadas patologías como el SMet, la DM2 y la obesidad. Uno de estos componentes son los polifenoles que regulan la expresión de genes relacionados con la inflamación y la función endotelial. De esta forma, a nivel celular, los efectos de la DMed y en especial del aceite de oliva pasan por un efecto:

- Antiinflamatorio: reduce la activación del NF- κ B (*nuclear factor-kapa beta*) (221) encargado de inducir la expresión de citoquinas y células inflamatorias entre otros, disminuye los niveles de PCR-us e IL-6 (185, 222) así como la expresión de otras citoquinas inflamatorias, el TNF- α (223).
- Inhibidor de la expresión de moléculas de adhesión en células del endotelio vascular como con: VCAM-1 (*vascular cell adhesion protein 1*) (224), ICAM-1 (*intercellular adhesion molecule 1*) (225) y la E-selectina (224), responsables de

la respuesta inmune celular y con un papel causal en desarrollo del proceso arteriosclerótico.

- Antioxidante: reduce los niveles de partículas de c-LDL oxidadas y con un mayor poder aterogénico (226, 227) y disminuye los niveles plasmáticos postprandiales de lipoperóxidos, SOD (superóxido dismutasa) y proteínas carboniladas (228).

- Vasomotora: mejora de la función endotelial (229) y la respuesta vasodilatadora dependiente de las células endoteliales (230).

En resumen, el impacto de la MeD en determinadas patologías como el SMet queda claramente demostrada con las evidencias presentadas. El meta-análisis realizado por Kastorini *et al.* en 2011 (188), incluyendo medio millón de personas repartidas en 52 estudios, demostró que la ingesta de una DMed se asocia con una reducción del riesgo de SMet, así como de los componentes individuales que conforman dicho síndrome (perímetro de cintura, c-HDL, TG, glucosa y cifras de TA).

2. NUTRIGENÉTICA Y CRONOBIOLOGÍA EN EL SÍNDROME METABÓLICO:

2.1 Nutrigenética:

2.1.1 Nutrigenética: “la puerta hacia una nutrición personalizada”:

En la última década, gracias fundamentalmente al progreso tecnológico acaecido en el campo de la genómica, se ha producido un gran avance en el conocimiento científico que nos dirige hacia la nutrición personalizada. Muchas evidencias, aunque con ciertas limitaciones, permiten proponer modelos de dietas específicos para la

prevención y tratamiento de las enfermedades crónicas a nivel poblacional como son las producidas a nivel poblacional. Sin embargo, la existencia de una enorme variabilidad interindividual en la respuesta a la dieta y a los propios nutrientes refuerza la importancia del componente genético dentro del concepto de la interacción gen-dieta o gen-nutriente. En este sentido, se ha demostrado que el genoma humano es sensible al entorno nutricional, en una doble dirección, los efectos de la dieta están influidos por los genes, y al mismo tiempo los nutrientes modulan la expresión de los propios genes (231). Por ello, conocer el efecto que tienen las variaciones genéticas, en aquellos locus genéticos involucrados en el metabolismo, y su interacción con otros genes y con factores ambientales, es de especial interés para avanzar en el conocimiento científico de la relación entre dieta y enfermedad (232). El estudio de la distinta respuesta de los individuos a la dieta, dependiendo de la existencia de SNPs funcionales en el genoma, se enmarca dentro del área de la Nutrigenómica y/o Nutrigenética, términos que inicialmente identificaban conceptos diferentes, pero que en la actualidad son utilizados indistintamente, y cuyo objetivo final es generar recomendaciones específicas sobre la mejor composición de la dieta, para el óptimo beneficio de cada individuo (233). La mayoría de las evidencias publicadas proceden de estudios transversales, con variantes genéticas aisladas, lo que ha dificultado la adecuación del patrón predecible de cada persona a un modelo de dieta determinado. Por ello, en los últimos años se han llevado a cabo algunos estudios de intervención (GOLDN, LIPGENE, PREDIMED), con poblaciones amplias y a veces analizando simultáneamente SNPs diferentes, para solventar dichas limitaciones con el objetivo de resolver algunas de las claves de la interacción de los genes con la dieta. De este modo se han identificado algunos SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) que interaccionan con la dieta en pacientes de alto RCV (SMet, DM2, etc.), modificando algunos parámetros de inflamación sistémica, del

metabolismo lipídico y de la glucosa (234-236). Este cuerpo de evidencia sugiere la importancia de identificar poblaciones de riesgo con necesidades nutricionales específicas y prestar especial atención a los factores ambientales, que ya han demostrado su importancia al ser capaces de modificar la respuesta de la interacción de los genes con la dieta (tabaco, alcohol, género, etc.). En esta línea, existen evidencias que analizan la existencia de determinados SNP y su asociación con la obesidad y sus consecuencias metabólicas como por ejemplo la resistencia a la insulina (237). Igualmente, también son varias las evidencias que muestran la interacción de determinados nutrientes, como los ácidos grasos (AG) de la dieta, con el material genético de un individuo provocando efectos metabólicos diferentes derivados tanto del tipo de nutriente como del SNP. Un ejemplo claro, como ya hemos comentado, lo encontramos en los AG que interaccionan con nuestro material genético para provocar efectos metabólicos cardiosaludables como puede ser el incremento de los niveles de c-HDL(238), o el descenso de los niveles de glucosa, c-LDL y TG al producirse la interacción de determinados SNPs con una dieta rica en ácidos grasos poliinsaturados PUFA (239). Por otro lado, el consumo de una dieta rica en MUFA presenta efectos beneficiosos a nivel cardiovascular gracias a su interacción con determinados SNPs (235). Estos ejemplos confirman la importancia de la interacción gen-dieta, demostrando que pacientes obesos, diabéticos etc. con una base genética determinada, pueden mejorar su perfil metabólico cuando consumen un tipo específico de AG. Es interesante destacar que los AG desempeñan un papel fundamental en la activación de factores de transcripción ya que, tras interaccionar con sus ligandos específicos, se unen a regiones concretas del genoma y modifican la transcripción de numerosos genes, influyendo de forma directa o indirecta en la respuesta individual a la dieta.

Hasta la fecha, las evidencias existentes permiten analizar la asociación nutriente-gen-fenotipo, si bien tienen algunas limitaciones, como la falta de replicación de los mismos, el bajo número de casos que se incluyen habitualmente, y los diferentes diseños y metodologías utilizados, algunas de cuyas cuestiones se están resolviendo con estudios a mayor escala, como los que acabamos de mencionar.

Como ya hemos remarcado, mientras que las recomendaciones dietéticas generales pueden ser suficientes para un grupo concreto de personas, es necesario establecer que la variabilidad interindividual que proporciona el material genético hace que un mismo nutriente tenga efectos diferentes entre individuos. Junto al auge de la nutrigenética es importante resaltar el papel que puede tener la epigenética en los próximos años dentro de esta disciplina científica. La traducción final de las proteínas codificadas por nuestros genes así como su funcionalidad, puede verse influenciada por múltiples factores que actúen a nivel postranscripcional y entre ellos la dieta ejerce como uno de los principales factores externos que intervienen en este proceso. El descubrimiento del papel de los miRNAs (*micro ribonucleic acids*) en este sentido será esencial para entender las diferencias en las interacciones gen-dieta.

Por todo ello, en la actualidad se están generando múltiples evidencias científicas que dirigen la nutrición hacia un compendio de recomendaciones específicas en función del mapa genético de un individuo. De esta forma, la nutrición personalizada es un futuro con mucho presente y una realidad más cercana para la próxima década.

2.1.2 Relación de la nutrigenética con el metabolismo lipídico:

La relación entre el metabolismo lipídico y la ECV ha sido claramente establecida. En este contexto la interacción entre factores ambientales, en especial la dieta, y genéticos juega un papel fundamental en el mantenimiento de la homeostasis

del metabolismo lipídico y consecuentemente en la incidencia sobre el desarrollo de arteriosclerosis. Dentro de los parámetros lipídicos, el c-LDL continúa siendo el principal objetivo de control terapéutico (23, 24) y por tanto todos aquellos factores que influyen en los niveles finales de c-LDL deben ser muy tenidos en cuenta. El papel de la apolipoproteína E (apoE) en el metabolismo lipídico y en el transporte de colesterol está bien establecido favoreciendo entre otros procesos el transporte reverso de colesterol. Esta apolipoproteína presenta 3 isoformas (apoE2, apoE3 y apoE4) encargadas de modular los niveles lipídicos y entre ellos los del c-LDL. Tal es así que en un meta-análisis reciente (240) se ha encontrado una importante relación entre los genotipos de la apoE, el c-LDL y el riesgo de ECV. De esta forma, los individuos con el genotipo E2/E2 presentaban unos niveles de c-LDL hasta un 31 % inferiores a los del genotipo E4/E4 por lo que estos últimos tenían un riesgo de enfermedad coronaria mucho mayor, especialmente de IAM. Con lo que acabamos de sugerir, cabe esperar que la variabilidad del gen de la apoE y su interacción con componentes de la dieta, en especial la grasa, tenga un efecto sobre el perfil lipídico. Tal es así que se ha demostrado que el SNP -219G/T del gen de la apoE interacciona con una dieta rica en SFA incrementando los niveles de c-LDL así como un aumento en la oxidación de estas partículas lipídicas (241). Junto a esta evidencia existen otros trabajos que también han demostrado la relación entre la variabilidad del gen de la apoE y los niveles de c-LDL al interaccionar con los AG de la dieta (242, 243). PPAR α también juega un papel importante en el metabolismo lipídico favoreciendo el transporte reverso de colesterol al favorecer el aclaramiento de las lipoproteínas ricas en TG junto con un aumento en los niveles de c-HDL. Del mismo modo, la variabilidad genética en el gen promotor del PPAR α incide en el metabolismo lipídico, en concreto se ha demostrado que el SNP Leu162Val interacciona con una dieta rica en grasa influyendo en los niveles de c-LDL

y apoB (244). Por último cabe destacar la relación del *scavenger receptor class B type 1* (SCARB1) y los niveles de c-LDL de sujetos sanos durante el consumo de distintas dietas con distinta composición cualitativa de grasa (245). Esta relación deriva del papel de este gen sobre el transporte de colesterol ya que se encarga de codificar una proteína transmembrana que participa en el flujo de colesterol a través de las membranas celulares a nivel hepático.

En contraposición a lo que ocurre con el c-LDL, el c-HDL constituye un factor protector frente a la ECV (246) ya que se encarga de transportar las partículas de colesterol desde tejidos periféricos al hígado para ser metabolizado. En este transporte reverso de colesterol existen también una gran cantidad de interacciones gen-dieta que influyen en los niveles plasmáticos de c-HDL. Un buen ejemplo de ello lo encontramos en las variantes polimórficas de la apolipoproteína A1 (apoA1) que interactúan fundamentalmente con PUFA de la dieta incrementando los niveles de c-HDL según el tipo de alelo que presente el individuo (238, 247). Incluso también se ha podido observar como determinados SNPs del gen promotor del TNF- α pueden influir en la asociación entre la dieta rica en PUFA y los niveles de c-HDL y apoA1 (248). Este hecho se debe a que el TNF- α , además de ejercer su acción principal en la respuesta inflamatoria, puede influir sobre el metabolismo lipídico modificando la expresión de LPL, PPAR y otras apolipoproteínas además de la apoA1 como al apo E. Otro cofactor importante en el transporte reverso de colesterol lo encontramos en la lipasa hepática que ejerce un papel importante en este proceso de manera que la variabilidad genética en el gen promotor de esta enzima interactúa con la dieta influyendo en los niveles plasmáticos de c-HDL (249).

Existen gran cantidad de evidencias que indican que los niveles elevados de TG constituyen un factor de riesgo independiente para la ECV (250). La variabilidad

interindividual en los niveles plasmáticos de TG está determinada también por factores ambientales y genéticos que interaccionan entre si de forma compleja (251). Como ya hemos mencionado anteriormente, el gen del PPAR α regula la expresión de una gran cantidad de genes implicados en el metabolismo lipídico incluyendo también a TG, en este sentido, se ha podido comprobar como la variabilidad en el gen del PPAR α en concreto la presencia del SNP *rs1800206*, interacciona con la ingesta de PUFA en distintas proporciones para modular los niveles de TG y apolipoproteína C-III (apoC-III) (252). En concreto, los portadores del alelo 162V presentaban niveles más elevados de TG y apoC-III cuando la ingesta de PUFA era baja. Junto al papel del PPAR α , la apolipoproteína A5 (apoA5) es un determinante importante en el las concentraciones plasmáticas de TG debido a su papel estructural en el c-HDL y Qm así como en la activación de la LPL. En este sentido, la presencia del SNP *rs662799* en el gen de la apoA5 se ha relacionado con mayores niveles plasmáticos de TG en los portadores de alelo C. Junto a este hallazgo también se ha observado la interacción de este SNP con la ingesta de PUFA modulando tanto los niveles como las características (tamaño y densidad) de los TG plasmáticos (253, 254). Además de estas evidencias, se han observado interacciones gen-dieta en determinados genes que no actúan directamente sobre el metabolismo lipídico como es el caso del gen de la óxido nítrico sintetasa (ONS3) que se encarga de regular la función endotelial y la presión arterial. En concreto se ha demostrado que la presencia del SNP *rs1799983*, interacciona con los AG ω -3 de manera que los TG plasmáticos varían sus concentraciones en función de la ingesta de AG ω -3 y del tipo de alelo que presente el individuo (255).

2.1.3. Relación de la nutrigenética con el metabolismo de los hidratos de carbono:

El análisis del genoma humano en distintos grupos poblacionales con diferencias étnicas, ha permitido identificar una gran cantidad de genes que aportan un riesgo añadido de padecer DM2. Uno de estos genes es el que se encarga de codificar a la calpaína 10, una proteasa con un importante papel en la homeostasis celular; este gen CAPN10 fue el primero en relacionarse con una mayor susceptibilidad de padecer DM2 (256). De esta forma, se ha demostrado como este gen juega un papel fundamental en el mecanismo de resistencia a la insulina (257) entre otros rasgos fenotípicos del SMet como la HTA. Sin embargo si hay que hablar de un gen relacionado con una mayor susceptibilidad a padecer DM2, ese es el *transcription factor 7-like 2* (TCF7L2) descubrimiento llevado a cabo en el año 2006 y que identificó una funcionalidad de la célula β claramente inferior en relación con este gen (258, 259). En concreto, el SNP *rs7903146* constituye uno de los principales en relación a una mayor susceptibilidad de padecer DM2 (258, 260-267). Del mismo modo este SNP se ha relacionado con un mayor riesgo de desarrollar SMet como comentaremos más adelante. Junto a estos hallazgos, existen gran cantidad de evidencias para demostrar que los efectos genéticos de las variantes polimórficas del gen TCF7L2 pueden ser moduladas por múltiples factores ambientales y entre ellos lógicamente la dieta. En el trabajo realizado por Flores *et al.* en 2006 (258) los pacientes con sobrepeso y una glucemia basal alterada eran sometidos a una intervención dietética junto a otros hábitos de vida saludables. Tras un periodo medio de 4 años los autores encontraron que los SNPs del gen TCF7L2 estaban asociados con una mayor incidencia de DM2 en aquellos pacientes que no recibieron la intervención. En esta línea Phillips *et al.* han sido capaces de verificar cómo la grasa de la dieta modula la relación del SNP *rs7903146* del gen TCF7L2, de

manera que una dieta rica en SFA provoca un empeoramiento de los parámetros que definen la sensibilidad a la insulina en los portadores de alelo T frente a los homocigotos para el alelo C (268). Otros SNPs también han mostrado una interacción con una dieta rica en SFA modulando el riesgo de desarrollar DM2 como es el caso del SNP *rs2270188* del gen *CAV2*. En este caso, los individuos homocigotos para el alelo T presentan un mayor riesgo de desarrollar DM2 cuando el porcentaje de SFA en la dieta aumenta, en comparación con los portadores del alelo G (269). Recientemente también hemos podido observar como la adherencia a un modelo de dieta mediterráneo interacciona con nuestro material genético atenuando el riesgo de desarrollar DM2 en los portadores del alelo A para el SNP *rs9939069* del gen *FTO* (*Fat Mass and Obesity*) y en los portadores del alelo C para el SNP *rs17782313* del gen *MC4R* (*Melanocortin-4 Receptor*) (270). Este fenómeno no resulta sorprendente debido a la evidencia creciente del efecto protector que la DMed tiene sobre el riesgo de desarrollar DM2 (271).

Obesidad, SMet y DM2 se asocian a un status inflamatorio crónico (272), de tal forma que la presencia de determinados SNPs y en concreto los relacionados con la codificación de citoquinas proinflamatorias como TNF- α (*rs1800629*) e IL-6 (*rs1800795*; *rs1800797*) juegan un papel central en dichas patologías (273, 274). Estos SNPs junto al SNP *rs915654* del gen de la linfotoxina- α (LTA) han sido estudiados en el estudio LIPGENE-SU.VI.MAX. Phillips *et al.* observaron que los portadores del alelo G para el *rs1800629* y del alelo A para el SNP de la LTA presentaban un mayor riesgo de desarrollar SMet (275). Este riesgo aumentaba con la presencia del alelo G del SNP *rs1800797* del gen de la IL-6. De esta forma, el riesgo de padecer SMet y obesidad en los portadores de estos 3 alelos llega a duplicarse. Otro de los cofactores fundamentales en la respuesta inflamatoria es la fracción 3 del complemento (C3) y sus niveles elevados en sangre también han sido relacionados con una mayor incidencia de

DM2, obesidad y SMet (276). En los últimos años ha aumentado el conocimiento del tejido adiposo como órgano hormonal activo e independiente y su papel en múltiples procesos fisiológicos del organismo como el caso de la inflamación. Múltiples sustancias secretadas por el adipocito (adipoquinas) participan en el proceso inflamatorio de manera que, como cabe esperar, la variabilidad en los genes que codifican estas adipoquinas como la adiponectina y la leptina pueda tener relación con una mayor resistencia a la insulina, en parte influenciado por el estado proinflamatorio (277, 278). Todas estas asociaciones muestran el nexo de unión entre la variabilidad genética de determinados SNPs relacionados con la inflamación y la mayor incidencia de obesidad, resistencia a la insulina y SMet. Estas asociaciones pueden ser moduladas también por factores externos como los AG de la dieta, que traducen la forma en cómo nos alimentamos. En concreto, se ha podido observar que la relación de los 3 SNPs mencionados anteriormente, *rs915654* (LTA), *rs1800629* (TNF- α) y *rs1800797* (IL-6), y el riesgo de desarrollar SMet se puede modificar en función del tipo de grasa ingerido en la dieta, de tal forma que el riesgo es mucho cuando se aumenta el contenido de SFA frente a PUFA y viceversa (275). Estas interacciones gen-dieta se extienden a otros SNPs especialmente relacionados con la inflamación, como es el gen de la adiponectina (ADIPOQ): *rs266729* y *rs17300539*. Específicamente, la ingesta de una dieta rica en MUFA provoca un aumento en la sensibilidad a la insulina en los homocigotos C/C del SNP *rs266729* (279) y un descenso en el riesgo de obesidad en los portadores del alelo A del *rs17300539* (280). Otra adipoquina interesante, debido a su asociación con la resistencia a la insulina, es la leptina y su receptor. Para el gen encargado de codificar al receptor de la leptina (LEPR) se ha observado como uno de sus SNPs, el *rs3790433*, se relaciona con una mayor incidencia de SMet. Esta asociación puede ser modulada por la ingesta de PUFA en la dieta, de tal forma que una ingesta elevada de PUFA atenúa

dicha asociación y por el contrario, el consumo de una dieta baja en PUFA aumenta el riesgo de padecer SMet en los homocigotos G/G (278).

2.1.4 Nutrigenética en el síndrome metabólico:

En el manejo de las comorbilidades provocadas por el SMet, además del tratamiento farmacológico, las modificaciones en el estilo de vida, fundamentalmente la actividad física y los hábitos dietéticos, son un pilar fundamental para mejorar la calidad de vida de estos pacientes. En relación a este tema, es conocido que la grasa que ingerimos en la dieta juega un papel principal en el desarrollo de SMet; tal es así que se ha visto como una dieta rica en vegetales, frutas y pescado y baja en grasa, ejerce un efecto protector sobre el desarrollo de SMet (281). En el estudio PREDIMED, el modelo DMed indujo un descenso en la prevalencia de SMet, durante el primer año de seguimiento, favorecido fundamentalmente por la reducción del perímetro de cintura en estos pacientes (187). Además, el consumo de alimentos típicos de la DMed, como el aceite de oliva virgen, se asoció con una menor prevalencia de SMet en un subgrupo de estos pacientes (216). De esta manera el patrón dietético mediterráneo ha demostrado su efecto protector sobre algunas de las alteraciones que subyacen en el paciente con SMet, tales como la presión arterial y los niveles de TG elevados (282).

A pesar de la gran cantidad de estudios que muestran el efecto beneficioso del consumo de PUFA en la dieta, existen evidencias que apuntan a lo contrario como es el caso del estudio *Women's Health Study* que mostró una mayor incidencia de DM2 asociada al consumo elevado de AG ω -3 (283). Este trabajo apoya el hecho de que no todos los nutrientes presentan un efecto beneficioso universal, y que existe una importante variabilidad interindividual. Por todo ello, la Nutrigenética tiene el reto de poder explicar los mecanismos subyacentes que determinan el efecto modulador de la

dieta sobre la salud de los individuos y la génesis de determinadas patologías como el SMet (282). Como ya hemos mencionado, la relación de la adiponectina con la resistencia a la insulina, determina que la variabilidad en los genes encargados de codificar a la adiponectina (ADIPOQ) y a sus receptores (ADIPOR) se han relacionado con una mayor incidencia de SMet (284). Esta mayor predisposición genética interacciona con los nutrientes de la dieta observándose como la reducción de la cantidad de SFA en la dieta influye de forma positiva en el metabolismo de la glucosa de estos pacientes (277, 279) tal y como hemos indicado previamente. La interacción de determinados SNPs de los genes ADIPOQ y ADIPOR con una ingesta rica en MUFA ha permitido atenuar determinados rasgos fenotípicos del SMet (279, 280).

La calpaina-10 (CAPN10) es una molécula con un papel fundamental en el funcionamiento de la célula β debido a su función en la secreción de insulina a dicho nivel. El gen CAPN10 se ha asociado a múltiples componentes del SMet como son los niveles elevados de TG (285), el IMC (286) y la HTA (287). En el estudio LIPGENE, se demostró como el SNP *rs2953171* del gen CAPN10 interaccionaba con los niveles SFA de manera que los homocigotos GG para este SNP presentaban una mayor sensibilidad a la insulina cuando el % de SFA en plasma era bajo. Por el contrario no se han encontrado interacciones significativas de este gen con MUFA o PUFA.

Otro efecto importante en el metabolismo de la glucosa y cuya variabilidad genética se encuentra relacionada con el SMet es la proteína reguladora de la glucoquinasa (GCKR). Su papel en la metabolización de la glucosa a nivel hepático le confiere un peso específico elevado en la génesis de la resistencia a la insulina que aparece en el SMet junto con otros rasgos de esta patología como pueden ser los niveles elevados de TG (288) y de PCR-us (289). En otro trabajo derivado de la cohorte LIPGENE, también se demostró la interacción del SNP *rs1260326* del gen GCKR con

AG ω -3 plasmáticos de manera que los homocigotos C/C presentaban unos menores niveles de insulina basal, péptido C y HOMA-IR en comparación con los portadores del alelo T cuando los niveles de AG ω -3 plasmáticos eran elevados. De esta forma es probable que un mayor consumo de AG ω -3 en los pacientes homocigotos C/C para este SNP con SMet tenga un efecto beneficioso sobre la resistencia insulínica y el estado proinflamatorio en estos individuos. Como hemos mencionamos en el apartado anterior, el TCF7L2 tiene una importante relación con los componentes del SMet debido a su diversidad de funciones que van desde el adipocito a la célula β pancreática pasando por la secreción de cortisol y aldosterona. Esta relación quedó demostrada en el trabajo de Delgado-Lista *et al.* en donde se analizaron varios SNPs del gen del TCF7L2 (*rs7903146*, *rs1196224*, *rs17685538* y *rs290481*) y su relación con distintos rasgos del SMet, tales como la resistencia a la insulina, la dislipemia y la HTA. Los hallazgos de este trabajo mostraron que los portadores del alelo minoritario T para el *rs7903246* presentaban una secreción de insulina y unas cifras de presión arterial inferiores a los portadores del alelo mayoritario C. Por otro lado, los portadores del alelo minoritario A *rs290481*, presentaron mayores concentraciones en apoB, NEFAs y LRT. De forma interesante, se objetivó que la dieta modula la relación de estos SNPs con los rasgos fenotípicos del SMet y específicamente las concentraciones plasmáticas de SFA. Así los portadores del alelo minoritario del *rs1196224* mostraron mayores niveles plasmáticos de IL-6, activador tisular del plasminógeno y HOMA-IR. Por otro lado, los portadores del alelo minoritario G para el *rs17685538*, mostraron cifras de presión arterial superiores a las de los portadores del alelo mayoritario C, en presencia de niveles plasmáticos de SFA elevados (290). Por otro lado, Phillips *et al.* han demostrado la interacción del SNP *rs7903416* del gen TCF7L2 con la composición cualitativa de la grasa de la dieta mediante un estudio de casos y controles en pacientes con SMet. De

esta manera demostraron como una ingesta elevada de SFA en la dieta se relaciona con un mayor riesgo de SMet (odds ratio [OR]: 2,35) y una mayor resistencia a la insulina en los portadores de alelo T (268).

Las evidencias científicas presentadas en los apartados anteriores refuerzan la idea de la nutrigenética como rama importante de la nutrición que puede permitir un mejor control de los pacientes con SMet y enlentecer el efecto pernicioso que tiene esta constelación de alteraciones metabólicas sobre la progresión de la ECV. Estas evidencias muestran la gran cantidad de trabajos que amplían el catálogo de genes que interaccionan con la dieta para modular el riesgo de SMet mediante un efecto directo sobre su patogenia (291-294) (**Tabla 3**). Por lo tanto y a pesar del gran avance científico generado en este campo, necesitamos estudios con un mayor diseño epidemiológicos junto con intervenciones dietéticas más prolongadas en el tiempo que permitan reproducir de manera más fidedigna las interacciones gen-dieta. Junto a este fenómeno es importante analizar y aclarar los mecanismos y factores que interfieren entre la expresión de nuestros genes y sus efectos en nuestra homeostasis interna poniendo especial hincapié en la epigenética para dar explicación al desarrollo y progresión de enfermedades como el SMet.

Tabla 3. Interacciones gen-dieta relacionadas con la modulación del riesgo de SMet.

<i>Gen</i>	<i>SNP</i>	<i>Nutriente</i>	<i>OR</i>	<i>Resultados</i>	<i>Ref.</i>
ACC2	<i>rs4766587</i>	AG ω -6 (PUFA)	1,82	Consumo de grasa > 35% y AG ω -6 (>5,5%) exacerbó el riesgo de SMet (OR de 1,60 a 1,82).	(294)
APOA1	<i>rs670</i>	MUFA	1,57	El riesgo de SMet aumenta con consumo de grasa > 35% (OR 1,58). El consumo elevado de MUFA también aumento el riesgo (OR 1,57).	(295)
APOB	<i>rs512535</i>	MUFA	1,89	El riesgo de SMet aumenta con el consumo de grasa > 35% (OR 2,00). El consumo elevado de MUFA también aumento el riesgo (OR 1,89).	(295)
C3	<i>rs2250656</i> † <i>rs11569562</i> ‡	AG ω -6 (PUFA)	2,2† 0,32‡	A/A para el SNP <i>rs2250656</i> tenían un mayor riesgo de SMet (OR 2,2) en comparación con los portadores del alelo G. G/G para el SNP <i>rs11569562</i> tenían un riesgo menor de SMet (OR 0,32) en comparación con los portadores de alelo menor A.	(296)
ACSL1	<i>rs9997745</i>	PUFA	riesgo N	G/G mayor riesgo de SMet (OR 1,90) comparado con portadores del alelo A. Este riesgo desaparecía cuando consumían una dieta baja en grasa o rica en PUFA.	(297)
LTA IL-6 TNF-α	LTA <i>rs915654</i> TNF- α <i>rs1800629</i> IL-6 <i>rs1800797</i>	Ratio PUFA/SFA	4,4	Portadores de alelo menor A del <i>rs915654</i> y portadores de alelo mayoritario G del <i>rs1800629</i> del TNF- α tenían mayor riesgo de SMet (OR 1,37 y OR 1,35). Este riesgo aumentaba (OR 2,10) si además el individuo era homocigoto G/G para el <i>rs1800797</i> del gen LTA. Ratio PUFA/SFA <0,5 se relacionó con un aumento del riesgo de SMet (OR 4,4).	(275)
TCF7L2	<i>rs7903146</i>	SFA	2,35	El consumo elevado de SFA en la dieta (> 15,5 %) aumenta el riesgo de SMet (OR 2,35) y además se asoció con un aumento de la resistencia a la insulina en los portadores del alelo T del <i>rs7903146</i> comparado con los individuos C/C y los portadores del alelo T con una ingesta baja de SFA.	(268)

ACC2, acetil-CoA carboxilasa β ; *ACSL1*; acil-Co A sintetasa de cadena larga 1; AG ω -6, ácidos grasos omega-6; *apoA1*, apolipoproteína A1; *apoB*, apolipoproteína B; *C3*, fracción 3 del complemento; *IL-6*, interleuquina 6; *LTA*, linfotoxina A; *MUFA*, ácidos grasos monoinsaturados; *N*, neutralizado; *OR*, odds ratio; *PUFA*, ácidos grasos polinsaturados; *Ref.*, referencia; *SFA*, ácidos grasos saturados; *SMet*, síndrome metabólico; *SNP*, polimorfismo; *TCF7L2*, factor de transcripción 7 tipo2; *TNF- α* ; factor de necrosis tumoral alfa.

Adaptación de Perez-Martinez P, Phillips CM, Delgado-Lista J, Garcia-Rios A, Lopez-Miranda J, Perez-Jimenez F. Nutrigenetics, metabolic syndrome risk and personalized nutrition. *Curr Vasc Pharmacol*. 2013 Nov;11(6):946-53.

2.2 Cronobiología:

2.2.1 Conceptualización:

La actividad fisiológica de los seres vivos en sus distintos niveles de organización, se rige por determinados ritmos biológicos que oscilan a lo largo del día. De esta forma la cronobiología constituye aquella rama de la ciencia encargada del estudio de estos ritmos biológicos que acontecen en los seres vivos durante las distintas horas del día. El ciclo de luz-oscuridad que se produce a lo largo del día gobierna la fisiología de la mayor parte de los seres vivos. Gracias a estos ritmos circadianos, nuestro organismo es capaz de adaptar y anticipar el funcionamiento de su homeostasis interna en respuesta a determinados estímulos medioambientales como puede ser la ingesta de alimento.

2.2.2 Organización estructural y funcional del reloj circadiano:

Estudios genéticos y moleculares muestran que a nivel celular, nuestro ritmo circadiano se encuentra regulado por una serie de *feedbacks* que varían entre unos factores activadores: *circadian locomotor output cycles kaput (CLOCK)* y *brain and muscle ARNT-like protein 1 (BMAL-1)* y otros factores inhibidores: *period 1, 2 y 3 (Per 1, 2 y 3)* y *cryptochrome 1 y 2 (Cry 1 y 2)* que interaccionan entre la activación e inhibición de distintos procesos biológicos a lo largo de las 24 h del día (298, 299). Junto a este bucle existen otros mecanismos de feedback que implican a receptores nucleares y que participan la regulación de la expresión del complejo *CLOCK/BMAL-1*: *reverse erythroblastosis virus α (Rev-Erba)* con efecto negativo y *retinoid-related orphan receptor- α (Rora)* con efecto positivo sobre la expresión de este heterodímero. Junto a *Rev-Erba*, los factores inhibidores *Cry* y *Per* forman otro heterodímero que a nivel nuclear bloquea también la actividad del complejo *CLOCK/BMAL-1* (**Figura 4**)

(298, 299). La actuación inhibitoria del heterodímero *Cry-Per* sobre el complejo *CLOCK/BMAL-1* se lleva a cabo durante la fase de oscuridad del día. La transcripción de este complejo *CLOCK/BMAL-1* activa la expresión de una serie de genes implicados en distintos procesos metabólicos como son por ejemplo el gen *PPARα* (*Peroxisome Proliferator-activated receptor alpha*) y el *SIRT-1* (sirtuina-1) y que son los genes controlados por el reloj (*CCGs*: *clock-controlled genes*) (298, 299).

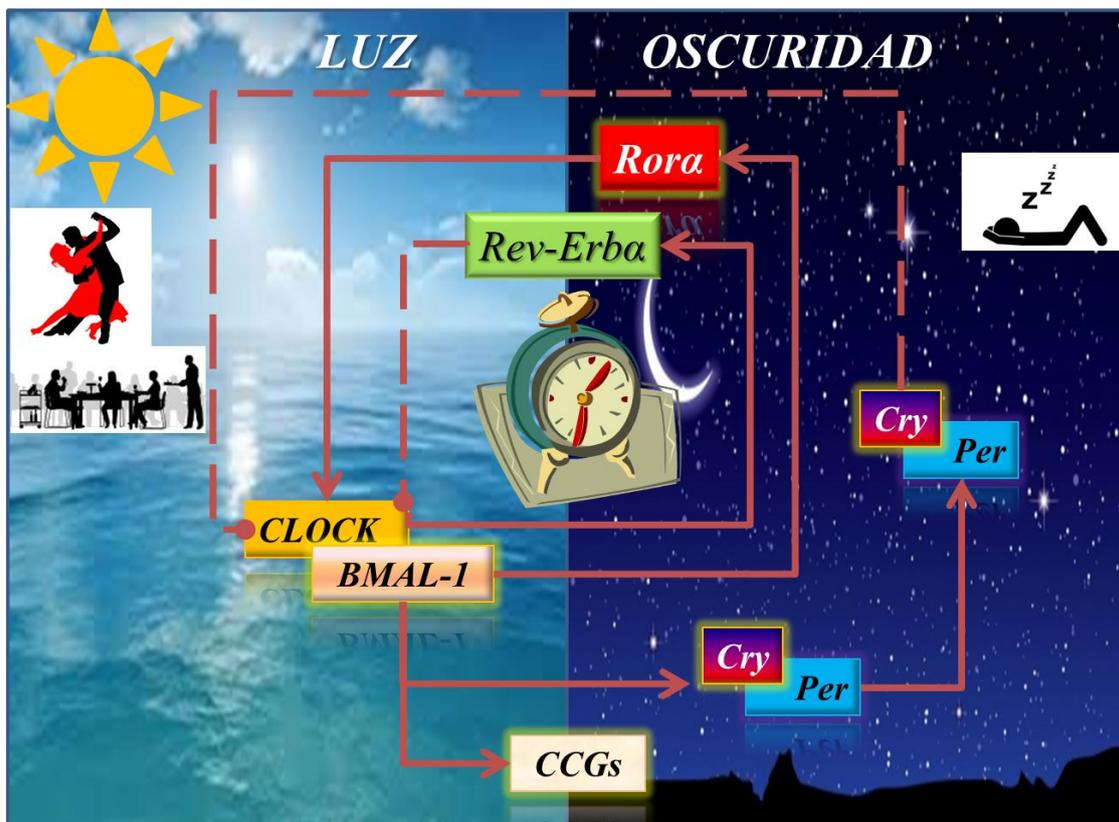


Figura 4: Organización molecular del reloj circadiano a nivel cerebral y en tejidos periféricos. Adaptación extraída de Maury E, Hong HK, Bass J. Circadian disruption in the pathogenesis of metabolic syndrome. *Diabetes Metab.* 2014 Jan 14. *CCGs*, *clock-controlled genes*; *CLOCK/BMAL-1*, *circadian locomotor output cycles kaput / brain and muscle ARNT-like protein 1*; *Cry-Per*, *cryptochrome-period*; *Rev-Erba*, *reverse erythroblastosis virus a*; *Rora*, *retinoid-related orphan receptor-a*. Línea sólida: estimulación. Línea discontinua: inhibición.

Con respecto a su estructura organizativa, los ritmos circadianos se encuentran regulados por un marcapasos central localizado en el núcleo supraquiasmático (NSQ)

del hipotálamo, a nivel cerebral. El reajuste endógeno de este reloj central se produce gracias a una serie de estímulos ambientales (sincronizadores) que oscilan aproximadamente a lo largo de las 24 h que dura el día. De todos estos sincronizadores, el ciclo luz/oscuridad, constituye la principal entrada que regula la activación del ritmo circadiano. Este estímulo es transmitido al NSQ a través del tracto retinohipotalámico y junto a este pueden existir otras entradas periódicas como la actividad física programada o la ingesta de alimento. De esta forma el NSQ sincroniza la actividad circadiana a nivel de tejidos periféricos (corazón, hígado, intestino, tejido adiposo etc.) mediante mecanismos humorales (melatonina y glucocorticoides entre otros), y la activación del sistema nervioso autónomo para generar distintos procesos rítmicos que engloban tanto procesos fisiológicos como conductuales (**Figura 5**).

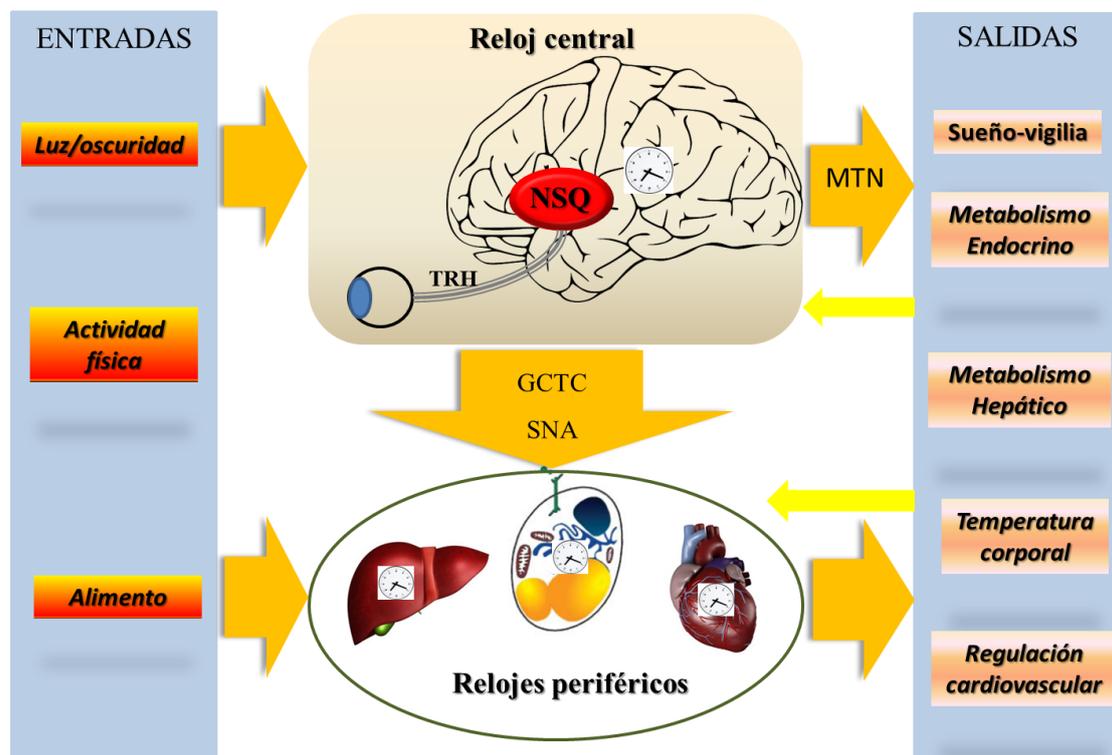


Figura 5: Organización funcional y estructural del reloj circadiano a nivel cerebral y en tejidos periféricos. Adaptación extraída de Garaulet M, Madrid JA. Chronobiology, genetics and metabolic syndrome. *Curr Opin Lipidol.* 2009 Apr;20(2):127-34. *GCTC*, glucocorticoides; *MTN*, melatonina; *NSQ*, núcleo supraquiasmático; *SNA*, sistema nervioso autónomo; *TRH*, tracto retinohipotalámico.

2.2.3 El principal “reloj periférico”, el adipocito:

Como ya hemos mencionado, el control principal de los ritmos circadianos en nuestro organismo se lleva a cabo por el NSQ y para que dichos ritmos se mantengan en sincronía con las entradas del exterior es necesario que el marcapasos central se coordine con el resto de relojes secundarios presentes en distintos tejidos y órganos como son el corazón, el hígado, el páncreas y el tejido adiposo (300). A nivel del adipocito acontecen gran cantidad de procesos metabólicos que le han llevado a ser considerado un auténtico órgano endocrino. De esta forma, procesos metabólicos como la lipogénesis entre otros y la expresión de adipoquinas como la leptina, la resistina y la adiponectina son regulados de forma cíclica gracias a la existencia de genes reloj a nivel del adipocito presente tanto en la grasa visceral como en la subcutánea. De todas las adipoquinas señaladas es importante destacar la adiponectina por su correlación negativa con la adiposidad, la resistencia a la insulina y su papel antiinflamatorio. Esta adipoquina muestra una expresión reducida en personas obesas, incluso existen evidencias epidemiológicas de una menor expresión en hombres con respecto a mujeres. Por lo tanto y además de tener un claro efecto protector en el desarrollo de obesidad y SMet, su expresión muestra un claro patrón circadiano oscilante a lo largo del día (301). La leptina también presenta una expresión cíclica a lo largo del día, de hecho esta hormona se encarga del control del apetito de manera que su expresión, al igual que la de su receptor (LEPR) se encuentra disminuida durante la noche coincidiendo con el periodo de descanso y con una menor oportunidad de consumo de alimentos (302).

Si bien la mayor parte de la evidencia aportada sobre de la existencia de estos genes reloj en el tejido adiposo era de modelos animales, en 2008, Gómez-Abellan *et al.* demostraron la existencia de estos genes reloj en el tejido adiposo visceral y subcutáneo de humanos (303). Además de demostrar la expresión cíclica de genes como *BMAL-1*,

Cry 1 y *Per 1*, también encontraron una relación entre su expresión y el contenido de grasa abdominal y otros componentes relacionados con el SMet. Este hallazgo es fundamental y pone de relieve la enorme importancia del correcto funcionamiento de estos genes reloj a nivel del adipocito y cómo la desincronización en el funcionamiento de estos genes puede estar detrás de la génesis de patologías como la obesidad y el SMet. La expresión de estos genes reloj también difiere entre los depósitos grasos de manera que existen diferencias en la expresión de genes reloj entre los depósitos grasos subcutáneo y visceral. Un caso es el de los genes relacionados con el metabolismo del cortisol. Se ha demostrado que los genes encargados de la expresión del receptor de glucocorticoides (GCTC), de las enzimas 11beta-hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 1 y 2 (11betaHSD1 y 2) y PPAR entre otros presentaban un patrón circadiano a lo largo del día con una mayor oscilación en el tejido adiposo visceral procedente de pacientes con obesidad mórbida cultivado *ex vivo*. Además, el gen de la 11betaHSD2 presentaba una mayor expresión a nivel de la grasa visceral en comparación con la subcutánea (304). Junto a estas evidencias también se ha demostrado la actuación independiente del marcapasos adipocitario con respecto al NSQ y en concreto en la expresión de genes como el BMAL-1 y Per 2 (305).

Como ya hemos mencionado, es necesaria una adecuada sincronía entre el marcapasos central (NSQ) y los marcapasos periféricos para un adecuado funcionamiento de nuestro ritmo circadiano; sin embargo, el marcapasos periférico adipocitario es capaz de actuar de forma autónoma regulando la expresión de genes implicados en distintos procesos metabólicos que acontecen en el tejido adiposo.

2.2.4 Causas de cronodisrupción:

La desincronización entre nuestro reloj interno y los cambios cíclicos medioambientales encargados de engranar adecuadamente la maquinaria cronobiológica, así como determinadas alteraciones en los efectores encargados de controlar de forma rítmica nuestros procesos fisiológicos pueden dar lugar al fenómeno conocido como cronodisrupción.

Filogenéticamente, nuestra fisiología no se encuentra preparada para la situación actual en donde el trabajo por turnos, el avance de los medios de transporte y el aumento de la actividad nocturna generan alteraciones en el funcionamiento normal de nuestros ritmos circadianos incidiendo en el desarrollo de distintos tipos de enfermedades. Una de las principales causas de cronodisrupción es la alteración del principal sincronizador que tiene nuestro reloj biológico, el ciclo de luz/oscuridad. De esta manera factores como la contaminación lumínica que se produce en los núcleos urbanos pueden provocar la aparición de manifestaciones patológicas relacionadas con la cronodisrupción (306). Por otro lado, las alteraciones en los horarios de la ingesta de alimentos y la modificación de estilos de vida predominantemente nocturnos provocan la aparición de obesidad, diabetes y como ya hemos mencionado en este trabajo una mayor incidencia de ECV.

La capacidad de adaptación de nuestro reloj central y su sincronización con los relojes periféricos va a determinar una amortiguación variable ante las modificaciones medioambientales que hemos mencionado. A este nivel jugaran un papel fundamental la variabilidad genética de los individuos de manera que según la presencia de determinados polimorfismos (SNPs), el riesgo de desarrollar determinadas

manifestaciones patológicas de la cronodisrupción como: neoplasias, ECV y alteraciones psiquiátricas variará de unos individuos a otros (298).

Por último, el tercer pilar fundamental en la aparición de la cronodisrupción está en los efectores del reloj central a distintos órganos y tejidos del organismo. En este aspecto la melatonina juega un papel fundamental puesto que presenta efectos muy beneficiosos a distintos niveles de nuestro organismo. La ritmicidad de esta hormona presenta efectos antioxidantes, antiinflamatorios y se postula como un factor epigenético fundamental en el funcionamiento de nuestro organismo (307). Además, su efecto beneficioso sobre el metabolismo de la glucosa ha sido demostrado en diversos trabajos con modelos animales en donde la suplementación con melatonina consiguió reducir la resistencia a la insulina en ratones obesos y restaurar la homeostasis de la glucosa en estos animales al favorecer el efecto vasodilatador de la insulina en uno de los principales tejidos que consumen glucosa, el músculo (308).

2.2.5 Cronobiología, obesidad, síndrome metabólico y su relación con la enfermedad cardiovascular:

Ya se ha mencionado que el consumo de una dieta inadecuada, con excesivo aporte calórico asociada a un estilo de vida sedentario y a un ciclo de sueño-vigilia alterado tiene un impacto perjudicial sobre nuestro metabolismo. De esta forma, existen múltiples evidencias epidemiológicas que relacionan la alteración de los ritmos circadianos en seres humanos con el desarrollo de DM2, obesidad y SMet en individuos que presentan una actividad laboral por turnos, o alteraciones en el sueño derivadas del jet-lag y que exponen sus patrones circadianos de forma inversa a los ciclos de luz/oscuridad (309, 310). En trabajadores por turnos está demostrada una mayor prevalencia de obesidad abdominal y otras alteraciones del SMet como son el exceso de

TG y los niveles reducidos de c-HDL tal y como demostró Karlsson *et al.* sobre una cohorte de 27.485 trabajadores por turnos de Suecia (311). Estas alteraciones son consecuencia de alteraciones en las señales hormonales generadas por los relojes central (NSQ) y periféricos como son la leptina (312) y la melatonina (313) cuya ritmicidad se encuentra alterada en estos trabajadores por turnos generando un aumento en los valores de glucosa plasmática, un aumento de los niveles de insulina así como una mayor resistencia en tejidos periféricos, una elevación en los niveles de TG y unas cifras de presión arterial mayores. Además se ha demostrado que los hábitos dietéticos inciden de forma fundamental en la aparición de obesidad y SMet. En este contexto, Garaulet *et al.* (314) han demostrado que ante una dieta dirigida a la reducción de peso durante 20 semanas, los individuos que tomaban el almuerzo antes de las 15:00 h presentaban una mayor pérdida de peso que aquellos que lo hacían pasada esa hora. Sorprendentemente la composición de la dieta, el gasto y la ingesta calórica, los niveles de ghrelina y leptina y el número de horas de sueño era similar en ambos grupos.

La mayor prevalencia de obesidad, DM2 y SMet derivada de la cronodisrupción genera una mayor incidencia de ECV en estos individuos. Tal es así que la modificación en los periodos de luz-oscuridad que se dan en la estación primaveral se ha asociado con una mayor incidencia de IAM (315). Determinadas patologías cardiovasculares relacionadas con el SMet como el IAM, la enfermedad cerebrovascular y la muerte súbita han mostrado un mayor pico de incidencia durante las primeras horas de la mañana. Este fenómeno epidemiológico está determinado a nivel por hormonal por las variaciones, a lo largo del día, en la síntesis de GCTC, aldosterona, angiotensina-II y la actividad de la ON-sintasa que regulan la reactividad vascular y las oscilaciones rítmicas de la PA a lo largo de las 24 h del día (316). Durante la noche las cifras de PA se reducen volviendo a alcanzar niveles máximos durante las primeras horas de la

mañana (patrón *dipper*). Sin embargo algunos individuos no presentan este descenso fisiológico de la PA (patrón *non-dipper*) por lo que el riesgo de ECV es superior en estos individuos. Este patrón circadiano de PA es típico también de trabajadores por turnos de manera que el “no” descenso fisiológico de la PA durante la noche constituye un factor de predictor ECV y lesión de órgano diana tal y como muestran múltiples estudios epidemiológicos. Uno de ellos demostró un mayor riesgo de ECV en individuos con un patrón circadiano *non-dipper*, incluso en aquellos con cifras normales de PA, el estudio se llevó a cabo en 3.344 individuos (1.718 varones vs. 1.626 mujeres) con una media de edad de $52,6 \pm 14,5$ años seguidos durante 5 años de media (317). Junto a este trabajo, recientemente se han publicado resultados que muestran la relación hormonal de la ghrelina y la obestatina (péptido sintetizado en el mismo gen que la ghrelina pero que presenta un efecto antagónico sobre ella) con los parámetros del ciclo sueño-vigilia y las oscilaciones de la PA a lo largo del día en pacientes con apnea obstructiva del sueño (SAOS) (318). Este trabajo muestra como los niveles de ghrelina eran menores en individuos con SAOS y en individuos con sobrepeso con respecto al grupo control ($P < 0,05$). Además, el porcentaje de individuos *non-dipper* era superior en el grupo de pacientes con SAOS ($P < 0,01$). La ghrelina presentaba una correlación negativa con el IMC y con la media de la PA diastólica, al igual que ocurría con el cociente ghrelina/obestatina y el índice de apnea/hipopnea. Por último, el análisis multivariante demostró que el cociente ghrelina/obestatina y el índice de apnea/hipopnea se relacionaban independientemente con la variabilidad de la PA sistólica y diastólica a lo largo del día. De esta forma se pone de manifiesto como la alteración en la ritmicidad en la secreción de determinadas hormonas como la ghrelina y la obestatina, puede dar lugar al desarrollo de manifestaciones patológicas como la

obesidad, SAOS y una alteración en el ritmo circadiano de la PA que actúa como predictor de ECV.

Si bien existe una relación epidemiológica clara entre la cronodisrupción y el desarrollo de: obesidad, DM2, SMet y ECV, numerosos modelos animales y humanos han proporcionado evidencias genéticas que corroboran estos hallazgos. En este sentido la presencia de determinados SNPs de los denominados “genes reloj” tiene un especial interés por su relación con el IMC, la ECV y el SMet (319, 320). Una de las evidencias más importantes en la relación de los genes reloj con el SMet la proporcionó Turek *et al.* (321) en 2005, mediante un modelo animal con ratones mutados en el gen CLOCK, en donde se evidenció que desarrollaban alteraciones metabólicas y fenotípicas del SMet tales como: esteatosis hepática, niveles elevados de TG y glucosa, además de presentar hiperfagia y variaciones graves en los horarios de alimentación. De forma añadida también existen evidencias que muestran que diversas variaciones en los genes CLOCK y BMAL-1 se asocian con alteraciones en el metabolismo de la glucosa y en los niveles plasmáticos de TG (322, 323). Con respecto al metabolismo lipídico, la variabilidad genética en los genes reloj ha mostrado tener una influencia directa sobre la fisiología del adipocito y el adecuado metabolismo de lípidos. Procesos como la lipólisis, presenta una oscilación rítmica con mayor actividad en el adipocito en determinadas horas del día debido a la secreción de adipoquinas ya mencionadas como la adiponectina y la leptina. De esta manera, la presencia de determinadas mutaciones en modelos animales murinos provocan disregulaciones en metabolismo lipídico (324, 325). Por otro lado, el transporte de partículas lipídicas y la lipogénesis también exhiben oscilaciones rítmicas a lo largo del día (326) de manera que mutaciones en los genes CLOCK, BMAL-1, *Rev-Erba* provocan alteraciones en la lipogénesis (327, 328), transporte de partículas lipídicas a nivel intestinal (329) entre otros. Del mismo modo,

modelos genéticos murinos con alteraciones en los genes reloj han mostrado una incidencia directa sobre el metabolismo de la glucosa, sobre todo destaca el caso de ratones en los que se lleva a cabo una delección del gen BMAL-1 desarrollando un estado hiperglucémico al disminuir la secreción de insulina y perder su ritmicidad junto a la alteración y desarrollo de los islotes pancreáticos (330, 331).

En humanos también existen evidencias que relacionan la presencia de determinados SNPs del gen CLOCK (*rs1801260*, *rs3749474*, *rs 4580704*) y un aumento en la incidencia de obesidad y SMet entre otros fenómenos derivado de la alteración en el metabolismo de la glucosa (291, 332, 333). La presencia de estos SNPs tiene un efecto directo sobre el metabolismo del ser humano induciendo alteraciones del ciclo sueño-vigilia, de la secreción oscilante de ghrelina a lo largo del día y su efecto sobre el apetito de los individuos (334), entre otros, aumenta la predisposición a desarrollar las alteraciones metabólicas que conforman el SMet (334-336). La dieta puede interaccionar con estos SNPs del gen CLOCK modulando los distintos componentes del SMet. En este sentido destaca el trabajo de Garaulet *et al.* (291) en la cohorte GOLDN (*Genetics of Lipid Lowering Drugs and Diet Network*). En dicho trabajo, se objetivó la interacción del SNP *rs4580704* en el gen CLOCK con la ingesta de MUFA. Tras dicotomizar a la población en función de la ingesta de MUFA en la dieta, los autores observaron que cuando la ingesta de MUFA era superior a la mediana (13,2 %), los portadores del alelo minoritario G presentaban niveles menores de glucosa y HOMA-IR que los homocigotos para el alelo mayoritario C. En este trabajo también se observó una asociación significativa de este SNP con la cifras de presión arterial. Así, los portadores de alelo minoritario presentaban cifras de presión arterial significativamente inferiores a las de los individuos C/C. Junto a los datos previamente presentados, existen otras evidencias de la relación de otros genes implicados en los ritmos circadianos y que se

correlacionan con el metabolismo de la glucosa. En concreto el gen encargado de codificar la proteína *Cry 2* se relaciona con los niveles de glucosa basal y HOMA- β (*homeostasis model assessment of β -cell function*) en pacientes no-diabéticos (337). Por otro lado se ha observado como la presencia de determinados SNPs del gen *Per 2* (*rs10870*) se han relacionado con glucemias basales elevadas (338).

3. ESTADO POSTPRANDIAL:

Los hábitos de vida actuales hacen que en nuestra fisiología, la situación de ayuno sea prácticamente anecdótica de manera que el estado postprandial es la situación metabólica en la que el ser humano se encuentra de forma permanente a lo largo del día. De esta manera los niveles plasmáticos de lipoproteínas, glucosa etc. sufren oscilaciones cíclicas durante el postprandio. En los últimos años, el estudio de la lipemia postprandial y su relación causa-efecto con el desarrollo de la arteriosclerosis ha determinado un aumento en los esfuerzos por parte de los investigadores para profundizar en el estudio de dicho periodo dedicados a analizar dicho estado metabólico. El SMet, como ya hemos mencionado, presenta una relación estrecha con la ECV de manera que estos individuos presentan una mortalidad más elevada que la población general debido principalmente a una mayor incidencia de eventos cardiovasculares (2, 36, 47, 48, 119, 339). Por todo ello, la lipemia postprandial constituye un escenario clave en el SMet sobre todo si tenemos en cuenta que varios factores genéticos y ambientales ejercen su influencia en el postprandio.

3.1 Respuesta postprandial y síndrome metabólico:

En los últimos años se ha confirmado la hipótesis que sugería la influencia del estado postprandial sobre la disfunción endotelial, el metabolismo lipoproteico y glucídico, la respuesta inflamatoria y el estrés oxidativo. El endotelio contribuye de forma directa al mantenimiento de la estructura de la pared vascular, sin embargo, la exposición crónica a determinados factores de riesgo como ocurre en el caso del SMet (dislipemia, hiperglucemia, estrés oxidativo etc.) provocan la disfunción del endotelio. Este estado disfuncionante de las células endoteliales constituye el primer escalón de la enfermedad arteriosclerótica que se ve agravada por el estado proinflamatorio generado en la pared vascular y que produce inestabilidad en la placa de ateroma (340). Uno de los principales componentes de la dieta, la grasa, modula la respuesta vasodilatadora endotelial durante el estado postprandial tal y como demuestran los estudios realizados en la cohorte LIPGENE que incluía pacientes con SMet (230). En dicho estudio se aleatorizó a los pacientes a consumir durante 12 semanas cuatro dietas isocalóricas con una composición cualitativa y cuantitativa de grasa diferentes, observándose como la dieta rica en MUFA mejoraba la función del endotelio en dichos pacientes. Este trabajo corrobora los hallazgos previos de Esposito *et al.* (185) que indican que el consumo de una DMed mejora la función del endotelio en estos pacientes.

El estrés oxidativo juega un papel importante en la fisiopatología del SMet debido a que estos pacientes presentan un estado prooxidante que agrava el daño en la pared vascular (341). Del mismo modo, al igual que ocurría con la función del endotelio, la cantidad y el tipo de grasa que consumimos en la dieta afecta de forma directa sobre el estrés oxidativo. Siguiendo el mismo diseño metodológico que acabamos de mencionar (230), nuestro grupo demostró que la dieta rica en MUFA

mejoraba los niveles postprandiales de glutatión en pacientes con SMet en comparación con los 3 modelos de dieta restantes (rica en SFA, rica en hidratos de carbono complejos [HCC] y rica en HCC + PUFA) de forma que gracias a esta dieta, se amortiguaba el estrado prooxidante típico que presentan estos pacientes durante el postprandio. Junto a la mejora del índice glutatión reducido/glutatión oxidado, también se reducían los niveles de peróxido de hidrógeno (H₂O₂), peróxidos lipídicos y la actividad de la superóxido dismutasa (SOD) (228). Junto al estado prooxidante, el SMet se asocia a un estado de inflamación crónica de bajo grado sobre la que el postprandio ejerce un papel clave (342, 343). En la misma línea, existen una gran cantidad de evidencias que demuestran la importancia de la dieta para atenuar la respuesta inflamatoria que acontece durante el postprandio. Se ha demostrado como la sustitución de SFA por PUFA (AG ω-6) reduce los niveles postprandiales de varios marcadores inflamatorios como los niveles plasmáticos de TNF-α y la IL-6 en pacientes con sobrepeso (344). En este mismo contexto, Jiménez-Gómez *et al.* (223) han demostrado como un desayuno rico en aceite de oliva mejora la expresión de TNF-α, durante el postprandio, en células mononucleares de 20 hombres sanos, en comparación con un desayuno rico en mantequilla. Estos dos hallazgos son cruciales en los pacientes con SMet, ya que la expresión elevada de TNF-α que se produce en estos individuos está relacionada con un aumento del grado de adiposidad, un aumento de la resistencia a la insulina, un aumento del estrés oxidativo y un empeoramiento de la función endotelial.

El metabolismo lipoproteico también sufre importantes modificaciones durante el periodo postprandial. Los hábitos de vida occidentales incluyen un patron dietético en el que se consumen al menos tres comidas al día con una proporción de grasa que oscila entre el 20-70 % en cada ingesta. Uno de los principales marcadores durante el postprandio, los TG, alcanzan sus concentraciones “pico” pasadas cuatro horas de la

ingesta y sus niveles descienden progresivamente hasta alcanzar su situación basal pasadas entre ocho y doce horas de la toma de alimento (345, 346). Los niveles de TG postprandiales se han relacionado de manera independiente como predictores de ECV junto con la respuesta inflamatoria y oxidativa que se produce durante el estado postprandial (347-350). Tal es así que existen trabajos en donde la incidencia de IAM y cardiopatía isquémica, está en relación lineal con una mayor concentración plasmática postprandial de TG (347). Esta relación ha sido posteriormente corroborada con otras partículas lipídicas medidas durante el postprandio como son: apoB, apoA1, c-LDL, c-HDL, colesterol no HDL y CT (351). En este sentido hemos podido demostrar como el consumo a largo plazo de una dieta baja en HCC suplementada con AG ω -3 reduce los niveles de TG postprandiales. Además la dieta rica en MUFA indujo un mayor aclaramiento de TG del torrente sanguíneo. Por el contrario la dieta baja en HCC mostró un empeoramiento en la respuesta lipémica postprandial de estos individuos ya que los niveles plasmáticos de TG y de LRT (grandes y pequeñas) aumentaron (352). Por otro lado, recientemente se ha sugerido que el número de componentes de SMet, puede influir modificando el grado de respuesta lipémica, de tal forma que a mayor número de componentes de SMet se produce una respuesta postprandial más exagerada. Así Jackson et al. (353). seleccionaron 112 pacientes con SMet y que fueron divididos en función del número de criterios/componentes de SMet (0/1, 2, 3 y 4/5) analizando los niveles de TG y glucosa postprandiales tras ser sometidos a una sobrecarga grasa. Además de observar un aumento progresivo del IMC, TA, TG basales, glucosa y unos niveles de c-HDL inferiores, conforme aumentaba el número de componentes de SMet; el área bajo la curva (AUC) y las concentraciones máximas de TG durante el postprandio eran mayores en el grupo de 3 componentes con respecto a los grupos 0/1 y 2, y el 4/5 con el 2. Los resultados con respecto a la glucosa fueron similares a los

encontrados en la respuesta de TG. De esta forma se corroboró que los niveles de TG y glucosa postprandiales están íntimamente relacionados con el número de componentes de SMet poniéndose de manifiesto la relación del SMet y el metabolismo postprandial.

3.2 Nutrigenética del metabolismo postprandial y su relación con la enfermedad cardiovascular:

Como ya dijimos al principio de este apartado, la enorme variabilidad individual en la respuesta postprandial esta influenciada por factores genéticos y ambientales (354-356). Dentro de la lipemia postprandial es de destacar el papel de la apoA5, al ser una de las principales piezas estructurales de Qm y c-HDL junto a su papel activador de la LPL. Este hecho determina su capacidad para modular la síntesis y secreción hepática de LRT. Además se ha podido observar que el gen de la apoA5 tiene un papel importante en la lipemia postprandial. Moreno *et al.* (357) evaluaron en la respuesta lipémica postprandial el SNP *rs662799* del gen promotor de la apoA5. Para ello determinaron la respuesta en 51 individuos sometidos previamente a una sobrecarga grasa con 1g de grasa/Kg de peso y 60000UI de vitamina A. Se realizaron determinaciones sanguíneas basales, cada hora durante las primeras 6 h y posteriormente cada 2 h y 30 minutos hasta llegar a las 11 h. En este estudio se demostró que que los portadores de alelo minoritario C presentaban mayores niveles postprandiales de TG y LRT. Estos hallazgos han sido verificados por otros estudios independientes (358, 359). Este hecho se relaciona con el mayor riesgo de ECV (coronaria) que presentan los portadores del alelo C para este SNP (360) confirmando el hecho que ya hemos mencionado de que los niveles de TG postprandiales son factores predictores de riesgo de ECV independientes. Con el fin de corroborar estos hallazgos, nuestro grupo analizó el efecto combinado de varios SNPs de riesgo:

GCKR (*rs780094*), apoA5 (*rs31355066*), apoA5 (*rs662799*), sobre la respuesta lipémica postprandial en una cohorte estadounidense confirmando una mayor respuesta postprandial de TG en aquellos portadores de los alelos de riesgo (288). Además de la relación de la apoA5 con la respuesta lipémica postprandial, también se ha demostrado el efecto que tiene la calidad de grasa de la dieta sobre las variantes polimórficas de los genes de la apoA1 y apoA4. La presencia del SNP *rs670* del gen de la apoA1 interacciona con una dieta rica en MUFA de manera que los portadores del alelo A para este SNP presentaban un incremento significativo en los niveles de c-LDL postprandiales, y por el contrario este fenómeno no se observaba en los individuos homocigots para el alelo G (361). Además, también se ha observado que los niveles postprandiales de c-LDL y CT varían en presencia del SNP T347S del gen de la apoA1. Los portadores del alelo 347S presentaron un descenso en las concentraciones de c-LDL, apoB y CT postprandiales tras consumir una dieta NCEP con respecto a los portadores de alelo 347T. Por el contrario el consumo de una dieta rica en MUFA provocó un aumento del CT y apoB en los portadores del alelo 347S, demostrando una vez más la diversidad en la respuesta a la ingesta de un determinado nutriente (362).

La presencia de variantes polimórficas en determinados genes está detrás de la variabilidad interindividual en la respuesta a una sobrecarga grasa tal y como ya se ha comentado. Esta variabilidad, además de deberse a las evidencias ya mencionadas, está también influenciada por la existencia de distintos SNPs en la región promotora de la LPL; una enzima encargada de la hidrólisis de los TG para convertirlos en c-LDL, c-VLDL y generar ácidos grasos libres. La presencia de determinados SNPs en el gen de esta enzima también han sido relacionados con la respuesta lipémica postprandial y el riesgo de enfermedad coronaria (363-365). Nuestro grupo ha demostrado que las variaciones en el gen de la LPL (*rs328*; *rs1059611*) afectan a los niveles postprandiales

de LRT y como la ingesta de AG ω -6 interactúan con estos SNPs para modular la respuesta lipémica postprandial (366). Este trabajo fue llevado a cabo en 452 sujetos con SMet del estudio LIPGENE y en ellos se observó una correlación entre los AG ω -6 y los niveles de TG y LRT de manera que cuando las concentraciones de AG ω -6 eran superiores a la media, los portadores de los alelos minoritarios en dichos SNPs presentaban una respuesta lipémica postprandial de TG y LRT. Por otro lado, los portadores del alelo minoritario *rs328* con unos niveles de AG ω -6 inferiores a la media presentaban mayores concentraciones plasmáticas de AGNE.

También se han encontrado evidencias de la relación del TCF7L2 con el postprandio. Dentro de la cohorte GOLDN se ha demostrado que el *rs7903146* de la región promotora del TCF7L2 se relaciona con los niveles postprandiales de varias partículas lipídicas modulados por la ingesta de PUFA. En concreto se ha observado como la ingesta de PUFA por encima de la media reduce de forma significativa los niveles de TG, Qm y c-VLDL en los homocigotos C/C para este SNP. Por el contrario, los portadores del alelo T con una ingesta de PUFA $\geq 7,36$ % del aporte energético total presentaban un aumento de los niveles postprandiales de LRT (367).

Finalmente, hemos analizado la relación del gen MC4R con el metabolismo postprandial. De forma específica se vio como la presencia del SNP *rs12970134* modula la respuesta lipémica postprandial de manera que los individuos homocigotos para el alelo G presentaban unos niveles de LRT, TG y CT estadísticamente superiores a los portadores de alelo menor A (368). De nuevo, estos hallazgos ayudan a explicar la diferencias entre individuos en la respuesta lipémica postprandial.

4. APLICACIÓN ACTUAL DE LA NUTRIGENÉTICA EN LA MEDICINA MODERNA:

Si hay algo intrínseco a la Medicina de nuestro tiempo es su frenética evolución. Cada semana se nos presentan evidencias de nuevos tratamientos, aparición de nuevas tecnologías, mejoras en las pruebas diagnósticas, etc. Todo esto se ve refrendado por los profundos cambios de conducta que, apoyado en una nueva visión del Universo médico, está modificando el ejercicio profesional, introduciendo hábitos que lo harían irreconocible para un médico de hace 20 años. ¿Podremos predecir en un futuro cercano el cáncer o la enfermedad cardiovascular?, ¿Podremos tener el mapa de nuestra salud o enfermedad en el momento del nacimiento?. En los últimos años, la Medicina ha dado un paso más a la hora de adaptar los avances y descubrimientos a las necesidades particulares de cada paciente. Como ya hemos comentado anteriormente, ante el notable progreso experimentado por la investigación Biomédica en los últimos años, se está produciendo en la actualidad una auténtica revolución tanto en las técnicas de diagnóstico y en el diseño de nuevos fármacos y terapias, cada vez más eficaces y seguras. Esta Medicina adaptada a las características de cada paciente se conoce con el nombre de “Medicina Personalizada”.

La Medicina Personalizada propone un salto tanto cualitativo como cuantitativo, gracias al mejor conocimiento del genoma humano, así como al gran abanico de posibilidades técnicas que tenemos en la actualidad. La aplicación de la genómica, la epigenética, la farmacogenómica, la transcriptómica, la proteómica, la metabolómica, la bioinformática y otras áreas que están actualmente en fase de desarrollo como la microbiota, etc, han permitido el desarrollo de la Medicina Personalizada. Además nos

han permitido profundizar en el conocimiento de las enfermedades y, con todo ello poder tratar de una forma más adecuada a nuestros enfermos.

En este contexto la Nutrigenética juega un papel importante dentro de la Medicina Personalizada. Ante la pregunta de si existe suficiente base científica para realizar recomendaciones nutricionales personalizadas, la respuesta podría ser “estamos algo más cerca”. Y es que, aunque no exentos de limitaciones, ya disponemos en el mercado de algunos chips genéticos para conocer, e incluso predecir, el componente genético de algunas enfermedades y sus complicaciones, como la obesidad y los componentes del SMet, así como la posible respuesta a determinados nutrientes y patrones de dieta basados en el estudio genético individual. Aunque todavía en ciernes, en los próximos años estas herramientas serán perfeccionadas y optimizadas con nuevas evidencias. Por ello consideramos que la realización de esta tesis doctoral permitirá ampliar el conocimiento sobre la nutrición personalizada, con un futuro que empieza a ser presente y una realidad más cercana para la próxima década.

III. HIPÓTESIS

Hasta el momento actual, las recomendaciones relacionadas con los estilos de vida cardiosaludables y entre ellos la dieta, se han aplicado de forma universal sobre toda la población. Sin embargo existen gran cantidad de evidencias científicas que orientan al empleo de recomendaciones dietéticas específicas para el abordaje terapéutico y preventivo de determinadas enfermedades. Del mismo modo, la existencia de una enorme variabilidad interindividual en la respuesta a la dieta y a los propios nutrientes pone en relieve la importancia del mapa genético del individuo dentro de la interacción gen-dieta y de cómo un determinado nutriente tiene un efecto concreto sobre nuestro organismo en función de nuestros genes de la misma manera que los nutrientes pueden modular la expresión de nuestros genes.

El síndrome metabólico es una enfermedad heterogénea, permaneciendo inciertos los mecanismos responsables de la variabilidad individual en la expresión de sus manifestaciones y en la respuesta que se obtiene tras la intervención dietética. Por ello, nuestra hipótesis es que las variaciones genéticas en los genes implicados con un mayor riesgo de padecer síndrome metabólico, interaccionan con dos modelos de alimentación saludables, una de tipo Mediterráneo (alta en MUFA: 22%) y otra baja en grasa (28% grasa total y 12% MUFA), para modificar la respuesta sobre las concentraciones de lípidos plasmáticos, la resistencia a la insulina y el perfil inflamatorio sistémico asociados a esta patología. La hipótesis nula es que nuestro estudio no consiga demostrar dichas asociaciones. Finalmente destacar que esto podría generar recomendaciones específicas, de tipo personalizado, sobre la mejor composición de la dieta para el óptimo beneficio de cada individuo.

IV. OBJETIVOS

1. OBJETIVO PRINCIPAL:

Investigar si el consumo a largo plazo, durante 12 meses, de dos modelos de dieta: una de tipo Mediterráneo (alta en MUFA: 22%) y otra baja en grasa (28% grasa total y 12% MUFA) interaccionan con los SNPs de la región promotora del gen TNF- α (*rs1799964*, *rs1800629*) influyendo en el estado proinflamatorio, medido por: PCR-us, IL-6 y TNF- α , en pacientes con síndrome metabólico.

2. OBJETIVOS SECUNDARIOS:

Objetivo 1: Investigar si el consumo a largo plazo de los dos modelos de dieta previamente referidos, interaccionan con los SNPs de la región promotora del gen TNF- α (*rs1799964*, *rs1800629*), influyendo en las concentraciones finales de CT, c-LDL, c-HDL, apoA1, apoB, TG, homocisteína y Lpa de estos pacientes. Además, evaluaremos si la presencia de estos SNPs se relaciona con la respuesta postprandial tras una sobrecarga grasa en forma de desayuno (0.7 g grasa/kg de peso (12% SFA, 10% PUFA, 43% MUFA), 10% de proteínas y 25% de hidratos de carbono) en los mismos pacientes.

Objetivo 2: Analizar si el consumo a largo plazo de los dos modelos de dieta interaccionan con los SNPs de la región promotora del gen TNF- α (*rs1799964*, *rs1800629*), para modificar el metabolismo de la glucosa medido por: glucosa basal, insulina, HbA1c y los índices HOMA-IR y QUICKI, en la misma población.

Objetivo 3: Analizar si el consumo a largo plazo de los dos modelos de dieta referidos interaccionan con los SNPs del gen CLOCK (*rs1801260*, *rs3749474*, *rs4580704*) influyendo en las concentraciones finales de los mismos parámetros

recogidos en los objetivos anteriores, en la misma población. Además, evaluaremos si la presencia de estos SNPs se relaciona con la respuesta postprandial tras una sobrecarga grasa, tal y como se ha descrito en el objetivo secundario nº1.

V. DISEÑO Y METODOLOGÍA

1. DISEÑO DEL ESTUDIO:

El estudio CORDIOPREV es un ensayo clínico, randomizado, simple ciego en prevención secundaria cardiovascular que incluye a 1002 pacientes. La prevalencia de SMet en este ensayo es del 58 % (n=581). El principal objetivo de este estudio es el evaluar la eficacia de una DMed rica en aceite de oliva en comparación con una dieta BG para prevenir nuevos eventos cardiovasculares y mortalidad en pacientes con patología coronaria previa. Los detalles del estudio se encuentran recogidos en la web Clinicaltrials.gov (NCT00924937). Este ensayo clínico ha sido diseñado y se está desarrollando por el grupo de Nutrigenómica-Síndrome Metabólico del Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba. El protocolo del ensayo y todas sus enmiendas han sido aprobadas por el comité ético del Hospital Universitario Reina Sofía siguiendo las indicaciones de la Declaración de Helsinki y el código de buenas prácticas clínicas. Para asegurar que la principal fuente de grasa en la DMed fuese el aceite de oliva, a todos los pacientes incluidos en esta dieta se les proporciono este alimento donado por Hojiblanca® y la Fundación Patrimonio Comunal Olivarero®. Por otro lado a los pacientes incluidos en el grupo BG se les proporcionaron lotes de alimentos ricos en HC con un contenido graso aportado fundamentalmente por el aceite de girasol. Ninguno de los sponsors mencionados tiene ninguna intervención en el diseño, análisis y obtención de resultados del estudio.

2. POBLACIÓN DEL ESTUDIO:

Los pacientes incluidos en el estudio (hombres y mujeres) fueron elegidos en aquellos casos en los que su edad estuviese comprendida entre los 20 y los 75 años, tuviesen un evento coronario de más de 6 meses de evolución con respecto a la fecha de

su inclusión en el estudio y que estuviesen dispuestos a seguir el ensayo durante los 5 años de duración. Los criterios de inclusión y exclusión están descritos en la **Tabla 4**.

Los pacientes fueron reclutados en el periodo comprendido entre Noviembre de 2009 y Febrero de 2012, la mayor parte en el Hospital Universitario Reina Sofía aunque también se incluyeron pacientes de otros centros de las provincias de Córdoba y Jaén. Las variables usadas para la randomización fueron: 1) género (hombre/mujer); 2) edad (≤ 60 años/ > 61 años) y 3) historia de IAM previo (si/no). Con las combinaciones posibles de esas 3 categorías se crearon 8 grupos con los que se randomizó a los pacientes a los 2 grupos de intervención. Este proceso de randomización se llevó a cabo por la Escuela Andaluza de Salud Pública, expertos en el proceso de randomización de pacientes en estudios de intervención. La dieta asignada al paciente fue comunicada por teléfono utilizando un sistema de codificación por el que el grupo de la Escuela Andaluza de Salud Pública encargado de randomización asignaba al paciente a uno u otro grupo con el fin de actuar manteniendo el ciego simple. Para la definición de SMet en el estudio CORDIOPREV utilizamos los criterios definidos por la ATP III – NCEP en su versión modificada (25). A pesar de la frecuencia del 58 % (N=581), en el análisis de nuestro trabajo solo se incluyeron, aquellos pacientes con todos los parámetros analizados disponibles: genotipado, determinaciones bioquímicas, lipemia postprandial y cumplimiento de la dieta durante el periodo de 12 meses.

Tabla 4. Criterios de inclusión y exclusión del estudio CORDIOPREV.

Edad para ser elegible	20 a 75 años
Género para ser elegible	Ambos
Voluntarios sanos	No
Criterios de Inclusión	<p>Patología coronaria inestable</p> <p>IAM</p> <p>Angina inestable</p> <p>Angina estable crónica con alto riesgo de evento cardiovascular</p>
Criterios de Exclusión	<p>Edad <20 ó >75 años (o esperanza de vida inferior a 5 años)</p> <p>Pacientes con una revascularización programada con < 6 meses antes de su inclusión en el ensayo</p> <p>Grado II-IV de insuficiencia cardiaca (<i>New York Heart Association</i>)</p> <p>Disfunción ventricular izquierda con una FEVI < 35 %</p> <p>Incapacidad o impedimento para seguir el protocolo</p> <p>Pacientes con DM2 severa o no controlada, o aquellos con insuficiencia renal con creatinina plasmática por encima de 2 mg/dl</p> <p>Otras patologías crónicas: enfermedades psiquiátricas, insuficiencia renal crónica, hepatopatía crónica, neoplasia activa, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y enfermedades digestivas</p>

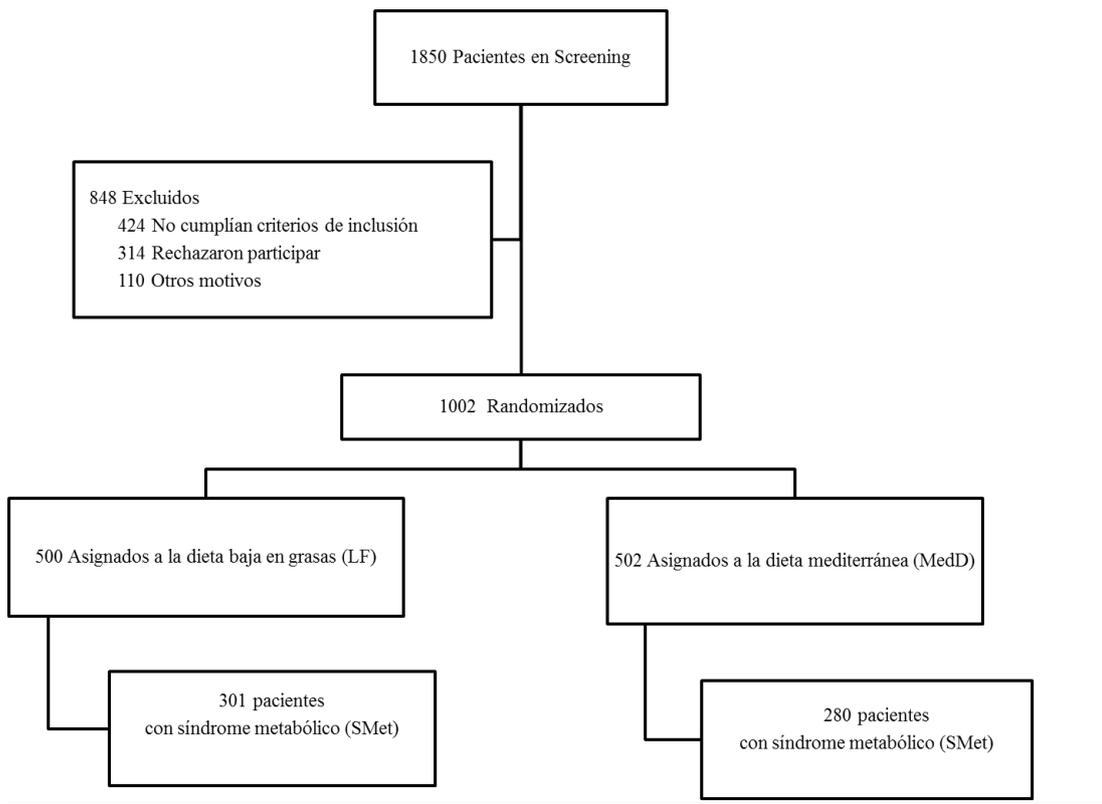
Las características basales y el diagrama de flujo de los pacientes se encuentran representadas en la **Tabla 5** y la **Figura 6**.

Tabla 5. Características basales de los pacientes del estudio CORDIOPREV

	Total (n=1002)	SMet (n=581)	No SMet (n=412)	p
Edad (años)	59,5 (0,2)	60,0 (0,3)	58,9 (0,4)	NS
Genero H/M (n)	837/165	470/111	367/54	<0,001
DM2 (%)	47,5	62,5	26,7	<0,001
TAS (mmHg)	138,7 (0,6)	144,26 (0,9)	131,18 (0,8)	<0,001
TAD (mmHg)	77,3 (0,3)	79,15 (0,5)	74,6 (0,4)	<0,001
Peso (Kg)	85,1 (0,4)	88,8 (0,6)	80,1 (0,6)	<0,001
Perímetro cintura (cm)	105,1 (0,3)	108,7 (0,4)	100,1 (0,5)	<0,001
IMC (kg/m2)	31,1 (0,1)	32,4 (0,1)	29,3 (0,2)	<0,001
CT (mg/dL)	159,0 (0,9)	158,6 (1,3)	159,5 (1,4)	NS
c-HDL (mg/dL)	42,1 (0,3)	38,6 (0,4)	47,1 (0,5)	<0,001
c-LDL (mg/dL)	88,5 (0,8)	86,3 (1,1)	91,5 (1,2)	<0,001
ApoA1 (mg/dL)	129,6 (0,6)	124,9 (0,8)	136,1 (1,1)	<0,001
ApoB (mg/dL)	73,6 (0,5)	76,1 (0,8)	70,2 (0,8)	<0,001
TG (mg/dL)	135,4 (2,2)	159,9 (3,1)	102,1 (2,2)	<0,001
Glucosa (mg/dL)	113,7 (1,2)	125,9 (1,8)	97,1 (1,0)	<0,001

* Datos de los participantes proporcionados en media (DE) o porcentaje (DE).

Abreviaturas: ApoA1, apolipoproteína A1; ApoB, apolipoproteína B; CT, colesterol total; DM2, diabetes mellitus tipo 2; IMC, índice de masa corporal (calculado como peso en kilogramos dividido por talla en metros cuadrados); c-HDL, colesterol de alta densidad; c-LDL, colesterol de baja densidad; TAD, tensión arterial diastólica; TAS; tensión arterial sistólica; TG, triglicéridos.

Figura 6. Diagrama de flujo de los pacientes del estudio CORDIOPREV.

3. INTERVENCIÓN DIETÉTICA:

3.1 Generalidades:

La intervención dietética del estudio CORDIOPREV está siendo llevada a cabo por dietistas encargadas: de la revisión de los cuestionarios de adherencia a la dieta, de las directrices a seguir en cada grupo de intervención, de la elaboración del material escrito y proporcionado a los participantes junto con la programación de sesiones grupales periódicas con los participantes en el estudio. Durante el primer año de intervención se diseñaron varias sesiones de grupo con el fin de revisar el seguimiento de los pacientes, discutir problemas encontrados durante el seguimiento y desarrollo de soluciones. El objetivo principal de la intervención fue adaptar los hábitos dietéticos de cada individuo al patrón dietético por encima de nutrientes concretos.

3.2 Descripción de la intervención:

Las distintas actividades llevadas a cabo con los pacientes durante los 12 meses de seguimiento se describen en la **Tabla 6**.

3.2.1 Visita basal:

La valoración basal se llevó a cabo en 2 visitas consecutivas. En cada una de las visitas el paciente se entrevistó personalmente con la dietista durante 1 hora aproximadamente. Además, durante la primera visita se llevó a cabo, tras la firma de los consentimientos informados, una valoración por el especialista en Medicina Interna encargado de realizar un cuestionario clínico al paciente y de valorarlo físicamente. De manera añadida, se llevó a cabo la extracción de una analítica general, la realización de un test de resistencia a la insulina y una lipemia postprandial tras una sobrecarga grasa que detallaremos más adelante.

La valoración nutricional durante la primera visita incluía una explicación detallada sobre la intervención dietética junto con la realización de los siguientes cuestionarios:

- 1) Cuestionario de frecuencia de consumo (FFQ) (369) compuesto por 137 ítems con el fin de poder determinar la ingesta dietética general del año previo a la inclusión del paciente.
- 2) Cuestionario para valorar la adherencia a la dieta BG (370) (9 ítems) [**Tabla 7**] y a la DMed (371) (14 ítems) [**Tabla 8**].
- 3) Versión española del “*Minnesota physical activity questionnaire*” (372) para valorar la actividad física de los pacientes.
- 4) Cuestionario SF36 para valorar la calidad de vida de los pacientes (373).

Tabla 6. Calendario de evaluaciones realizadas durante la intervención.

	Periodo de selección	Periodo de intervención					
	Visita 0 (Mes 0-1)	Visita 1 (Mes 2)	Visita 2 (Mes 4)	Visita 3 (Mes 6)	Visita 4 (Mes 8)	Visita 5 (Mes 10)	Visita 6 (Mes 12)
Inclusión y evaluación clínica							
Consentimiento informado	X						
Criterios inclusión/exclusión	X						
Cuestionario general	X						
Análisis completa	X						X
Cuestionario de seguimiento clínico*				X			X
Cuestionario de recogida eventos**				X			X
Evaluación dietética							
Cuestionario frecuencia consumo	X			X			X
Refuerzo dietético		X		X			X
Cuestionario actividad física	X						X
Cuestionario de calidad de vida	X						X
Cuestionario de tolerancia		X					
Aleatorización	X						
Scores de dieta	X	X	X	X	X	X	X
Entrega de alimentos	X			X			X
Determinaciones de laboratorio							
Lipemia postprandial	X						
Test resistencia a insulina	X						X
Otros							
Grosor Intima-Media		X					
Índice tobillo-brazo (ITB)		X					

* Incluye medida del peso, altura, circunferencia de la cintura y presión arterial e impedanciometría (anual).

** Sólo si es necesario.

Las medidas antropométricas (peso, estatura, IMC y PC) fueron tomadas en la primera visita por dietistas entrenadas de una forma estandarizada. La medición del PC se llevó a cabo a una distancia media entre la última costilla y la cresta iliaca utilizando una cinta métrica. El cálculo del IMC se llevó a cabo con la fórmula: Kg/m^2 .

En la segunda visita tras la aleatorización, los dietistas revisaron los cuestionarios realizados previamente y proporcionaron recomendaciones dietéticas específicas del grupo de intervención asignado, adaptando la información a las

condiciones clínicas de los pacientes (DM2, obesidad, dislipemia etc.) y proporcionando estrategias para ayudar a los pacientes a conseguir la modificación de sus hábitos dietéticos y poder mantenerlos a largo plazo. A todos los pacientes se les proporcionó un folleto informativo con recomendaciones dietéticas y recursos para adecuar la frecuencia de consumo, porciones y tamaño de las raciones.

3.2.2 Visita seguimiento:

Las visitas de seguimiento tuvieron por objetivo garantizar un consumo calórico adecuado y reforzar la adherencia a la dieta asignada. Cualquier cambio positivo producido en la adherencia a la dieta fue utilizado para motivar al paciente. Cada visita de seguimiento realizada semestralmente, además del cuestionario médico, incluyó la evaluación de la intervención dietética según el grupo de intervención (14-ítems adherencia DMed ó 9-ítems adherencia BG), la definición de objetivos a conseguir, antropometría y provisión de alimentos en cada grupo de intervención. Junto a este seguimiento presencial se incluyó un seguimiento telefónico trimestral de los pacientes. Al año se repitieron los mismos cuestionarios dietéticos realizados inicialmente.

3.2.3 Sesiones de grupo:

Cada 4 meses se llevaron a cabo sesiones de grupo organizadas por separado para cada brazo de intervención. Las especialistas en nutrición del estudio CORDIOPREV se encargaban de explicar diversos temas relacionados con su grupo de intervención (recetas de cocina, planificación de comidas, etiquetado de alimentos, importancia de la dieta en patologías como DM2 etc.), por otro lado, resolvieron dudas de los pacientes recordando las recomendaciones de cada grupo con material interactivo. Las sesiones abarcaban las 2 horas aproximadas de duración e incluían 20 participantes aproximadamente.

El programa establecido en estas sesiones era flexible e incluía:

- a) Presentación Power-Point: 45 minutos de duración.
- b) Discusión del tema en cuestión: 30 minutos de duración.
- c) Actividades: 15 minutos de duración.
- d) Refuerzo de las recomendaciones dietéticas: 15 minutos.
- e) Resolución de cuestiones: 10 minutos.

Tabla 7. Cuestionario 9-ítems de adherencia a la dieta BG.

Cuestiones	Puntuación	
1 ¿Cuánto aceite consume a diario (incluido para freír, ensaladas, desayuno etc.)? (1 cucharada=10mL).	≤ 2cucharadas = 1 punto	<input type="checkbox"/>
2 ¿Elimina la grasa visible (o la piel) del pollo, pato, cerdo, cordero etc. antes o después de cocinar (sopas y platos cocinados)?	Si = 1 punto	<input type="checkbox"/>
3 ¿Cuántas comidas ricas en grasa tipo hamburguesa, salchicha, embutido, bacón etc. consume por semana? (ración de carne=100g; embutido o bacon=30g)	1 o menos = 1 punto	<input type="checkbox"/>
4 ¿Cuántas raciones de mantequilla, margarina, manteca de cerdo, mayonesa, nata o helado consume por semana? (ración= 12g; helado= 100g)	1 o menos = 1 punto	<input type="checkbox"/>
5 ¿Consume productos bajos en grasa de forma exclusiva?	Si = 1 punto (id. Si no consumo diario)	<input type="checkbox"/>
6 ¿Cuántas veces por semana prepara pasta, arroz, patatas, legumbres utilizando “sofrito” (con aceite de oliva), bacón, salami o carnes grasas como la de cerdo o cordero?	2 o menos = 1 punto	<input type="checkbox"/>
7 ¿Cuántas veces por semana consume pescado graso o pescado o conservas de pescado en aceite?	1 o menos = 1 punto	<input type="checkbox"/>
8 ¿Cuántas raciones de bollería industrial, como tarta, galletas o natillas consume por semana? (ración de tarta = 80g; 6 galletas = 40g)	1 o menos = 1 punto	<input type="checkbox"/>
9 ¿Cuántas veces por semana consume frutos secos (incluyendo cacahuètes), patatas fritas u otros snacks?	1 o menos = 1 punto	<input type="checkbox"/>
PUNTUACIÓN TOTAL		

Tabla 8. Cuestionario 14-ítems de adherencia a la DMed.

Cuestiones		Puntuación	
1	¿Utiliza el aceite de oliva principalmente como aceite culinario?	Si = 1 punto	<input type="checkbox"/>
2	¿Cuánto aceite de oliva consume a diario (incluido para freír, ensaladas, desayuno etc.)?	≥ 4 cucharadas = 1 punto	<input type="checkbox"/>
3	¿Cuántas raciones de vegetales consume a diario? (1 ración = 200 g)	$\geq 2 = 1$ punto (≥ 1 porción cruda o en ensalada)	<input type="checkbox"/>
4	¿Cuántas piezas de fruta, incluido zumos de fruta naturales consume a diario?	3 o más = 1 punto	<input type="checkbox"/>
5	¿Cuántas raciones de carne roja, hamburguesa o salchicha consume por semana? (ración = 100-150 g)	menos de 1 = 1 punto	<input type="checkbox"/>
6	¿Cuántas raciones de mantequilla, margarina o nata consume por día? (ración = 12g)	menos de 1 = 1 punto	<input type="checkbox"/>
7	¿Cuántas bebidas azucaradas consume al día?	menos de 1 = 1 punto	<input type="checkbox"/>
8	¿Cuántos vasos de vino consume a la semana?	≥ 7 vasos = 1 punto	<input type="checkbox"/>
9	¿Cuántas raciones de legumbre consume por semana? (1 ración = 150 g)	3 o más = 1 punto	<input type="checkbox"/>
10	¿Cuántas raciones por semana consume pescado o marisco consume? (1 ración = 100-150 g de pescado, o 4-5 unidades de marisco)	$< 3 = 1$ punto	<input type="checkbox"/>
11	¿Cuántas raciones de bollería industrial, como tarta, galletas o natillas consume por semana? (ración de tarta = 80g; 6 galletas = 40g)	$< 2 = 1$ punto	<input type="checkbox"/>
12	¿Cuántas raciones de frutos secos (incluidos cacahuetes) consume por semana? (1 ración = 30 g).	3 o más = 1 punto	<input type="checkbox"/>
13	¿Consume preferentemente pollo, pavo o carne de conejo en vez de ternera, cerdo, hamburguesa o salchicha?	Si = 1 punto	<input type="checkbox"/>
14	¿Cuántas raciones por semana de vegetales, pasta, arroz u otros platos preparados con sofrito (aceite de oliva, tomate, cebolla, puerro y ajo) consume?	2 o más = 1 punto	<input type="checkbox"/>
PUNTUACIÓN TOTAL			

Tabla 9. Evaluaciones de la intervención dietética durante el primer año del estudio CORDIOPREV.

	EVALUACIÓN DIETÉTICA 1º Año					
	BASAL		VISITAS DE SEGUIMIENTO			
	V-1	V-2	MES-4	MES-6	MES-8	MES-12
Entrevista individual (1hour)	X	X		X		X
Cuestionario FFQ	X					X
14-ítems DMed	X			X		X
9-ítems BG	X			X*		X*
Actividad física	X					X
Calidad de vida	X					X
Antropometría **	X			X		X
Recomendaciones nutricionales		X		X		X
Suministro de alimentos		X	X	X	X	X
Sesiones en grupo (2 horas)			X	X	X	X
Refuerzo dieta asignada			X	X	X	X
Entrega de material			X	X	X	X
Visita telefónica de seguimiento ***			X		X	

* Administrada solo en el grupo de dieta BG; ** Medida de peso, estatura y perímetro de cintura;

*** Realizado en mes 2, 4, 8 y 10.

FFQ, cuestionario de frecuencia de consumo; BG, dieta baja en grasa; DMed, dieta mediterránea; V, visita.

3.3 Descripción de los modelos dietéticos:

Los patrones dietéticos del estudio CORDIOPREV (BG y DMed) incluyen alimentos de todos los grandes grupos alimenticios sin una restricción específica sobre el consumo calórico. La principal diferencia entre los 2 grupos de intervención se encuentra en la ingesta de grasa total, así como en su composición cualitativa. La DMed presenta un contenido elevado en el aporte graso, fundamentalmente proporcionado por alimentos ricos en MUFA como el aceite de oliva mientras que en la dieta BG se encuentra restringido el aporte de grasa.

3.3.1 Dieta Mediterránea (DMed):

La composición cualitativa de esta dieta se basa en un aporte calórico total de grasas del 35 % (22 % MUFA, 6 % PUFA, 7 % SFA), 50 % HC y un 15 % de proteínas. Las recomendaciones de este grupo de intervención están basadas fundamentalmente en

el cuestionario de 14-ítems de adherencia a la DMed. Las recomendaciones suministradas a los participantes de este grupo son:

- a) Un consumo abundante de aceite de oliva virgen extra tanto para cocinar como para la elaboración de ensaladas (≥ 4 cucharadas diarias; 20 g).
- b) Consumo de 2 o más raciones diarias de vegetales (1 ración = 200 g) y al menos una de las raciones debe ser cruda.
- c) Consumir al menos 3 piezas de fruta (tamaño medio = 125 g) al día predominando el consumo de frutas como postre. Se indica la preferencia de fruta sobre el zumo de frutas para mantener un aporte adecuado de fibra.
- d) Incluir legumbres en al menos 3 comidas a la semana (150 g por ración cocinada).
- e) Comer más de 3 raciones (1 ración = 100-150 g) por semana de pescado variado incluyendo pescado graso como el salmón, caballa y sardinas.
- f) Consumir nueces semanalmente en pequeñas cantidades, aproximadamente 3 puñados (30 g).
- g) Incluir consumo de pan integral y cereales en las comidas.
- h) Consumir productos lácteos bajos en grasa, con una preferencia por los productos lácteos fermentados (yogur o queso).
- i) Reducir el consumo de carne y tomar preferiblemente carnes blancas (sin piel) en lugar de carne roja o las carnes procesadas. Los huevos pueden ser consumidos varias veces a la semana (2-4 unidades).
- j) Preparaciones culinarias con "sofrito" (tomate, cebolla, ajo, especias y todo ello cocinado a fuego lento con aceite de oliva).

El modelo de dieta mediterráneo incluye una cantidad moderada de vino durante las comidas. Esta cantidad aproximada oscila entre no más de 1 copa de vino al día

(8g de alcohol) para las mujeres y no más de 2 vasos de vino (16 g de alcohol) diarios para los hombres. Esta recomendación solo se llevó a cabo si el paciente era un consumidor regular de vino.

Se recomendó eliminar el consumo de otras grasas diferentes a las mencionadas procedentes de: mantequilla, margarina, aceites de semillas, cremas, etc. y alimentos ricos en azúcares o grasas no saludables (bollería industrial, snacks, alimentos precocinados, postres industriales, bebidas carbonatadas azucaradas, etc.).

3.3.2 Dieta baja en grasa (BG):

En el grupo de intervención con la dieta BG, el aporte calórico graso no superaba el 28 % (12 % MUFA, 8 % PUFA, 8 % SFA), 57 % HC y 15 % proteínas. Las recomendaciones de este grupo de intervención se llevan a cabo acorde a las recomendaciones de la guía de la ATP III – NCEP (24, 192), centradas fundamentalmente en limitar el consumo de grasa, tanto animal como vegetal, incrementando el consumo de HCC para sustituirla.

Las principales diferencias con el grupo DMed se basan también en el cuestionario 9-ítems de adherencia a la dieta BG y son:

- a) Reducir al mínimo la cantidad de aceite usado para cocinar y ensaladas (≤ 2 cucharadas al día, 10 g).
- b) Eliminar la grasa visible (o la piel) del pollo, pato, cerdo, cordero etc. antes o después de cocinar (sopas y platos cocinados).
- c) No comer más de 1 porción de carne roja (1 ración = 150 g) por semana.
- d) Consumir productos lácteos bajos en grasa y en especial fermentados (queso y yogurt). Se debe consumir 2-3 porciones por día.
- e) El consumo de pescado magro (bacalao, merluza, rape etc.) en lugar de pescado graso o en conserva (<1 porción por semana, 50 g).

- f) Restringir el consumo de frutos secos (<1 porción por semana, 10 g).
- g) Eliminar el consumo de bollería industrial.
- h) Emplear técnicas de cocinado sin aceite (hervidos, horneados, parrilla, etc.).

Las recomendaciones sobre el consumo de vegetales (verduras, frutas, legumbres o cereales), huevos y carnes blancas son las mismas que las incluidas en el grupo de la DMed.

3.4 Cuestionarios de seguimiento y adherencia a la intervención:

3.4.1 Cuestionario de frecuencia de consumo (FFQ):

El cuestionario FFQ es la herramienta más utilizada en grandes estudios epidemiológicos sobre dieta y salud ya que proporciona información cualitativa acerca de los hábitos alimentarios del paciente. El cuestionario La FFQ utilizado en el estudio CORDIOPREV es un modelo validado en población española. Incluye 137 ítems clasificados en 14 grupos de alimentos (lácteos, huevos, carne o productos cárnicos, pescados o mariscos, verduras, patatas, hortalizas, frutos totales, legumbres, cereales, aceite de oliva, pastas, pasteles o dulces y bebidas alcohólicas). Las frecuencias se registran mediante una escala de 9 categorías (de "casi nunca" a "6 o más veces al día"). La ingesta de energía y nutrientes se calculan utilizando las tablas de composición de alimentos españolas (374, 375).

3.4.2 Cuestionario de 14-ítems de adherencia a la dieta Mediterránea:

Este cuestionario permite evaluar la adhesión al DMed (**Tabla 8**). Se compone de 2 preguntas sobre hábitos alimenticios, 8 preguntas sobre la frecuencia de consumo de alimentos típicos de la DMed y 4 preguntas sobre el bajo consumo de alimentos no recomendados. Cada ítem se puntúa 0 o 1 y el rango de la puntuación total de 0 a 14

(≥ 9 puntos muestra una alta adherencia a DMed). El cuestionario se realiza a todos los participantes del grupo DMed en cada visita de seguimiento (presencial y telefónica).

3.4.3 Cuestionario de 9-ítems de adherencia a la dieta baja en grasa:

Este cuestionario cuantitativo se construyó en el estudio PREDIMED como instrumento de control para evaluar el cumplimiento de los participantes en el grupo de dieta baja en grasa (**Tabla 7**). Este cuestionario también se realiza en todos los participantes del grupo BG tanto en visitas de seguimiento presenciales como telefónicas.

4. DETERMINACIONES ANALÍTICAS Y

BIOQUÍMICAS:

Para el estudio del perfil lipídico se determinaron los niveles de CT, c-LDL, c-HDL, TG, apoA1 y apoB. Para analizar el metabolismo de la glucosa se determinaron los niveles plasmáticos de glucosa e insulina, así como los índices QUICKI y HOMA-IR.

Las determinaciones bioquímicas de los pacientes se obtuvieron tras un periodo de ayuno de 12 horas de ayuno al comienzo del seguimiento y pasados 12 meses. Las muestras sanguíneas para la insulina, glucosa, perfil lipídico se obtuvieron de la vena antecubital y fueron recogidas en tubos con EDTA (10 mL) siendo inmediatamente almacenados a 4 °C. Para minimizar la degradación proteolítica, el plasma fue complementado con 40 μ L de un inhibidor de la proteasa (*Roche Diagnostic*®) por mL de plasma. Las muestras de plasma y suero se congelaron a -80 ° C hasta el análisis de laboratorio.

Los parámetros séricos se midieron en el analizador Architect c-16000 (*Abbott*®, *Chicago, Illinois, EE.UU.*), utilizando las siguientes técnicas

espectrofotométricas: método de la hexoquinasa para la glucosa, oxidación-peroxidación para CT, HDL-c y TG. El c-LDL se calculó utilizando la fórmula de Friedewald (376) (siempre que el nivel de triglicéridos fuera inferior a 400 mg/dL). Los niveles de apoA1 y apoB se determinaron mediante inmunoturbidimetría. Los niveles plasmáticos de insulina fueron medidos por inmunoensayo quimioluminiscente de micropartículas utilizando un analizador (*i- 2000Abbott Architect*®, Chicago, Illinois, EE.UU.).

Para la estimación de la resistencia a la insulina y la funcionalidad de las células β se determinaron los índices QUICKI (377) como parámetro de sensibilidad a la insulina y HOMA-IR mediante la evaluación matemática del equilibrio entre la producción de glucosa hepática y la secreción de insulina a partir de los niveles basales de ambas. El índice HOMA-IR (glucosa en ayunas (mg/dL) x insulina en ayunas (mU/L) /22,5), se considera una medida fiable de la resistencia a la insulina.

Por último la PCR se determinó con una técnica ultrasensible por inmunoturbidimetría y se midió en el analizador Architect c-16000 (*Abbott*®, Chicago, Illinois, EE.UU.). En el tiempo 0 y a los 12 meses, también se determinaron las concentraciones en plasma de IL-6 ensayando 100 μ L de muestra con el kit comercial *Quantikine HS human IL-6 Immunoassay* (R&D Systems, Inc., MN, USA). Las concentraciones en plasma de TNF- α se determinaron con el kit comercial *Quantikine HS human TNF- α /TNFSF1A Immunoassay* (R&D Systems, Inc., MN, USA) con 100 μ L de muestra.

5. ESTUDIO POSTPRANDIAL:

Al inicio del seguimiento, se llevó a cabo una sobrecarga oral grasa en todos los participantes del estudio. Antes de la prueba, los pacientes habían estado en ayunas

durante 12 horas pidiéndole que además se abstuviesen de fumar durante el período de ayuno así como que se abstuvieran de consumir alcohol durante los 7 días anteriores. También se les pidió que evitasen la actividad física extenuante el día previo al examen. A las 8:00 am los pacientes llegaron al laboratorio, se le tomaron las medidas antropométricas (peso, talla y PC) y se les midió la PA. Para las mediciones bioquímicas, se obtuvo una muestra de sangre en ayunas y posteriormente de forma horaria durante las 4 horas posteriores tras la sobrecarga grasa: 0,7 g de grasa/Kg de peso corporal (12% SFA, 10% de PUFA, 43% MUFA), 10% de proteínas y 25% de HC. El desayuno se ingirió en 20 min. Los pacientes sólo podían tomar agua durante las determinaciones postprandiales. La sobrecarga grasa se realizó sólo durante la visita inicial y está programado que se vuelva a realizar al final de los 5 años de intervención.

Las muestras de sangre para las determinaciones bioquímicas se recogieron siguiendo las recomendaciones de Mihás et al. (378).

6. ANÁLISIS GENÉTICO:

6.1 Aislamiento del ADN:

Se utilizó la capa leucocitaria obtenida a partir de muestras de sangre periférica extraída por venopunción en tubos de EDTA. El aislamiento de ADN se llevó a cabo siguiendo el procedimiento de la precipitación salina, también conocido como *salting out* (379).

El ADN aislado se cuantificó en una alícuota de 2 μ L midiendo la absorbancia a 280 nm mediante un espectrofotómetro ND-1000 Nanodrop (*NanoDrop Technologies, Wilmington, USA*). El ADN original fue diluido a una concentración de 100 ng/ μ L, alicuotado en placas de 96 pocillos y conservado a -80°C.

6.2 Genotipado de los polimorfismos:

El genotipado se llevó a cabo mediante la plataforma *TaqMan SNP OpenArray*™ de *Applied Biosystems* (ABI) (*Life Technologies, Grand Island, NY, EE.UU.*). Los ensayos para nuestro estudio de genotipado están disponibles en la base de datos *ABI TaqMan SNP genotyping*. Las muestras se prepararon siguiendo los protocolos del fabricante y se cargaron en arrays de genotipado para *OpenArray*™ utilizando el Sistema de *AccuFill OpenArray*™. Nuestros arrays se incubaron en un termociclador *GeneAmp PCR System 9700* de ABI. Cuando la amplificación se completó las imágenes de fluorescencia se captaron en el *OpenArray NT* y los datos se analizaron con el software *TaqMan Genotyper 2.1* de ABI.

La amplificación del ADN genómico se realizó en un equipo de PCR a tiempo real utilizando las sondas *Taqman*® que llevan incorporados dos fluoróforos (VIC y FAM) uno para cada alelo del gen (el mutado y el normal). De esta forma se identificaron los sujetos homocigotos para el alelo más común (marcados con un fluoróforo), homocigotos para el alelo menos común, donde se encuentra la mutación (marcados con el otro fluoróforo) y heterocigotos (marcados con los dos fluoróforos).

Las condiciones de la PCR fueron las siguientes:

1. 5 minutos a 95°C para la desnaturalización del ADN genómico.
2. 40 ciclos de:
 - a. Desnaturalización del ADN genómico da 95 °C durante 30 segundos.
 - b. 60 segundos a 60 °C para la unión de los primers al ADN genómico.
 - c. 30 segundos a 72 °C para la extensión de la polimerasa.
3. Las muestras se conservaron en las placas a 4 °C.

Posteriormente se llevó a cabo la lectura de fluorescencia para VIC y FAM para seguidamente obtener los datos de frecuencia alélica en cada uno de los genotipos mediante el software especificado previamente.

6.2.1 Genotipado de los polimorfismos *rs1799964* y *rs1800629* localizados en el gen TNF- α :

La secuencia que codifica para el gen TNF- α se encuentra ubicada en el cromosoma 6 flanqueado por los genes de la linfotoxina “a” y “b”. Los SNPs *rs1799964* y *rs1800629* se encuentran localizados dentro de la secuencia del gen TNF- α , tal como se menciona previamente en la literatura (275, 380).

La determinación del genotipo para estos SNPs se llevó a cabo mediante el RT-PCR en tiempo real. El cambio de nucleótido del SNP *rs1799964* es una **T** por una **C** (ambas bases son pirimidínicas) en la posición 6:31482308. El cambio de nucleótido del SNP *rs1800629* es una **G** por una **A** (ambas bases son purinas) en la posición 6:31543031. A este tipo de mutaciones se les denomina transición.

- TNF- α (*rs1799964*):

GGAAGCAAAGGAGAAGCTGAGAAGA[C/T]GAAGGAAAAGTCAGGGTCTGGAGG

- TNF- α (*rs1800629*):

GAGGCAATAGGTTTTGAGGGGCATG[A/G]GGACGGGGTTCAGCCTCCAGGGTCC

6.2.2 Genotipado de los polimorfismos *rs1801260*, *rs3749474* y *rs4580704* localizados en el gen CLOCK:

El gen promotor del factor de transcripción CLOCK se encuentra ubicado en el cromosoma 4. Este gen presenta varios SNPs entre los que hemos determinado 3 que ya han sido mencionados previamente por Garaulet *et al.* (291): *rs1801260*, *rs3749474* y *rs4580704*. La metodología para la detección, amplificación y análisis de estos SNPs junto con la de los del gen promotor del TNF- α fue similar y la describiremos más

adelante. El cambio de nucleótido del SNP *rs1801260* se basa en la transición de una **C** (alelo mayoritario o salvaje) por una **T** en la posición 4:56301369. En el SNP *rs3749474* también se dan una transición de una **C** (alelo mayoritario o salvaje) por una **T** en la posición 4:56300685. La mutación del SNP *rs4580704* es una transversión puesto que se modifica una **C** (alelo mayoritario ó salvaje) por una **G** en la posición 4:56326707.

- CLOCK (*rs1801260*):

CCAGCAGGAGGTGATCATAGGGGCA[C/T]AGCCAGTTCTGACAGTGTTTTAGGT

- CLOCK (*rs3749474*):

AAGCAGTGCAAATCCTATTTTCAAA[C/T]ATAATTGAAAAATAATGAAATGAGG

- CLOCK (*rs4580704*):

ACAAGTCCCAAACCTAATCTGTCAT[C/G]AAGACCTGCTACTTATTTACCAAG

Posteriormente se llevó a cabo la lectura de los resultados obtenidos mediante la técnica Taqman ya especificada tal y como se representan en las **Figuras 7 y 8**.

Figura 7. Ejemplo del resultado del análisis por *Taqman* del polimorfismo *rs1799964* de la región promotora del *TNF- α* . Los puntos azules representan a los individuos homocigotos para el alelo mayor de frecuencia, los verdes a los individuos heterocigotos y los rojos a los individuos para el alelo de menor frecuencia.

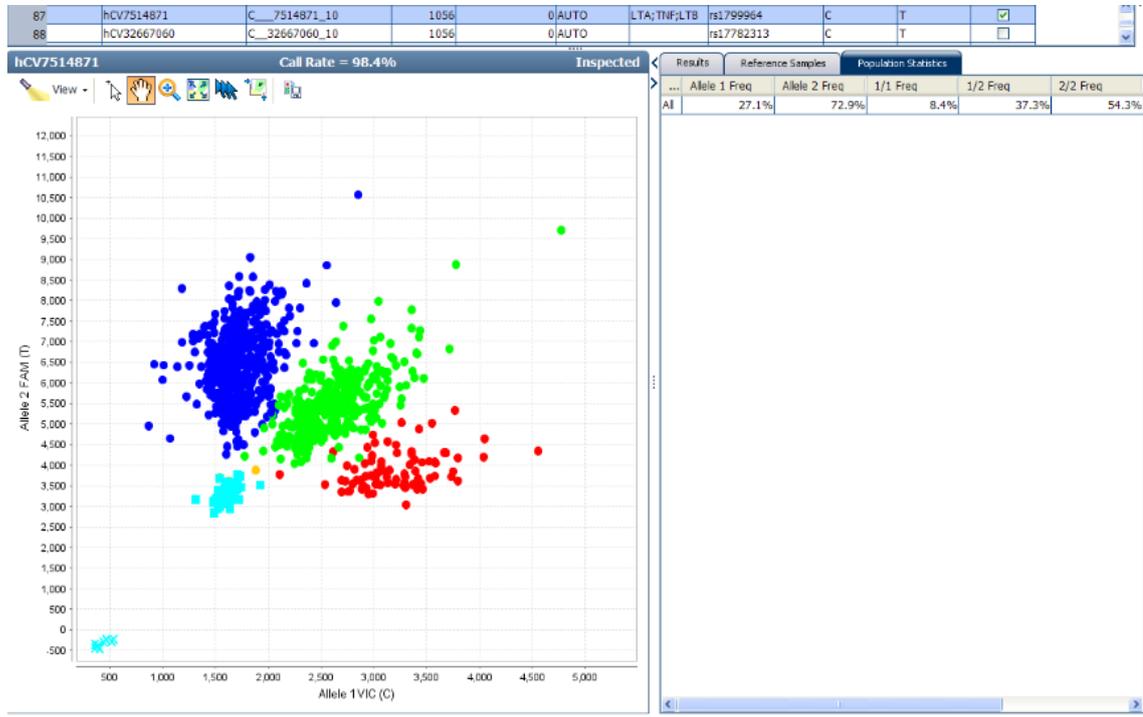
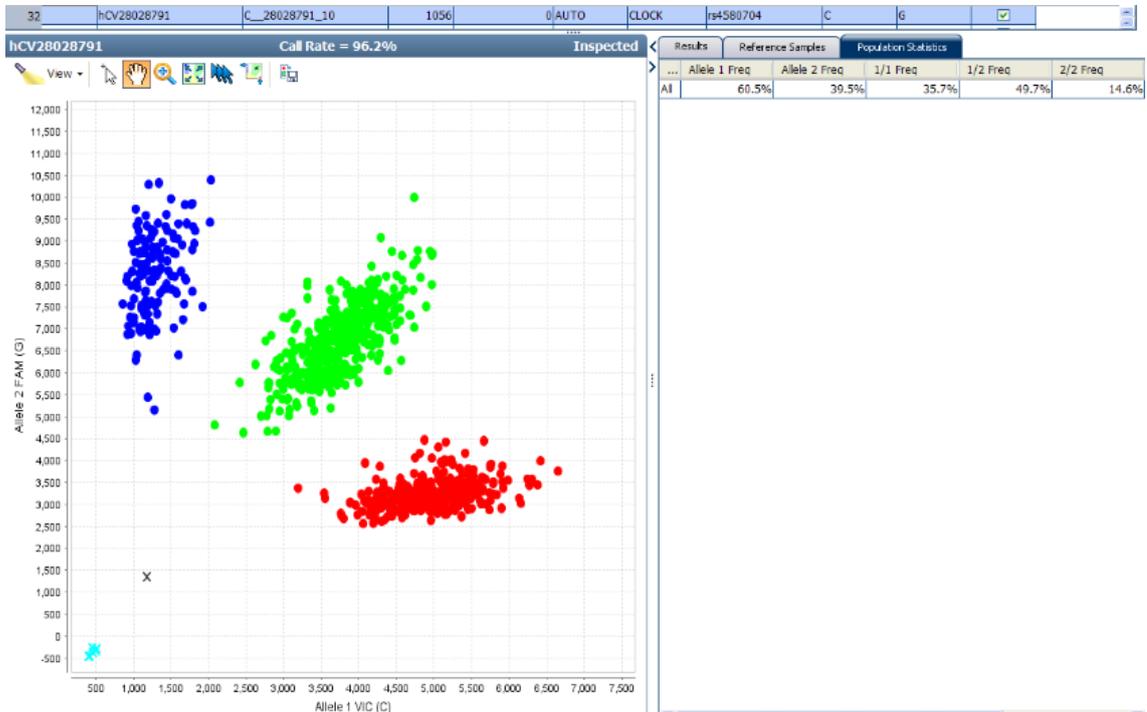


Figura 8. Ejemplo del resultado del análisis por Taqman del polimorfismo *rs4580704* del gen *CLOCK*. Los puntos azules representan a los individuos homocigotos para el alelo mayor de frecuencia, los verdes a los individuos heterocigotos y los rojos a los individuos para el alelo menor de frecuencia.



7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO:

Para contrastar la normalidad de las variables bioquímicas se empleó el test Kolmogorov-Smirnov. Aquellos datos que no seguían una distribución normal fueron transformados logarítmicamente (\log_{10}). El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS® versión 18.0 para Windows (SPSS Inc., Chicago, IL). Para variables cualitativas: frecuencias y porcentajes; para variables cuantitativas: media \pm error estándar. Las diferencias en los valores medios se evaluaron mediante análisis de varianza (ANOVA). Se consideraron la edad, el género y el IMC como factores de confusión potenciales. La prueba de Bonferroni se utilizó en todos los casos que requirieron un análisis post-hoc. La prueba de ANOVA para medidas repetidas se utilizó también para valorar la influencia del SNP sobre determinadas variables

bioquímicas (P global para el efecto del genotipo), la cinética de la respuesta en función del SNP (P para el tiempo) y la interacción de ambos factores (P para el tiempo * gen) .

Todos los análisis fueron ajustados por factores de confusión potenciales y los valores de $P < 0,05$ fueron considerados significativos.

8. METODOS DE OBTENCIÓN BIBLIOGRÁFICA:

Para la revisión bibliográfica se usó la web (<http://ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) conocida como *PUBMED* y el motor de búsqueda *MEDLINE* ofrecido por la Biblioteca nacional de los Estados Unidos; utilizándose varias entradas, palabras clave o encabezamientos MeDH del *Index Medicus*. Se empleó a su vez el proveedor de información *Ovid Technologies* al que se accede a través del *Ovid Web Gateway* y la biblioteca virtual Scielo formada por una colección de revistas científicas españolas de ciencias de la salud seleccionadas de acuerdo a unos criterios de calidad preestablecidos. Todas estas plataformas utilizadas junto con la consulta directa de determinadas revistas científicas se realizó a través de la Biblioteca Virtual del Servicio de Salud Público de Andalucía (SSPA) (<http://www.bvsspa.es/profesionales/>).

Las referencias aparecen presentadas con el estilo o normas de *Vancouver* para la publicación de manuscritos en el ámbito de las Ciencias de la Salud.

VI. RESULTADOS

1. CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES BASALES Y TRAS 12 MESES DE INTERVENCIÓN:

Como ya comentamos en el apartado de diseño y metodología (**Tabla 3**), el estudio CORDIOPREV incluyó a 1002 pacientes con edades comprendidas entre los 20 y los 75 años y con un evento coronario de más de 6 meses de evolución con respecto a la fecha de inclusión en el estudio. De todos estos pacientes, 581 cumplían criterios de SMet en el momento de su inclusión de los cuales el 62,5 % (N=363) eran diabéticos. Del total de estos pacientes, 470 eran hombres y 111 mujeres. Sobre el total de pacientes con SMet, 301 pacientes fueron aleatorizados a la dieta BG y 280 a la DMed.

Tabla 10. Análisis descriptivo de las características basales y tras 12 meses de intervención dietética (BG y DMed) en los pacientes con SMet.

<i>N = 581</i>	<i>Basal</i>	<i>12 meses</i>	<i>P</i>
Peso (Kg)	88,64 (0,64)	87,43 (0,65)	<0,001
PC (cm)	108,76 (0,48)	107,46 (0,47)	<0,001
IMC (kg/m²)	32,43 (0,18)	32,02 (0,19)	<0,001
CT (mg/dL)	158,62 (1,31)	156,89 (1,50)	NS
c-LDL (mg/dL)	86,35 (1,16)	86,54 (1,19)	NS
c-HDL (mg/dL)	38,58 (0,38)	39,01 (0,39)	NS
TG (mg/dL)	159,91 (3,18)	139,88 (2,69)	<0,001
ApoB (mg/dL)	76,10 (0,86)	72,38 (0,86)	<0,001
ApoA1 (mg/dL)	124,91 (0,86)	120,81 (0,93)	<0,001
Lpa (mg/dL)	37,57 (1,81)	37,99 (1,85)	0,047
Hcy (µmol/L)	13,47 (0,18)	13,01 (0,19)	0,002
Glucosa (mg/dL)	125,92 (1,86)	120,45 (1,63)	<0,001
Insulina (mU/L)	10,92 (0,36)	9,60 (0,34)	0,001
HbA1c (%)	6,94 (0,06)	6,81 (0,05)	0,001
HOMA-IR	3,30 (0,16)	2,81 (0,11)	<0,001
QUICKI	0,34 (0,003)	0,35 (0,003)	0,006
PCR-us (mg/L)	3,22 (0,16)	2,68 (0,13)	<0,001

Valores expresados en media (error estándar). Abreviaturas: ApoA1, apolipoproteína A1, ApoB, apolipoproteína B; c-HDL, colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad c-LDL;

colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad; cm, centímetros; CT, colesterol total; HbA1c, hemoglobina glicosilada; Hcy, homocisteína; HOMA-IR, *homeostasis model assessment of insulin resistance*; IMC, índice de masa corporal; Kg, kilogramos; Kg/m², kilogramos por metro cuadrado; mg/dL, miligramos por decilitro; mg/L, miligramos por litro; mU/L, miliunidades por litro; NS, no significativo; PC, perímetro de cintura; PCR-us, proteína C reactiva ultrasensible; QUICKI, *quantitative insulin sensitivity check index*; TG, triglicéridos. Variables calculadas usando el test de Student para muestras relacionadas.

1.1 Características basales y tras 12 meses de intervención con la dieta baja en grasa (BG):

<i>N</i> = 301	<i>Basal</i>	<i>12 meses</i>	<i>P</i>
Peso (Kg)	88,44 (0,84)	86,81 (0,86)	<0,001
PC (cm)	109,33 (0,73)	107,61 (0,72)	<0,001
IMC (kg/m²)	32,55 (0,27)	32,00 (0,28)	<0,001
CT (mg/dL)	158,00 (1,89)	154,42 (1,92)	0,028
c-LDL (mg/dL)	85,54 (1,55)	87,25 (1,55)	NS
c-HDL (mg/dL)	38,85 (0,54)	39,02 (0,51)	NS
TG (mg/dL)	156,98 (4,44)	136,95 (3,66)	<0,001
ApoB (mg/dL)	74,82 (1,26)	70,02 (1,27)	<0,001
ApoA1 (mg/dL)	124,68 (1,15)	120,95 (1,20)	0,001
Lpa (mg/dL)	36,65 (2,51)	37,83 (2,47)	0,047
Hcy (μmol/L)	13,23 (0,22)	12,81 (0,25)	0,028
Glucosa (mg/dL)	123,29 (2,40)	118,65 (2,17)	0,008
Insulina (mU/L)	10,26 (0,47)	9,28 (0,44)	0,045
HbA1c (%)	6,89 (0,08)	6,74 (0,07)	0,001
HOMA-IR	3,14 (1,72)	2,73 (1,50)	0,009
QUICKI	0,35 (0,004)	0,35 (0,006)	0,666
PCR-us (mg/L)	3,28 (0,24)	2,76 (0,19)	0,001

Valores expresados en media (error estándar). Abreviaturas: ApoA1, apolipoproteína A1; ApoB, apolipoproteína B; c-HDL, colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad c-LDL; colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad; cm, centímetros; CT, colesterol total; HbA1c, hemoglobina glicosilada; Hcy, homocisteína; HOMA-IR, *homeostasis model assessment of insulin resistance*; IMC, índice de masa corporal; Kg, kilogramos; Kg/m², kilogramos por metro cuadrado; mg/dL, miligramos por decilitro; mg/L, miligramos por litro; mU/L, miliunidades por litro; NS, no significativo; PC, perímetro de cintura; PCR-us,

proteína C reactiva ultrasensible; QUICKI, *quantitative insulin sensitivity check index*; TG, triglicéridos. Variables calculadas usando el test de Student para muestras relacionadas.

1.2 Características basales y tras 12 meses de intervención con la dieta mediterránea (DMed):

<i>N</i> = 280	<i>Basal</i>	<i>12 meses</i>	<i>P</i>
Peso (Kg)	87,80 (0,85)	86,09 (0,85)	0,007
PC (cm)	108,38 (0,61)	107,31 (0,62)	0,015
IMC (kg/m²)	32,31(0,26)	32,03 (0,26)	0,013
CT (mg/dL)	158,05 (2,13)	159,03 (2,32)	NS
c-LDL (mg/dL)	86,19 (1,74)	87,34 (1,83)	NS
c-HDL (mg/dL)	38,28 (0,52)	38,89 (0,61)	NS
TG (mg/dL)	161,29 (4,58)	142,97 (4,00)	<0,001
ApoB (mg/dL)	76,79 (1,22)	74,77 (1,26)	0,044
ApoA1 (mg/dL)	124,52 (1,30)	120,66 (1,42)	0,001
Lpa (mg/dL)	38,52 (2,62)	40,01 (2,77)	NS
Hcy (μmol/L)	13,70 (0,29)	13,21 (0,30)	0,022
Glucosa (mg/dL)	127,92 (2,87)	122,78 (2,44)	0,004
Insulina (mU/L)	11,66 (0,55)	9,95 (0,53)	0,005
HbA1c (%)	7,00 (0,08)	6,89 (0,09)	NS
HOMA-IR	3,48 (1,83)	2,90 (1,77)	0,001
QUICKI	0,34 (0,005)	0,36 (0,006)	0,001
PCR-us (mg/L)	3,16 (0,22)	2,60 (0,18)	<0,001

Valores expresados en media (error estándar). Abreviaturas: ApoA1, apolipoproteína A1; ApoB, apolipoproteína B; c-HDL, colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad c-LDL; colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad; cm, centímetros; CT, colesterol total; HbA1c, hemoglobina glicosilada; Hcy, homocisteína; HOMA-IR, *homeostasis model assessment of insulin resistance*; IMC, índice de masa corporal; Kg, kilogramos; Kg/m², kilogramos por metro cuadrado; mg/dL, miligramos por decilitro; mg/L, miligramos por litro; mU/L, miliunidades por litro; NS, no significativo; PC, perímetro de cintura; PCR-us, proteína C reactiva ultrasensible; QUICKI, *quantitative insulin sensitivity check index*; TG, triglicéridos. Variables calculadas usando el test de Student para muestras relacionadas.

1.3 Características basales y tras 12 meses de intervención en función del género:

1.3.1 Características basales y tras 12 meses de intervención en hombres:

<i>N = 470</i>	<i>Basal</i>	<i>12 meses</i>	<i>P</i>
Peso (Kg)	91,17 (0,66)	89,98 (0,67)	<0,001
PC (cm)	110,08 (0,50)	108,60 (0,49)	<0,001
IMC (kg/m²)	32,31 (0,20)	31,90 (0,21)	<0,001
CT (mg/dL)	156,41 (1,47)	154,96 (1,61)	NS
c-LDL (mg/dL)	84,18 (1,18)	85,90 (1,16)	NS
c-HDL (mg/dL)	37,49 (0,36)	37,86 (0,39)	NS
TG (mg/dL)	158,27 (3,39)	140,03 (2,99)	<0,001
ApoB (mg/dL)	75,41 (0,92)	72,05 (0,93)	<0,001
ApoA1 (mg/dL)	122,97 (0,93)	118,51 (0,99)	<0,001
Lpa (mg/dL)	34,87 (1,88)	36,74 (1,94)	0,018
Hcy (µmol/L)	13,66 (0,20)	13,17 (0,21)	0,001
Glucosa (mg/dL)	124,47 (1,90)	118,10 (1,59)	<0,001
Insulina (mU/L)	11,03 (0,40)	9,20 (0,37)	<0,001
HbA1c (%)	6,90 (0,64)	6,73 (0,60)	<0,001
HOMA-IR	3,32 (0,14)	2,70 (0,12)	<0,001
QUICKI	0,34 (0,003)	0,36 (0,004)	<0,001
PCR-us (mg/L)	2,83 (0,15)	2,11 (0,10)	<0,001

Valores expresados en media (error estándar). Abreviaturas: ApoA1, apolipoproteína A1; ApoB, apolipoproteína B; c-HDL, colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad c-LDL; colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad; cm, centímetros; CT, colesterol total; HbA1c, hemoglobina glicosilada; Hcy, homocisteína; HOMA-IR, *homeostasis model assessment of insulin resistance*; IMC, índice de masa corporal; Kg, kilogramos; Kg/m², kilogramos por metro cuadrado; mg/dL, miligramos por decilitro; mg/L, miligramos por litro; mU/L, miliunidades por litro; NS, no significativo; PC, perímetro de cintura; PCR-us, proteína C reactiva ultrasensible; QUICKI, *quantitative insulin sensitivity check index*; TG, triglicéridos. Variables calculadas usando el test de Student para muestras relacionadas.

1.3.2. Características basales y tras 12 meses de intervención en mujeres:

<i>N = 111</i>	<i>Basal</i>	<i>12 meses</i>	<i>P</i>
Peso (Kg)	77,98 (1,38)	76,93 (1,39)	0,044
PC (cm)	103,29 (1,24)	102,49 (1,21)	NS
IMC (kg/m²)	32,94 (0,50)	32,50 (0,51)	NS
CT (mg/dL)	164,24 (3,96)	163,78 (3,63)	NS
c-LDL (mg/dL)	88,52 (2,90)	90,25 (2,66)	NS
c-HDL (mg/dL)	41,12 (0,86)	41,94 (0,88)	NS
TG (mg/dL)	150,72 (6,97)	136,24 (5,95)	0,035
ApoB (mg/dL)	74,47 (1,96)	70,57 (1,85)	0,038
ApoA1 (mg/dL)	131,70 (2,15)	130,77 (2,15)	NS
Lpa (mg/dL)	48,94 (5,01)	48,45 (5,02)	NS
Hcy (µmol/L)	12,61 (0,49)	12,31 (0,50)	NS
Glucosa (mg/dL)	130,12 (5,54)	130,60 (5,18)	NS
Insulina (mU/L)	10,50 (0,82)	11,29 (0,86)	NS
HbA1c (%)	7,10 (0,14)	7,16 (0,15)	NS
HOMA-IR	3,20 (0,28)	3,30 (0,28)	NS
QUICKI	0,35 (0,008)	0,34 (0,005)	NS
PCR-us (mg/L)	3,00 (0,27)	2,78 (0,27)	NS

Valores expresados en media (error estándar). Abreviaturas: ApoA1, apolipoproteína A1; ApoB, apolipoproteína B; c-HDL, colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad c-LDL; colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad; cm, centímetros; CT, colesterol total; HbA1c, hemoglobina glicosilada; Hcy, homocisteína; HOMA-IR, *homeostasis model assessment of insulin resistance*; IMC, índice de masa corporal; Kg, kilogramos; Kg/m², kilogramos por metro cuadrado; mg/dL, miligramos por decilitro; mg/L, miligramos por litro; mU/L, miliunidades por litro; NS, no significativo; PC, perímetro de cintura; PCR-us, proteína C reactiva ultrasensible; QUICKI, *quantitative insulin sensitivity check index*; TG, triglicéridos. Variables calculadas usando el test de Student para muestras relacionadas.

2. EFECTO DE LOS SNPs DEL GEN PROMOTOR DEL TNF- α SOBRE EL METABOLISMO LIPÍDICO, METABOLISMO DE LA GLUCOSA Y PARÁMETROS INFLAMATORIOS DE PACIENTES CON SÍNDROME METABÓLICO:

2.1 Distribución y frecuencia de los SNPs del gen promotor del TNF- α :

A la hora de analizar la frecuencia y la distribución de un SNP es importante saber si esta frecuencia y distribución es similar en otras poblaciones en las que se haya analizado con el fin de eliminar diferencias étnicas que puedan interferir en nuestros resultados. Dentro de la población del estudio CORDIOPREV se determinó la frecuencia de los genotipos G/G, A/G y A/A para el SNP *rs1800629* y los genotipos T/T, C/T y T/T para el SNP *rs1799964*, ambos en el gen promotor del TNF- α . Los datos obtenidos en los pacientes con SMet para estos genotipos fueron comparados con los esperados siguiendo el principio Hardy-Weinberg que se utilizó para calcular los valores de X^2 tal y como se refleja en la **Tabla 11**.

Tabla 11. Equilibrio Hardy-Weinberg para los SNPs del gen promotor del TNF- α .

<i>SMet (N=507)</i>	<i>GENOTIPOS</i>	<i>HW-OBS.</i>	<i>HW-ESP.</i>	<i>H-W (P)*</i>
<i>rs1800629</i>	G/G	408	404,8	0,129
	A/G	90	96,5	
	A/A	9	5,8	
<i>rs1799964</i>	T/T	256	256,3	0,942
	C/T	209	208,3	
	C/C	42	42,3	

HW-ESP.: Hardy-Weinberg esperada; HW-OBS.: Hardy-Weinberg observada. *Valores de *P*: significación estadística ($P < 0,05$) expresados mediante X^2 (Chi-cuadrado de Pearson).

Por otro lado también fueron analizadas las frecuencias alélicas de ambos SNPs tal y como se representa en la **Tabla 12**.

Tabla 12. Frecuencia alélica de los SNPs de la región promotora del TNF- α (N=507).

<i>rs1800629</i>	<i>FRECUENCIA ALÉLICA</i>	<i>rs1799964</i>	<i>FRECUENCIA ALÉLICA</i>
G	0,90	T	0,71
A	0,10	C	0,29

2.2 Evaluación del SNP *rs1799964*:

El objetivo principal de nuestro estudio se basaba en analizar, en cada uno de los SNPs indicados, si la presencia de un determinado SNP podría interaccionar con dos patrones dietéticos diferentes (BG vs. DMed), consumidos durante 12 meses, para influir sobre distintos parámetros inflamatorios (PCR-us, IL-6 y TNF- α) de los pacientes con SMet del estudio CORDIOPREV. Del mismo modo se analizaron parámetros lipídicos (CT, c-LDL, c-HDL, apoA1, apoB, TG y Lpa), parámetros de control glucémico (glucosa basal, insulina, HbA1c y los índices HOMA-IR y QUICKI), y otros parámetros como la homocisteína. Además de tratar de demostrar la existencia de interacciones gen-dieta, se analizaron en un primer momento las asociaciones entre estos SNPs y los parámetros mencionados en situación basal, con el fin de verificar posteriormente si estas asociaciones se veían influenciadas por la ingesta de un modelo de dieta concreto. Junto a ese análisis, tratamos de verificar si estas asociaciones eran reproducibles durante el periodo postprandial tras realizar una sobrecarga grasa en nuestros pacientes. Para el análisis estadístico los sujetos fueron agrupados en 2 grupos en función del alelo que presentasen. Por un lado se constituyó un grupo con los individuos homocigotos para el alelo mayoritario y, en contraposición, el segundo grupo

se formó agrupando a los individuos portadores del alelo minoritario (homocigotos menores y heterocigotos).

2.2.1 Asociación del SNP *rs1799964* con parámetros lipídicos, glucémicos e inflamatorios:

Para el primer SNP analizado dentro del gen promotor del TNF- α no se encontraron asociaciones significativas con los distintos parámetros que se describen en la **Tabla 13**. Con el fin de evitar la interferencia de determinados factores de confusión se realizó un análisis estadístico considerando como covariables edad y género.

Tabla 13. Características basales en función del polimorfismo *rs1799964* de la región promotora del TNF- α en pacientes con SMet.

	T/T (N=256)	C/C + C/T (N=251)	P
Edad (años)	59,79 (0,52)	60,36 (0,54)	0,393
Peso (Kg)	88,73 (0,81)	89,01 (0,84)	0,846
PC (cm)	108,8 (0,65)	108,83 (0,67)	0,890
IMC (kg/m²)	32,25 (0,26)	32,58 (0,27)	0,304
CT (mg/dL)	157,66 (1,95)	160,5 (2,02)	0,205
c-LDL (mg/dL)	85,84 (1,66)	86,82 (1,70)	0,634
c-HDL (mg/dL)	38,78 (0,52)	38,79 (0,53)	0,913
TG (mg/dL)	154,63 (4,39)	165,73 (4,84)	0,089
ApoB (mg/dL)	75,12 (1,12)	77,1 (1,15)	0,162
ApoA1 (mg/dL)	125,01 (1,17)	125,61 (1,21)	0,583
Lpa (mg/dL)	39,78 (2,54)	36,57 (2,59)	0,409
Hcy (μmol/L)	13,60 (0,25)	13,63 (0,26)	0,891
Glucosa (mg/dL)	127,14 (2,69)	125,13 (2,77)	0,591
HbA1c (%)	7,01 (0,08)	6,86 (0,08)	0,169
Insulin (mU/L)	12,06 (0,56)	11,83 (0,58)	0,779
HOMA-IR	3,70 (0,24)	3,82 (0,23)	0,750
QUICKI	0,34 (0,005)	0,33 (0,005)	0,676
PCR-us (mg/L)	2,63 (0,15)	3,01 (0,15)	0,063
IL-6 (pg/mL)	2,82 (0,16)	2,80 (0,15)	0,897
TNF-α (pg/mL)	12,06 (1,11)	15,11 (1,17)	0,055

Valores expresados en media (error estándar). Abreviaturas: ApoA1, apolipoproteína A1, ApoB, apolipoproteína B; c-HDL, colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad c-LDL; colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad; cm, centímetros; CT, colesterol total; Hcy, homocisteína; HOMA-IR, *homeostasis model assessment of insulin resistance*; IL-6, interleuquina 6; IMC, índice de masa corporal; Kg, kilogramos; Kg/m², kilogramos por metro cuadrado; Lpa, lipoproteína a; mg/dL, miligramos por decilitro; mg/L, miligramos por litro; mU/L, miliunidades por litro; PC, perímetro de cintura; PCR-us, proteína C reactiva ultrasensible; QUICKI, *quantitative insulin sensitivity check index*; TG, triglicéridos; TNF- α , factor de necrosis tumoral alfa. * $P < 0.05$. Variables calculadas usando el test de ANOVA univariante ajustado por factores de confusión.

2.2.2 Interacción del SNP *rs1799964* con los patrones dietéticos del estudio

CORDIOPREV:

A la hora de analizar si la presencia del SNP *rs1799964* interaccionaba con la dieta con el fin de ejercer influencia sobre el metabolismo lipídico, el metabolismo de la glucosa o el estado inflamatorio de bajo grado que caracteriza a los pacientes con SMet, tampoco se encontraron hallazgos significativos, tanto en la dieta BG (Tabla 14) como en la dieta DMed (Tabla 15).

Tabla 14. Interacción entre el polimorfismo *rs1799964* y la dieta baja en grasa (BG) sobre los parámetros lipídicos, inflamatorios y el metabolismo de la glucosa en situación basal y tras 12 meses de intervención.

	Basal			12 meses		
	T/T	C/C+C/T	P	T/T	C/C+C/T	P
CT (mg/dL)	157,25 (2,92)	158,26 (2,78)	0,839	154,65 (3,09)	154,10 (2,95)	0,892
c-LDL (mg/dL)	85,26 (2,37)	86,50 (2,26)	0,780	86,98 (2,60)	88,09 (2,49)	0,656
c-HDL (mg/dL)	40,53 (0,83)	38,84 (0,79)	0,248	39,62 (0,78)	38,59 (0,75)	0,492
TG (mg/dL)	151,86 (6,65)	158,21 (6,33)	0,558	138,15 (5,97)	135,04 (5,60)	0,859
ApoB (mg/dL)	74,14 (1,78)	76,00 (1,69)	0,611	71,43 (1,84)	70,47 (1,75)	0,844
ApoA1 (mg/dL)	127,88 (1,74)	124,69 (1,65)	0,313	124,51 (1,81)	121,38 (1,73)	0,412
Lpa (mg/dL)	39,18 (3,56)	36,74 (3,76)	0,709	37,94 (3,73)	36,79 (3,62)	0,871
Hcy (µmol/L)	13,24 (0,36)	13,67 (0,34)	0,397	12,88 (0,42)	12,91 (0,40)	0,847
Glucosa (mg/dL)	125,76 (3,95)	122,06 (3,76)	0,479	119,22 (3,65)	116,51 (3,49)	0,539
HbA1c (%)	7,05 (0,11)	6,79 (0,11)	0,094	6,94 (0,11)	6,70 (0,11)	0,128
Insulin (mU/L)	12,73 (0,99)	11,29 (0,94)	0,362	10,82 (1,19)	8,48 (1,13)	0,160
HOMA-IR	4,29 (0,44)	3,51 (0,42)	0,258	3,43 (0,48)	2,49 (0,46)	0,158
QUICKI	0,34 (0,006)	0,34 (0,006)	0,504	0,35 (0,006)	0,35 (0,006)	0,609
PCR-us (mg/L)	2,55 (0,19)	2,70 (0,18)	0,535	2,53 (0,53)	2,42 (0,51)	0,820
IL-6 (pg/mL)	3,09 (0,25)	2,88 (0,23)	0,664	3,33 (0,26)	3,21 (0,25)	0,816
TNF-α (pg/mL)	13,63 (1,62)	15,84 (1,73)	0,524	10,83 (1,62)	13,63 (1,59)	0,174

Valores expresados en media (error estándar). Abreviaturas: ApoA1, apolipoproteína A1, ApoB, apolipoproteína B; c-HDL, colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad c-LDL; colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad; cm, centímetros; CT, colesterol total; Hcy, homocisteína; HOMA-IR, *homeostasis model assessment of insulin resistance*; IL-6, interleuquina 6; IMC, índice de masa corporal; Kg, kilogramos; Kg/m², kilogramos por metro cuadrado; Lpa, lipoproteína a; mg/dL, miligramos por decilitro; mg/L, miligramos por litro; mU/L, miliunidades por litro; PC, perímetro de cintura; PCR-us, proteína C reactiva ultrasensible; QUICKI, *quantitative insulin sensitivity check index*; TG, triglicéridos; TNF-α, factor de necrosis tumoral alfa. *P<0.05. Variables calculadas usando el test de ANOVA univariante ajustado por factores de confusión.

Tabla 15. Interacción entre el polimorfismo *rs1799964* y la dieta mediterránea (DMed) sobre los parámetros lipídicos, inflamatorios y el metabolismo de la glucosa en situación basal y tras 12 meses de intervención.

	Basal			12 meses		
	T/T	C/C+C/T	P	T/T	C/C+C/T	P
CT (mg/dL)	155,13 (2,80)	159,32 (3,11)	0,259	156,59 (3,33)	157,63 (3,55)	0,999
c-LDL (mg/dL)	86,57 (2,51)	87,84 (2,79)	0,676	90,39 (2,72)	88,63 (2,90)	0,552
c-HDL (mg/dL)	37,83 (0,76)	39,74 (0,84)	0,120	37,92 (0,87)	39,92 (0,93)	0,166
TG (mg/dL)	151,53 (5,74)	155,56 (6,38)	0,429	141,39 (5,90)	143,15 (6,30)	0,751
ApoB (mg/dL)	75,00 (1,58)	76,73 (1,75)	0,316	73,00 (1,81)	73,05 (1,93)	0,996
ApoA1 (mg/dL)	122,19 (1,77)	126,77 (1,96)	0,101	117,48 (2,20)	123,47 (2,35)	0,114
Lpa (mg/dL)	40,35 (3,76)	36,37 (3,56)	0,346	38,91 (3,72)	40,36 (4,08)	0,934
Hcy (μmol/L)	13,93 (0,37)	13,46 (0,41)	0,317	13,09 (0,40)	13,03 (0,45)	0,730
Glucosa (mg/dL)	126,69 (4,20)	129,69 (4,67)	0,749	117,87 (3,31)	122,75 (3,53)	0,474
HbA1c (%)	6,99 (0,10)	6,95 (0,12)	0,775	6,86 (0,12)	6,88 (0,13)	0,940
Insulin (mU/L)	14,67 (1,25)	12,71 (1,39)	0,419	9,55 (0,80)	10,20 (0,86)	0,706
HOMA-IR	5,00 (0,70)	4,63 (0,78)	0,816	2,88 (0,30)	3,23 (0,33)	0,574
QUICKI	0,34 (0,005)	0,33 (0,004)	0,159	0,36 (0,008)	0,36 (0,009)	0,869
PCR-us (mg/L)	2,43 (0,18)	2,82 (0,20)	0,191	2,30 (0,38)	3,18 (0,40)	0,135
IL-6 (pg/mL)	2,60 (0,19)	2,73 (0,21)	0,493	2,96 (0,23)	3,25 (0,25)	0,390
TNF-α (pg/mL)	10,51 (1,55)	14,44 (1,60)	0,084	11,18 (1,26)	13,23 (1,41)	0,193

Valores expresados en media (error estándar). Abreviaturas: ApoA1, apolipoproteína A1; ApoB, apolipoproteína B; c-HDL, colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad c-LDL; colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad; cm, centímetros; CT, colesterol total; Hcy, homocisteína; HOMA-IR, *homeostasis model assessment of insulin resistance*; IL-6, interleuquina 6; IMC, índice de masa corporal; Kg, kilogramos; Kg/m², kilogramos por metro cuadrado; Lpa, lipoproteína a; mg/dL, miligramos por decilitro; mg/L, miligramos por litro; mU/L, miliunidades por litro; PC, perímetro de cintura; PCR-us, proteína C reactiva ultrasensible; QUICKI, *quantitative insulin sensitivity check index*; TG, triglicéridos; TNF-α, factor de necrosis tumoral alfa. *P<0.05. Variables calculadas usando el test de ANOVA univariante ajustado por factores de confusión.

2.2.3 Relación del SNP *rs1799964* con la respuesta lipémica postprandial:

Con respecto a la presencia de este SNP, la sobrecarga grasa en forma de desayuno que se administró a estos pacientes tampoco puso de manifiesto la relación de este SNP con la respuesta lipémica postprandial al no encontrarse diferencias entre grupos alélicos tanto en el basal (tiempo 0) como durante las 4 horas posteriores en las que se realizaron las extracciones sanguíneas.

2.3 Evaluación del SNP *rs1800629*:

2.3.1 Asociación del SNP *rs1800629* con parámetros lipídicos, glucémicos e inflamatorios:

Con respecto al análisis basal del SNP *rs1800629* se encontraron asociaciones significativas en función de las variantes alélicas. Los individuos homocigotos para el alelo mayoritario G/G presentaron niveles superiores de TG ($P=0,003$), apoB ($P=0,010$) y PCR-us ($P=0,003$) mediante el análisis de la varianza (ANOVA) en comparación con los individuos portadores del alelo minoritario A (A/A + A/G) tal y como queda reflejado en la **Tabla 16**.

Tabla 16. Características basales en función del polimorfismo *rs1800629* de la región promotora del TNF- α en pacientes con SMet.

	G/G (N=408)	A/A + A/G (N=99)	P
Edad (años)	60,17 (0,42)	59,53 (0,85)	0,624
Peso (Kg)	88,89 (0,65)	87,51 (1,31)	0,408
PC (cm)	108,72 (0,52)	107,72 (1,04)	0,524
IMC (kg/m ²)	32,42 (0,21)	31,95 (0,42)	0,264
CT (mg/dL)	160,01 (1,59)	154,42 (3,20)	0,083
c-LDL (mg/dL)	86,7 (1,35)	85,17 (2,75)	0,586
c-HDL (mg/dL)	38,77 (0,42)	38,59 (0,86)	0,717
TG (mg/dL)	164,44 (3,58)	139,73 (7,28)	0,003*
ApoB (mg/dL)	77,03(0,9)	71,89 (1,84)	0,010*
ApoA1 (mg/dL)	125,73 (0,95)	123,12 (1,92)	0,173
Lpa (mg/dL)	36,37 (2,02)	40,85 (4,16)	0,383
Hcy (μ mol/L)	13,75 (0,21)	13,04 (0,42)	0,178
Glucosa (mg/dL)	125,48 (2,18)	132,06 (4,38)	0,178
HbA1c (%)	6,92 (0,12)	6,94 (0,12)	0,884
Insulin (mU/L)	11,77 (0,45)	12,77 (0,91)	0,734
HOMA-IR	3,75 (0,18)	3,79 (0,37)	0,947
QUICKI	0,33 (0,004)	0,34 (0,008)	0,650
PCR-us (mg/L)	3,01(0,12)	2,23 (0,24)	0,003*
IL-6 (pg/mL)	2,91 (0,13)	2,60 (0,25)	0,719
TNF- α (pg/mL)	14,23 (0,92)	12,96 (1,60)	0,658

Valores expresados en media (error estándar). Abreviaturas: ApoA1, apolipoproteína A1, ApoB, apolipoproteína B; c-HDL, colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad c-LDL; colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad; cm, centímetros; CT, colesterol total; Hcy, homocisteína; HOMA-IR, *homeostasis model assessment of insulin resistance*; IL-6, interleuquina 6; IMC, índice de masa corporal; Kg, kilogramos; Kg/m², kilogramos por metro cuadrado; LPa, lipoproteína a; mg/dL, miligramos por decilitro; mg/L, miligramos por litro; mU/L, miliunidades por litro; PC, perímetro de cintura; PCR-us, proteína C reactiva ultrasensible; QUICKI, *quantitative insulin sensitivity check index*; TG, triglicéridos; TNF- α , factor de necrosis tumoral alfa. * $P < 0.05$. Variables calculadas usando el test de ANOVA univariante ajustado por factores de confusión.

2.3.2 Interacción del SNP *rs1800629* con los patrones dietéticos del estudio

CORDIOPREV:

Las diferencias basales entre variantes alélicas en los niveles de TG, apoB y PCR-us se mantuvieron al dividir el total de pacientes con SMet, seleccionados para este SNP, en los dos grupos de intervención.

- Dieta BG (Tabla 17):

- **TG:** Los individuos G/G presentaron mayores niveles plasmáticos de TG ($P=0,003$) comparados con los portadores del alelo minoritario A (A/A + A/G). Estas diferencias entre variantes alélicas se mantuvieron trascurridos los 12 meses de intervención, con unos valores superiores en los individuos G/G ($P=0,026$).

- **ApoB:** Los individuos homocigotos para el alelo mayoritario G (G/G) mostraron cifras de apoB ($P=0,006$) superiores a los individuos portadores del alelo minoritario A (A/A + A/G). Estas diferencias desaparecieron tras la intervención dietética durante 12 meses llegando a prácticamente igualarse los niveles de apoB entre variantes alélicas ($P=0,620$).

- **PCR-us:** Los individuos G/G presentaron niveles plasmáticos de PCR-us ($P=0,037$) superiores a los portadores del alelo minoritario A (A/A + A/G). Estas diferencias entre variantes alélicas se mantuvieron trascurridos los 12 meses de intervención ($P=0,048$).

Tabla 17. Interacción entre el polimorfismo *rs1800629* y la dieta baja en grasa (BG) sobre los parámetros lipídicos, inflamatorios y el metabolismo de la glucosa en situación basal y tras 12 meses de intervención.

	Basal			12 meses		
	G/G	G/A + A/A	P	G/G	G/A + A/A	P
CT (mg/dL)	158,63 (2,19)	155,94 (4,05)	0,562	153,12 (2,22)	153,83 (4,10)	0,968
c-LDL (mg/dL)	85,83 (1,85)	86,26 (3,45)	0,893	86,33 (1,84)	88,28 (3,38)	0,652
c-HDL (mg/dL)	38,76 (0,62)	40,56 (1,15)	0,209	38,83 (0,66)	39,90 (1,45)	0,478
TG (mg/dL)	166,41 (3,52)	139,73 (8,03)	0,003*	146,26 (4,68)	120,29 (10,1)	0,026*
ApoB (mg/dL)	76,63 (1,26)	69,32 (2,37)	0,006*	70,52 (1,37)	69,18 (2,54)	0,620
ApoA1 (mg/dL)	125,33 (1,26)	126,27 (2,35)	0,720	121,25 (1,42)	122,16 (2,64)	0,929
Lpa (mg/dL)	37,57 (2,90)	34,18 (5,51)	0,605	35,72 (3,03)	40,53 (5,47)	0,439
Hcy (µmol/L)	13,63 (0,28)	13,17 (0,53)	0,492	12,82 (0,33)	12,63 (0,60)	0,928
Glucosa (mg/dL)	123,73 (2,85)	127,07 (5,28)	0,409	121,05 (3,00)	118,18 (5,41)	0,684
HbA1c (%)	6,82 (0,11)	6,87 (0,11)	0,768	6,81 (0,09)	6,79 (0,17)	0,928
Insulin (mU/L)	11,03 (0,57)	11,33 (1,08)	0,881	9,77 (0,37)	9,05 (0,69)	0,684
HOMA-IR	3,38 (0,21)	3,69 (0,40)	0,532	3,05 (0,90)	2,61 (1,69)	0,558
QUICKI	0,34 (0,005)	0,34 (0,009)	0,935	0,36 (0,005)	0,35 (0,009)	0,279
PCR-us (mg/L)	2,99 (0,16)	2,16 (0,30)	0,037*	2,33 (0,15)	1,71 (0,29)	0,048*
IL-6 (pg/mL)	3,04 (0,20)	2,95 (0,37)	0,640	3,28 (0,23)	3,07 (0,40)	0,614
TNF-α (pg/mL)	14,57 (1,40)	15,91 (2,18)	0,672	12,64 (1,30)	12,13 (2,52)	0,755

Valores expresados en media (error estándar). Abreviaturas: ApoA1, apolipoproteína A1; ApoB, apolipoproteína B; c-HDL, colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad c-LDL; colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad; cm, centímetros; CT, colesterol total; Hcy, homocisteína; HOMA-IR, *homeostasis model assessment of insulin resistance*; IL-6, interleuquina 6; IMC, índice de masa corporal; Kg, kilogramos; Kg/m², kilogramos por metro cuadrado; Lpa, lipoproteína a; mg/dL, miligramos por decilitro; mg/L, miligramos por litro; mU/L, miliunidades por litro; PC, perímetro de cintura; PCR-us, proteína C reactiva ultrasensible; QUICKI, *quantitative insulin sensitivity check index*; TG, triglicéridos; TNF-α, factor de necrosis tumoral alfa. *P<0.05. Variables calculadas usando el test de ANOVA univariante ajustado por factores de confusión.

Como ya mencionamos anteriormente, las diferencias basales en los niveles de TG, apoB y PCR-us se mantuvieron al aleatorizar a los pacientes con SMet en ambos grupos de intervención. Sin embargo, los datos arrojados en el grupo de intervención con el modelo DMed fueron distintos a los observados en la BG.

- Dieta DMed (Tabla 18):

- TG: Los individuos G/G presentaron mayores niveles plasmáticos de TG (P=0,010) comparados con los portadores del alelo minoritario A (A/A + A/G). Estas diferencias entre variantes alélicas desaparecieron tras la

intervención con este modelos de dieta ($P=0,315$) tal y como se representa en la **Figura 9**.

- ApoB: Al igual que ocurría en el grupo de dieta BG, los individuos homocigotos para el alelo mayoritario G (G/G) mostraron cifras de apoB ($P=0,008$) superiores a los individuos portadores del alelo minoritario A (A/A + A/G). Las diferencias entre ambos alelos desaparecieron tras la intervención dietética durante 12 meses ($P=0,121$).

- PCR-us: Los individuos homocigotos para el alelo mayoritario G (G/G) presentaron niveles plasmáticos de PCR-us ($P=0,048$) superiores a los portadores del alelo minoritario A (A/A + A/G). Estas diferencias desaparecieron tras 12 meses de intervención ($P=0,225$) tal y como se representa en la **Figura 10**.

Tabla 18. Interacción entre el polimorfismo *rs1800629* y la dieta mediterránea (DMed) sobre los parámetros lipídicos, inflamatorios y el metabolismo de la glucosa en situación basal y tras 12 meses de intervención.

	Basal			12 meses		
	G/G	G/A + A/A	P	G/G	G/A + A/A	P
CT (mg/dL)	159,92 (1,58)	152,37 (3,74)	0,382	160,00 (2,51)	150,05 (5,48)	0,085
c-LDL (mg/dL)	87,83 (1,92)	83,23 (4,42)	0,341	90,88 (2,11)	88,33 (4,61)	0,569
c-HDL (mg/dL)	39,14 (0,59)	38,70 (1,35)	0,543	39,31 (0,66)	36,84 (1,45)	0,105
TG (mg/dL)	163,44 (3,58)	138,71 (7,28)	0,010*	137,87 (3,71)	121,18 (7,97)	0,315
ApoB (mg/dL)	75,76 (0,12)	70,32 (0,27)	0,008*	72,89 (1,43)	70,71 (3,13)	0,121
ApoA1 (mg/dL)	126,14 (1,42)	124,13 (2,63)	0,613	121,14 (1,58)	116,84 (3,46)	0,210
Lpa (mg/dL)	35,16 (2,80)	42,05 (6,34)	0,531	39,00 (3,15)	40,44 (6,94)	0,859
Hcy (µmol/L)	13,86 (0,30)	12,64 (0,69)	0,213	12,82 (0,34)	12,63 (0,75)	0,508
Glucosa (mg/dL)	127,85 (2,89)	138,46 (5,28)	0,216	121,05 (2,38)	118,18 (5,25)	0,099
HbA1c (%)	7,03 (0,12)	7,00 (0,12)	0,953	6,87 (0,10)	7,16 (0,22)	0,620
Insulin (mU/L)	11,53 (0,60)	11,75 (1,35)	0,848	9,74 (0,62)	9,71 (1,39)	0,942
HOMA-IR	3,71 (0,24)	3,85 (0,53)	0,773	3,00 (0,23)	3,24 (0,52)	0,704
QUICKI	0,33 (0,006)	0,34 (0,013)	0,468	0,38 (0,007)	0,37 (0,015)	0,563
PCR-us (mg/L)	3,02 (0,17)	2,18 (0,40)	0,048*	2,29 (0,14)	1,90 (0,30)	0,225
IL-6 (pg/mL)	2,80 (0,17)	2,23 (0,32)	0,134	3,18 (0,21)	2,71 (0,40)	0,281
TNF-α (pg/mL)	11,55 (1,19)	11,99 (2,32)	0,893	11,46 (1,09)	8,85 (2,23)	0,290

Valores expresados en media (error estándar). Abreviaturas: ApoA1, apolipoproteína A1; ApoB, apolipoproteína B; c-HDL, colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad c-LDL; colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad; cm, centímetros; CT, colesterol total; Hcy, homocisteína; *HOMA-IR*, *homeostasis model assessment of insulin resistance*; IL-6, interleuquina 6; IMC, índice de masa corporal; Kg, kilogramos; Kg/m², kilogramos por metro cuadrado; Lpa, lipoproteína a; mg/dL, miligramos por decilitro; mg/L, miligramos por litro; mU/L, miliunidades por litro; PC, perímetro de cintura; PCR-us, proteína C reactiva ultrasensible; *QUICKI*, *quantitative insulin sensitivity check index*; TG, triglicéridos; TNF-α, factor de necrosis tumoral alfa. **P*<0.05. Variables calculadas usando el test de ANOVA univariante ajustado por factores de confusión.

Como acabamos de indicar, tras 12 meses de intervención con el modelo dietético DMed, observamos que las diferencias entre genotipos en los niveles de TG y PCR-us desaparecieron a diferencia de lo que ocurría en el grupo BG. Específicamente, durante el consumo de este tipo de dieta, el descenso de TG y PCR-us fue más beneficioso en los sujetos G/G (N=203) en comparación con los portadores del alelo minoritario A (N=48) (*P*=0,005 y *P*=0,031 respectivamente). Para este cálculo se realizó un modelo ANOVA para medidas repetidas (valores basales y tras 12 meses de intervención) utilizando la edad y el género como factores

de confusión. Para el resto de parámetros inflamatorios, lipídicos y de control glucémico no se observaron interacciones gen-dieta tras los 12 meses de intervención.

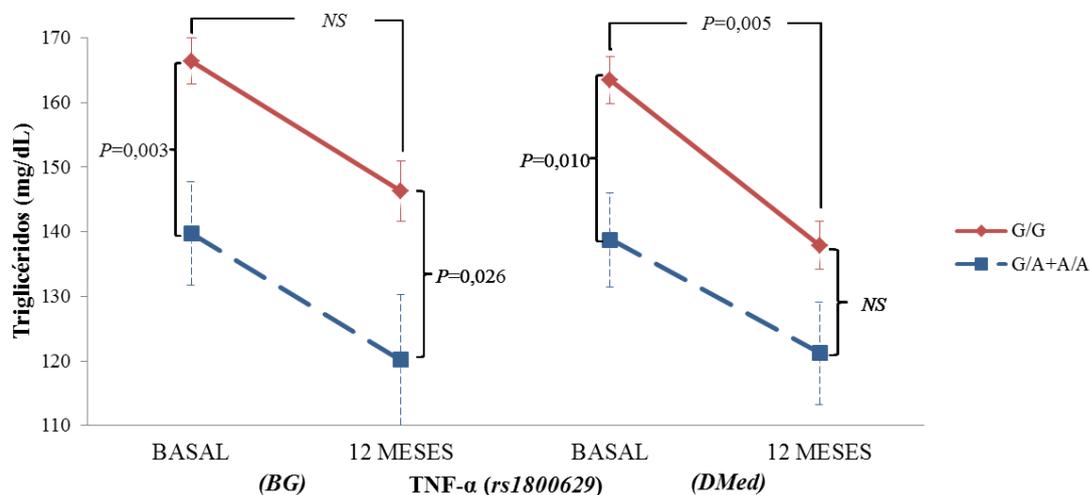


Figura 9. Interacción entre el SNP *rs1800629* y el modelo dietético **DMed** y su influencia sobre los niveles de **TG**. ANOVA univariante ajustado por edad y género. Abreviaturas: NS, no significativo.

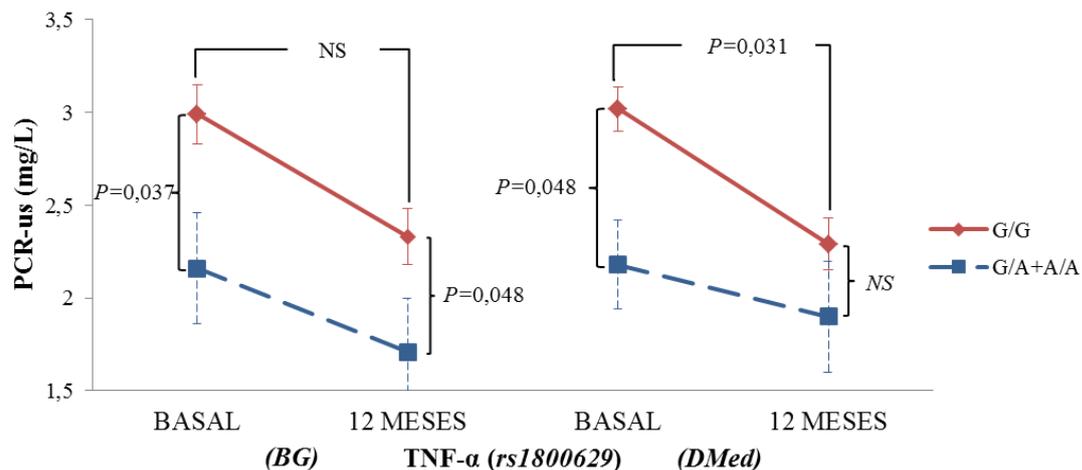


Figura 10. Interacción entre el SNP *rs1800629* y el modelo dietético **DMed** y su influencia sobre los niveles de **PCR-us**. ANOVA univariante ajustado por edad y género. Abreviaturas: NS, no significativo.

2.3.3 Relación del SNP rs1800629 con la respuesta lipémica postprandial:

Las diferencias significativas entre las variantes alélicas y los niveles de TG encontradas en situación basal fueron corroboradas en la respuesta lipémica postprandial. Los sujetos G/G mostraron mayores niveles postprandiales de TG en comparación con los portadores del alelo minoritario A (G/A + A/A; $P1=0,025$) tal y como vemos en la **Figura 11**. También se observó un efecto significativo de la variable tiempo sobre los niveles plasmáticos de TG ($P2=0,021$). De forma consistente el área bajo la curva (AUC) de TG fue mayor en los individuos G/G (52.869 ± 1.133 mg/dL) en comparación con los portadores del alelo minoritario A (48.196 ± 2.241 mg /dL; $P=0,016$).

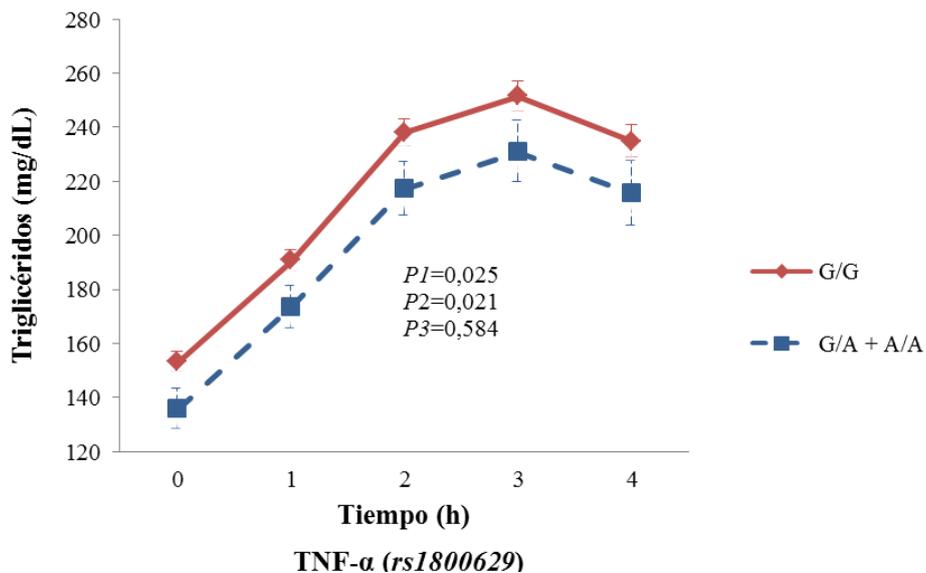


Figura 11. Evolución de los niveles de TG postprandiales en función del SNP rs1800629. ANOVA para medidas repetidas ajustado por edad y género. $P1$ =efecto del genotipo sobre los niveles de TG; $P2$ = efecto de la variable tiempo sobre los niveles de TG; $P3$ = interacción entre las variables tiempo y genotipo.

3. EFECTO DE LOS SNPs DEL GEN PROMOTOR DE LA PROTEÍNA CLOCK SOBRE EL METABOLISMO LIPÍDICO, METABOLISMO DE LA GLUCOSA Y PARÁMETROS INFLAMATORIOS DE PACIENTES CON SMet:

3.1 Distribución y frecuencia de los SNPs del gen promotor de la proteína CLOCK:

Del mismo modo que se hizo con los SNPs de la región promotora del TNF- α , se determinó la frecuencia alélica de los genotipos T/T, T/C y C/C para el SNP *rs1801260*; T/T, T/C y C/C para el SNP *rs3749474* y C/C, C/G y G/G del SNP *rs4580704* del gen CLOCK. Dichos SNPs se encontraban en equilibrio Hardy-Weinberg, tal y como se refleja en la **Tabla 19**.

Tabla 19. Equilibrio Hardy-Weinberg para los SNPs del gen promotor de la proteína CLOCK.

<i>SMet</i> (N=475)	GENOTIPOS	HW-OBS.	HW-ESP.	H-W (P)*
<i>rs1801260</i>	T/T	240	244,1	0,355
	T/C	201	192,8	
	C/C	34	38,1	
<i>rs3749474</i>	T/T	219	219,0	0,993
	T/C	207	207,1	
	C/C	49	49,0	
<i>rs4580704</i>	C/C	169	174,6	0,280
	C/G	238	226,8	
	G/G	68	73,6	

HW-ESP.: Hardy-Weinberg esperada; HW-OBS.: Hardy-Weinberg observada. *Valores de *P*: significación estadística ($P < 0,05$) expresados mediante X^2 (Chi-cuadrado de Pearson).

Las frecuencias alélicas de estos SNPs se representan en la **Tabla 20**.

Tabla 20. Frecuencia alélica de los SNPs de la región promotora de la proteína CLOCK (N=475).

<i>rs1801260</i>	<i>FRECUENCIA ALÉLICA</i>	<i>rs3749474</i>	<i>FRECUENCIA ALÉLICA</i>	<i>rs4580704</i>	<i>FRECUENCIA ALÉLICA</i>
T	0,72	T	0,61	C	0,61
C	0,28	C	0,39	G	0,39

3.2 Evaluación del SNP *rs1801260*:

Para el análisis de los tres SNPs del gen encargado de codificar a la proteína CLOCK se seleccionaron 475 sujetos con SMet del total de pacientes (N=581) del estudio CORDIOPREV. Se seleccionó a este número de pacientes puesto que eran aquellos de los que se disponían todas las variables exploradas en este trabajo. Para este gen también se analizaron todos los parámetros que hemos visto anteriormente. Del mismo modo los sujetos fueron agrupados en función de la variante alélica que presentaban, un grupo con los individuos homocigotos para el alelo mayoritario y otro con los portadores del alelo minoritario (homocigotos menores y heterocigotos).

3.2.1 Asociación del SNP *rs1801260* con parámetros lipídicos, glucémicos e inflamatorios:

En el SNP analizado no se encontraron asociaciones basales significativas tal y como se muestra en la **Tabla 21**. Para este grupo de SNPs, los factores de confusión utilizados para las determinaciones estadísticas fueron la edad y el género junto con el IMC debido a enorme cuerpo de evidencia que muestra como la alteración de los ritmos circadianos, y la variación de los genes encargados de su regulación, influye de forma crucial en el desarrollo de obesidad.

Tabla 21. Características basales en función del polimorfismo *rs1801260* de la región promotora de la proteína CLOCK en pacientes con SMet.

	T/T (N=240)	T/T + C/C (N=235)	P
Edad (años)	60,37 (0,42)	60,37 (0,46)	0,253
Peso (Kg)	89,72 (0,48)	89,58 (0,50)	0,652
PC (cm)	108,23 (0,52)	109,28 (0,54)	0,663
IMC (kg/m ²)	32,53 (0,52)	32,36 (0,54)	0,207
CT (mg/dL)	157,92 (2,21)	157,79 (2,30)	0,945
c-LDL (mg/dL)	87,54 (1,86)	85,44 (1,94)	0,437
c-HDL (mg/dL)	39,73 (0,61)	39,52 (0,64)	0,817
TG (mg/dL)	152,88 (4,91)	155,91 (5,10)	0,670
ApoB (mg/dL)	75,13 (1,29)	75,98 (1,34)	0,649
ApoA1 (mg/dL)	125,98 (1,36)	126,81 (1,41)	0,676
Lpa (mg/dL)	37,06 (2,87)	38,67 (2,98)	0,699
Hcy (μmol/L)	13,56 (0,29)	13,33 (0,30)	0,578
Glucosa (mg/dL)	124,99 (2,92)	123,85 (3,03)	0,789
HbA1c (%)	6,92 (0,08)	6,94 (0,08)	0,766
Insulin (mU/L)	11,40 (0,59)	11,13 (0,61)	0,755
HOMA-IR	3,69 (0,24)	3,53 (0,25)	0,173
QUICKI	0,33 (0,005)	0,34 (0,005)	0,588
PCR-us (mg/L)	2,70 (0,18)	3,20 (0,18)	0,065
IL-6 (pg/mL)	2,80 (0,17)	2,85 (0,16)	0,879
TNF-α (pg/mL)	12,56 (1,20)	14,64 (1,18)	0,290

Valores expresados en media (error estándar). Abreviaturas: ApoA1, apolipoproteína A1, ApoB, apolipoproteína B; c-HDL, colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad c-LDL; colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad; cm, centímetros; CT, colesterol total; Hcy, homocisteína; HOMA-IR, *homeostasis model assessment of insulin resistance*; IL-6, interleuquina 6; IMC, índice de masa corporal; Kg, kilogramos; Kg/m², kilogramos por metro cuadrado; Lpa, lipoproteína a; mg/dL, miligramos por decilitro; mg/L, miligramos por litro; mU/L, miliunidades por litro; PC, perímetro de cintura; PCR-us, proteína C reactiva ultrasensible; QUICKI, *quantitative insulin sensitivity check index*; TG, triglicéridos; TNF-α, factor de necrosis tumoral alfa. **P*<0.05. Variables calculadas usando el test de ANOVA univariante ajustado por factores de confusión.

3.2.2 Interacción del SNP *rs1801260* con los patrones dietéticos del estudio

CORDIOPREV:

Una vez observada la ausencia de asociaciones significativas en el análisis basal, pasamos a explorar si la intervención durante 12 meses con los dos patrones dietéticos

provocaba la aparición de diferencias entre variantes alélicas con el fin de poner de manifiesto la presencia de interacciones gen-dieta con los parámetros estudiados.

- Dieta BG (Tabla 22):

- Insulina: Tras 12 meses de intervención, los individuos homocigotos para el alelo mayoritario T (T/T) mostraron, de forma significativa, menos niveles plasmáticos de insulina ($P=0,032$) en comparación con los portadores de alelo minoritario C (T/C + C/C). **Figura 12.**

- QUICKI: Los individuos T/T que consumieron una dieta BG durante 12 meses, mostraron un aumento significativo de la sensibilidad periférica a la insulina ($P=0,016$) medida por este índice en comparación con los portadores del alelo minoritario C (T/C + C/C) tal y como se muestra en la **Figura 13.**

- HOMA-IR: Del mismo modo, los individuos T/T presentaron una reducción significativa del índice HOMA-IR ($P=0,043$) en comparación con los portadores del alelo minoritario C (T/C + C/C) tras 12 meses de intervención dietética. **Figura 14.**

Tabla 22. Interacción entre el polimorfismo *rs1801260* y la dieta baja en grasa (**BG**) sobre los parámetros lipídicos, inflamatorios y el metabolismo de la glucosa en situación basal y tras 12 meses de intervención.

	Basal			12 meses		
	T/T	T/C + C/C	P	T/T	T/C + C/C	P
CT (mg/dL)	160 (2,95)	160 (2,94)	0,906	153 (3,32)	155 (3,22)	0,725
c-LDL (mg/dL)	86 (2,54)	87 (2,49)	0,564	84 (2,61)	88 (2,55)	0,248
c-HDL (mg/dL)	38 (0,77)	39 (0,76)	0,273	38 (0,87)	39 (0,84)	0,418
TG (mg/dL)	163,37 (6,89)	154,04 (6,80)	0,352	144,76 (5,44)	130,71 (5,24)	0,058
ApoB (mg/dL)	75 (1,71)	77 (1,70)	0,270	69 (1,91)	72 (1,81)	0,188
ApoA1 (mg/dL)	124 (1,73)	126 (1,72)	0,421	121 (2,06)	121 (1,94)	0,866
Lpa (mg/dL)	37,83 (0,38)	35,53 (0,38)	0,618	39,09 (4,12)	35,14 (3,93)	0,397
Hcy (µmol/L)	13,61 (0,38)	13,27 (0,37)	0,570	12,67 (0,44)	12,92 (0,42)	0,573
Glucosa (mg/dL)	123 (3,89)	121 (3,88)	0,821	115 (3,61)	118 (3,50)	0,613
HbA1c (%)	6,82 (0,11)	6,87 (0,11)	0,768	6,69 (0,12)	6,79 (0,11)	0,358
Insulin (mU/L)	11,74 (1,20)	12,96 (1,21)	0,386	8,13 (1,05)	11,79 (1,0)	0,032*
HOMA-IR	3,40 (0,33)	3,35 (0,34)	0,828	2,37 (0,28)	3,10 (0,27)	0,043*
QUICKI	0,346 (0,007)	0,341 (0,007)	0,563	0,364 (0,008)	0,344 (0,008)	0,016*
PCR-us (mg/L)	3,01 (0,25)	2,90 (0,25)	0,816	2,33 (0,21)	2,05 (0,19)	0,660
IL-6 (pg/mL)	2,81 (0,28)	3,14 (0,24)	0,308	3,15 (0,29)	3,25 (0,25)	0,743
TNF-α (pg/mL)	12,60 (1,79)	16,52 (1,73)	0,228	12,92 (1,71)	11,64 (1,77)	0,476

Valores expresados en media (error estándar). Abreviaturas: ApoA1, apolipoproteína A1; ApoB, apolipoproteína B; c-HDL, colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad c-LDL; colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad; cm, centímetros; CT, colesterol total; Hcy, homocisteína; HOMA-IR, *homeostasis model assessment of insulin resistance*; IL-6, interleuquina 6; IMC, índice de masa corporal; Kg, kilogramos; Kg/m², kilogramos por metro cuadrado; Lpa, lipoproteína a; mg/dL, miligramos por decilitro; mg/L, miligramos por litro; mU/L, miliunidades por litro; PC, perímetro de cintura; PCR-us, proteína C reactiva ultrasensible; QUICKI, *quantitative insulin sensitivity check index*; TG, triglicéridos; TNF-α, factor de necrosis tumoral alfa. *P<0.05. Variables calculadas usando el test de ANOVA univariante ajustado por factores de confusión.

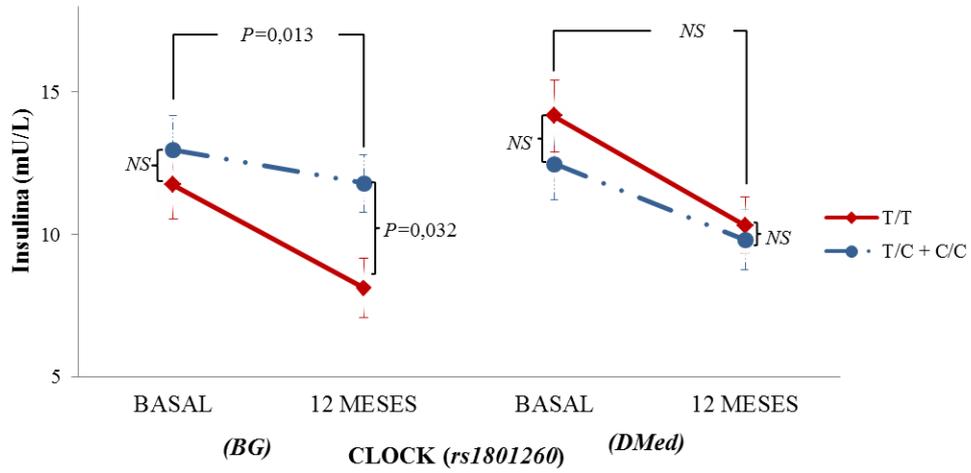


Figura 12. Interacción entre el SNP *rs1801260* y el modelo dietético **BG** y su influencia sobre los niveles de **insulina** en plasma. ANOVA univariante ajustado por edad, género e IMC. Abreviaturas: NS, no significativo.

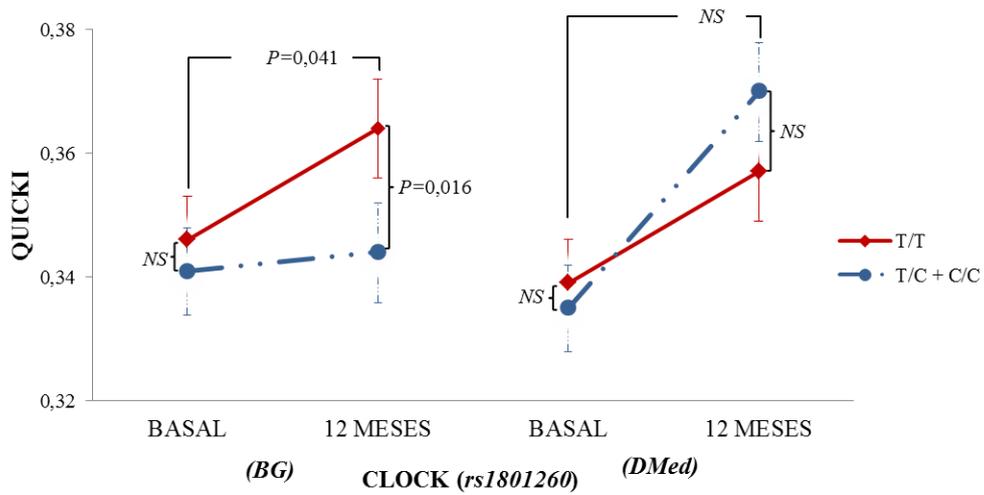


Figura 13. Interacción entre el SNP *rs1801260* y el modelo dietético **BG** y su influencia sobre el índice **QUICKI**. ANOVA univariante ajustado por edad, género e IMC. Abreviaturas: NS, no significativo.

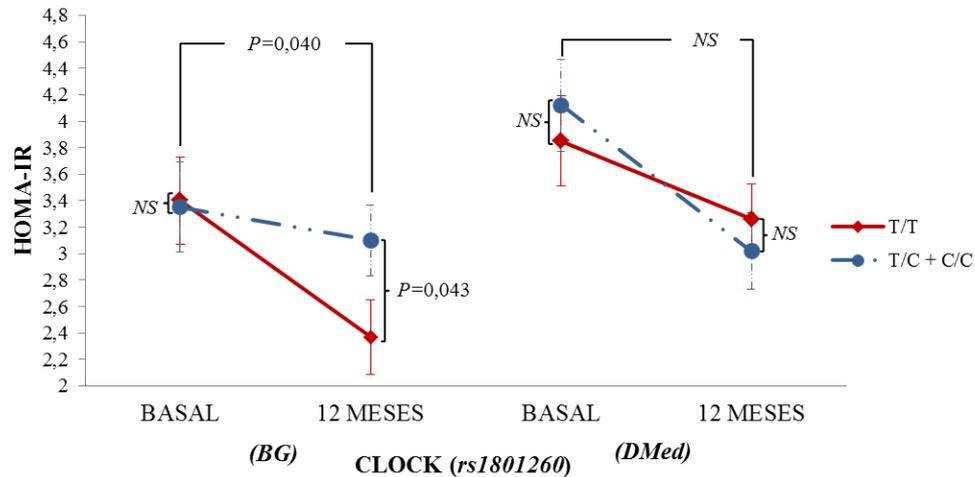


Figura 14. Interacción entre el SNP *rs1801260* y el modelo dietético **BG** y su influencia sobre el índice **HOMA-IR**. ANOVA univariante ajustado por edad, género e IMC. Abreviaturas: NS, no significativo.

Para este SNP se demuestra una interacción gen-dieta con un efecto beneficioso sobre el metabolismo de la glucosa. En este caso, en los individuos homocigotos para el alelo mayoritario T (T/T) (N=119), el consumo durante 12 meses produjo una mejoría significativa en los parámetros de control: insulina ($P=0,013$), QUICKI ($P=0,041$) y HOMA-IR ($P=0,040$).

En el grupo DMed no se observaron interacciones gen-dieta en ninguno de los parámetros analizados (**Tabla 23**).

Tabla 23. Interacción entre el polimorfismo *rs1801260* y la dieta mediterránea (**DMed**) sobre los parámetros lipídicos, inflamatorios y el metabolismo de la glucosa en situación basal y tras 12 meses de intervención.

	Basal			12 meses		
	T/T	T/C + C/C	P	T/T	T/C + C/C	P
CT (mg/dL)	158 (2,97)	159 (3,14)	0,294	162 (3,24)	159 (3,36)	0,474
c-LDL (mg/dL)	88 (2,50)	85 (2,68)	0,273	92 (2,57)	90 (2,68)	0,513
c-HDL (mg/dL)	39 (0,77)	37 (0,80)	0,116	39 (0,85)	39 (0,88)	0,978
TG (mg/dL)	149,54 (6,60)	167,24 (6,94)	0,064	133,45 (5,90)	147,51 (6,08)	0,145
ApoB (mg/dL)	74 (1,74)	78 (1,80)	0,270	74 (1,81)	75 (1,85)	0,994
ApoA1 (mg/dL)	126 (1,74)	125 (1,82)	0,744	124 (1,95)	120 (1,99)	0,155
Lpa (mg/dL)	38,88 (3,74)	38,33 (3,75)	0,755	37,22 (3,96)	40,50 (4,10)	0,689
Hcy (µmol/L)	13,76 (0,42)	13,62 (0,44)	0,831	13,15 (0,45)	13,13 (0,46)	0,707
Glucosa (mg/dL)	132 (3,90)	127 (4,04)	0,357	123 (3,54)	124 (3,66)	0,969
HbA1c (%)	7,02 (0,12)	7,00 (0,12)	0,953	7,00 (0,14)	6,92 (0,14)	0,772
Insulin (mU/L)	14,16 (1,24)	12,46 (1,25)	0,802	10,32 (1,00)	9,82 (1,05)	0,605
HOMA-IR	3,85 (0,34)	4,12 (0,35)	0,505	3,26 (0,27)	3,02 (0,29)	0,586
QUICKI	0,339 (0,007)	0,335 (0,007)	0,565	0,357 (0,008)	0,370 (0,008)	0,216
PCR-us (mg/L)	2,86, (0,26)	3,52 (0,27)	0,173	2,16 (0,18)	2,12 (0,18)	0,765
IL-6 (pg/mL)	2,80 (0,21)	2,56 (0,20)	0,363	3,23 (0,25)	3,07 (0,25)	0,593
TNF-α (pg/mL)	12,53 (1,62)	12,81 (1,63)	0,823	12,00 (1,45)	10,38 (1,55)	0,383

Valores expresados en media (error estándar). Abreviaturas: ApoA1, apolipoproteína A1, ApoB, apolipoproteína B; c-HDL, colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad c-LDL; colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad; cm, centímetros; CT, colesterol total; Hcy, homocisteína; HOMA-IR, *homeostasis model assessment of insulin resistance*; IL-6, interleuquina 6; IMC, índice de masa corporal; Kg, kilogramos; Kg/m², kilogramos por metro cuadrado; Lpa, lipoproteína a; mg/dL, miligramos por decilitro; mg/L, miligramos por litro; mU/L, miliunidades por litro; PC, perímetro de cintura; PCR-us, proteína C reactiva ultrasensible; QUICKI, *quantitative insulin sensitivity check index*; TG, triglicéridos; TNF-α, factor de necrosis tumoral alfa. *P<0.05. Variables calculadas usando el test de ANOVA univariante ajustado por factores de confusión.

3.2.3 Relación del SNP *rs1801260* con la respuesta lipémica postprandial:

En análisis de la respuesta lipémica postprandial tampoco mostró diferencias estadísticamente significativas entre las variantes alélicas.

3.3 Evaluación del SNP *rs3749474*:

3.3.1 Asociación del SNP *rs3749474* con parámetros lipídicos, glucémicos e inflamatorios:

Tabla 24. Características basales en función del polimorfismo *rs3749474* de la región promotora de la proteína CLOCK en pacientes con SMet.

	C/C (N=219)	C/T + T/T (N=256)	P
Edad (años)	60,05 (0,0)	59,91 (0,0)	0,938
Peso (Kg)	88,94 (0,44)	88,45 (0,41)	0,705
PC (cm)	108,84 (0,47)	108,55 (0,44)	0,859
IMC (kg/m ²)	32,31 (0,06)	32,25 (0,05)	0,819
CT (mg/dL)	156,71 (2,21)	160,67 (2,04)	0,212
c-LDL (mg/dL)	83,66 (1,90)	88,41 (1,75)	0,077
c-HDL (mg/dL)	38,49 (0,58)	38,97 (0,54)	0,515
TG (mg/dL)	160,59 (5,16)	159,11 (4,18)	0,854
ApoB (mg/dL)	76,83 (1,30)	76,27 (1,21)	0,727
ApoA1 (mg/dL)	124,66 (1,31)	125,58 (1,22)	0,618
Lpa (mg/dL)	36,05 (2,85)	38,83 (2,63)	0,457
Hcy (μmol/L)	13,71 (0,27)	13,31 (0,25)	0,321
Glucosa (mg/dL)	124,71(3,05)	128,76 (2,82)	0,308
HbA1c (%)	6,98 (0,09)	6,94 (0,08)	0,778
Insulin (mU/L)	11,19 (0,61)	11,83 (0,56)	0,455
HOMA-IR	3,70 (0,26)	3,71 (0,24)	0,981
QUICKI	3,42 (0,005)	3,41 (0,005)	0,928
PCR-us (mg/L)	3,10 (0,20)	2,85 (0,18)	0,382
IL-6 (pg/mL)	2,98 (0,16)	2,61 (0,15)	0,100
TNF-α (pg/mL)	14,39 (1,32)	12,88 (1,16)	0,450

Valores expresados en media (error estándar). Abreviaturas: ApoA1, apolipoproteína A1; ApoB, apolipoproteína B; c-HDL, colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad c-LDL; colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad; cm, centímetros; CT, colesterol total; Hcy, homocisteína; HOMA-IR, *homeostasis model assessment of insulin resistance*; IL-6, interleuquina 6; IMC, índice de masa corporal; Kg, kilogramos; Kg/m², kilogramos por metro cuadrado; Lpa, lipoproteína a; mg/dL, miligramos por decilitro; mg/L, miligramos por litro; mU/L, miliunidades por litro; PC, perímetro de cintura; PCR-us, proteína C reactiva ultrasensible; QUICKI, *quantitative insulin sensitivity check index*; TG, triglicéridos; TNF-α, factor de necrosis tumoral alfa. *P<0.05. Variables calculadas usando el test de ANOVA univariante ajustado por factores de confusión.

3.3.2 Interacción del SNP *rs3749474* con los patrones dietéticos del estudio

CORDIOPREV:

Del mismo modo que no se obtuvieron asociaciones significativas entre las variantes alélicas del SNP *rs3749474* (Tabla 24) en situación basal; en el análisis de probables interacciones entre este SNP y ambos patrones dietéticos: dieta BG (Tabla 25) y dieta DMed (Tabla 26), tampoco se obtuvieron resultados significativos.

Tabla 25. Interacción entre el polimorfismo *rs3749474* y la dieta baja en grasa (BG) sobre los parámetros lipídicos, inflamatorios y el metabolismo de la glucosa en situación basal y tras 12 meses de intervención.

	Basal			12 meses		
	T/T	T/C + C/C	P	T/T	T/C + C/C	P
CT (mg/dL)	156,66 (3,04)	161,84 (2,68)	0,259	150,71 (3,25)	156,55 (2,79)	0,243
c-LDL (mg/dL)	84,33 (2,63)	87,88 (2,33)	0,437	83,52 (2,48)	87,36 (2,11)	0,335
c-HDL (mg/dL)	38,89 (0,85)	38,69 (0,76)	0,972	38,76 (0,85)	38,66 (0,73)	0,907
TG (mg/dL)	142,96 (6,45)	160,11 (5,80)	0,074	129,22 (6,14)	144,13 (5,23)	0,110
ApoB (mg/dL)	75,64 (1,85)	77,37 (1,65)	0,597	68,57 (0,20)	72,00 (0,17)	0,152
ApoA1 (mg/dL)	123,29 (1,62)	125,50 (1,49)	0,275	118,92 (1,99)	121,85 (1,69)	0,236
Lpa (mg/dL)	34,02 (4,16)	40,57 (3,69)	0,243	33,98 (0,542)	40,00 (3,83)	0,542
Hcy (μmol/L)	13,46 (0,37)	13,37 (0,33)	0,948	12,91 (0,51)	12,84 (0,43)	0,979
Glucosa (mg/dL)	123,60 (4,17)	125,94 (3,71)	0,670	116,39 (3,82)	121,03 (3,29)	0,344
HbA1c (%)	7,04 (0,13)	6,84 (0,11)	0,287	6,77 (0,13)	6,79 (0,11)	0,726
Insulin (mU/L)	11,09 (0,85)	11,48 (0,73)	0,846	9,49 (0,66)	8,34 (0,55)	0,212
HOMA-IR	3,23 (0,31)	3,65 (0,27)	0,383	2,68 (0,22)	2,54 (0,19)	0,675
QUICKI	0,35 (0,007)	0,35 (0,006)	0,514	0,35 (0,007)	0,35 (0,006)	0,330
PCR-us (mg/L)	2,83 (0,24)	3,10 (0,27)	0,440	2,12 (0,22)	2,29 (0,18)	0,589
IL-6 (pg/mL)	3,28 (0,27)	2,62 (0,24)	0,081	3,31 (0,30)	3,12 (0,27)	0,800
TNF-α (pg/mL)	17,4 (1,90)	13,02 (1,77)	0,125	11,67 (2,01)	13,38 (1,55)	0,254

Valores expresados en media (error estándar). Abreviaturas: ApoA1, apolipoproteína A1; ApoB, apolipoproteína B; c-HDL, colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad c-LDL; colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad; cm, centímetros; CT, colesterol total; Hcy, homocisteína; HOMA-IR, *homeostasis model assessment of insulin resistance*; IL-6, interleuquina 6; IMC, índice de masa corporal; Kg, kilogramos; Kg/m², kilogramos por metro cuadrado; Lpa, lipoproteína a; mg/dL, miligramos por decilitro; mg/L, miligramos por litro; mU/L, miliunidades por litro; PC, perímetro de cintura; PCR-us, proteína C reactiva ultrasensible; QUICKI, *quantitative insulin sensitivity check index*; TG, triglicéridos; TNF-α, factor de necrosis tumoral alfa. *P<0.05. Variables calculadas usando el test de ANOVA univariante ajustado por factores de confusión.

Tabla 26. Interacción entre el polimorfismo *rs3749474* y la dieta mediterránea (DMed) sobre los parámetros lipídicos, inflamatorios y el metabolismo de la glucosa en situación basal y tras 12 meses de intervención.

	Basal			12 meses		
	T/T	T/C + C/C	P	T/T	T/C + C/C	P
CT (mg/dL)	156,65 (3,21)	159,28 (3,10)	0,538	159,59 (3,60)	158,52 (3,54)	0,840
c-LDL (mg/dL)	82,99 (2,77)	89,61 (2,63)	0,090	90,32 (2,76)	88,75 (2,72)	0,653
c-HDL (mg/dL)	38,09 (0,80)	39,30 (0,77)	0,314	38,63 (0,97)	40,05 (0,96)	0,342
TG (mg/dL)	161,68 (5,77)	147,11 (5,60)	0,181	145,59 (5,71)	131,86 (5,48)	0,099
ApoB (mg/dL)	75,64 (1,81)	77,37 (1,78)	0,264	76,46 (0,18)	70,56 (0,18)	0,353
ApoA1 (mg/dL)	126,00 (2,04)	125,68 (2,00)	0,883	120,38 (2,10)	123,78 (2,07)	0,308
Lpa (mg/dL)	38,09 (3,88)	36,80 (3,72)	0,790	37,92 (4,06)	38,88 (4,00)	0,995
Hcy (µmol/L)	13,96 (0,41)	13,23 (0,39)	0,200	13,36 (0,45)	12,73 (0,45)	0,279
Glucosa (mg/dL)	125,97 (4,25)	132,31 (4,41)	0,287	123,31 (3,76)	123,39 (3,71)	0,813
HbA1c (%)	6,92 (0,12)	7,05 (0,12)	0,451	6,79 (0,14)	7,08 (0,13)	0,209
Insulin (mU/L)	11,29 (0,90)	12,28 (0,88)	0,425	9,23 (0,75)	9,66 (0,74)	0,728
HOMA-IR	3,23 (0,42)	3,65 (0,42)	0,617	2,51 (0,239)	2,86 (0,22)	0,277
QUICKI	0,33 (0,008)	0,34 (0,008)	0,673	0,37 (0,009)	0,36 (0,009)	0,516
PCR-us (mg/L)	3,36 (0,28)	2,55 (0,29)	0,065	2,17 (0,19)	2,14 (0,19)	0,891
IL-6 (pg/mL)	2,73 (0,20)	2,60 (0,20)	0,617	2,93 (0,24)	3,13 (0,24)	0,574
TNF-α (pg/mL)	11,38 (1,82)	12,76 (1,52)	0,580	9,79 (1,57)	11,41 (1,36)	0,487

Valores expresados en media (error estándar). Abreviaturas: ApoA1, apolipoproteína A1; ApoB, apolipoproteína B; c-HDL, colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad c-LDL; colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad; cm, centímetros; CT, colesterol total; Hcy, homocisteína; HOMA-IR, *homeostasis model assessment of insulin resistance*; IL-6, interleuquina 6; IMC, índice de masa corporal; Kg, kilogramos; Kg/m², kilogramos por metro cuadrado; Lpa, lipoproteína a; mg/dL, miligramos por decilitro; mg/L, miligramos por litro; mU/L, miliunidades por litro; PC, perímetro de cintura; PCR-us, proteína C reactiva ultrasensible; QUICKI, *quantitative insulin sensitivity check index*; TG, triglicéridos; TNF-α, factor de necrosis tumoral alfa. *P<0.05. Variables calculadas usando el test de ANOVA univariante ajustado por factores de confusión.

3.3.3 Relación del SNP *rs3749474* con la respuesta lipémica postprandial:

Tampoco se encontraron resultados significativos en el análisis postprandial.

3.4 Evaluación del SNP *rs4580704*:

3.4.1 Asociación del SNP *rs4580704* con parámetros lipídicos, glucémicos e inflamatorios:

El análisis del tercer y último SNP del gen promotor de la proteína CLOCK, aportó algunas diferencias basales en ciertos parámetros lipídicos. En concreto, el análisis de los sujetos con SMet mostró diferencias significativas en las cifras de CT, apoB y

c-LDL en función de alelo. Los sujetos homocigotos C/C tenían mayores niveles plasmáticos de CT ($P=0,035$), apoB ($P=0,003$) y c-LDL ($P=0,019$) comparados con los portadores del alelo minoritario G (G/G + C/G).

Tabla 27. Características basales en función del polimorfismo *rs4580704* de la región promotora de la proteína CLOCK en pacientes con SMet.

	C/C (N=169)	G/G + C/G (N=306)	P
Edad (años)	59,37 (0)	60,31 (0)	0,193
Peso (Kg)	87,53 (0,49)	89,48 (0,36)	0,470
PC (cm)	107,54 (0,50)	109,46 (0,37)	0,290
IMC (kg/m ²)	31,96 (0,08)	32,50 (0,06)	0,142
CT (mg/dL)	163,30 (2,41)	156,95 (1,76)	0,035*
c-LDL (mg/dL)	90,62 (2,04)	84,10 (1,49)	0,019*
c-HDL (mg/dL)	38,93 (0,58)	38,09 (0,42)	0,334
TG (mg/dL)	161,48 (5,21)	156,59 (3,81)	0,524
ApoB (mg/dL)	79,33 (1,35)	74,17 (0,99)	0,003*
ApoA1 (mg/dL)	127,78 (1,43)	124,02 (1,04)	0,065
c-HDL/apoA1	0,30 (0,003)	0,30 (0,002)	0,698
Lpa (mg/dL)	38,19 (3,10)	37,16 (2,24)	0,872
Hcy (µmol/L)	13,31 (0,31)	13,75 (0,23)	0,408
Glucosa (mg/dL)	126,20 (3,25)	125,40 (2,38)	0,690
HbA1c (%)	6,93 (0,097)	6,93 (0,070)	0,795
Insulin (mU/L)	12,41 (0,68)	11,56 (0,49)	0,267
HOMA-IR	3,93 (0,28)	3,65 (0,20)	0,329
QUICKI	0,33 (0,006)	0,34 (0,004)	0,439
PCR-us (mg/L)	3,12 (0,21)	2,83 (0,15)	0,214
IL-6 (pg/mL)	2,81 (0,19)	2,83 (0,13)	0,832
TNF-α (pg/mL)	13,86 (1,37)	13,48 (1,00)	0,739

Valores expresados en media (error estándar). Abreviaturas: ApoA1, apolipoproteína A1; ApoB, apolipoproteína B; c-HDL, colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad c-LDL; colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad; cm, centímetros; CT, colesterol total; Hcy, homocisteína; HOMA-IR, *homeostasis model assessment of insulin resistance*; IL-6, interleuquina 6; IMC, índice de masa corporal; Kg, kilogramos; Kg/m², kilogramos por metro cuadrado; Lpa, lipoproteína a; mg/dL, miligramos por decilitro; mg/L, miligramos por litro; mU/L, miliunidades por litro; PC, perímetro de cintura; PCR-us, proteína C reactiva ultrasensible; QUICKI, *quantitative insulin sensitivity check index*; TG, triglicéridos; TNF-α, factor de necrosis tumoral alfa. * $P<0.05$. Variables calculadas usando el test de ANOVA univariante ajustado por factores de confusión.

3.4.2 Interacción del SNP *rs4580704* con los patrones dietéticos del estudio CORDIOPREV:

Las diferencias basales entre variantes alélicas en los niveles de apoB y c-LDL se mantuvieron al dividir en función de la intervención dietética. No ocurrió lo mismo con los valores de CT. Por otro lado el consumo de la dieta BG en estos pacientes mostró una interacción significativa con los niveles de c-HDL, apoA1 y PCR-us con un efecto beneficioso sobre los individuos homocigotos para el alelo C (C/C):

- Dieta BG (Tabla 28):

- ApoB: Los individuos C/C presentaron mayores niveles de apoB ($P=0,033$) comparados con los portadores del alelo minoritario G. Estas diferencias desaparecieron tras la intervención dietética durante 12 meses.
- c-LDL: Los individuos C/C presentaron niveles plasmáticos de c-LDL ($P=0,041$) superiores a los portadores del alelo minoritario G (G/G + C/G). Estas diferencias entre variantes alélicas también desaparecieron tras los 12 meses de intervención.
- ApoA1: Tras 12 meses de intervención dietética, los niveles de apoA1 disminuyeron en ambas variantes alélicas apareciendo diferencias significativas entre ambas con niveles plasmáticos superiores en los individuos C/C en comparación con los portadores del alelo minoritario G (G/G + C/G) ($P=0,030$). Los resultados se muestran en la **Figura 15**.
- c-HDL: La intervención durante 12 meses con la dieta BG aumentó los niveles de c-HDL en los individuos C/C hasta hacerse estadísticamente superiores a los niveles de c-HDL de los portadores del alelo minoritario G (G/G + C/G) ($P=0,025$) tal y como se representa en la **Figura 16**.

- c-HDL/apoA1: Con la dieta BG consumida durante 12 meses, el ratio c-HDL/apoA1 presentó modificaciones en los sujetos C/C con un aumento significativo en comparación con los portadores del alelo minoritario G (G/G + C/G) (**Figura 17**).
- PCR-us: Por último, la intervención tras 12 meses de intervención dietética, los niveles de PCR-us en los sujetos C/C se redujeron de forma significativa con respecto a los portadores del alelo minoritario G (G/G + C/G) ($P=0,005$) tal y como se representa en la **Figura 18**.
- No se encontraron interacciones con el resto de parámetros analizados.

Tabla 28. Interacción entre el polimorfismo *rs4580704* y la dieta baja en grasa (BG) sobre los parámetros lipídicos, inflamatorios y el metabolismo de la glucosa en situación basal y tras 12 meses de intervención.

	Basal			12 meses		
	C/C	G/G + C/G	P	C/C	G/G + C/G	P
CT (mg/dL)	163,90 (3,20)	157,44 (2,44)	0,227	158,55 (3,14)	150,84 (2,44)	0,095
c-LDL (mg/dL)	89,71 (2,56)	82,88 (1,98)	0,041*	88,59 (2,32)	83,19 (1,81)	0,128
c-HDL (mg/dL)	39,23 (0,75)	37,73 (0,58)	0,110	40,01 (0,78)	37,78 (0,61)	0,025*
TG (mg/dL)	163,43 (7,13)	154,36 (5,43)	0,428	138,84 (6,05)	137,29 (4,78)	0,920
ApoB (mg/dL)	78,93 (1,84)	73,60 (1,40)	0,033*	71,29 (1,87)	69,46 (1,47)	0,757
ApoA1 (mg/dL)	127,24 (1,77)	124,03 (1,34)	0,178	124,95 (1,96)	118,92 (1,55)	0,030*
c-HDL/apoA1	0,30 (0,004)	0,30 (0,003)	0,502	0,32 (0,004)	0,31 (0,003)	0,031*
Lpa (mg/dL)	31,63 (4,28)	37,10 (3,25)	0,945	38,10 (4,25)	36,58 (3,31)	0,814
Hcy (µmol/L)	13,02 (0,41)	13,76 (0,31)	0,224	12,38 (0,47)	13,15 (0,37)	0,318
Glucosa (mg/dL)	119,64 (4,20)	126,21 (3,20)	0,218	114,40 (3,90)	123,31 (3,06)	0,083
HbA1c (%)	6,80 (0,13)	6,97 (0,10)	0,371	6,71 (0,13)	6,87 (0,10)	0,537
Insulin (mU/L)	12,32 (0,89)	11,31 (0,69)	0,330	9,55 (1,29)	10,34 (1,01)	0,639
HOMA-IR	3,86 (0,32)	3,45 (0,25)	0,365	2,78 (0,51)	3,27 (0,40)	0,485
QUICKI	0,34 (0,007)	0,34 (0,005)	0,764	0,35 (0,007)	0,35 (0,005)	0,844
PCR-us (mg/L)	2,99 (0,26)	2,77 (0,20)	0,474	1,71 (0,19)	2,39 (0,15)	0,005*
IL-6 (pg/mL)	3,09 (0,29)	2,95 (0,21)	0,667	3,11 (0,31)	3,37 (0,22)	0,560
TNF-α (pg/mL)	15,11 (1,91)	14,91 (1,46)	0,824	13,87 (1,73)	11,21 (1,48)	0,198

Valores expresados en media (error estándar). Abreviaturas: ApoA1, apolipoproteína A1; ApoB, apolipoproteína B; c-HDL, colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad; c-LDL, colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad; cm, centímetros; CT, colesterol total; Hcy, homocisteína; HOMA-IR, *homeostasis model assessment of insulin resistance*; IL-6, interleuquina 6; IMC, índice de masa corporal; Kg, kilogramos; Kg/m², kilogramos por metro cuadrado; Lpa, lipoproteína a; mg/dL, miligramos por decilitro; mg/L, miligramos por litro; mU/L, miliunidades por litro; PC, perímetro de cintura;

PCR-us, proteína C reactiva ultrasensible; QUICKI, *quantitative insulin sensitivity check index*; TG, triglicéridos; TNF- α , factor de necrosis tumoral alfa. * $P < 0.05$. Variables calculadas usando el test de ANOVA univariante ajustado por factores de confusión.

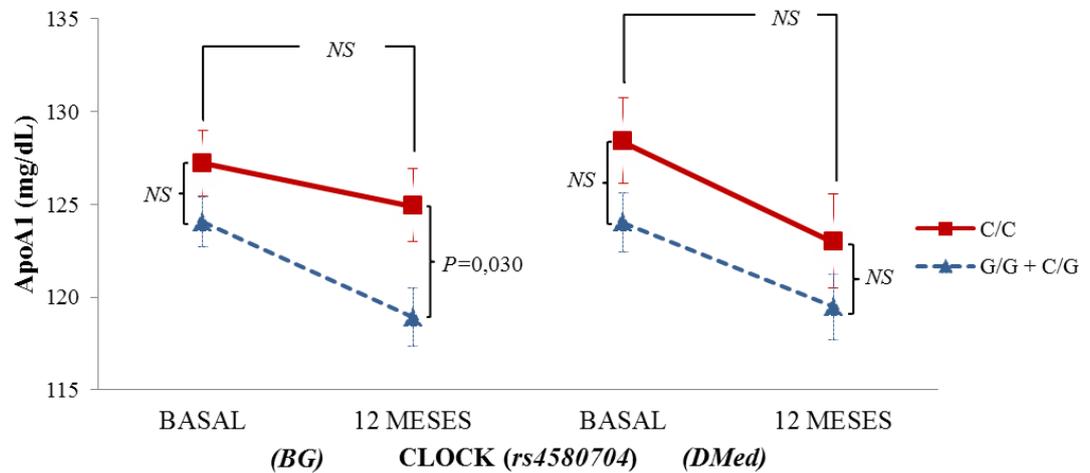


Figura 15. Interacción entre el SNP *rs4580704* y el modelo dietético **BG** y su influencia sobre los niveles de apoA1. ANOVA univariante ajustado por edad, género e IMC. Abreviaturas: NS, no significativo.

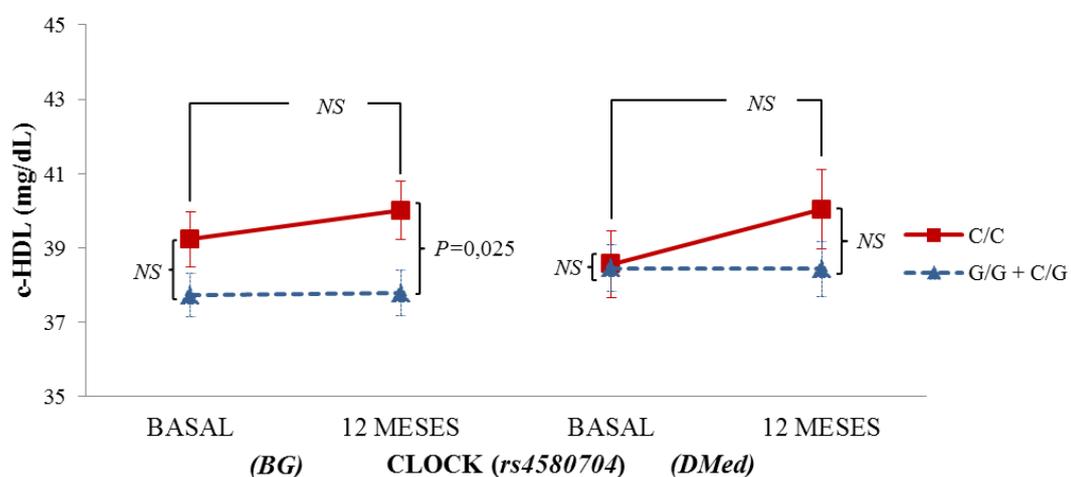


Figura 16. Interacción entre el SNP *rs4580704* y el modelo dietético **BG** y su influencia sobre los niveles de c-HDL. ANOVA univariante ajustado por edad, género e IMC. Abreviaturas: NS, no significativo.

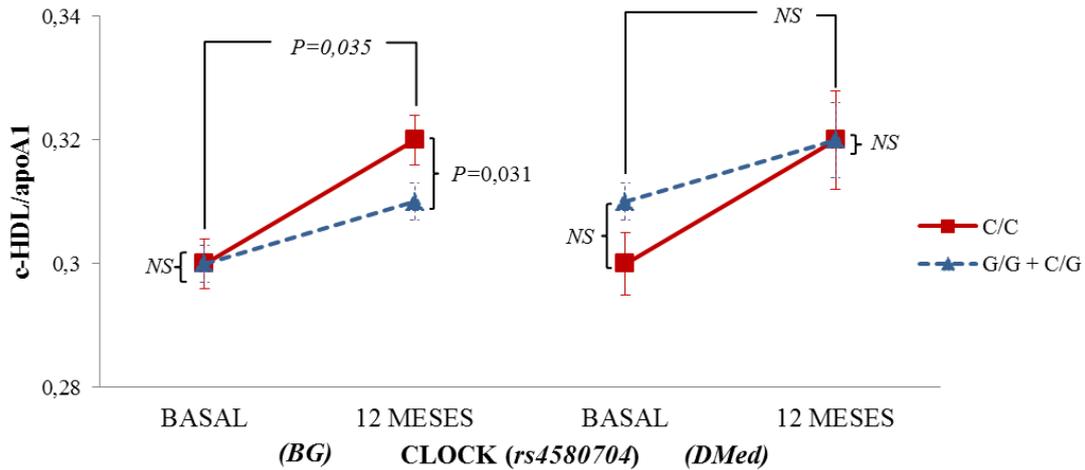


Figura 17. Interacción entre el SNP *rs4580704* y el modelo dietético **BG** y su influencia sobre el ratio c-HDL/apoA1. ANOVA univariante ajustado por edad, género e IMC. Abreviaturas: NS, no significativo.

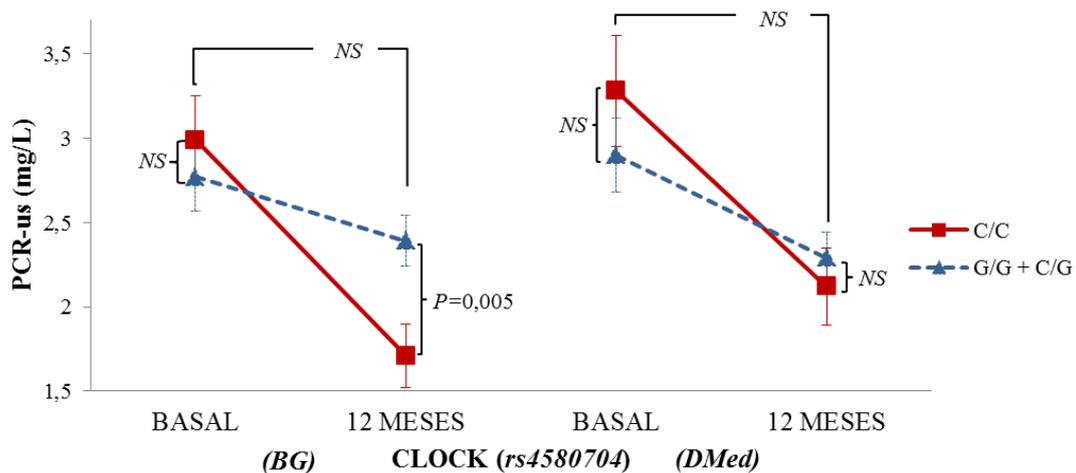


Figura 18. Interacción entre el SNP *rs4580704* y el modelo dietético **BG** y su influencia sobre los niveles de PCR-us. ANOVA univariante ajustado por edad, género e IMC. Abreviaturas: NS, no significativo.

Del mismo modo que ocurría con la dieta BG, el grupo de intervención DMed (Tabla 29) también mostró diferencias basales en las concentraciones plasmáticas de apoB ($P=0,042$) y c-LDL ($P=0,041$). Sin embargo la intervención dietética de este grupo no mostró ninguna interacción significativa con el SNP *rs4580704* ya que las

diferencias basales de apoB y c-LDL desaparecieron tras los 12 meses de intervención al igual que ocurrió con la dieta BG.

Tabla 29. Interacción entre el polimorfismo *rs4580704* y la dieta mediterránea (DMed) sobre los parámetros lipídicos, inflamatorios y el metabolismo de la glucosa en situación basal y tras 12 meses de intervención.

	Basal			12 meses		
	C/C	G/G + C/G	P	C/C	G/G + C/G	P
CT (mg/dL)	164,96 (2,53)	155,87 (3,65)	0,073	160,60 (4,29)	159,81 (2,97)	0,998
c-LDL (mg/dL)	92,81 (3,11)	84,27 (2,12)	0,041*	89,15 (2,99)	87,28 (2,06)	0,749
c-HDL (mg/dL)	38,56 (0,91)	38,45 (0,63)	0,923	40,03 (1,07)	38,44 (0,74)	0,301
TG (mg/dL)	159,17 (7,72)	158,84 (5,48)	0,911	133,98 (6,89)	145,44 (4,69)	0,215
ApoB (mg/dL)	79,82 (2,01)	74,74 (1,40)	0,042*	74,77 (2,14)	73,94 (1,53)	0,835
ApoA1 (mg/dL)	128,43 (2,31)	124,01 (1,60)	0,160	123,01 (2,32)	120,47 (1,64)	0,482
c-HDL/apoA1	0,30 (0,005)	0,31 (0,003)	0,239	0,32 (0,008)	0,32 (0,006)	0,697
Lpa (mg/dL)	38,88 (4,54)	37,22 (4,53)	0,929	40,73 (4,82)	38,00 (3,38)	0,788
Hcy (μmol/L)	13,65 (0,49)	13,75 (0,34)	0,977	13,38 (0,51)	13,13 (0,37)	0,546
Glucosa (mg/dL)	132,03 (4,97)	124,57 (3,48)	0,089	127,57 (4,31)	119,55 (3,02)	0,099
HbA1c (%)	7,10 (0,14)	6,90 (0,09)	0,155	7,06 (0,15)	6,78 (0,11)	0,095
Insulin (mU/L)	12,26 (1,05)	11,82 (0,70)	0,581	10,19 (0,97)	9,71 (0,66)	0,421
HOMA-IR	4,02 (0,48)	3,85 (0,32)	0,546	3,30 (0,37)	2,87 (0,25)	0,241
QUICKI	0,33 (0,009)	0,34 (0,006)	0,174	0,36 (0,11)	0,36 (0,007)	0,955
PCR-us (mg/L)	3,28 (0,33)	2,90 (0,22)	0,228	2,12 (0,23)	2,29 (0,15)	0,805
IL-6 (pg/mL)	2,54 (0,24)	2,73 (0,17)	0,488	3,12 (0,29)	3,09 (0,20)	0,982
TNF-α (pg/mL)	12,50 (1,93)	12,21 (1,34)	0,882	11,69 (1,78)	10,80 (1,14)	0,627

Valores expresados en media (error estándar). Abreviaturas: ApoA1, apolipoproteína A1; ApoB, apolipoproteína B; c-HDL, colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad c-LDL; colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad; cm, centímetros; CT, colesterol total; Hcy, homocisteína; HOMA-IR, *homeostasis model assessment of insulin resistance*; IL-6, interleuquina 6; IMC, índice de masa corporal; Kg, kilogramos; Kg/m², kilogramos por metro cuadrado; Lpa, lipoproteína a; mg/dL, miligramos por decilitro; mg/L, miligramos por litro; mU/L, miliunidades por litro; PC, perímetro de cintura; PCR-us, proteína C reactiva ultrasensible; QUICKI, *quantitative insulin sensitivity check index*; TG, triglicéridos; TNF-α, factor de necrosis tumoral alfa. **P*<0.05. Variables calculadas usando el test de ANOVA univariante ajustado por factores de confusión.

3.4.3 Relación del SNP *rs4580704* con la respuesta lipémica postprandial:

El análisis postprandial no encontró diferencias entre las variantes alélicas del SNP *rs4580704* en los distintos parámetros estudiados.

VII. DISCUSIÓN

Los resultados de nuestro trabajo ponen de manifiesto que la presencia de determinadas variaciones polimórficas en el gen TNF- α (*rs1799964*, *rs1800629*) y en el gen CLOCK (*rs1801260*, *rs3749474*, *rs4580704*) interaccionan con el patrón de alimentación modulando los parámetros inflamatorios, el control glucémico y el perfil lipídico en pacientes con SMet, dentro de la cohorte del estudio CORDIOPREV. De esta manera, la presencia de estos SNPs favorecen que la ingesta a largo plazo de un determinado patrón de alimentación, bien sea un modelo BG o DMed, tenga un efecto beneficioso amortiguando el perfil de riesgo metabólico de estos pacientes.

Como ya hemos comentado previamente, si hay algo intrínseco a la Medicina de nuestro tiempo es su frenética evolución. En la última década la Medicina Personalizada, ha permitido un gran avance fundamentalmente gracias al mejor conocimiento del genoma humano, así como al gran abanico de posibilidades técnicas que tenemos en la actualidad. La aplicación de la genómica, la epigenética, la farmacogenómica, la transcriptómica, la proteómica, la metabolómica, la bioinformática y otras áreas que están actualmente en fase de desarrollo como la microbiota, etc. han permitido el desarrollo de la Medicina Personalizada. Además, nos ha permitido profundizar en el conocimiento de las enfermedades y, con todo ello, poder tratar de una forma más adecuada a nuestros enfermos. En este contexto la enorme variabilidad interindividual en la respuesta a los nutrientes de la dieta ha generado un importante avance en esta área de la nutrición. Este trabajo pretende seguir ampliando el conocimiento en esta área.

Como ya mencionamos en la introducción, el TNF- α es una citoquina proinflamatoria con un papel principal en la respuesta inflamatoria de nuestro sistema inmune. El gen promotor del TNF- α se encuentra localizado en el cromosoma 6, flanqueado por las regiones promotoras de la linfotoxinas “a” y “b”. Además de su

actuación en la respuesta inflamatoria, también participa en gran cantidad de procesos fisiológicos tal y como muestra el trabajo de Qidwai y Khan (112). Existen modelos animales y humanos que correlacionan la expresión de esta citoquina y el grado de adiposidad que se da en la obesidad. Esta expresión aumentada de TNF- α en la obesidad también se ha asociado con un aumento de resistencia periférica a la insulina lo que pone de manifiesto como el estado inflamatorio de bajo grado que se produce en pacientes con SMet interviene en la aparición de DM2. Por todo lo explicado, reducir este estado proinflamatorio puede constituir una diana terapéutica fundamental en el tratamiento de la DM2 y del resto de alteraciones metabólicas que se producen en el SMet (381, 382).

El primer hallazgo dentro de los 5 SNPs analizados en el gen TNF- α se objetivó para el *rs1800629* presente en su región promotora. Así, los individuos homocigotos para el alelo mayoritario G (G/G) presentaron mayores niveles basales de TG y PCR-us que los portadores del alelo minoritario A. De forma interesante, tras consumir el modelo de alimentación DMed, los individuos G/G presentaron un mejor perfil lipídico, con un descenso en los niveles de TG, así como en su estado proinflamatorio medido por los niveles de PCR-us que descendieron tras 12 meses de intervención con la DMed. Dicha interacción no se objetivó en el subgrupo de pacientes portadores de este SNP que siguieron el modelo de dieta BG. Estudios previos han demostrado que el SNP *rs1800629* favorece el riesgo de padecer obesidad, resistencia a la insulina, DM2 y cardiopatía isquémica (273, 275, 383). En este contexto, Phillips *et al.* (275) demostraron que la presencia del genotipo G/G para este SNP confería un mayor riesgo de padecer SMet, demostrando que dicho riesgo podía ser modulado por la ingesta de determinados nutrientes. En concreto este riesgo se veía atenuado cuando la ingesta de PUFA era superior a la de SFA, mientras que el riesgo de padecer SMet se

incrementaba con el mayor consumo de SFA en la dieta. Dicho efecto sólo se objetivó en los portadores de ese SNP. En los últimos años se han publicado trabajos que asocian un mayor riesgo de cardiopatía isquémica en los individuos portadores de determinados SNPs entre ellos el SNP *rs1800629* del TNF- α (383, 384) por lo que la interacción demostrada de este SNP con la DMed podría sugerir un efecto beneficioso en la reducción del riesgo de ECV que presentan los individuos portadores de este SNP.

Actualmente, numerosos estudios experimentales han reconocido que la ECV es en gran medida generada por un proceso inflamatorio a nivel de la pared vascular. Estudios epidemiológicos han demostrado la relación existente entre los niveles de PCR-us y la incidencia de ECV independientemente del resto de factores de RCV (99, 154, 155, 385, 386). Esta relación entre los niveles de PCR-us y la incidencia de ECV parece ser uno de los múltiples factores que predisponen a que los sujetos con SMet tengan mayor riesgo de ECV. El papel que tiene la PCR-us sobre el proceso aterosclerótico se desarrolla prácticamente en todas las fases de formación de la placa de ateroma, para ello favorece un aumento en la oxidación del c-LDL junto con un aumento en la captación por parte de los macrófagos presentes en la pared vascular, reduce la producción de ON y la expresión de eNOS entre otros mecanismos que además de favorecer la formación de la placa de ateroma, la hacen más “vulnerable” (387, 388). Varios estudios prospectivos han corroborado el papel que tienen los niveles de PCR-us como predictores de ECV (389, 390). Tal es así que estos trabajos han llegado a demostrar un valor predictivo de la PCR-us similar a otros factores como el consumo de tabaco y los niveles de c-LDL. Por otro lado se ha establecido la correspondencia entre concentraciones de PCR-us inferiores a 1, entre 1 y 3, y mayores de 3 mg/L con un RR bajo, intermedio y elevado de ECV. Sin duda alguna, uno de los estudios más importantes a la hora de demostrar el papel predictor de ECV que tiene la

PCR-us en prevención primaria fue el estudio JUPITER (*Justification for the Use of statins in Primary prevention: an intervention Trial evaluating Rosuvastatin*) (391, 392). En este estudio prospectivo se randomizó a 17.802 personas, con niveles de c-LDL < 130 mg/dL y concentraciones de PCR-us de 2 mg/L o superiores, a recibir placebo o Rosuvastatina 20 mg/día y en donde la reducción de los niveles de c-LDL y de PCR-us se tradujo en un descenso importante de eventos cardiovasculares que provocó incluso la interrupción del propio ensayo. Las evidencias que muestran el papel de la PCR-us sobre el proceso aterosclerótico en prevención primaria han sido corroboradas en prevención secundaria mediante trabajos que apuntan a la PCR-us como un parámetro predictor de ECV en pacientes con cardiopatía isquémica previa (393, 394). Estudios como el PROVE IT-TIMI 22 (*Pravastatin or Atorvastatin Evaluation and Infection Therapy-Thrombolysis in Myocardial Infarction 22*) y el A to Z (*Aggrastat to Zocor*) (395) mostraron que la evolución de los individuos con c-LDL < 70 mg/dL y PCR-us < 2 mg/L era mucho mejor que en aquellos en donde la PCR-us era > 2 mg/L. Además de una relación con la aparición de ECV también existen trabajos que muestran la correlación entre las concentraciones de PCR-us y la existencia de arteriopatía periférica, en concreto el trabajo de Xu *et al.* (396) mostró como los pacientes con concentraciones de PCR-us superiores a 1 mg/L tenían un grosor de íntima media (GIM) carotideo significativamente superior a aquellos individuos en los que las cifras de PCR-us eran inferiores a 1 mg/L. Todas estas evidencias sustentan el interés de la comunidad científica para intentar reducir los niveles de PCR-us. Como ya hemos comentado en este trabajo en los pacientes con SMet subyace un estado de inflamación crónica, en los cuáles el conocer los niveles plasmáticos de PCR-us es útil para conocer dicho estado. Por ende, todos aquellos cambios destinados a reducir los niveles de PCR-us, sobre todos en sujetos con SMet, pueden tener un efecto beneficioso

sobre el RCV debido a la reducción que esto conlleva sobre el daño a nivel de la pared vascular y al enlentecimiento en la formación de la placa de ateroma. El hecho de que en nuestro estudio hayamos detectado un subgrupo de pacientes con un rasgo genético determinado que se beneficien de un modelo de alimentación DMed para disminuir los niveles de PCR-us es interesante desde el punto de vista del tratamiento y prevención de la inflamación en estos pacientes y consecuentemente de su RCV.

En nuestro trabajo, los dos modelos dietéticos están dirigidos a reducir el consumo de SFA aunque solo el grupo de intervención DMed obtuvo resultados significativos en la reducción de los niveles de PCR-us. Este hecho probablemente derive del mayor porcentaje de MUFA de este patrón dietético. Con solo 3 meses de intervención dietética dentro del estudio PREDIMED, Estruch *et al.* (222) mostraron una reducción significativa de los niveles de PCR-us en el grupo de intervención DMed con respecto a la dieta control BG. Previamente y con una intervención a mayor plazo (2 años), Espósito *et al.* (185), además de mostrar una reducción significativa en los niveles plasmáticos de TG como acabamos de mencionar, demostró como el consumo de una dieta rica en MUFA obtenía un descenso significativo en los niveles de PCR-us e IL-6 de pacientes con SMet en comparación con una dieta con un contenido menor de grasa total y de MUFA. En nuestro grupo también se pudo evaluar el efecto antiinflamatorio que tienen los MUFA en situación postprandial (223). Este trabajo mostró que el consumo de una dieta rica en MUFA como la que se propone en el modelo DMed reducía la expresión postprandial de TNF- α e IL-6 en células mononucleares.

De igual manera que ocurre con la PCR-us, los niveles de TG y más aún en pacientes con SMet, han demostrado tener una relación con el riesgo de ECV, aunque de forma menos consistente que otras fracciones lipídicas tales como el c-LDL y el

c-HDL. Ya en la década de los 90, trabajos como el de Jeppesen *et al.* (397) realizado sobre 2.906 varones dentro del *Copenhagen Male Study* demostró la relación de niveles elevados de TG con una mayor incidencia de ECV y en concreto con la cardiopatía isquémica. Posteriormente, dentro del NHANES III se analizó la relación entre los valores elevados de TG (>150 mg/dL) y la prevalencia de ECV encontrándose una asociación significativa entre ambos. Los estudios prospectivos orientados a corroborar esta relación también han dado resultados divergentes. Mientras que en 2007, el trabajo publicado Tirosh *et al.* (398) mostró una asociación significativa entre los niveles elevados de TG y la incidencia de ECV en 13.953 varones jóvenes seguidos durante 10 años de media, un meta-análisis de 2009 (399) mostró una asociación significativa entre niveles de TG y ECV que desaparecía tras ajustar por otros factores de riesgo como el c-HDL. Aunque en menor medida que otros componentes del SMet, los niveles de TG se comportan como un factor de riesgo de cardiometabólico por lo que es necesario aplicar las medidas terapéuticas dedicadas a reducir sus niveles ya sea mediante la modificación de estilos de vida (dieta, ejercicio físico etc.) como con terapias farmacológicas en aquellos casos en los que sea necesario.

En nuestro estudio los individuos homocigotos G/G para el SNP *rs1800629* mostraron un descenso significativo en los niveles de TG y PCR-us tras 12 meses de intervención DMed en comparación con los portadores del alelo minoritario A. Estos resultados sugieren que probablemente el tipo de grasa característica de este modelo de alimentación y específicamente del aceite de oliva, como es la grasa MUFA, interacciona con dicho SNP para modificar favorablemente los niveles de TG. Una de las posibilidades a considerar en nuestros hallazgos puede estar en la flexibilidad fenotípica de estos individuos en respuesta a una dieta DMed. Nuestros datos corroboran el papel este modelo de alimentación en el mantenimiento de la flexibilidad

fenotípica a través del metabolismo de TG y del estado proinflamatorio de bajo grado presente en los pacientes con SMet, con un efecto favorable fundamentalmente en los individuos G/G. Los AG que consumimos en la dieta influyen de forma directa en la génesis de las distintas alteraciones metabólicas que dan lugar al SMet tal y como muestran evidencias previas al respecto (400, 401). Estos trabajos indican el efecto beneficioso que tiene la DMed (rica en MUFA) sobre los distintos rasgos fenotípicos del SMet como son la DM2 (402), niveles elevados de TG (185, 403, 404) y el estado proinflamatorio asociado a estos individuos (185, 222, 223). Por otro lado también existen trabajos que muestran como una adherencia elevada a una dieta DMed se relaciona de forma inversa con la prevalencia de SMet (405-407). Dentro de la cohorte de pacientes del estudio Pizarra (N=613) (212) se demostró un descenso significativo en la incidencia de obesidad en aquellos pacientes que consumieron aceite de oliva durante los 6 años de seguimiento en comparación con aquellos que tomaron aceite de girasol. El consumo de una dieta rica en MUFA como la que propone el modelo DMed se asocia con niveles bajos de TG tal y como demuestra el trabajo de Rumawas *et al.* (406) sobre la población descendiente de la cohorte Framingham; en estos pacientes se observó que aquellos que tenían una mayor adherencia a la DMed presentaban unos niveles de TG inferiores a aquellos en donde la adherencia era menor (103 vs. 114 mg/dL, $P < 0,001$). También se ha podido observar el efecto beneficioso de la DMed sobre los niveles de TG tal y como detalla el trabajo de Esposito *et al.* (185) sobre 180 pacientes con SMet divididos en 2 grupos sobre los que llevo a cabo una intervención dietética con una dieta DMed y por otro lado, un grupo control en el que a pesar de tener un mayor porcentaje de grasa en la dieta, la cantidad de MUFA era inferior (12 % vs. 10 %). Tras 2 años de seguimiento, el grupo de intervención redujo de forma significativa los niveles de TG, el peso y el PC con respecto al grupo control. Por

último, el estudio PREDIMED (187) también demostró cómo tras la intervención dietética durante 12 meses con una dieta DMed rica en MUFA, la prevalencia de niveles de TG elevados en el grupo de intervención era estadísticamente inferior a la del grupo control. Sin embargo y dado que este tipo de intervención es bastante compleja, ya que se analiza un patrón de alimentación y no alimentos, macro o micronutrientes aislados, debemos de ser cautos a la hora de interpretar nuestros resultados.

Nuestros hallazgos en este gen indican la necesidad de aplicar medidas terapéuticas específicas en función del mapa genético del individuo. La interacción entre este el SNP *rs1800629* y la DMed puede traducirse en una reducción del riesgo de desarrollar ECV atribuido a estos pacientes.

Otro de los factores que juega un papel importante en el SMet es resistencia a la insulina. Así, el metabolismo de la glucosa, junto con otros procesos fisiológicos del organismo, sigue un patrón circadiano acorde con la producción cíclica a lo largo del día de insulina y determinadas hormonas como la adiponectina, una citoquina con efecto protector frente a las alteraciones metabólicas que se producen en pacientes con SMet (301, 408, 409). Ya hemos mencionado que el metabolismo de la glucosa, a través de la secreción de insulina, sigue un claro patrón circadiano que permite una gestión adecuada de la energía que necesita el organismo a través del consumo de glucosa. La secreción de insulina está regulada por la adiponectina que también expresa una producción cíclica a lo largo del día al igual que otras hormonas como la leptina y el glucagón (321). Los ritmos circadianos, como ya comentamos en la introducción, están regulados por factores externos como el ciclo de luz-oscuridad y la dieta, por lo tanto, las modificaciones de estos factores se han relacionado ampliamente con la alteración de los ritmos circadianos favoreciéndose la aparición de resistencia a la insulina, obesidad y SMet. Tal es así, que la supresión de estos “genes reloj” en modelos

animales modificados genéticamente provoca la aparición resistencia a la insulina, intolerancia a los HC y obesidad (331, 410). La modificación cualitativa y cuantitativa de la dieta puede influir en el papel de la proteína CLOCK sobre la homeostasis de la glucosa mediante la interacción con los relojes periféricos que a su vez modifican la respuesta a la insulina. De esta forma, se ha demostrado como una dieta con un alto contenido graso seguido de un periodo de ayuno prolongado modifica la expresión de adiponectina a nivel de tejido adiposo y muscular alterándose de esta manera su patrón circadiano y consecuentemente su estímulo sobre la secreción de insulina (411). En este sentido, Garaulet (291) observó cómo los portadores del alelo menor C en el SNP *rs1801260* del gen CLOCK tenían un mayor IMC y por el contrario mostraban unos niveles de adiponectina bajos lo que traduce una mayor resistencia a la insulina en estos individuos. A pesar de que este trabajo pone de manifiesto el papel del gen CLOCK y en concreto del SNP *rs1801260* en el metabolismo de la glucosa a través de la respuesta a insulina, no existen evidencias que relacionen el efecto de la dieta en interacción con este gen. Con todo lo explicado, la dieta constituye una diana terapéutica esencial para favorecer el correcto funcionamiento de nuestro sistema circadiano y poder evitar el desarrollo de obesidad, DM2 y SMet entre otras patologías. Este hecho nos llevó a investigar la posible interacción de alguno de estos genes CLOCK con los dos modelos de dieta del estudio CORDIOPREV.

Nuestros resultados se sitúan en la misma línea que estos estudios y muestran que la presencia de este SNP influye en el metabolismo de la glucosa y la resistencia a la insulina y más importante aún, constituye la primera evidencia de la interacción del SNP *rs1800629* con la dieta para mejorar los parámetros de control glucémico en pacientes con SMet en prevención secundaria. Esta interacción gen-dieta no ha sido descrita previamente lo que resalta su interés ya que la dieta y el ejercicio físico son los

pilares básicos sobre los que se debe de asentar el tratamiento para prevenir los desórdenes metabólicos de pacientes con RCV elevado como los que componen la población del estudio CORDIOPREV. Además, estos hallazgos recalcan la influencia de los ritmos circadianos en el metabolismo de la glucosa y específicamente en la resistencia a la insulina. De hecho, la resistencia a la insulina se considera uno de los principales factores de riesgo en el desarrollo del SMet y además contribuye de forma negativa sobre el resto de componentes de estos pacientes (412). Los factores que predisponen a la resistencia a la insulina son múltiples variando entre factores medioambientales y genéticos destacando la dieta como uno de los principales. Junto a la interacción gen-dieta que acabamos de describir, nuestro trabajo de investigación encontró resultados significativos entre el consumo de la dieta BG y 2 SNPs del gen CLOCK, en concreto el *rs1801260* y el *rs4580704*. En primer lugar observamos como el consumo de un patrón de alimentación saludable como es el BG, interacciona con el SNP *rs1801260* mejorando el metabolismo de la glucosa de estos individuos. Específicamente, tras 12 meses de intervención, los sujetos homocigotos para el alelo mayoritario T (T/T) mostraron una mejora significativa en distintos parámetros de control glucémico en comparación con los portadores del alelo C. Los individuos T/T mostraron menores concentraciones plasmáticas de insulina, un HOMA-IR menor y un aumento de la sensibilidad periférica a la insulina medida por el índice QUICKI. En contraposición, no se encontraron estos efectos en el grupo de intervención DMed. El SNP *rs1801260* es uno de los más estudiados dentro del gen CLOCK. Evidencias previas muestran una relación de este SNP con los niveles de insulina y la resistencia periférica a la insulina en pacientes con SMet (319) lo que esta en concordancia con nuestros resultados.

Garaulet *et al.* (291) demostraron en humanos que la influencia del gen CLOCK sobre la resistencia a la insulina puede ser modulada por la alimentación y más concretamente por los AG que consumimos en la dieta. Junto a estos hallazgos, otras evidencias han identificado algunas interacciones gen-dieta en el gen CLOCK en pacientes con SMet. Nuestros hallazgos también muestran que aquellos sujetos que consumen de forma crónica una dieta con un aporte reducido de SFA muestran diferencias genotípicas en función del SNP *rs1801260*. De forma específica, el consumo de una dieta BG mejoró la resistencia a la insulina en los individuos homocigotos para el alelo T en comparación con los portadores del alelo minoritario C. Con respecto al metabolismo lipídico, no se encontraron asociaciones con ninguno de los parámetros analizados a diferencia de trabajos previos (291, 333, 413). Otros trabajos también muestran la relación de este SNP con la actividad física (414) y la pérdida de peso (415, 416), fundamentales en la prevención de la obesidad y el tratamiento de las alteraciones metabólicas que acontecen en pacientes con SMet.

Los mecanismos que expliquen la influencia de los SNPs del gen CLOCK en la resistencia a la insulina y como esta influencia puede ser modulada por la alimentación, no se han definido con exactitud en la actualidad (409). Una de las posibilidades está en la cronodisrupción provocada por los cambios en los patrones dietéticos y hábitos de vida que se dan actualmente en la sociedad industrializada y que pueden afectar al funcionamiento de los “relojes periféricos” (417, 418). Este es un aspecto que estamos estudiando dentro del estudio CORDIOPREV, aunque aún no disponemos de datos. Como ya mencionamos previamente, la ingesta de grasa en particular y la alimentación en general, constituyen uno de los sincronizadores externos más importantes (291, 332, 336) de los ritmos circadianos. Estos sincronizadores influyen de forma directa sobre la proteína CLOCK modificando tanto su expresión como su

funcionalidad (419). Por otro lado, también se ha demostrado la existencia de dominios PAS (420, 421) en la proteína CLOCK que actúan como sensores de señal sensibles a estímulos como la hipoglucemia y el balance de oxidación-reducción (422) capaces de modificar la expresión de este gen. Además, se sabe que el gen CLOCK regula la transcripción del Rev-Erb α y otros receptores nucleares que participan en el metabolismo de la glucosa y lipídico de manera que la dieta puede modificar estos procesos fisiológicos. La influencia de la proteína CLOCK sobre la resistencia a la insulina puede derivar de su acción sobre el Rev-Erb α ya que evidencias previas muestran su papel sobre el metabolismo de la glucosa y como puede ser modulado por la dieta (423, 424). La alteración en la actividad circadiana de la insulina induce alteraciones en todos aquellos tejidos que son sensibles a esta hormona favoreciéndose un aumento de la resistencia a la insulina y el consiguiente desarrollo de obesidad y DM2 típicas de pacientes con SMet (425).

En relación al análisis del tercer SNP del gen CLOCK que analizamos, el *rs4580704*, la presencia de dicho SNP en los pacientes con SMet del estudio CORDIOPREV, se asoció con algunos parámetros lipídicos en situación basal. Los individuos homocigotos para el alelo mayoritario C (C/C) presentaron unos niveles plasmáticos basales de CT, apoB y c-LDL superiores a los portadores del alelo minoritario G (G/G + C/G). Si anteriormente mencionábamos que el SNP *rs1801260* era uno de los SNPs más estudiados dentro del gen CLOCK, en el caso del SNP *rs4580704* ocurre totalmente lo contrario y son pocos los trabajos que abordan la relación de este SNP con el riesgo de SMet y menos aún relacionándolo con el metabolismo lipídico. El ya mencionado trabajo de Garaulet *et al.* (291) relaciona a los individuos C/C para el SNP *rs4580704* con otros componentes del SMet como son la resistencia a la insulina medida por el HOMA-IR, las cifras de TA (sistólica y

diastólica), el peso y el IMC junto con unos niveles de adiponectina estadísticamente inferiores en estos sujetos. Aunque nuestro trabajo no encontró diferencias con respecto a parámetros antropométricos, los niveles de CT, apoB y c-LDL van en consonancia con estos hallazgos previos al demostrar cómo los pacientes con SMet portadores del genotipo C/C para el SNP *rs4580704* tienen un peor perfil cardiometabólico y por tanto un mayor riesgo de ECV. Estos resultados constituyen por tanto la primera evidencia de la asociación del SNP *rs4580704* con el metabolismo lipídico.

Además de la asociación descrita pudimos observar como el consumo a largo plazo de la dieta BG indujo mayores niveles de c-HDL y por otro lado, un descenso en los niveles de apoA1 y PCR-us en los portadores del genotipo C/C para el SNP *rs4580704* en comparación con los portadores del alelo minoritario G. No se observaron otras interacciones gen-dieta.

Como ya es ampliamente conocido, los niveles de c-HDL se relacionan inversamente con el desarrollo y la presencia de ECV (399). El c-HDL juega un papel fundamental en el transporte reverso de colesterol. Principalmente interviene en la retirada de partículas de colesterol no esterificado acumuladas en los macrófagos de la pared vascular, esto implica, además de una reducción en el desarrollo de células espumosas y consecuentemente la formación de la placa de ateroma, una reducción en la respuesta inflamatoria que se produce en la pared vascular debido a la presencia de estos macrófagos cargados de partículas lipídicas (426). Además de participar en el transporte reverso de colesterol favoreciendo su eliminación vía biliar a las heces, también se le han atribuido propiedades antiinflamatorias, antioxidantes y vasodilatadoras (427). Por lo tanto, aquellas intervenciones destinadas a aumentar los niveles de c-HDL en pacientes con SMet también contribuyen a reducir el potencial RCV en estos pacientes. En nuestro estudio, los homocigotos C/C para el SNP

rs4580704 presentaron mayores niveles de c-HDL tras 12 meses de intervención dietética, tanto en dieta BG como en DMed. Sin embargo los homocigotos C/C aleatorizados al grupo de intervención BG, presentaron niveles plasmáticos de c-HDL superiores a los portadores del alelo minoritario G, que prácticamente no modificaron su niveles de c-HDL tras la intervención. Junto a estos resultados, la intervención dietética con la dieta BG también influyó en los niveles de apoA1, con un mayor descenso en los portadores de alelo minoritario G. El hecho de que los individuos homocigotos para el alelo mayoritario C (C/C) aumentasen los niveles plasmáticos de c-HDL y disminuyesen los de apoA1 podría estar en relación con una modificación en el tamaño de las partículas de c-HDL. En esta línea sería interesante estudiar esta hipótesis en el futuro. En el año 2013 (428) se publicó un trabajo interesante, dentro de la cohorte *Women's Health Study*, sobre la relación entre el fenómeno que acabamos de mencionar y el tamaño de las partículas de c-HDL. Para ello los autores correlacionaron el ratio c-HDL/apoA1 con el tamaño de las partículas de c-HDL obteniendo datos significativos que avalaban este hecho. Estos resultados apuntan a la posibilidad de utilizar este cociente como estimación del tamaño de las partículas de c-HDL. En el análisis de nuestra población observamos una interacción significativa del SNP *rs4580704* con la dieta BG influyendo sobre este parámetro. Tras la intervención con la dieta BG el ratio c-HDL/apoA1 aumentó hasta hacerse significativamente superior en los individuos C/C. Estos datos sugieren un efecto beneficioso de la dieta BG en los individuos portadores del genotipo C/C al favorecer la síntesis de partículas de c-HDL de mayor tamaño relacionadas con un menor riesgo de ECV (429-431).

La intervención con la dieta BG durante 12 meses también indujo una reducción significativa en los niveles de PCR-us en los individuos C/C en comparación con los portadores del alelo minoritario G para el SNP *rs4580704*. Los mecanismos que

expliquen dicha asociación se desconocen en la actualidad. Sin embargo existen algunas evidencias que demuestran el efecto de este modelo de dieta en la reducción de parámetros inflamatorios, por ej la PCR-us, en pacientes diabéticos (432). Otros trabajos publicados en los últimos años también han mostrado un efecto positivo en la reducción del estatus proinflamatorio que se produce en situaciones con exceso de adiposidad abdominal tal y como ocurre en pacientes con SMet (433, 434). En ellos se muestra como el consumo de alimentos bajos en grasas favorecía la reducción la PCR-us junto con un aumento en los niveles plasmáticos de adiponectina, la cual ejerce un efecto protector frente a las anormalidades metabólicas que se producen en el SMet. En nuestro caso, la dieta BG la interacciona con el SNP *rs4580704* para reducir los niveles de PCR-us en los sujetos C/C con una hipotética reducción en el RCV de estos individuos, a tenor de la múltiples evidencias que relacionan los niveles de PCR-us con el riesgo de ECV, tal y como hemos mencionado en esta discusión. Sin embargo este aspecto tendrá que explorarse en el futuro. Por tanto, los efectos previamente descritos nos permiten sugerir por primera vez que los portadores del genotipo C/C del SNP *rs4580704* se benefician especialmente del consumo de un modelo de alimentación BG.

Con todo lo indicado, debemos de ser cautos a la hora de generalizar nuestros resultados siendo necesaria la replicación de estos resultados observados dentro de la cohorte del estudio CORDIOPREV en otras poblaciones para confirmar nuestros hallazgos. Otro aspecto que hace necesario tomar estos resultados con precaución es la posibilidad de epistasia de estos genes con otros que puedan influir en los resultados encontrados. Los hallazgos obtenidos muestran que los pacientes con SMet pueden beneficiarse de diferentes patrones dietéticos en función de su mapa genético. En primer lugar está el efecto beneficioso de la dieta DMed sobre el metabolismo de TG y estado inflamatorio de los pacientes con SMet portadores del SNP *rs1800629* de la región

promotora del TNF- α . Por otro lado, están las evidencias de la interacción de la dieta BG con los SNPs del gen CLOCK *rs1801260* y *rs4580704* para mejorar el metabolismo de la insulina, el metabolismo lipídico y el estado proinflamatorio asociado al SMet lo que muestra la importancia de la proteína CLOCK en la regulación de estos procesos fisiológicos que también se pueden ver afectados por la disrupción en los ritmos circadianos.

Otro aspecto analizado en esta tesis es el análisis del postprandio en los pacientes con SMet dentro del estudio CORDIOPREV en función de estos 5 SNPs. Mencionado anteriormente, el estado postprandial aglutina todos aquellos procesos metabólicos que se producen tras la ingesta de alimento. La modificación de los hábitos de vida en nuestra sociedad ha provocado que la respuesta inflamatoria y oxidativa derivada del metabolismo de los nutrientes sea un continuo en nuestra fisiología debido a la superposición de las diferentes comidas a lo largo del día. El postprandio está modulado por múltiples factores genéticos y ambientales entre los que la dieta juega un papel fundamental. En este sentido, en los últimos años en nuestro grupo hemos trabajado en explorar la influencia de la dieta en el postprandio, así como en el hecho de que nuestro material genético atenúa o potencia dicho estado. Por ello, a día de hoy existen una gran cantidad de genes candidatos que pueden ejercer dicha influencia tal y como muestran algunas revisiones a este respecto (356, 435). La definición de la respuesta lipémica postprandial como un estado aterogénico se remonta a 1979 (436) en donde se sugirió que los niveles de Qm generados durante el postprandio se relacionan más intensamente que otras partículas lipídicas con el proceso arteriosclerótico. Los TG constituyen uno de los principales marcadores de la respuesta lipémica postprandial y sus niveles durante este periodo han sido ampliamente relacionados con el riesgo de ECV (347-350). En nuestro estudio hemos analizado la respuesta postprandial tras una

sobrecarga grasa y si estos SNPs modulan dicho proceso. De todos ellos se obtuvieron interesantes resultados en el SNP *rs1800629* de la región promotora del TNF- α . En concreto, los individuos G/G portadores del SNP *rs1800629* de la región promotora del TNF- α mostraron mayores niveles de TG postprandiales comparados con los portadores del alelo minoritario A, lo que permitió corroborar los resultados obtenidos en situación basal. Estos hallazgos ponen de relieve el concepto de flexibilidad fenotípica previamente señalado, sugiriendo que los individuos homocigotos G/G para este SNP presentan una menor capacidad de adaptación a la ingesta de alimento y en concreto a una sobrecarga grasa. Con estos resultados y en base a las evidencias aportadas, el hecho de que los individuos G/G tengan una mayor respuesta de TG postprandial podría estar relacionado con un mayor riesgo de ECV en estos sujetos. Curiosamente, la intervención con la DMed durante 12 meses en los individuos G/G para el SNP *rs1800629* de la región promotora del TNF- α provocó un descenso significativo en los niveles de TG plasmáticos. Aunque al final de los 12 meses no se realizó una nueva sobrecarga grasa para medir, entre otros, los niveles postprandiales de TG, sería interesante valorar si el consumo de una dieta rica en MUFA puede mejorar la capacidad de adaptación de estos individuos durante el postprandio.

Con los hallazgos de este trabajo de investigación ponemos en relieve el hecho de que los pacientes con SMet pueden beneficiarse en diferente medida de una intervención nutricional en función de su mapa genético. Este trabajo presenta a nuestro juicio una gran relevancia científica al tratarse de un estudio de intervención nutricional durante 12 meses realizado sobre medio millar de pacientes con SMet en prevención secundaria. No obstante, el estudio CORDIOPREV pretende valorar estas evidencias y otros efectos beneficiosos de la dieta sobre un total de 1.002 pacientes seguidos durante 5 años, sin que exista hasta la fecha un trabajo de investigación similar en su campo.

Estas nuevas interacciones gen-dieta o gen-nutriente muestran, por un lado, el efecto beneficioso de la DMed sobre los niveles de TG y el estado proinflamatorio en los portadores del SNP *rs1800629* de la región promotora del TNF- α . Por el contrario hemos visto como un modelo dietético cardiosaludable diferente, el BG, produce efectos beneficiosos similares en los portadores de distintos SNPs dentro del gen CLOCK. En concreto, la dieta BG mejoró los parámetros de control glucémico en los portadores del SNP *rs1801260* así como el perfil lipídico, en concreto los niveles de c-HDL, el ratio c-HDL/apoA1, y los niveles de PCR-us de los individuos portadores del SNP *rs4580704*.

Como hemos mencionado a lo largo de este trabajo, existen numerosos trabajos que apoyan la relación de estos SNPs: TNF- α (*rs1799964*, *rs1800629*) y CLOCK (*rs1801260*, *rs3749474*, *rs4580704*) con los distintos rasgos fenotípicos del SMet entre los que destacan la obesidad, la dislipemia y la DM2 con el consecuente aumento del riesgo de ECV en estos individuos. Dada la complejidad de las interacciones genes-ambiente, los hallazgos de esta tesis abren el camino a una aproximación nutricional personalizada de los pacientes con SMet en función de su mapa genético que nos permita evitar la aparición de las complicaciones derivadas de esta enfermedad.

A modo de resumen queremos señalar que los procesos que acabamos de describir son la muestra de que en la génesis de la ECV y otras enfermedades como la obesidad y la DM2 influyen factores tanto genéticos como ambientales de manera que modificaciones en el estilo de vida como la ingesta de alimento, el ejercicio físico y la parte del día en la que la realicemos puede interaccionar positiva o negativamente con nuestros genes en la aparición de estas y otras patologías.

VIII. CONCLUSIONES

CONCLUSIÓN PRINCIPAL:

El consumo durante 12 meses del modelo de dieta Mediterráneo, mostró una interacción significativa con el SNP *rs1800629* de la región promotora del gen TNF- α modificando los niveles plasmáticos de PCR-us en pacientes con síndrome metabólico. Así, la dieta Mediterránea indujo un mayor descenso en los niveles de PCR-us en los portadores del genotipo G/G comparado con los portadores del alelo minoritario A. La dieta baja en grasa indujo un descenso de igual magnitud entre variantes alélicas.

CONCLUSIONES SECUNDARIAS:

1^a. El consumo a largo plazo de la dieta Mediterránea mostró una interacción gen-dieta con el SNP *rs1800629* del gen TNF- α en pacientes con síndrome metabólico. Específicamente, los portadores del genotipo G/G presentaron mayores concentraciones plasmáticas de TG que los portadores del alelo minoritario A. Al final del periodo de seguimiento, la dieta Mediterránea indujo un mayor descenso de TG en los portadores del genotipo G/G en comparación con los portadores del alelo minoritario A. En el grupo de dieta baja en grasa el descenso fue de igual magnitud entre variantes alélicas. Del mismo modo, tras la sobrecarga oral grasa, los portadores G/G presentaron una mayor respuesta postprandial de TG que los portadores de alelo minoritario A, en la misma población.

2^a. El consumo a largo plazo de los dos modelos dietéticos no mostró ninguna interacción gen-dieta con los SNPs de la región promotora del gen TNF- α (*rs1799964*, *rs1800629*) para influir en el metabolismo de la glucosa.

3^a. Los homocigotos T/T del SNP *rs1800629* del gen CLOCK tras consumir la dieta baja en grasa presentaron un descenso en los niveles plasmáticos de insulina, un

menor índice HOMA-IR, junto con un aumento en la sensibilidad a la insulina medida por el índice QUICKI comparado con los portadores del alelo minoritario C. Para el SNP *rs4580704* del gen CLOCK, los homocigotos C/C, tras consumir la dieta baja en grasa presentaron un aumento significativo en los niveles de c-HDL, un descenso en los niveles plasmáticos de apoA1 y consecuentemente un aumento en el ratio c-HDL/apoA1, junto con un descenso de las concentraciones de PCR-us, comparado con los portadores del alelo minoritario G. En el grupo de dieta Mediterránea no se obtuvieron diferencias entre variantes alélicas tras 12 meses de intervención.

IX. ABREVIATURAS

AACE: American Association of Clinical Endocrinologists.

ABCA1: ATP binding cassette A1.

ACTH: corticotropina.

ADA: American Diabetes Association.

ADIPOQ: gen de la adiponectina.

ADIPOR: gen del receptor de la adiponectina.

AG: ácidos grasos.

AGNE: ácidos grasos libres no esterificados.

AG ω -3 y ω -6: ácidos grasos omega-3 y omega-6.

AHA: American Heart Association.

ANOVA: análisis de la varianza.

ApoA1: apolipoproteína A1.

ApoB: apolipoproteína B.

ApoC-III: apolipoproteína C-III.

ApoE: apolipoproteína E.

ARA-II: antagonistas de los receptores de angiotensina II.

ATP III - NCEP: Adult Treatment Panel III - National Cholesterol Education Program.

AUC: área bajo la curva.

BG: dieta baja en grasa.

BHC: dieta baja en hidratos de carbono.

BMAL-1: Brain and Muscle ARNT-like protein 1.

C3: fracción 3 del complemento.

CAPN10: calpaina-10.

c-HDL: colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad.

c-LDL: colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad.

CLOCK: Circadian Locomotor Output Cycles Kaput.

cm: centímetros.

CORDIOPREV: CORonary Diet Intervention with Olive Oil and Cardiovascular PREvention.

Cry 1 y 2: cryptochrome 1 y 2.

CT: colesterol total.

CV: cardiovascular.

c-VLDL: colesterol unido a lipoproteínas de muy baja densidad.

dL: decilitros.

DM2: diabetes mellitus tipo 2.

DMed: dieta Mediterránea.

DORICA: Estudio sobre Dislipemia, Obesidad y Riesgo Cardiovascular.

DPP: Diabetes Prevention Program.

EASD: European Association for the Study of Diabetes.

ECV: enfermedad cardiovascular.

EGIR: Grupo Europeo para el estudio de la Resistencia a la Insulina.

eNOS: óxido nítrico sintasa endotelial.

ENS: Encuesta Nacional de Salud.

FFQ: cuestionario de frecuencia de consumo.

GCKR: proteína reguladora de la glucoquinasa.

GCTC: glucocorticoides.

GOLDN: Genetics of Lipid Lowering Drugs and Diet Network.

Kg: kilogramo.

g: gramo.

H: hombre.

HbA1c: hemoglobina glicosilada.

HC: hidratos de carbono.

HCC: hidratos de carbono complejos.

HOMA-β: homeostasis model assessment of β-cell function.

HOMA-IR: homeostasis model assessment of insulin resistance.

h: horas.

HTA: hipertensión arterial.

IAM: infarto agudo de miocardio.

IASO / IOTF: International Association for the Study of Obesity / International Obesity Task Force.

IC: intervalo de confianza.

IDEA: International Day for the Evaluation of Abdominal Obesity.

IDF: International Diabetes Federation.

IECA: inhibidores enzima convertidora de angiotensina I en angiotensina II.

IL-6: interleuquina 6.

IMC: índice de masa corporal.

INSPIRE ME IAA: The INternational Study of Prediction of Intra-abdominal adiposity and its RELationships with cardioMETabolic risk/Intra-Abdominal Adiposity.

Kg: kilogramo.

L: litros.

Lpa: lipoproteína (a).

LPL: lipoproteína lipasa.

LPS: lipopolisacárido.

LRT: lipoproteínas ricas en triglicéridos.

LTA: linfotoxina- α .

M: mujer.

mg: miligramos.

mL: mililitros.

mmHg: milímetros de mercurio.

mU: miliunidades.

MUFA: ácidos grasos monoinsaturados.

NEFAs: ácidos grasos libres no esterificados.

ng: nanogramos.

NHANES III: Third National Health and Nutrition Examination Survey.

NHLBI: National Heart, Lung, and Blood Institute.

NSQ: Núcleo supraquiasmático.

ON: óxido nítrico.

OR: *odds ratio*.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

PA: presión arterial.

PAI: inhibidor del activador tisular del plasminógeno.

PC: perímetro de cintura.

PCR-us: proteína C reactiva ultrasensible.

Per 1 y 2: Period 1 y 2.

pg/mL: picogramos por mililitro.

PPAR: Peroxisome Proliferator-activated receptor.

PREDIMED: PREvención con Dieta MEDiterránea.

PUFA: ácidos grasos poliinsaturados.

Qm: quilomicrones.

QUICKI: Quantitative Insulin Sensitivity Check Index.

RCV: riesgo cardiovascular.

Rev-Erba: Reverse Erythroblastosis Virus α .

RFA: reactantes de fase aguda.

Rora: Retinoid-related Orphan Receptor- α .

RR: riesgo relativo.

SFA: ácidos grasos saturados.

SAOS: síndrome de apnea obstructiva del sueño.

SCA: síndrome coronario agudo.

SMet: síndrome metabólico.

SNP: polimorfismo de nucleótido simple.

SRAA: sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona.

TAD: tensión arterial diastólica.

TAS: tensión arterial sistólica.

TCF7L2: transcription factor 7-like 2.

TNF- α : factor de necrosis tumoral alfa.

TNFR 1 y 2: receptores del factor de necrosis tumoral tipo 1 y 2.

TG: triglicéridos.

UKPDS: United Kingdom Prospective Diabetes Study.

Vf: volumen final.

WHI: Women's Health Initiative.

μ L: microlitros.

X. BIBLIOGRAFÍA

1. Reaven G. Metabolic syndrome: pathophysiology and implications for management of cardiovascular disease. *Circulation*. 2002 Jul 16;106(3):286-8.
2. Grundy SM. Metabolic syndrome: connecting and reconciling cardiovascular and diabetes worlds. *J Am Coll Cardiol*. 2006 Mar 21;47(6):1093-100.
3. Zappulla D. Environmental stress, erythrocyte dysfunctions, inflammation, and the metabolic syndrome: adaptations to CO₂ increases? *J Cardiometab Syndr*. 2008 Winter;3(1):30-4.
4. Cornier MA, Dabelea D, Hernandez TL, Lindstrom RC, Steig AJ, Stob NR, et al. The metabolic syndrome. *Endocr Rev*. 2008 Dec;29(7):777-822.
5. Roche HM, Phillips C, Gibney MJ. The metabolic syndrome: the crossroads of diet and genetics. *Proc Nutr Soc*. 2005 Aug;64(3):371-7.
6. Eckel RH, Kahn R, Robertson RM, Rizza RA. Preventing cardiovascular disease and diabetes: a call to action from the American Diabetes Association and the American Heart Association. *Circulation*. 2006 Jun 27;113(25):2943-6.
7. Grundy SM. Metabolic syndrome: a multiplex cardiovascular risk factor. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007 Feb;92(2):399-404.
8. Enzi G, Busetto L, Inelmen EM, Coin A, Sergi G. Historical perspective: visceral obesity and related comorbidity in Joannes Baptista Morgagni's 'De sedibus et causis morborum per anatomen indagata'. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2003 Apr;27(4):534-5.
9. Kylin E, editor. *Studien ueber das Hypertonie-Hyperglykämie-Hyperurikämie syndrom*1923.
10. Marañón G. *Condiciones prediabéticas. Tratados de las zonas fronterizas de la secreción interna*1927.

11. Vague J. La différenciation sexuelle. Facteur determinant des formes de l'obesite. *Press Med.* 1947;30:339-40.
12. Reaven G, Calciano A, Cody R, Lucas C, Miller R. Carbohydrate Intolerance and Hyperlipemia in Patients with Myocardial Infarction without Known Diabetes Mellitus. *J Clin Endocrinol Metab.* 1963 Oct;23:1013-23.
13. Avogaro P, Crepaldi G, Enzi G, Tiengo A. [Metabolic aspects of essential obesity]. *Epatologia.* 1965 May-Jun;11(3):226-38.
14. Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes.* 1988 Dec;37(12):1595-607.
15. Ferrannini E, Haffner SM, Mitchell BD, Stern MP. Hyperinsulinaemia: the key feature of a cardiovascular and metabolic syndrome. *Diabetologia.* 1991 Jun;34(6):416-22.
16. Haffner SM, Valdez RA, Hazuda HP, Mitchell BD, Morales PA, Stern MP. Prospective analysis of the insulin-resistance syndrome (syndrome X). *Diabetes.* 1992 Jun;41(6):715-22.
17. Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ. The metabolic syndrome. *Lancet.* 2005 Apr 16-22;365(9468):1415-28.
18. Kaplan NM. The deadly quartet. Upper-body obesity, glucose intolerance, hypertriglyceridemia, and hypertension. *Arch Intern Med.* 1989 Jul;149(7):1514-20.
19. Grundy SM, Brewer HB, Jr., Cleeman JI, Smith SC, Jr., Lenfant C. Definition of metabolic syndrome: Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Circulation.* 2004 Jan 27;109(3):433-8.

20. DeFronzo RA, Ferrannini E. Insulin resistance. A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes Care*. 1991 Mar;14(3):173-94.
21. Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med*. 1998 Jul;15(7):539-53.
22. Balkau B, Charles MA. Comment on the provisional report from the WHO consultation. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *Diabet Med*. 1999 May;16(5):442-3.
23. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA*. 2001 May 16;285(19):2486-97.
24. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation*. 2002 Dec 17;106(25):3143-421.
25. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation*. 2009 Oct 20;120(16):1640-5.
26. Einhorn D, Reaven GM, Cobin RH, Ford E, Ganda OP, Handelsman Y, et al. American College of Endocrinology position statement on the insulin resistance syndrome. *Endocr Pract*. 2003 May-Jun;9(3):237-52.

27. Shiwaku K, Hashimoto M, Nogi A, Kitajima K, Yamasaki M. Traditional Japanese dietary basics: a solution for modern health issues? *Lancet*. 2004 May 22;363(9422):1737-8.
28. Tan CE, Ma S, Wai D, Chew SK, Tai ES. Can we apply the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel definition of the metabolic syndrome to Asians? *Diabetes Care*. 2004 May;27(5):1182-6.
29. Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. The metabolic syndrome--a new worldwide definition. *Lancet*. 2005 Sep 24-30;366(9491):1059-62.
30. Shiwaku K, Anuurad E, Enkhmaa B, Kitajima K, Yamane Y. Appropriate BMI for Asian populations. *Lancet*. 2004 Mar 27;363(9414):1077.
31. Shiwaku K, Anuurad E, Enkhmaa B, Nogi A, Kitajima K, Yamasaki M, et al. Predictive values of anthropometric measurements for multiple metabolic disorders in Asian populations. *Diabetes Res Clin Pract*. 2005 Jul;69(1):52-62.
32. Kahn R, Buse J, Ferrannini E, Stern M. The metabolic syndrome: time for a critical appraisal: joint statement from the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes Care*. 2005 Sep;28(9):2289-304.
33. Liao Y, Kwon S, Shaughnessy S, Wallace P, Hutto A, Jenkins AJ, et al. Critical evaluation of adult treatment panel III criteria in identifying insulin resistance with dyslipidemia. *Diabetes Care*. 2004 Apr;27(4):978-83.
34. Reaven GM. The metabolic syndrome: is this diagnosis necessary? *Am J Clin Nutr*. 2006 Jun;83(6):1237-47.
35. Haslam DW, James WP. Obesity. *Lancet*. 2005 Oct 1;366(9492):1197-209.

36. Mente A, Yusuf S, Islam S, McQueen MJ, Tanomsup S, Onen CL, et al. Metabolic syndrome and risk of acute myocardial infarction a case-control study of 26,903 subjects from 52 countries. *J Am Coll Cardiol*. 2010 May 25;55(21):2390-8.
37. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation*. 2005 Oct 25;112(17):2735-52.
38. Grundy SM. Obesity, metabolic syndrome, and coronary atherosclerosis. *Circulation*. 2002 Jun 11;105(23):2696-8.
39. Grundy SM, Brewer HB, Jr., Cleeman JI, Smith SC, Jr., Lenfant C. Definition of metabolic syndrome: report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004 Feb;24(2):e13-8.
40. Ford ES. Prevalence of the metabolic syndrome defined by the International Diabetes Federation among adults in the U.S. *Diabetes Care*. 2005 Nov;28(11):2745-9.
41. Adams RJ, Appleton S, Wilson DH, Taylor AW, Dal Grande E, Chittleborough C, et al. Population comparison of two clinical approaches to the metabolic syndrome: implications of the new International Diabetes Federation consensus definition. *Diabetes Care*. 2005 Nov;28(11):2777-9.
42. Lawlor DA, Smith GD, Ebrahim S. Does the new International Diabetes Federation definition of the metabolic syndrome predict CHD any more strongly than older definitions? Findings from the British Women's Heart and Health Study. *Diabetologia*. 2006 Jan;49(1):41-8.

43. Meigs JB, Rutter MK, Sullivan LM, Fox CS, D'Agostino RB, Sr., Wilson PW. Impact of insulin resistance on risk of type 2 diabetes and cardiovascular disease in people with metabolic syndrome. *Diabetes Care*. 2007 May;30(5):1219-25.
44. Ford ES, Giles WH, Dietz WH. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA*. 2002 Jan 16;287(3):356-9.
45. Ford ES, Giles WH, Mokdad AH. Increasing prevalence of the metabolic syndrome among u.s. Adults. *Diabetes Care*. 2004 Oct;27(10):2444-9.
46. Alegria E, Cordero A, Laclaustra M, Grima A, Leon M, Casasnovas JA, et al. [Prevalence of metabolic syndrome in the Spanish working population: MESYAS registry]. *Rev Esp Cardiol*. 2005 Jul;58(7):797-806.
47. Galassi A, Reynolds K, He J. Metabolic syndrome and risk of cardiovascular disease: a meta-analysis. *Am J Med*. 2006 Oct;119(10):812-9.
48. Gami AS, Witt BJ, Howard DE, Erwin PJ, Gami LA, Somers VK, et al. Metabolic syndrome and risk of incident cardiovascular events and death: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *J Am Coll Cardiol*. 2007 Jan 30;49(4):403-14.
49. Ninomiya JK, L'Italien G, Criqui MH, Whyte JL, Gamst A, Chen RS. Association of the metabolic syndrome with history of myocardial infarction and stroke in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Circulation*. 2004 Jan 6;109(1):42-6.
50. Chen J, Muntner P, Hamm LL, Jones DW, Batuman V, Fonseca V, et al. The metabolic syndrome and chronic kidney disease in U.S. adults. *Ann Intern Med*. 2004 Feb 3;140(3):167-74.

51. Sattar N, Gaw A, Scherbakova O, Ford I, O'Reilly DS, Haffner SM, et al. Metabolic syndrome with and without C-reactive protein as a predictor of coronary heart disease and diabetes in the West of Scotland Coronary Prevention Study. *Circulation*. 2003 Jul 29;108(4):414-9.
52. Meigs JB, Wilson PW, Nathan DM, D'Agostino RB, Sr., Williams K, Haffner SM. Prevalence and characteristics of the metabolic syndrome in the San Antonio Heart and Framingham Offspring Studies. *Diabetes*. 2003 Aug;52(8):2160-7.
53. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Bautista L, Franzosi MG, Commerford P, et al. Obesity and the risk of myocardial infarction in 27,000 participants from 52 countries: a case-control study. *Lancet*. 2005 Nov 5;366(9497):1640-9.
54. Ford ES, Li C, Sattar N. Metabolic syndrome and incident diabetes: current state of the evidence. *Diabetes Care*. 2008 Sep;31(9):1898-904.
55. Wilson PW, D'Agostino RB, Parise H, Sullivan L, Meigs JB. Metabolic syndrome as a precursor of cardiovascular disease and type 2 diabetes mellitus. *Circulation*. 2005 Nov 15;112(20):3066-72.
56. Grundy SM, Hansen B, Smith SC, Jr., Cleeman JI, Kahn RA. Clinical management of metabolic syndrome: report of the American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute/American Diabetes Association conference on scientific issues related to management. *Circulation*. 2004 Feb 3;109(4):551-6.
57. Ridker PM, Buring JE, Cook NR, Rifai N. C-reactive protein, the metabolic syndrome, and risk of incident cardiovascular events: an 8-year follow-up of 14 719 initially healthy American women. *Circulation*. 2003 Jan 28;107(3):391-7.
58. Park YW, Zhu S, Palaniappan L, Heshka S, Carnethon MR, Heymsfield SB. The metabolic syndrome: prevalence and associated risk factor findings in the US

population from the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Arch Intern Med.* 2003 Feb 24;163(4):427-36.

59. Dhingra R, Sullivan L, Jacques PF, Wang TJ, Fox CS, Meigs JB, et al. Soft drink consumption and risk of developing cardiometabolic risk factors and the metabolic syndrome in middle-aged adults in the community. *Circulation.* 2007 Jul 31;116(5):480-8.

60. LaMonte MJ, Barlow CE, Jurca R, Kampert JB, Church TS, Blair SN. Cardiorespiratory fitness is inversely associated with the incidence of metabolic syndrome: a prospective study of men and women. *Circulation.* 2005 Jul 26;112(4):505-12.

61. Milani RV, Lavie CJ. Prevalence and profile of metabolic syndrome in patients following acute coronary events and effects of therapeutic lifestyle change with cardiac rehabilitation. *Am J Cardiol.* 2003 Jul 1;92(1):50-4.

62. Gorter PM, Olijhoek JK, van der Graaf Y, Algra A, Rabelink TJ, Visseren FL. Prevalence of the metabolic syndrome in patients with coronary heart disease, cerebrovascular disease, peripheral arterial disease or abdominal aortic aneurysm. *Atherosclerosis.* 2004 Apr;173(2):363-9.

63. Shimazu T, Kuriyama S, Ohmori-Matsuda K, Kikuchi N, Nakaya N, Tsuji I. Increase in body mass index category since age 20 years and all-cause mortality: a prospective cohort study (the Ohsaki Study). *Int J Obes (Lond).* 2009 Apr;33(4):490-6.

64. Palaniappan L, Carnethon MR, Wang Y, Hanley AJ, Fortmann SP, Haffner SM, et al. Predictors of the incident metabolic syndrome in adults: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Diabetes Care.* 2004 Mar;27(3):788-93.

65. Finucane MM, Stevens GA, Cowan MJ, Danaei G, Lin JK, Paciorek CJ, et al. National, regional, and global trends in body-mass index since 1980: systematic

analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 960 country-years and 9.1 million participants. *Lancet*. 2011 Feb 12;377(9765):557-67.

66. Stevens GA, Singh GM, Lu Y, Danaei G, Lin JK, Finucane MM, et al. National, regional, and global trends in adult overweight and obesity prevalences. *Popul Health Metr*. 2012;10(1):22.

67. WHO. Mortality and burden of disease attributable to selected major risks. Geneva 2009.

68. Gutierrez-Fisac JL, Banegas Banegas JR, Artalejo FR, Regidor E. Increasing prevalence of overweight and obesity among Spanish adults, 1987-1997. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2000 Dec;24(12):1677-82.

69. Basterra-Gortari FJ, Bes-Rastrollo M, Segui-Gomez M, Forga L, Martinez JA, Martinez-Gonzalez MA. [Trends in obesity, diabetes mellitus, hypertension and hypercholesterolemia in Spain (1997-2003)]. *Med Clin (Barc)*. 2007 Sep 29;129(11):405-8.

70. Guallar-Castillon P, Perez RF, Lopez Garcia E, Leon-Munoz LM, Aguilera MT, Graciani A, et al. Magnitude and Management of Metabolic Syndrome in Spain in 2008-2010: The ENRICA Study. *Rev Esp Cardiol*. 2014 Jan 14.

71. Doak CM, Wijnhoven TM, Schokker DF, Visscher TL, Seidell JC. Age standardization in mapping adult overweight and obesity trends in the WHO European Region. *Obes Rev*. 2012 Feb;13(2):174-91.

72. Kotseva K, Wood D, De Backer G, De Bacquer D, Pyorala K, Keil U. Cardiovascular prevention guidelines in daily practice: a comparison of EUROASPIRE I, II, and III surveys in eight European countries. *Lancet*. 2009 Mar 14;373(9667):929-40.

73. Balkau B, Deanfield JE, Despres JP, Bassand JP, Fox KA, Smith SC, Jr., et al. International Day for the Evaluation of Abdominal Obesity (IDEA): a study of waist circumference, cardiovascular disease, and diabetes mellitus in 168,000 primary care patients in 63 countries. *Circulation*. 2007 Oct 23;116(17):1942-51.
74. Smith JD, Borel AL, Nazare JA, Haffner SM, Balkau B, Ross R, et al. Visceral adipose tissue indicates the severity of cardiometabolic risk in patients with and without type 2 diabetes: results from the INSPIRE ME IAA study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012 May;97(5):1517-25.
75. Karelis AD, Faraj M, Bastard JP, St-Pierre DH, Brochu M, Prud'homme D, et al. The metabolically healthy but obese individual presents a favorable inflammation profile. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005 Jul;90(7):4145-50.
76. Beck E, Esser N, Paquot N, Scheen AJ. [Metabolically obese normal-weight individuals and metabolically healthy, but obese, subjects]. *Rev Med Suisse*. 2009 Aug 26;5(214):1644-6, 8-9.
77. Lopez-Miranda J, Perez-Martinez P. It is time to define metabolically obese but normal-weight (MONW) individuals. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2013 Sep;79(3):314-5.
78. Calori G, Lattuada G, Piemonti L, Garancini MP, Ragona F, Villa M, et al. Prevalence, metabolic features, and prognosis of metabolically healthy obese Italian individuals: the Cremona Study. *Diabetes Care*. 2011 Jan;34(1):210-5.
79. Hamer M, Stamatakis E. Metabolically healthy obesity and risk of all-cause and cardiovascular disease mortality. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012 Jul;97(7):2482-8.
80. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care*. 2004 May;27(5):1047-53.

81. Tamayo T, Rosenbauer J, Wild SH, Spijkerman AM, Baan C, Forouhi NG, et al. Diabetes in Europe: An update for 2013 for the IDF Diabetes Atlas. *Diabetes Res Clin Pract.* 2013 Nov 27.
82. Soriguer F, Goday A, Bosch-Comas A, Bordiu E, Calle-Pascual A, Carmena R, et al. Prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose regulation in Spain: the Di@bet.es Study. *Diabetologia.* 2012 Jan;55(1):88-93.
83. Whiting DR, Guariguata L, Weil C, Shaw J. IDF diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract.* 2011 Dec;94(3):311-21.
84. Guariguata L. Contribute data to the 6th edition of the IDF Diabetes Atlas. *Diabetes Res Clin Pract.* 2013 May;100(2):280-1.
85. Rossing P. Diabetic nephropathy: worldwide epidemic and effects of current treatment on natural history. *Curr Diab Rep.* 2006 Dec;6(6):479-83.
86. Santos Bueso E, Fernandez-Vigo J, Fernandez Perez C, Macarro Merino A, Fernandez Perianes J. [Prevalence of diabetic retinopathy in the Regional Community of Extremadura. 1997-2001 (Extremadura Project to Prevent Blindness)]. *Arch Soc Esp Oftalmol.* 2005 Mar;80(3):187-94.
87. Beghi E, Monticelli ML. Diabetic polyneuropathy in the elderly. Prevalence and risk factors in two geographic areas of Italy. Italian General Practitioner Study Group (IGPSG). *Acta Neurol Scand.* 1997 Oct;96(4):223-8.
88. Cabezas-Cerrato J. The prevalence of clinical diabetic polyneuropathy in Spain: a study in primary care and hospital clinic groups. Neuropathy Spanish Study Group of the Spanish Diabetes Society (SDS). *Diabetologia.* 1998 Nov;41(11):1263-9.

89. Fedele D, Comi G, Coscelli C, Cucinotta D, Feldman EL, Ghirlanda G, et al. A multicenter study on the prevalence of diabetic neuropathy in Italy. Italian Diabetic Neuropathy Committee. *Diabetes Care*. 1997 May;20(5):836-43.
90. Gungor N, Arslanian S. Pathophysiology of type 2 diabetes mellitus in children and adolescents: treatment implications. *Treat Endocrinol*. 2002;1(6):359-71.
91. Ringborg A, Lindgren P, Martinell M, Yin DD, Schon S, Stalhammar J. Prevalence and incidence of Type 2 diabetes and its complications 1996-2003--estimates from a Swedish population-based study. *Diabet Med*. 2008 Oct;25(10):1178-86.
92. Alessi MC, Juhan-Vague I. Metabolic syndrome, haemostasis and thrombosis. *Thromb Haemost*. 2008 Jun;99(6):995-1000.
93. Koh KK, Han SH, Quon MJ. Inflammatory markers and the metabolic syndrome: insights from therapeutic interventions. *J Am Coll Cardiol*. 2005 Dec 6;46(11):1978-85.
94. Festa A, D'Agostino R, Jr., Howard G, Mykkanen L, Tracy RP, Haffner SM. Chronic subclinical inflammation as part of the insulin resistance syndrome: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS). *Circulation*. 2000 Jul 4;102(1):42-7.
95. Ridker PM. *Cardiology Patient Page*. C-reactive protein: a simple test to help predict risk of heart attack and stroke. *Circulation*. 2003 Sep 23;108(12):e81-5.
96. Festa A, D'Agostino R, Jr., Tracy RP, Haffner SM. Elevated levels of acute-phase proteins and plasminogen activator inhibitor-1 predict the development of type 2 diabetes: the insulin resistance atherosclerosis study. *Diabetes*. 2002 Apr;51(4):1131-7.
97. Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *JAMA*. 2001 Jul 18;286(3):327-34.

98. Hu FB, Meigs JB, Li TY, Rifai N, Manson JE. Inflammatory markers and risk of developing type 2 diabetes in women. *Diabetes*. 2004 Mar;53(3):693-700.
99. Rutter MK, Meigs JB, Sullivan LM, D'Agostino RB, Sr., Wilson PW. C-reactive protein, the metabolic syndrome, and prediction of cardiovascular events in the Framingham Offspring Study. *Circulation*. 2004 Jul 27;110(4):380-5.
100. Sutherland JP, McKinley B, Eckel RH. The metabolic syndrome and inflammation. *Metab Syndr Relat Disord*. 2004 Jun;2(2):82-104.
101. Wajchenberg BL, Nery M, Cunha MR, Silva ME. Adipose tissue at the crossroads in the development of the metabolic syndrome, inflammation and atherosclerosis. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2009 Mar;53(2):145-50.
102. Langenberg C, Bergstrom J, Scheidt-Nave C, Pfeilschifter J, Barrett-Connor E. Cardiovascular death and the metabolic syndrome: role of adiposity-signaling hormones and inflammatory markers. *Diabetes Care*. 2006 Jun;29(6):1363-9.
103. Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, et al. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest*. 2004 Dec;114(12):1752-61.
104. Van Guilder GP, Hoetzer GL, Greiner JJ, Stauffer BL, Desouza CA. Influence of metabolic syndrome on biomarkers of oxidative stress and inflammation in obese adults. *Obesity (Silver Spring)*. 2006 Dec;14(12):2127-31.
105. Zimmet PZ, Alberti KG, Shaw JE. Mainstreaming the metabolic syndrome: a definitive definition. *Med J Aust*. 2005 Aug 15;183(4):175-6.
106. Dinarello CA. Role of pro- and anti-inflammatory cytokines during inflammation: experimental and clinical findings. *J Biol Regul Homeost Agents*. 1997 Jul-Sep;11(3):91-103.

107. Chrousos GP. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis and immune-mediated inflammation. *N Engl J Med.* 1995 May 18;332(20):1351-62.
108. Means RT. Hepcidin and cytokines in anaemia. *Hematology.* 2004 Oct-Dec;9(5-6):357-62.
109. Bone RC. Toward a theory regarding the pathogenesis of the systemic inflammatory response syndrome: what we do and do not know about cytokine regulation. *Crit Care Med.* 1996 Jan;24(1):163-72.
110. Lotz M. Interleukin-6. *Cancer Invest.* 1993;11(6):732-42.
111. Willerson JT, Ridker PM. Inflammation as a cardiovascular risk factor. *Circulation.* 2004 Jun 1;109(21 Suppl 1):II2-10.
112. Qidwai T, Khan F. Tumour necrosis factor gene polymorphism and disease prevalence. *Scand J Immunol.* 2011 Dec;74(6):522-47.
113. Jovinge S, Hamsten A, Tornvall P, Proudler A, Bavenholm P, Ericsson CG, et al. Evidence for a role of tumor necrosis factor alpha in disturbances of triglyceride and glucose metabolism predisposing to coronary heart disease. *Metabolism.* 1998 Jan;47(1):113-8.
114. Pepys MB, Baltz ML. Acute phase proteins with special reference to C-reactive protein and related proteins (pentaxins) and serum amyloid A protein. *Adv Immunol.* 1983;34:141-212.
115. Marnell L, Mold C, Du Clos TW. C-reactive protein: ligands, receptors and role in inflammation. *Clin Immunol.* 2005 Nov;117(2):104-11.
116. Shine B, de Beer FC, Pepys MB. Solid phase radioimmunoassays for human C-reactive protein. *Clin Chim Acta.* 1981 Nov 25;117(1):13-23.
117. Volanakis JE. Human C-reactive protein: expression, structure, and function. *Mol Immunol.* 2001 Aug;38(2-3):189-97.

118. Cermak J, Key NS, Bach RR, Balla J, Jacob HS, Vercellotti GM. C-reactive protein induces human peripheral blood monocytes to synthesize tissue factor. *Blood*. 1993 Jul 15;82(2):513-20.
119. Ceska R. Clinical implications of the metabolic syndrome. *Diab Vasc Dis Res*. 2007 Sep;4 Suppl 3:S2-4.
120. Boden G. Obesity and free fatty acids. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2008 Sep;37(3):635-46, viii-ix.
121. Turner RC, Millns H, Neil HA, Stratton IM, Manley SE, Matthews DR, et al. Risk factors for coronary artery disease in non-insulin dependent diabetes mellitus: United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS: 23). *BMJ*. 1998 Mar 14;316(7134):823-8.
122. Lamarche B, Tchernof A, Moorjani S, Cantin B, Dagenais GR, Lupien PJ, et al. Small, dense low-density lipoprotein particles as a predictor of the risk of ischemic heart disease in men. Prospective results from the Quebec Cardiovascular Study. *Circulation*. 1997 Jan 7;95(1):69-75.
123. Austin MA, Edwards KL. Small, dense low density lipoproteins, the insulin resistance syndrome and noninsulin-dependent diabetes. *Curr Opin Lipidol*. 1996 Jun;7(3):167-71.
124. Soumian S, Albrecht C, Davies AH, Gibbs RG. ABCA1 and atherosclerosis. *Vasc Med*. 2005 May;10(2):109-19.
125. Ruan XZ, Varghese Z, Powis SH, Moorhead JF. Dysregulation of LDL receptor under the influence of inflammatory cytokines: a new pathway for foam cell formation. *Kidney Int*. 2001 Nov;60(5):1716-25.

126. Feingold KR, Soued M, Serio MK, Moser AH, Dinarello CA, Grunfeld C. Multiple cytokines stimulate hepatic lipid synthesis in vivo. *Endocrinology*. 1989 Jul;125(1):267-74.
127. Kawakami M, Cerami A. Studies of endotoxin-induced decrease in lipoprotein lipase activity. *J Exp Med*. 1981 Sep 1;154(3):631-9.
128. Hotamisligil GS, Murray DL, Choy LN, Spiegelman BM. Tumor necrosis factor alpha inhibits signaling from the insulin receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994 May 24;91(11):4854-8.
129. Thongtang N, Diffenderfer MR, Ooi EM, Asztalos BF, Dolnikowski GG, Lamon-Fava S, et al. Linkage between C-reactive protein and triglyceride-rich lipoprotein metabolism. *Metabolism*. 2013 Mar;62(3):369-75.
130. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation*. 2002 Mar 5;105(9):1135-43.
131. Corti R, Fuster V, Badimon JJ. Pathogenetic concepts of acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol*. 2003 Feb 19;41(4 Suppl S):7S-14S.
132. Villela NR, Aguiar LG, Bahia L, Bottino D, Bouskela E. Does endothelial dysfunction correlate better with waist-to-hip ratio than with body mass index or waist circumference among obese patients? *Clinics (Sao Paulo)*. 2006 Feb;61(1):53-8.
133. Nishida M, Moriyama T, Ishii K, Takashima S, Yoshizaki K, Sugita Y, et al. Effects of IL-6, adiponectin, CRP and metabolic syndrome on subclinical atherosclerosis. *Clin Chim Acta*. 2007 Sep;384(1-2):99-104.
134. Choi KM, Ryu OH, Lee KW, Kim HY, Seo JA, Kim SG, et al. Serum adiponectin, interleukin-10 levels and inflammatory markers in the metabolic syndrome. *Diabetes Res Clin Pract*. 2007 Feb;75(2):235-40.

135. Garcia-Moll X, Carlos Kaski J. [Ischemic cardiopathy: inflammation markers and the cardiovascular risk]. *Rev Esp Cardiol*. 1999 Nov;52(11):990-1003.
136. Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW, Jr. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest*. 2003 Dec;112(12):1796-808.
137. Palomer X, Perez A, Blanco-Vaca F. [Adiponectin: a new link between obesity, insulin resistance and cardiovascular disease]. *Med Clin (Barc)*. 2005 Mar 19;124(10):388-95.
138. Frohlich M, Imhof A, Berg G, Hutchinson WL, Pepys MB, Boeing H, et al. Association between C-reactive protein and features of the metabolic syndrome: a population-based study. *Diabetes Care*. 2000 Dec;23(12):1835-9.
139. Chambers JC, Eda S, Bassett P, Karim Y, Thompson SG, Gallimore JR, et al. C-reactive protein, insulin resistance, central obesity, and coronary heart disease risk in Indian Asians from the United Kingdom compared with European whites. *Circulation*. 2001 Jul 10;104(2):145-50.
140. Pi-Sunyer FX. Pathophysiology and long-term management of the metabolic syndrome. *Obes Res*. 2004 Dec;12 Suppl:174S-80S.
141. Nawrocki AR, Scherer PE. The delicate balance between fat and muscle: adipokines in metabolic disease and musculoskeletal inflammation. *Curr Opin Pharmacol*. 2004 Jun;4(3):281-9.
142. Greenberg AS, Obin MS. Obesity and the role of adipose tissue in inflammation and metabolism. *Am J Clin Nutr*. 2006 Feb;83(2):461S-5S.
143. Ford ES. Does exercise reduce inflammation? Physical activity and C-reactive protein among U.S. adults. *Epidemiology*. 2002 Sep;13(5):561-8.

144. Imhof A, Froehlich M, Brenner H, Boeing H, Pepys MB, Koenig W. Effect of alcohol consumption on systemic markers of inflammation. *Lancet*. 2001 Mar 10;357(9258):763-7.
145. de Beer FC, Soutar AK, Baltz ML, Trayner IM, Feinstein A, Pepys MB. Low density lipoprotein and very low density lipoprotein are selectively bound by aggregated C-reactive protein. *J Exp Med*. 1982 Jul 1;156(1):230-42.
146. Pepys MB, Rowe IF, Baltz ML. C-reactive protein: binding to lipids and lipoproteins. *Int Rev Exp Pathol*. 1985;27:83-111.
147. 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 U S A*. 2002 Oct 1;99(20):13043-8.
148. Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein: a critical update. *J Clin Invest*. 2003 Jun;111(12):1805-12.
149. Bhakdi S, Torzewski M, Klouche M, Hemmes M. Complement and atherogenesis: binding of CRP to degraded, nonoxidized LDL enhances complement activation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999 Oct;19(10):2348-54.
150. de Beer FC, Hind CR, Fox KM, Allan RM, Maseri A, Pepys MB. Measurement of serum C-reactive protein concentration in myocardial ischaemia and infarction. *Br Heart J*. 1982 Mar;47(3):239-43.
151. Berk BC, Weintraub WS, Alexander RW. Elevation of C-reactive protein in "active" coronary artery disease. *Am J Cardiol*. 1990 Jan 15;65(3):168-72.
152. Thompson SG, Kienast J, Pyke SD, Haverkate F, van de Loo JC. Hemostatic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina

pectoris. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group. *N Engl J Med.* 1995 Mar 9;332(10):635-41.

153. Haverkate F, Thompson SG, Pyke SD, Gallimore JR, Pepys MB. Production of C-reactive protein and risk of coronary events in stable and unstable angina. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group. *Lancet.* 1997 Feb 15;349(9050):462-6.

154. Kuller LH, Tracy RP, Shaten J, Meilahn EN. Relation of C-reactive protein and coronary heart disease in the MRFIT nested case-control study. Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Am J Epidemiol.* 1996 Sep 15;144(6):537-47.

155. Danesh J, Whincup P, Walker M, Lennon L, Thomson A, Appleby P, et al. Low grade inflammation and coronary heart disease: prospective study and updated meta-analyses. *BMJ.* 2000 Jul 22;321(7255):199-204.

156. Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med.* 2000 Mar 23;342(12):836-43.

157. Danesh J, Collins R, Appleby P, Peto R. Association of fibrinogen, C-reactive protein, albumin, or leukocyte count with coronary heart disease: meta-analyses of prospective studies. *JAMA.* 1998 May 13;279(18):1477-82.

158. Danesh J, Muir J, Wong YK, Ward M, Gallimore JR, Pepys MB. Risk factors for coronary heart disease and acute-phase proteins. A population-based study. *Eur Heart J.* 1999 Jul;20(13):954-9.

159. Ridker PM, Rifai N, Clearfield M, Downs JR, Weis SE, Miles JS, et al. Measurement of C-reactive protein for the targeting of statin therapy in the primary prevention of acute coronary events. *N Engl J Med.* 2001 Jun 28;344(26):1959-65.

160. Pietila KO, Harmoinen AP, Jokiniitty J, Pasternack AI. Serum C-reactive protein concentration in acute myocardial infarction and its relationship to mortality during 24 months of follow-up in patients under thrombolytic treatment. *Eur Heart J*. 1996 Sep;17(9):1345-9.
161. Anzai T, Yoshikawa T, Shiraki H, Asakura Y, Akaishi M, Mitamura H, et al. C-reactive protein as a predictor of infarct expansion and cardiac rupture after a first Q-wave acute myocardial infarction. *Circulation*. 1997 Aug 5;96(3):778-84.
162. Rosenzweig JL, Ferrannini E, Grundy SM, Haffner SM, Heine RJ, Horton ES, et al. Primary prevention of cardiovascular disease and type 2 diabetes in patients at metabolic risk: an endocrine society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008 Oct;93(10):3671-89.
163. Despres JP, Pouliot MC, Moorjani S, Nadeau A, Tremblay A, Lupien PJ, et al. Loss of abdominal fat and metabolic response to exercise training in obese women. *Am J Physiol*. 1991 Aug;261(2 Pt 1):E159-67.
164. Thompson PD, Buchner D, Pina IL, Balady GJ, Williams MA, Marcus BH, et al. Exercise and physical activity in the prevention and treatment of atherosclerotic cardiovascular disease: a statement from the Council on Clinical Cardiology (Subcommittee on Exercise, Rehabilitation, and Prevention) and the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism (Subcommittee on Physical Activity). *Circulation*. 2003 Jun 24;107(24):3109-16.
165. Cornelissen VA, Fagard RH. Effects of endurance training on blood pressure, blood pressure-regulating mechanisms, and cardiovascular risk factors. *Hypertension*. 2005 Oct;46(4):667-75.
166. Kelley GA, Kelley KS. Aerobic exercise and lipids and lipoproteins in men: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Mens Health Gend*. 2006;3(1):61-70.

167. Thomas DE, Elliott EJ, Naughton GA. Exercise for type 2 diabetes mellitus. *Cochrane Database Syst Rev.* 2006(3):CD002968.
168. Pattyn N, Cornelissen VA, Eshghi SR, Vanhees L. The effect of exercise on the cardiovascular risk factors constituting the metabolic syndrome: a meta-analysis of controlled trials. *Sports Med.* 2013 Feb;43(2):121-33.
169. Knowler WC, Barrett-Connor E, Fowler SE, Hamman RF, Lachin JM, Walker EA, et al. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N Engl J Med.* 2002 Feb 7;346(6):393-403.
170. Knowler WC, Fowler SE, Hamman RF, Christophi CA, Hoffman HJ, Brenneman AT, et al. 10-year follow-up of diabetes incidence and weight loss in the Diabetes Prevention Program Outcomes Study. *Lancet.* 2009 Nov 14;374(9702):1677-86.
171. Stades AM, Heikens JT, Holleman F, Hoekstra JB. Effect of metformin on glycaemic control in type 2 diabetes in daily practice: a retrospective study. *Neth J Med.* 2000 Mar;56(3):86-90.
172. Effect of intensive blood-glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. *Lancet.* 1998 Sep 12;352(9131):854-65.
173. Landsberg L, Aronne LJ, Beilin LJ, Burke V, Igel LI, Lloyd-Jones D, et al. Obesity-related hypertension: pathogenesis, cardiovascular risk, and treatment--a position paper of the The Obesity Society and The American Society of Hypertension. *Obesity (Silver Spring).* 2013 Jan;21(1):8-24.
174. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, Jr., 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 May 21;289(19):2560-72.

175. Lee M, Saver JL, Towfighi A, Chow J, Ovbiagele B. Efficacy of fibrates for cardiovascular risk reduction in persons with atherogenic dyslipidemia: a meta-analysis. *Atherosclerosis*. 2011 Aug;217(2):492-8.

176. Fievet C, Staels B. Combination therapy of statins and fibrates in the management of cardiovascular risk. *Curr Opin Lipidol*. 2009 Dec;20(6):505-11.

177. Nakajima K. Pharmacotherapy of mixed dyslipidemia in the metabolic syndrome. *Curr Clin Pharmacol*. 2010 May;5(2):133-9.

178. Robins SJ. Cardiovascular disease with diabetes or the metabolic syndrome: should statins or fibrates be first line lipid therapy? *Curr Opin Lipidol*. 2003 Dec;14(6):575-83.

179. Rosenson RS, Otvos JD, Hsia J. Effects of rosuvastatin and atorvastatin on LDL and HDL particle concentrations in patients with metabolic syndrome: a randomized, double-blind, controlled study. *Diabetes Care*. 2009 Jun;32(6):1087-91.

180. Ulus T, Parspour A, Cavusoglu Y, Entok E, Uslu I, Demirustu C. Statins improve myocardial perfusion in metabolic syndrome patients who have perfusion defects on myocardial perfusion imaging and angiographically normal coronary arteries. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2012 Mar;16(3):328-34.

181. Chan DC, Barrett PH, Watts GF. The metabolic and pharmacologic bases for treating atherogenic dyslipidaemia. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2014 Jun;28(3):369-85.

182. Siddiqi SS, Misbahuddin, Ahmad F, Rahman SZ, Khan AU. Dyslipidemic drugs in metabolic syndrome. *Indian J Endocrinol Metab*. 2013 May;17(3):472-9.

183. Grundy SM, Hansen B, Smith SC, Jr., Cleeman JI, Kahn RA. Clinical management of metabolic syndrome: report of the American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute/American Diabetes Association conference on scientific issues related to management. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004 Feb;24(2):e19-24.
184. Lloyd-Jones DM, Liu K, Colangelo LA, Yan LL, Klein L, Loria CM, et al. Consistently stable or decreased body mass index in young adulthood and longitudinal changes in metabolic syndrome components: the Coronary Artery Risk Development in Young Adults Study. *Circulation.* 2007 Feb 27;115(8):1004-11.
185. Esposito K, Marfella R, Ciotola M, Di Palo C, Giugliano F, Giugliano G, et al. Effect of a mediterranean-style diet on endothelial dysfunction and markers of vascular inflammation in the metabolic syndrome: a randomized trial. *JAMA.* 2004 Sep 22;292(12):1440-6.
186. Tortosa A, Bes-Rastrollo M, Sanchez-Villegas A, Basterra-Gortari FJ, Nunez-Cordoba JM, Martinez-Gonzalez MA. Mediterranean diet inversely associated with the incidence of metabolic syndrome: the SUN prospective cohort. *Diabetes Care.* 2007 Nov;30(11):2957-9.
187. Salas-Salvado J, Fernandez-Ballart J, Ros E, Martinez-Gonzalez MA, Fito M, Estruch R, et al. Effect of a Mediterranean diet supplemented with nuts on metabolic syndrome status: one-year results of the PREDIMED randomized trial. *Arch Intern Med.* 2008 Dec 8;168(22):2449-58.
188. Kastorini CM, Milionis HJ, Esposito K, Giugliano D, Goudevenos JA, Panagiotakos DB. The effect of Mediterranean diet on metabolic syndrome and its components: a meta-analysis of 50 studies and 534,906 individuals. *J Am Coll Cardiol.* 2011 Mar 15;57(11):1299-313.

189. Richard C, Couture P, Ooi EM, Tremblay AJ, Desroches S, Charest A, et al. Effect of Mediterranean diet with and without weight loss on apolipoprotein B100 metabolism in men with metabolic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2014 Feb;34(2):433-8.
190. Richard C, Couture P, Desroches S, Lichtenstein AH, Lamarche B. Effect of an isoenergetic traditional Mediterranean diet on apolipoprotein A-I kinetic in men with metabolic syndrome. *Nutr J.* 2013;12(1):76.
191. Richard C, Couture P, Desroches S, Lamarche B. Effect of the Mediterranean diet with and without weight loss on markers of inflammation in men with metabolic syndrome. *Obesity (Silver Spring).* 2013 Jan;21(1):51-7.
192. Lichtenstein AH, Appel LJ, Brands M, Carnethon M, Daniels S, Franch HA, et al. Diet and lifestyle recommendations revision 2006: a scientific statement from the American Heart Association Nutrition Committee. *Circulation.* 2006 Jul 4;114(1):82-96.
193. Mensink RP, Katan MB. Effect of dietary trans fatty acids on high-density and low-density lipoprotein cholesterol levels in healthy subjects. *N Engl J Med.* 1990 Aug 16;323(7):439-45.
194. Aro A, Jauhiainen M, Partanen R, Salminen I, Mutanen M. Stearic acid, trans fatty acids, and dairy fat: effects on serum and lipoprotein lipids, apolipoproteins, lipoprotein(a), and lipid transfer proteins in healthy subjects. *Am J Clin Nutr.* 1997 May;65(5):1419-26.
195. Kromhout D, Menotti A, Bloemberg B, Aravanis C, Blackburn H, Buzina R, et al. Dietary saturated and trans fatty acids and cholesterol and 25-year mortality from coronary heart disease: the Seven Countries Study. *Prev Med.* 1995 May;24(3):308-15.

196. Kris-Etherton PM, Yu S. Individual fatty acid effects on plasma lipids and lipoproteins: human studies. *Am J Clin Nutr.* 1997 May;65(5 Suppl):1628S-44S.
197. Ginsberg HN, Kris-Etherton P, Dennis B, Elmer PJ, Ershow A, Lefevre M, et al. Effects of reducing dietary saturated fatty acids on plasma lipids and lipoproteins in healthy subjects: the DELTA Study, protocol 1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998 Mar;18(3):441-9.
198. Schwingshackl L, Hoffmann G. Comparison of effects of long-term low-fat vs high-fat diets on blood lipid levels in overweight or obese patients: a systematic review and meta-analysis. *J Acad Nutr Diet.* 2013 Dec;113(12):1640-61.
199. Margolis KL, Wei F, de Boer IH, Howard BV, Liu S, Manson JE, et al. A diet high in low-fat dairy products lowers diabetes risk in postmenopausal women. *J Nutr.* 2011 Nov;141(11):1969-74.
200. Choi HK, Willett WC, Stampfer MJ, Rimm E, Hu FB. Dairy consumption and risk of type 2 diabetes mellitus in men: a prospective study. *Arch Intern Med.* 2005 May 9;165(9):997-1003.
201. Liu S, Choi HK, Ford E, Song Y, Klevak A, Buring JE, et al. A prospective study of dairy intake and the risk of type 2 diabetes in women. *Diabetes Care.* 2006 Jul;29(7):1579-84.
202. Camhi SM, Stefanick ML, Ridker PM, Young DR. Changes in C-reactive protein from low-fat diet and/or physical activity in men and women with and without metabolic syndrome. *Metabolism.* 2010 Jan;59(1):54-61.
203. Varady KA, Bhutani S, Klempel MC, Phillips SA. Improvements in vascular health by a low-fat diet, but not a high-fat diet, are mediated by changes in adipocyte biology. *Nutr J.* 2011;10:8.

204. Phillips SA, Jurva JW, Syed AQ, Kulinski JP, Pleuss J, Hoffmann RG, et al. Benefit of low-fat over low-carbohydrate diet on endothelial health in obesity. *Hypertension*. 2008 Feb;51(2):376-82.
205. Volek JS, Ballard KD, Silvestre R, Judelson DA, Quann EE, Forsythe CE, et al. Effects of dietary carbohydrate restriction versus low-fat diet on flow-mediated dilation. *Metabolism*. 2009 Dec;58(12):1769-77.
206. Sofi F, Cesari F, Abbate R, Gensini GF, Casini A. Adherence to Mediterranean diet and health status: meta-analysis. *BMJ*. 2008;337:a1344.
207. Nunez-Cordoba JM, Valencia-Serrano F, Toledo E, Alonso A, Martinez-Gonzalez MA. The Mediterranean diet and incidence of hypertension: the Seguimiento Universidad de Navarra (SUN) Study. *Am J Epidemiol*. 2009 Feb 1;169(3):339-46.
208. Sanchez-Tainta A, Estruch R, Bullo M, Corella D, Gomez-Gracia E, Fiol M, et al. Adherence to a Mediterranean-type diet and reduced prevalence of clustered cardiovascular risk factors in a cohort of 3,204 high-risk patients. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. 2008 Oct;15(5):589-93.
209. Panagiotakos DB, Chrysohoou C, Pitsavos C, Stefanadis C. Association between the prevalence of obesity and adherence to the Mediterranean diet: the ATTICA study. *Nutrition*. 2006 May;22(5):449-56.
210. Psaltopoulou T, Naska A, Orfanos P, Trichopoulos D, Mountokalakis T, Trichopoulou A. Olive oil, the Mediterranean diet, and arterial blood pressure: the Greek European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) study. *Am J Clin Nutr*. 2004 Oct;80(4):1012-8.
211. Mendez MA, Popkin BM, Jakszyn P, Berenguer A, Tormo MJ, Sanchez MJ, et al. Adherence to a Mediterranean diet is associated with reduced 3-year incidence of obesity. *J Nutr*. 2006 Nov;136(11):2934-8.

212. Soriguer F, Almaraz MC, Ruiz-de-Adana MS, Esteva I, Linares F, Garcia-Almeida JM, et al. Incidence of obesity is lower in persons who consume olive oil. *Eur J Clin Nutr.* 2009 Nov;63(11):1371-4.
213. Romaguera D, Norat T, Mouw T, May AM, Bamia C, Slimani N, et al. Adherence to the Mediterranean diet is associated with lower abdominal adiposity in European men and women. *J Nutr.* 2009 Sep;139(9):1728-37.
214. Romaguera D, Norat T, Vergnaud AC, Mouw T, May AM, Agudo A, et al. Mediterranean dietary patterns and prospective weight change in participants of the EPIC-PANACEA project. *Am J Clin Nutr.* 2010 Oct;92(4):912-21.
215. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Chrysohoou C, Skoumas J, Tousoulis D, Toutouza M, et al. Impact of lifestyle habits on the prevalence of the metabolic syndrome among Greek adults from the ATTICA study. *Am Heart J.* 2004 Jan;147(1):106-12.
216. Babio N, Bullo M, Basora J, Martinez-Gonzalez MA, Fernandez-Ballart J, Marquez-Sandoval F, et al. Adherence to the Mediterranean diet and risk of metabolic syndrome and its components. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2009 Oct;19(8):563-70.
217. Martinez-Gonzalez MA, de la Fuente-Arrillaga C, Nunez-Cordoba JM, Basterra-Gortari FJ, Beunza JJ, Vazquez Z, et al. Adherence to Mediterranean diet and risk of developing diabetes: prospective cohort study. *BMJ.* 2008 Jun 14;336(7657):1348-51.
218. Mozaffarian D, Marfisi R, Levantesi G, Silletta MG, Tavazzi L, Tognoni G, et al. Incidence of new-onset diabetes and impaired fasting glucose in patients with recent myocardial infarction and the effect of clinical and lifestyle risk factors. *Lancet.* 2007 Aug 25;370(9588):667-75.

219. Rojo-Martinez G, Esteva I, Ruiz de Adana MS, Garcia-Almeida JM, Tinahones F, Cardona F, et al. Dietary fatty acids and insulin secretion: a population-based study. *Eur J Clin Nutr.* 2006 Oct;60(10):1195-200.
220. Ros E. Dietary cis-monounsaturated fatty acids and metabolic control in type 2 diabetes. *Am J Clin Nutr.* 2003 Sep;78(3 Suppl):617S-25S.
221. Perez-Martinez P, Lopez-Miranda J, Blanco-Colio L, Bellido C, Jimenez Y, Moreno JA, et al. The chronic intake of a Mediterranean diet enriched in virgin olive oil, decreases nuclear transcription factor kappaB activation in peripheral blood mononuclear cells from healthy men. *Atherosclerosis.* 2007 Oct;194(2):e141-6.
222. Estruch R, Martinez-Gonzalez MA, Corella D, Salas-Salvado J, Ruiz-Gutierrez V, Covas MI, et al. Effects of a Mediterranean-style diet on cardiovascular risk factors: a randomized trial. *Ann Intern Med.* 2006 Jul 4;145(1):1-11.
223. Jimenez-Gomez Y, Lopez-Miranda J, Blanco-Colio LM, Marin C, Perez-Martinez P, Ruano J, et al. Olive oil and walnut breakfasts reduce the postprandial inflammatory response in mononuclear cells compared with a butter breakfast in healthy men. *Atherosclerosis.* 2009 Jun;204(2):e70-6.
224. Bellido C, Lopez-Miranda J, Perez-Martinez P, Paz E, Marin C, Gomez P, et al. The Mediterranean and CHO diets decrease VCAM-1 and E-selectin expression induced by modified low-density lipoprotein in HUVECs. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2006 Dec;16(8):524-30.
225. Bellido C, Lopez-Miranda J, Blanco-Colio LM, Perez-Martinez P, Muriana FJ, Martin-Ventura JL, et al. Butter and walnuts, but not olive oil, elicit postprandial activation of nuclear transcription factor kappaB in peripheral blood mononuclear cells from healthy men. *Am J Clin Nutr.* 2004 Dec;80(6):1487-91.

226. Fito M, Guxens M, Corella D, Saez G, Estruch R, de la Torre R, et al. Effect of a traditional Mediterranean diet on lipoprotein oxidation: a randomized controlled trial. *Arch Intern Med.* 2007 Jun 11;167(11):1195-203.
227. Razquin C, Martinez JA, Martinez-Gonzalez MA, Mitjavila MT, Estruch R, Marti A. A 3 years follow-up of a Mediterranean diet rich in virgin olive oil is associated with high plasma antioxidant capacity and reduced body weight gain. *Eur J Clin Nutr.* 2009 Dec;63(12):1387-93.
228. Perez-Martinez P, Garcia-Quintana JM, Yubero-Serrano EM, Tasset-Cuevas I, Tunez I, Garcia-Rios A, et al. Postprandial oxidative stress is modified by dietary fat: evidence from a human intervention study. *Clin Sci (Lond).* 2010 Sep;119(6):251-61.
229. Perez-Jimenez F, Castro P, Lopez-Miranda J, Paz-Rojas E, Blanco A, Lopez-Segura F, et al. Circulating levels of endothelial function are modulated by dietary monounsaturated fat. *Atherosclerosis.* 1999 Aug;145(2):351-8.
230. Perez-Martinez P, Moreno-Conde M, Cruz-Teno C, Ruano J, Fuentes F, Delgado-Lista J, et al. Dietary fat differentially influences regulatory endothelial function during the postprandial state in patients with metabolic syndrome: from the LIPGENE study. *Atherosclerosis.* 2010 Apr;209(2):533-8.
231. Ordovas JM. Nutrigenetics, plasma lipids, and cardiovascular risk. *J Am Diet Assoc.* 2006 Jul;106(7):1074-81; quiz 83.
232. Loktionov A. Common gene polymorphisms and nutrition: emerging links with pathogenesis of multifactorial chronic diseases (review). *J Nutr Biochem.* 2003 Aug;14(8):426-51.
233. Perez-Martinez P, Lopez-Miranda J, Ordovas JM, Perez-Jimenez F. [Nutrition in the age of genomics: towards a personalized diet]. *Med Clin (Barc).* 2008 Feb 2;130(3):103-8.

234. Ferguson JF, Phillips CM, Tierney AC, Perez-Martinez P, Defoort C, Helal O, et al. Gene-nutrient interactions in the metabolic syndrome: single nucleotide polymorphisms in ADIPOQ and ADIPOR1 interact with plasma saturated fatty acids to modulate insulin resistance. *Am J Clin Nutr.* 2010 Mar;91(3):794-801.
235. Perez-Martinez P, Perez-Jimenez F, Bellido C, Ordovas JM, Moreno JA, Marin C, et al. A polymorphism exon 1 variant at the locus of the scavenger receptor class B type I (SCARB1) gene is associated with differences in insulin sensitivity in healthy people during the consumption of an olive oil-rich diet. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005 Apr;90(4):2297-300.
236. Moreno JA, Perez-Jimenez F, Marin C, Gomez P, Perez-Martinez P, Moreno R, et al. The effect of dietary fat on LDL size is influenced by apolipoprotein E genotype in healthy subjects. *J Nutr.* 2004 Oct;134(10):2517-22.
237. Fernandez-Real JM, Gutierrez C, Ricart W, Casamitjana R, Fernandez-Castaner M, Vendrell J, et al. The TNF-alpha gene Nco I polymorphism influences the relationship among insulin resistance, percent body fat, and increased serum leptin levels. *Diabetes.* 1997 Sep;46(9):1468-72.
238. Ordovas JM. The quest for cardiovascular health in the genomic era: nutrigenetics and plasma lipoproteins. *Proc Nutr Soc.* 2004 Feb;63(1):145-52.
239. de Luis DA, Aller R, Izaola O, Gonzalez Sagrado M, Conde R. Role of G308 promoter variant of tumor necrosis factor alpha gene on weight loss and metabolic parameters after a high monounsaturated versus a high polyunsaturated fat hypocaloric diets. *Med Clin (Barc).* 2013 Sep 7;141(5):189-93.
240. Bennet AM, Di Angelantonio E, Ye Z, Wensley F, Dahlin A, Ahlbom A, et al. Association of apolipoprotein E genotypes with lipid levels and coronary risk. *JAMA.* 2007 Sep 19;298(11):1300-11.

241. Moreno JA, Perez-Jimenez F, Marin C, Gomez P, Perez-Martinez P, Moreno R, et al. Apolipoprotein E gene promoter -219G->T polymorphism increases LDL-cholesterol concentrations and susceptibility to oxidation in response to a diet rich in saturated fat. *Am J Clin Nutr.* 2004 Nov;80(5):1404-9.
242. Campos H, D'Agostino M, Ordovas JM. Gene-diet interactions and plasma lipoproteins: role of apolipoprotein E and habitual saturated fat intake. *Genet Epidemiol.* 2001 Jan;20(1):117-28.
243. Yang Y, Ruiz-Narvaez E, Kraft P, Campos H. Effect of apolipoprotein E genotype and saturated fat intake on plasma lipids and myocardial infarction in the Central Valley of Costa Rica. *Hum Biol.* 2007 Dec;79(6):637-47.
244. Tanaka T, Ordovas JM, Delgado-Lista J, Perez-Jimenez F, Marin C, Perez-Martinez P, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha polymorphisms and postprandial lipemia in healthy men. *J Lipid Res.* 2007 Jun;48(6):1402-8.
245. Perez-Martinez P, Ordovas JM, Lopez-Miranda J, Gomez P, Marin C, Moreno J, et al. Polymorphism exon 1 variant at the locus of the scavenger receptor class B type I gene: influence on plasma LDL cholesterol in healthy subjects during the consumption of diets with different fat contents. *Am J Clin Nutr.* 2003 Apr;77(4):809-13.
246. Wilson PW, Abbott RD, Castelli WP. High density lipoprotein cholesterol and mortality. The Framingham Heart Study. *Arteriosclerosis.* 1988 Nov-Dec;8(6):737-41.
247. Ordovas JM, Corella D, Cupples LA, Demissie S, Kelleher A, Coltell O, et al. Polyunsaturated fatty acids modulate the effects of the APOA1 G-A polymorphism on HDL-cholesterol concentrations in a sex-specific manner: the Framingham Study. *Am J Clin Nutr.* 2002 Jan;75(1):38-46.
248. Fontaine-Bisson B, Wolever TM, Chiasson JL, Rabasa-Lhoret R, Maheux P, Josse RG, et al. Genetic polymorphisms of tumor necrosis factor-alpha modify the

association between dietary polyunsaturated fatty acids and fasting HDL-cholesterol and apo A-I concentrations. *Am J Clin Nutr.* 2007 Sep;86(3):768-74.

249. Ordovas JM, Corella D, Demissie S, Cupples LA, Couture P, Coltell O, et al. Dietary fat intake determines the effect of a common polymorphism in the hepatic lipase gene promoter on high-density lipoprotein metabolism: evidence of a strong dose effect in this gene-nutrient interaction in the Framingham Study. *Circulation.* 2002 Oct 29;106(18):2315-21.

250. Le NA, Walter MF. The role of hypertriglyceridemia in atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep.* 2007 Aug;9(2):110-5.

251. Kisfali P, Polgar N, Safrany E, Sumegi K, Melegh BI, Bene J, et al. Triglyceride level affecting shared susceptibility genes in metabolic syndrome and coronary artery disease. *Curr Med Chem.* 2010;17(30):3533-41.

252. Tai ES, Corella D, Demissie S, Cupples LA, Coltell O, Schaefer EJ, et al. Polyunsaturated fatty acids interact with the PPARA-L162V polymorphism to affect plasma triglyceride and apolipoprotein C-III concentrations in the Framingham Heart Study. *J Nutr.* 2005 Mar;135(3):397-403.

253. Lai CQ, Corella D, Demissie S, Cupples LA, Adiconis X, Zhu Y, et al. Dietary intake of n-6 fatty acids modulates effect of apolipoprotein A5 gene on plasma fasting triglycerides, remnant lipoprotein concentrations, and lipoprotein particle size: the Framingham Heart Study. *Circulation.* 2006 May 2;113(17):2062-70.

254. Sanchez-Moreno C, Ordovas JM, Smith CE, Baraza JC, Lee YC, Garaulet M. APOA5 gene variation interacts with dietary fat intake to modulate obesity and circulating triglycerides in a Mediterranean population. *J Nutr.* 2011 Mar;141(3):380-5.

255. Ferguson JF, Phillips CM, McMonagle J, Perez-Martinez P, Shaw DI, Lovegrove JA, et al. NOS3 gene polymorphisms are associated with risk markers of

cardiovascular disease, and interact with omega-3 polyunsaturated fatty acids. *Atherosclerosis*. 2010 Aug;211(2):539-44.

256. Horikawa Y, Oda N, Cox NJ, Li X, Orho-Melander M, Hara M, et al. Genetic variation in the gene encoding calpain-10 is associated with type 2 diabetes mellitus. *Nat Genet*. 2000 Oct;26(2):163-75.

257. Saez ME, Gonzalez-Sanchez JL, Ramirez-Lorca R, Martinez-Larrad MT, Zabena C, Gonzalez A, et al. The CAPN10 gene is associated with insulin resistance phenotypes in the Spanish population. *PLoS One*. 2008;3(8):e2953.

258. Florez JC, Jablonski KA, Bayley N, Pollin TI, de Bakker PI, Shuldiner AR, et al. TCF7L2 polymorphisms and progression to diabetes in the Diabetes Prevention Program. *N Engl J Med*. 2006 Jul 20;355(3):241-50.

259. Grant SF, Thorleifsson G, Reynisdottir I, Benediktsson R, Manolescu A, Sainz J, et al. Variant of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene confers risk of type 2 diabetes. *Nat Genet*. 2006 Mar;38(3):320-3.

260. Gonzalez-Sanchez JL, Martinez-Larrad MT, Zabena C, Perez-Barba M, Serrano-Rios M. Association of variants of the TCF7L2 gene with increases in the risk of type 2 diabetes and the proinsulin:insulin ratio in the Spanish population. *Diabetologia*. 2008 Nov;51(11):1993-7.

261. Chandak GR, Janipalli CS, Bhaskar S, Kulkarni SR, Mohankrishna P, Hattersley AT, et al. Common variants in the TCF7L2 gene are strongly associated with type 2 diabetes mellitus in the Indian population. *Diabetologia*. 2007 Jan;50(1):63-7.

262. Wang J, Kuusisto J, Vanttinen M, Kuulasmaa T, Lindstrom J, Tuomilehto J, et al. Variants of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene predict conversion to type 2 diabetes in the Finnish Diabetes Prevention Study and are associated with impaired

glucose regulation and impaired insulin secretion. *Diabetologia*. 2007 Jun;50(6):1192-200.

263. Dabelea D, Dolan LM, D'Agostino R, Jr., Hernandez AM, McAteer JB, Hamman RF, et al. Association testing of TCF7L2 polymorphisms with type 2 diabetes in multi-ethnic youth. *Diabetologia*. 2011 Mar;54(3):535-9.

264. Pang DX, Smith AJ, Humphries SE. Functional analysis of TCF7L2 genetic variants associated with type 2 diabetes. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2013 Jun;23(6):550-6.

265. Zhang BC, Li WM, Zhu MY, Xu YW. Association of TCF7L2 gene polymorphisms with type 2 diabetes mellitus in Han Chinese population: a meta-analysis. *Gene*. 2013 Jan 1;512(1):76-81.

266. Giannini C, Dalla Man C, Groop L, Cobelli C, Zhao H, Shaw MM, et al. Co-occurrence of risk alleles in or near genes modulating insulin secretion predisposes obese youth to prediabetes. *Diabetes Care*. 2014 Feb;37(2):475-82.

267. Wang J, Hu F, Feng T, Zhao J, Yin L, Li L, et al. Meta-analysis of associations between TCF7L2 polymorphisms and risk of type 2 diabetes mellitus in the Chinese population. *BMC Med Genet*. 2013;14:8.

268. Phillips CM, Goumidi L, Bertrais S, Field MR, McManus R, Hercberg S, et al. Dietary saturated fat, gender and genetic variation at the TCF7L2 locus predict the development of metabolic syndrome. *J Nutr Biochem*. 2012 Mar;23(3):239-44.

269. Fisher E, Schreiber S, Joost HG, Boeing H, Doring F. A two-step association study identifies CAV2 rs2270188 single nucleotide polymorphism interaction with fat intake in type 2 diabetes risk. *J Nutr*. 2011 Feb;141(2):177-81.

270. Ortega-Azorin C, Sorli JV, Asensio EM, Coltell O, Martinez-Gonzalez MA, Salas-Salvado J, et al. Associations of the FTO rs9939609 and the MC4R rs17782313

polymorphisms with type 2 diabetes are modulated by diet, being higher when adherence to the Mediterranean diet pattern is low. *Cardiovasc Diabetol*. 2012;11:137.

271. Salas-Salvado J, Bullo M, Babio N, Martinez-Gonzalez MA, Ibarrola-Jurado N, Basora J, et al. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with the Mediterranean diet: results of the PREDIMED-Reus nutrition intervention randomized trial. *Diabetes Care*. 2011 Jan;34(1):14-9.

272. Rocha VZ, Folco EJ. Inflammatory concepts of obesity. *Int J Inflam*. 2011;2011:529061.

273. Dalziel B, Gosby AK, Richman RM, Bryson JM, Caterson ID. Association of the TNF-alpha -308 G/A promoter polymorphism with insulin resistance in obesity. *Obes Res*. 2002 May;10(5):401-7.

274. Huth C, Heid IM, Vollmert C, Gieger C, Grallert H, Wolford JK, et al. IL6 gene promoter polymorphisms and type 2 diabetes: joint analysis of individual participants' data from 21 studies. *Diabetes*. 2006 Oct;55(10):2915-21.

275. Phillips CM, Goumidi L, Bertrais S, Ferguson JF, Field MR, Kelly ED, et al. Additive effect of polymorphisms in the IL-6, LTA, and TNF- α genes and plasma fatty acid level modulate risk for the metabolic syndrome and its components. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010 Mar;95(3):1386-94.

276. Engstrom G, Hedblad B, Eriksson KF, Janzon L, Lindgarde F. Complement C3 is a risk factor for the development of diabetes: a population-based cohort study. *Diabetes*. 2005 Feb;54(2):570-5.

277. Sheng T, Yang K. Adiponectin and its association with insulin resistance and type 2 diabetes. *J Genet Genomics*. 2008 Jun;35(6):321-6.

278. Phillips CM, Goumidi L, Bertrais S, Field MR, Ordovas JM, Cupples LA, et al. Leptin receptor polymorphisms interact with polyunsaturated fatty acids to augment risk of insulin resistance and metabolic syndrome in adults. *J Nutr.* 2010 Feb;140(2):238-44.
279. Perez-Martinez P, Lopez-Miranda J, Cruz-Teno C, Delgado-Lista J, Jimenez-Gomez Y, Fernandez JM, et al. Adiponectin gene variants are associated with insulin sensitivity in response to dietary fat consumption in Caucasian men. *J Nutr.* 2008 Sep;138(9):1609-14.
280. Warodomwichit D, Shen J, Arnett DK, Tsai MY, Kabagambe EK, Peacock JM, et al. ADIPOQ polymorphisms, monounsaturated fatty acids, and obesity risk: the GOLDN study. *Obesity (Silver Spring).* 2009 Mar;17(3):510-7.
281. Lutsey PL, Steffen LM, Stevens J. Dietary intake and the development of the metabolic syndrome: the Atherosclerosis Risk in Communities study. *Circulation.* 2008 Feb 12;117(6):754-61.
282. Perez-Martinez P, Garcia-Rios A, Delgado-Lista J, Perez-Jimenez F, Lopez-Miranda J. Metabolic syndrome: evidences for a personalized nutrition. *Mol Nutr Food Res.* 2012 Jan;56(1):67-76.
283. Djousse L, Gaziano JM, Buring JE, Lee IM. Dietary omega-3 fatty acids and fish consumption and risk of type 2 diabetes. *Am J Clin Nutr.* 2011 Jan;93(1):143-50.
284. Menzaghi C, Trischitta V, Doria A. Genetic influences of adiponectin on insulin resistance, type 2 diabetes, and cardiovascular disease. *Diabetes.* 2007 May;56(5):1198-209.
285. Carlsson E, Fredriksson J, Groop L, Ridderstrale M. Variation in the calpain-10 gene is associated with elevated triglyceride levels and reduced adipose tissue messenger ribonucleic acid expression in obese Swedish subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004 Jul;89(7):3601-5.

286. Shima Y, Nakanishi K, Odawara M, Kobayashi T, Ohta H. Association of the SNP-19 genotype 22 in the calpain-10 gene with elevated body mass index and hemoglobin A1c levels in Japanese. *Clin Chim Acta*. 2003 Oct;336(1-2):89-96.
287. Garant MJ, Kao WH, Brancati F, Coresh J, Rami TM, Hanis CL, et al. SNP43 of CAPN10 and the risk of type 2 Diabetes in African-Americans: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Diabetes*. 2002 Jan;51(1):231-7.
288. Perez-Martinez P, Corella D, Shen J, Arnett DK, Yiannakouris N, Tai ES, et al. Association between glucokinase regulatory protein (GCKR) and apolipoprotein A5 (APOA5) gene polymorphisms and triacylglycerol concentrations in fasting, postprandial, and fenofibrate-treated states. *Am J Clin Nutr*. 2009 Jan;89(1):391-9.
289. Orho-Melander M, Melander O, Guiducci C, Perez-Martinez P, Corella D, Roos C, et al. Common missense variant in the glucokinase regulatory protein gene is associated with increased plasma triglyceride and C-reactive protein but lower fasting glucose concentrations. *Diabetes*. 2008 Nov;57(11):3112-21.
290. Delgado-Lista J, Perez-Martinez P, Garcia-Rios A, Phillips CM, Williams CM, Gulseth HL, et al. Pleiotropic effects of TCF7L2 gene variants and its modulation in the metabolic syndrome: from the LIPGENE study. *Atherosclerosis*. 2011 Jan;214(1):110-6.
291. Garaulet M, Lee YC, Shen J, Parnell LD, Arnett DK, Tsai MY, et al. CLOCK genetic variation and metabolic syndrome risk: modulation by monounsaturated fatty acids. *Am J Clin Nutr*. 2009 Dec;90(6):1466-75.
292. Miyaki K, Oo T, Song Y, Lwin H, Tomita Y, Hoshino H, et al. Association of a cyclin-dependent kinase 5 regulatory subunit-associated protein 1-like 1 (CDKAL1) polymorphism with elevated hemoglobin A(1)(c) levels and the prevalence of metabolic

syndrome in Japanese men: interaction with dietary energy intake. *Am J Epidemiol.* 2010 Nov 1;172(9):985-91.

293. Robitaille J, Gaudet D, Perusse L, Vohl MC. Features of the metabolic syndrome are modulated by an interaction between the peroxisome proliferator-activated receptor-delta -87T>C polymorphism and dietary fat in French-Canadians. *Int J Obes (Lond).* 2007 Mar;31(3):411-7.

294. Phillips CM, Goumidi L, Bertrais S, Field MR, Cupples LA, Ordovas JM, et al. ACC2 gene polymorphisms, metabolic syndrome, and gene-nutrient interactions with dietary fat. *J Lipid Res.* 2010 Dec;51(12):3500-7.

295. Delgado-Lista J, Perez-Jimenez F, Ruano J, Perez-Martinez P, Fuentes F, Criado-Garcia J, et al. Effects of variations in the APOA1/C3/A4/A5 gene cluster on different parameters of postprandial lipid metabolism in healthy young men. *J Lipid Res.* 2010 Jan;51(1):63-73.

296. Phillips CM, Goumidi L, Bertrais S, Ferguson JF, Field MR, Kelly ED, et al. Complement component 3 polymorphisms interact with polyunsaturated fatty acids to modulate risk of metabolic syndrome. *Am J Clin Nutr.* 2009 Dec;90(6):1665-73.

297. Phillips CM, Goumidi L, Bertrais S, Field MR, Cupples LA, Ordovas JM, et al. Gene-nutrient interactions with dietary fat modulate the association between genetic variation of the ACSL1 gene and metabolic syndrome. *J Lipid Res.* 2010 Jul;51(7):1793-800.

298. Gomez-Abellan P, Madrid JA, Ordovas JM, Garaulet M. [Chronobiological aspects of obesity and metabolic syndrome]. *Endocrinol Nutr.* 2012 Jan;59(1):50-61.

299. Maury E, Hong HK, Bass J. Circadian disruption in the pathogenesis of metabolic syndrome. *Diabetes Metab.* 2014 Jan 14.

300. Kohsaka A, Bass J. A sense of time: how molecular clocks organize metabolism. *Trends Endocrinol Metab.* 2007 Jan-Feb;18(1):4-11.
301. Garaulet M, Hernandez-Morante JJ, de Heredia FP, Tebar FJ. Adiponectin, the controversial hormone. *Public Health Nutr.* 2007 Oct;10(10A):1145-50.
302. Gomez Abellan P, Gomez Santos C, Madrid JA, Milagro FI, Campion J, Martinez JA, et al. Site-specific circadian expression of leptin and its receptor in human adipose tissue. *Nutr Hosp.* 2011 Nov-Dec;26(6):1394-401.
303. Gomez-Abellan P, Hernandez-Morante JJ, Lujan JA, Madrid JA, Garaulet M. Clock genes are implicated in the human metabolic syndrome. *Int J Obes (Lond).* 2008 Jan;32(1):121-8.
304. Hernandez-Morante JJ, Gomez-Santos C, Milagro F, Campion J, Martinez JA, Zamora S, et al. Expression of cortisol metabolism-related genes shows circadian rhythmic patterns in human adipose tissue. *Int J Obes (Lond).* 2009 Apr;33(4):473-80.
305. Gomez-Santos C, Gomez-Abellan P, Madrid JA, Hernandez-Morante JJ, Lujan JA, Ordovas JM, et al. Circadian rhythm of clock genes in human adipose explants. *Obesity (Silver Spring).* 2009 Aug;17(8):1481-5.
306. Turner PL, Van Someren EJ, Mainster MA. The role of environmental light in sleep and health: effects of ocular aging and cataract surgery. *Sleep Med Rev.* 2010 Aug;14(4):269-80.
307. Korkmaz A, Topal T, Tan DX, Reiter RJ. Role of melatonin in metabolic regulation. *Rev Endocr Metab Disord.* 2009 Dec;10(4):261-70.
308. Sartori C, Dessen P, Mathieu C, Monney A, Bloch J, Nicod P, et al. Melatonin improves glucose homeostasis and endothelial vascular function in high-fat diet-fed insulin-resistant mice. *Endocrinology.* 2009 Dec;150(12):5311-7.

309. Croce N, Bracci M, Ceccarelli G, Barbadoro P, Prospero E, Santarellia L. [Body mass index in shift workers: relation to diet and physical activity]. *G Ital Med Lav Ergon*. 2007 Jul-Sep;29(3 Suppl):488-9.
310. Suwazono Y, Dochi M, Sakata K, Okubo Y, Oishi M, Tanaka K, et al. A longitudinal study on the effect of shift work on weight gain in male Japanese workers. *Obesity (Silver Spring)*. 2008 Aug;16(8):1887-93.
311. Karlsson B, Knutsson A, Lindahl B. Is there an association between shift work and having a metabolic syndrome? Results from a population based study of 27,485 people. *Occup Environ Med*. 2001 Nov;58(11):747-52.
312. Scheer FA, Hilton MF, Mantzoros CS, Shea SA. Adverse metabolic and cardiovascular consequences of circadian misalignment. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Mar 17;106(11):4453-8.
313. Lund J, Arendt J, Hampton SM, English J, Morgan LM. Postprandial hormone and metabolic responses amongst shift workers in Antarctica. *J Endocrinol*. 2001 Dec;171(3):557-64.
314. Garaulet M, Gomez-Abellan P, Alburquerque-Bejar JJ, Lee YC, Ordovas JM, Scheer FA. Timing of food intake predicts weight loss effectiveness. *Int J Obes (Lond)*. 2013 Apr;37(4):604-11.
315. Janszky I, Ljung R. Shifts to and from daylight saving time and incidence of myocardial infarction. *N Engl J Med*. 2008 Oct 30;359(18):1966-8.
316. Durgan DJ, Young ME. The cardiomyocyte circadian clock: emerging roles in health and disease. *Circ Res*. 2010 Mar 5;106(4):647-58.
317. Hermida RC, Ayala DE, Mojon A, Fernandez JR. Blunted sleep-time relative blood pressure decline increases cardiovascular risk independent of blood pressure level--the "normotensive non-dipper" paradox. *Chronobiol Int*. 2013 Mar;30(1-2):87-98.

318. Liu W, Yue H, Zhang J, Pu J, Yu Q. Effects of plasma ghrelin, obestatin, and ghrelin/obestatin ratio on blood pressure circadian rhythms in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Chin Med J (Engl)*. 2014 Mar;127(5):850-5.
319. Garaulet M, Madrid JA. Chronobiology, genetics and metabolic syndrome. *Curr Opin Lipidol*. 2009 Apr;20(2):127-34.
320. Rutter J, Reick M, McKnight SL. Metabolism and the control of circadian rhythms. *Annu Rev Biochem*. 2002;71:307-31.
321. Turek FW, Joshu C, Kohsaka A, Lin E, Ivanova G, McDearmon E, et al. Obesity and metabolic syndrome in circadian Clock mutant mice. *Science*. 2005 May 13;308(5724):1043-5.
322. Rudic RD, McNamara P, Curtis AM, Boston RC, Panda S, Hogenesch JB, et al. BMAL1 and CLOCK, two essential components of the circadian clock, are involved in glucose homeostasis. *PLoS Biol*. 2004 Nov;2(11):e377.
323. Prasai MJ, Mughal RS, Wheatcroft SB, Kearney MT, Grant PJ, Scott EM. Diurnal variation in vascular and metabolic function in diet-induced obesity: divergence of insulin resistance and loss of clock rhythm. *Diabetes*. 2013 Jun;62(6):1981-9.
324. Paschos GK, Ibrahim S, Song WL, Kunieda T, Grant G, Reyes TM, et al. Obesity in mice with adipocyte-specific deletion of clock component Arntl. *Nat Med*. 2012 Dec;18(12):1768-77.
325. Shostak A, Meyer-Kovac J, Oster H. Circadian regulation of lipid mobilization in white adipose tissues. *Diabetes*. 2013 Jul;62(7):2195-203.
326. Hussain MM, Pan X. Clock regulation of dietary lipid absorption. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2012 Jul;15(4):336-41.
327. Pan X, Zhang Y, Wang L, Hussain MM. Diurnal regulation of MTP and plasma triglyceride by CLOCK is mediated by SHP. *Cell Metab*. 2010 Aug 4;12(2):174-86.

328. Feng D, Liu T, Sun Z, Bugge A, Mullican SE, Alenghat T, et al. A circadian rhythm orchestrated by histone deacetylase 3 controls hepatic lipid metabolism. *Science*. 2011 Mar 11;331(6022):1315-9.
329. Pan X, Hussain MM. Clock is important for food and circadian regulation of macronutrient absorption in mice. *J Lipid Res*. 2009 Sep;50(9):1800-13.
330. Lamia KA, Storch KF, Weitz CJ. Physiological significance of a peripheral tissue circadian clock. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008 Sep 30;105(39):15172-7.
331. Marcheva B, Ramsey KM, Buhr ED, Kobayashi Y, Su H, Ko CH, et al. Disruption of the clock components CLOCK and BMAL1 leads to hypoinsulinaemia and diabetes. *Nature*. 2010 Jul 29;466(7306):627-31.
332. Milagro FI, Gomez-Abellan P, Campion J, Martinez JA, Ordovas JM, Garaulet M. CLOCK, PER2 and BMAL1 DNA methylation: association with obesity and metabolic syndrome characteristics and monounsaturated fat intake. *Chronobiol Int*. 2012 Nov;29(9):1180-94.
333. Scott EM, Carter AM, Grant PJ. Association between polymorphisms in the Clock gene, obesity and the metabolic syndrome in man. *Int J Obes (Lond)*. 2008 Apr;32(4):658-62.
334. Garaulet M, Sanchez-Moreno C, Smith CE, Lee YC, Nicolas F, Ordovas JM. Ghrelin, sleep reduction and evening preference: relationships to CLOCK 3111 T/C SNP and weight loss. *PLoS One*. 2011;6(2):e17435.
335. Corbalan-Tutau D, Madrid JA, Nicolas F, Garaulet M. Daily profile in two circadian markers "melatonin and cortisol" and associations with metabolic syndrome components. *Physiol Behav*. 2014 Jan 17;123:231-5.
336. Garcia-Rios A, Perez-Martinez P, Delgado-Lista J, Phillips CM, Gjelstad IM, Wright JW, et al. A Period 2 genetic variant interacts with plasma SFA to modify

plasma lipid concentrations in adults with metabolic syndrome. *J Nutr.* 2012 Jul;142(7):1213-8.

337. Dupuis J, Langenberg C, Prokopenko I, Saxena R, Soranzo N, Jackson AU, et al. New genetic loci implicated in fasting glucose homeostasis and their impact on type 2 diabetes risk. *Nat Genet.* 2010 Feb;42(2):105-16.

338. Englund A, Kovanen L, Saarikoski ST, Haukka J, Reunanen A, Aromaa A, et al. NPAS2 and PER2 are linked to risk factors of the metabolic syndrome. *J Circadian Rhythms.* 2009;7:5.

339. Mottillo S, Filion KB, Genest J, Joseph L, Pilote L, Poirier P, et al. The metabolic syndrome and cardiovascular risk a systematic review and meta-analysis. *J Am Coll Cardiol.* 2010 Sep 28;56(14):1113-32.

340. Lerman A, Zeiher AM. Endothelial function: cardiac events. *Circulation.* 2005 Jan 25;111(3):363-8.

341. Ceriello A, Motz E. Is oxidative stress the pathogenic mechanism underlying insulin resistance, diabetes, and cardiovascular disease? The common soil hypothesis revisited. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004 May;24(5):816-23.

342. Klop B, Proctor SD, Mamo JC, Botham KM, Castro Cabezas M. Understanding postprandial inflammation and its relationship to lifestyle behaviour and metabolic diseases. *Int J Vasc Med.* 2012;2012:947417.

343. Lopez-Miranda J, Williams C, Lairon D. Dietary, physiological, genetic and pathological influences on postprandial lipid metabolism. *Br J Nutr.* 2007 Sep;98(3):458-73.

344. 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 May;141(5):816-21.

345. Cohn JS. Postprandial lipemia and remnant lipoproteins. *Clin Lab Med.* 2006 Dec;26(4):773-86.

346. Kolovou GD, Mikhailidis DP, Kovar J, Lairon D, Nordestgaard BG, Ooi TC, et al. Assessment and clinical relevance of non-fasting and postprandial triglycerides: an expert panel statement. *Curr Vasc Pharmacol.* 2011 May;9(3):258-70.

347. Nordestgaard BG, Benn M, Schnohr P, Tybjaerg-Hansen A. Nonfasting triglycerides and risk of myocardial infarction, ischemic heart disease, and death in men and women. *JAMA.* 2007 Jul 18;298(3):299-308.

348. Bansal S, Buring JE, Rifai N, Mora S, Sacks FM, Ridker PM. Fasting compared with nonfasting triglycerides and risk of cardiovascular events in women. *JAMA.* 2007 Jul 18;298(3):309-16.

349. Mora S, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. Fasting compared with nonfasting lipids and apolipoproteins for predicting incident cardiovascular events. *Circulation.* 2008 Sep 2;118(10):993-1001.

350. Varbo A, Nordestgaard BG, Tybjaerg-Hansen A, Schnohr P, Jensen GB, Benn M. Nonfasting triglycerides, cholesterol, and ischemic stroke in the general population. *Ann Neurol.* 2011 Apr;69(4):628-34.

351. Langsted A, Freiberg JJ, Nordestgaard BG. Fasting and nonfasting lipid levels: influence of normal food intake on lipids, lipoproteins, apolipoproteins, and cardiovascular risk prediction. *Circulation.* 2008 Nov 11;118(20):2047-56.

352. Jimenez-Gomez Y, Marin C, Peerez-Martinez P, Hartwich J, Malczewska-Malec M, Golabek I, et al. A low-fat, high-complex carbohydrate diet supplemented with long-

chain (n-3) fatty acids alters the postprandial lipoprotein profile in patients with metabolic syndrome. *J Nutr.* 2010 Sep;140(9):1595-601.

353. Jackson KG, Walden CM, Murray P, Smith AM, Lovegrove JA, Minihane AM, et al. A sequential two meal challenge reveals abnormalities in postprandial TAG but not glucose in men with increasing numbers of metabolic syndrome components. *Atherosclerosis.* 2012 Jan;220(1):237-43.

354. Delgado-Lista J, Lopez-Miranda J, Cortes B, Perez-Martinez P, Lozano A, Gomez-Luna R, et al. Chronic dietary fat intake modifies the postprandial response of hemostatic markers to a single fatty test meal. *Am J Clin Nutr.* 2008 Feb;87(2):317-22.

355. Perez-Martinez P, Lopez-Miranda J, Perez-Jimenez F, Ordovas JM. Influence of genetic factors in the modulation of postprandial lipemia. *Atheroscler Suppl.* 2008 Sep;9(2):49-55.

356. Perez-Martinez P, Delgado-Lista J, Perez-Jimenez F, Lopez-Miranda J. Update on genetics of postprandial lipemia. *Atheroscler Suppl.* 2010 Jun;11(1):39-43.

357. Moreno R, Perez-Jimenez F, Marin C, Moreno JA, Gomez P, Bellido C, et al. A single nucleotide polymorphism of the apolipoprotein A-V gene -1131T>C modulates postprandial lipoprotein metabolism. *Atherosclerosis.* 2006 Nov;189(1):163-8.

358. Moreno-Luna R, Perez-Jimenez F, Marin C, Perez-Martinez P, Gomez P, Jimenez-Gomez Y, et al. Two independent apolipoprotein A5 haplotypes modulate postprandial lipoprotein metabolism in a healthy Caucasian population. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007 Jun;92(6):2280-5.

359. Olano-Martin E, Abraham EC, Gill-Garrison R, Valdes AM, Grimaldi K, Tang F, et al. Influence of apoA-V gene variants on postprandial triglyceride metabolism: impact of gender. *J Lipid Res.* 2008 May;49(5):945-53.

360. Szalai C, Keszei M, Duba J, Prohaszka Z, Kozma GT, Csaszar A, et al. Polymorphism in the promoter region of the apolipoprotein A5 gene is associated with an increased susceptibility for coronary artery disease. *Atherosclerosis*. 2004 Mar;173(1):109-14.
361. Lopez-Miranda J, Ordovas JM, Espino A, Marin C, Salas J, Lopez-Segura F, et al. Influence of mutation in human apolipoprotein A-1 gene promoter on plasma LDL cholesterol response to dietary fat. *Lancet*. 1994 May 21;343(8908):1246-9.
362. Jansen S, Lopez-Miranda J, Salas J, Ordovas JM, Castro P, Marin C, et al. Effect of 347-serine mutation in apoprotein A-IV on plasma LDL cholesterol response to dietary fat. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997 Aug;17(8):1532-8.
363. Lopez-Miranda J, Cruz G, Gomez P, Marin C, Paz E, Perez-Martinez P, et al. The influence of lipoprotein lipase gene variation on postprandial lipoprotein metabolism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004 Sep;89(9):4721-8.
364. Thorn JA, Chamberlain JC, Alcolado JC, Oka K, Chan L, Stocks J, et al. Lipoprotein and hepatic lipase gene variants in coronary atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 1990 Nov;85(1):55-60.
365. Humphries SE, Nicaud V, Margalef J, Tiret L, Talmud PJ. Lipoprotein lipase gene variation is associated with a paternal history of premature coronary artery disease and fasting and postprandial plasma triglycerides: the European Atherosclerosis Research Study (EARS). *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1998 Apr;18(4):526-34.
366. Garcia-Rios A, Delgado-Lista J, Perez-Martinez P, Phillips CM, Ferguson JF, Gjelstad IM, et al. Genetic variations at the lipoprotein lipase gene influence plasma lipid concentrations and interact with plasma n-6 polyunsaturated fatty acids to modulate lipid metabolism. *Atherosclerosis*. 2011 Oct;218(2):416-22.

367. Warodomwichit D, Arnett DK, Kabagambe EK, Tsai MY, Hixson JE, Straka RJ, et al. Polyunsaturated fatty acids modulate the effect of TCF7L2 gene variants on postprandial lipemia. *J Nutr.* 2009 Mar;139(3):439-46.
368. Perez-Martinez P, Garcia-Rios A, Delgado-Lista J, Delgado-Casado N, Malagon MM, Marin C, et al. A variant near the melanocortin-4 receptor gene regulates postprandial lipid metabolism in a healthy Caucasian population. *Br J Nutr.* 2011 Aug;106(4):468-71.
369. Fernandez-Ballart JD, Pinol JL, Zazpe I, Corella D, Carrasco P, Toledo E, et al. Relative validity of a semi-quantitative food-frequency questionnaire in an elderly Mediterranean population of Spain. *Br J Nutr.* 2010 Jun;103(12):1808-16.
370. Estruch R, Ros E, Salas-Salvado J, Covas MI, Corella D, Aros F, et al. Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet. *N Engl J Med.* 2013 Apr 4;368(14):1279-90.
371. Martinez-Gonzalez MA, Fernandez-Jarne E, Serrano-Martinez M, Marti A, Martinez JA, Martin-Moreno JM. Mediterranean diet and reduction in the risk of a first acute myocardial infarction: an operational healthy dietary score. *Eur J Nutr.* 2002 Aug;41(4):153-60.
372. Martinez-Gonzalez MA, Lopez-Fontana C, Varo JJ, Sanchez-Villegas A, Martinez JA. Validation of the Spanish version of the physical activity questionnaire used in the Nurses' Health Study and the Health Professionals' Follow-up Study. *Public Health Nutr.* 2005 Oct;8(7):920-7.
373. Vilagut G, Ferrer M, Rajmil L, Rebollo P, Permanyer-Miralda G, Quintana JM, et al. [The Spanish version of the Short Form 36 Health Survey: a decade of experience and new developments]. *Gac Sanit.* 2005 Mar-Apr;19(2):135-50.

374. Moreiras O CA, Cabrera L, Cuadrado C. Tablas de composición de alimentos (Food Composition Tables). . 16 ed. Madrid (Spain): Editorial Pirámide; 2013.
375. J M. Tabla de composición de alimentos (Food Composition Tables) 4ed. Granada (España) 2003.
376. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*. 1972 Jun;18(6):499-502.
377. Katz A, Nambi SS, Mather K, Baron AD, Follmann DA, Sullivan G, et al. Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000 Jul;85(7):2402-10.
378. Mihas C, Kolovou GD, Mikhailidis DP, Kovar J, Lairon D, Nordestgaard BG, et al. Diagnostic value of postprandial triglyceride testing in healthy subjects: a meta-analysis. *Curr Vasc Pharmacol*. 2011 May;9(3):271-80.
379. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*. 1988 Feb 11;16(3):1215.
380. Gupta V, Gupta A, Jafar T, Agrawal S, Srivastava N, Kumar S, et al. Association of TNF-alpha promoter gene G-308A polymorphism with metabolic syndrome, insulin resistance, serum TNF-alpha and leptin levels in Indian adult women. *Cytokine*. 2012 Jan;57(1):32-6.
381. Tzanavari T, Giannogonas P, Karalis KP. TNF-alpha and obesity. *Curr Dir Autoimmun*. 2010;11:145-56.
382. Romeo GR, Lee J, Shoelson SE. Metabolic syndrome, insulin resistance, and roles of inflammation--mechanisms and therapeutic targets. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012 Aug;32(8):1771-6.

383. Babu BM, Reddy BP, Priya VH, Munshi A, Rani HS, Latha GS, et al. Cytokine gene polymorphisms in the susceptibility to acute coronary syndrome. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2012 May;16(5):359-65.
384. Garg PR, Saraswathy KN, Kalla AK, Sinha E, Ghosh PK. Pro-inflammatory cytokine gene polymorphisms and threat for coronary heart disease in a North Indian Agrawal population. *Gene*. 2013 Feb 1;514(1):69-74.
385. Ridker PM. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation*. 2003 Jan 28;107(3):363-9.
386. Boekholdt SM, Hack CE, Sandhu MS, Luben R, Bingham SA, Wareham NJ, et al. C-reactive protein levels and coronary artery disease incidence and mortality in apparently healthy men and women: the EPIC-Norfolk prospective population study 1993-2003. *Atherosclerosis*. 2006 Aug;187(2):415-22.
387. Ridker PM, Wilson PW, Grundy SM. Should C-reactive protein be added to metabolic syndrome and to assessment of global cardiovascular risk? *Circulation*. 2004 Jun 15;109(23):2818-25.
388. Scirica BM, Morrow DA. Is C-reactive protein an innocent bystander or proatherogenic culprit? The verdict is still out. *Circulation*. 2006 May 2;113(17):2128-34; discussion 51.
389. Ballantyne CM, Hoogeveen RC, Bang H, Coresh J, Folsom AR, Heiss G, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2, high-sensitivity C-reactive protein, and risk for incident coronary heart disease in middle-aged men and women in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Circulation*. 2004 Feb 24;109(7):837-42.
390. Koenig W, Lowel H, Baumert J, Meisinger C. C-reactive protein modulates risk prediction based on the Framingham Score: implications for future risk assessment:

results from a large cohort study in southern Germany. *Circulation*. 2004 Mar 23;109(11):1349-53.

391. Ridker PM. Rosuvastatin in the primary prevention of cardiovascular disease among patients with low levels of low-density lipoprotein cholesterol and elevated high-sensitivity C-reactive protein: rationale and design of the JUPITER trial. *Circulation*. 2003 Nov 11;108(19):2292-7.

392. Ridker PM, Fonseca FA, Genest J, Gotto AM, Kastelein JJ, Khurmi NS, et al. Baseline characteristics of participants in the JUPITER trial, a randomized placebo-controlled primary prevention trial of statin therapy among individuals with low low-density lipoprotein cholesterol and elevated high-sensitivity C-reactive protein. *Am J Cardiol*. 2007 Dec 1;100(11):1659-64.

393. Lindahl B, Toss H, Siegbahn A, Venge P, Wallentin L. Markers of myocardial damage and inflammation in relation to long-term mortality in unstable coronary artery disease. FRISC Study Group. Fragmin during Instability in Coronary Artery Disease. *N Engl J Med*. 2000 Oct 19;343(16):1139-47.

394. Sabatine MS, Morrow DA, de Lemos JA, Gibson CM, Murphy SA, Rifai N, et al. Multimarker approach to risk stratification in non-ST elevation acute coronary syndromes: simultaneous assessment of troponin I, C-reactive protein, and B-type natriuretic peptide. *Circulation*. 2002 Apr 16;105(15):1760-3.

395. Morrow DA, de Lemos JA, Sabatine MS, Wiviott SD, Blazing MA, Shui A, et al. Clinical relevance of C-reactive protein during follow-up of patients with acute coronary syndromes in the Aggrastat-to-Zocor Trial. *Circulation*. 2006 Jul 25;114(4):281-8.

396. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon RO, 3rd, Criqui M, et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and

public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation*. 2003 Jan 28;107(3):499-511.

397. Jeppesen J, Hein HO, Suadicani P, Gyntelberg F. Triglyceride concentration and ischemic heart disease: an eight-year follow-up in the Copenhagen Male Study. *Circulation*. 1998 Mar 24;97(11):1029-36.

398. Tirosh A, Rudich A, Shochat T, Tekes-Manova D, Israeli E, Henkin Y, et al. Changes in triglyceride levels and risk for coronary heart disease in young men. *Ann Intern Med*. 2007 Sep 18;147(6):377-85.

399. Di Angelantonio E, Sarwar N, Perry P, Kaptoge S, Ray KK, Thompson A, et al. Major lipids, apolipoproteins, and risk of vascular disease. *JAMA*. 2009 Nov 11;302(18):1993-2000.

400. Phillips C, Lopez-Miranda J, Perez-Jimenez F, McManus R, Roche HM. Genetic and nutrient determinants of the metabolic syndrome. *Curr Opin Cardiol*. 2006 May;21(3):185-93.

401. Vessby B. Dietary fat, fatty acid composition in plasma and the metabolic syndrome. *Curr Opin Lipidol*. 2003 Feb;14(1):15-9.

402. Kris-Etherton PM. AHA Science Advisory. Monounsaturated fatty acids and risk of cardiovascular disease. American Heart Association. Nutrition Committee. *Circulation*. 1999 Sep 14;100(11):1253-8.

403. Rumawas ME, Dwyer JT, McKeown NM, Meigs JB, Rogers G, Jacques PF. The development of the Mediterranean-style dietary pattern score and its application to the American diet in the Framingham Offspring Cohort. *J Nutr*. 2009 Jun;139(6):1150-6.

404. Vincent-Baudry S, Defoort C, Gerber M, Bernard MC, Verger P, Helal O, et al. The Medi-RIVAGE study: reduction of cardiovascular disease risk factors after a 3-mo

intervention with a Mediterranean-type diet or a low-fat diet. *Am J Clin Nutr.* 2005 Nov;82(5):964-71.

405. Tzima N, Pitsavos C, Panagiotakos DB, Chrysohoou C, Polychronopoulos E, Skoumas J, et al. Adherence to the Mediterranean diet moderates the association of aminotransferases with the prevalence of the metabolic syndrome; the ATTICA study. *Nutr Metab (Lond).* 2009;6:30.

406. Rumawas ME, Meigs JB, Dwyer JT, McKeown NM, Jacques PF. Mediterranean-style dietary pattern, reduced risk of metabolic syndrome traits, and incidence in the Framingham Offspring Cohort. *Am J Clin Nutr.* 2009 Dec;90(6):1608-14.

407. Viscogliosi G, Cipriani E, Liguori ML, Marigliano B, Saliola M, Ettore E, et al. Mediterranean dietary pattern adherence: associations with prediabetes, metabolic syndrome, and related microinflammation. *Metab Syndr Relat Disord.* 2013 Jun;11(3):210-6.

408. Barnea M, Madar Z, Froy O. High-fat diet delays and fasting advances the circadian expression of adiponectin signaling components in mouse liver. *Endocrinology.* 2009 Jan;150(1):161-8.

409. la Fleur SE, Kalsbeek A, Wortel J, Fekkes ML, Buijs RM. A daily rhythm in glucose tolerance: a role for the suprachiasmatic nucleus. *Diabetes.* 2001 Jun;50(6):1237-43.

410. Zhang EE, Liu Y, Dentin R, Pongsawakul PY, Liu AC, Hirota T, et al. Cryptochrome mediates circadian regulation of cAMP signaling and hepatic gluconeogenesis. *Nat Med.* 2010 Oct;16(10):1152-6.

411. Barnea M, Madar Z, Froy O. High-fat diet followed by fasting disrupts circadian expression of adiponectin signaling pathway in muscle and adipose tissue. *Obesity* (Silver Spring). 2010 Feb;18(2):230-8.
412. Lillioja S, Mott DM, Howard BV, Bennett PH, Yki-Jarvinen H, Freymond D, et al. Impaired glucose tolerance as a disorder of insulin action. Longitudinal and cross-sectional studies in Pima Indians. *N Engl J Med*. 1988 May 12;318(19):1217-25.
413. Sookoian S, Gemma C, Gianotti TF, Burgueno A, Castano G, Pirola CJ. Genetic variants of Clock transcription factor are associated with individual susceptibility to obesity. *Am J Clin Nutr*. 2008 Jun;87(6):1606-15.
414. Galbete C, Contreras R, Martinez JA, Martinez-Gonzalez MA, Guillen-Grima F, Marti A. Physical activity and sex modulate obesity risk linked to 3111T/C gene variant of the CLOCK gene in an elderly population: the SUN Project. *Chronobiol Int*. 2012 Dec;29(10):1397-404.
415. Garaulet M, Corbalan MD, Madrid JA, Morales E, Baraza JC, Lee YC, et al. CLOCK gene is implicated in weight reduction in obese patients participating in a dietary programme based on the Mediterranean diet. *Int J Obes (Lond)*. 2010 Mar;34(3):516-23.
416. Garaulet M, Esteban Tardido A, Lee YC, Smith CE, Parnell LD, Ordovas JM. SIRT1 and CLOCK 3111T> C combined genotype is associated with evening preference and weight loss resistance in a behavioral therapy treatment for obesity. *Int J Obes (Lond)*. 2012 Nov;36(11):1436-41.
417. Damiola F, Le Minh N, Preitner N, Kornmann B, Fleury-Olela F, Schibler U. Restricted feeding uncouples circadian oscillators in peripheral tissues from the central pacemaker in the suprachiasmatic nucleus. *Genes Dev*. 2000 Dec 1;14(23):2950-61.

418. Stokkan KA, Yamazaki S, Tei H, Sakaki Y, Menaker M. Entrainment of the circadian clock in the liver by feeding. *Science*. 2001 Jan 19;291(5503):490-3.
419. Ramsey KM, Marcheva B, Kohsaka A, Bass J. The clockwork of metabolism. *Annu Rev Nutr*. 2007;27:219-40.
420. Ponting CP, Aravind L. PAS: a multifunctional domain family comes to light. *Curr Biol*. 1997 Nov 1;7(11):R674-7.
421. Gilles-Gonzalez MA, Gonzalez G. Signal transduction by heme-containing PAS-domain proteins. *J Appl Physiol* (1985). 2004 Feb;96(2):774-83.
422. Kewley RJ, Whitelaw ML, Chapman-Smith A. The mammalian basic helix-loop-helix/PAS family of transcriptional regulators. *Int J Biochem Cell Biol*. 2004 Feb;36(2):189-204.
423. Delezie J, Dumont S, Dardente H, Oudart H, Grechez-Cassiau A, Klosen P, et al. The nuclear receptor REV-ERB α is required for the daily balance of carbohydrate and lipid metabolism. *FASEB J*. 2012 Aug;26(8):3321-35.
424. Duez H, Staels B. The nuclear receptors Rev-erbs and RORs integrate circadian rhythms and metabolism. *Diab Vasc Dis Res*. 2008 Jun;5(2):82-8.
425. Shi SQ, Ansari TS, McGuinness OP, Wasserman DH, Johnson CH. Circadian disruption leads to insulin resistance and obesity. *Curr Biol*. 2013 Mar 4;23(5):372-81.
426. Rosenson RS, Brewer HB, Jr., Davidson WS, Fayad ZA, Fuster V, Goldstein J, et al. Cholesterol efflux and atheroprotection: advancing the concept of reverse cholesterol transport. *Circulation*. 2012 Apr 17;125(15):1905-19.
427. Rosenson RS, Brewer HB, Jr., Chapman MJ, Fazio S, Hussain MM, Kontush A, et al. HDL measures, particle heterogeneity, proposed nomenclature, and relation to atherosclerotic cardiovascular events. *Clin Chem*. 2011 Mar;57(3):392-410.

428. Mazer NA, Giulianini F, Paynter NP, Jordan P, Mora S. A comparison of the theoretical relationship between HDL size and the ratio of HDL cholesterol to apolipoprotein A-I with experimental results from the Women's Health Study. *Clin Chem*. 2013 Jun;59(6):949-58.
429. Miller NE. Associations of high-density lipoprotein subclasses and apolipoproteins with ischemic heart disease and coronary atherosclerosis. *Am Heart J*. 1987 Feb;113(2 Pt 2):589-97.
430. Mora S, Otvos JD, Rifai N, Rosenson RS, Buring JE, Ridker PM. Lipoprotein particle profiles by nuclear magnetic resonance compared with standard lipids and apolipoproteins in predicting incident cardiovascular disease in women. *Circulation*. 2009 Feb 24;119(7):931-9.
431. Arsenault BJ, Lemieux I, Despres JP, Wareham NJ, Stroes ES, Kastelein JJ, et al. Comparison between gradient gel electrophoresis and nuclear magnetic resonance spectroscopy in estimating coronary heart disease risk associated with LDL and HDL particle size. *Clin Chem*. 2010 May;56(5):789-98.
432. Davis NJ, Crandall JP, Gajavelli S, Berman JW, Tomuta N, Wylie-Rosett J, et al. Differential effects of low-carbohydrate and low-fat diets on inflammation and endothelial function in diabetes. *J Diabetes Complications*. 2011 Nov-Dec;25(6):371-6.
433. Zemel MB, Sun X, Sobhani T, Wilson B. Effects of dairy compared with soy on oxidative and inflammatory stress in overweight and obese subjects. *Am J Clin Nutr*. 2010 Jan;91(1):16-22.
434. van Meijl LE, Mensink RP. Effects of low-fat dairy consumption on markers of low-grade systemic inflammation and endothelial function in overweight and obese subjects: an intervention study. *Br J Nutr*. 2010 Nov;104(10):1523-7.

435. Perez-Martinez P, Garcia-Rios A, Delgado-Lista J, Perez-Jimenez F, Lopez-Miranda J. Nutrigenetics of the postprandial lipoprotein metabolism: evidences from human intervention studies. *Curr Vasc Pharmacol*. 2011 May;9(3):287-91.
436. Zilversmit DB. Atherogenesis: a postprandial phenomenon. *Circulation*. 1979 Sep;60(3):473-85.

XI. PRODUCCIÓN CIENTÍFICA

1. Presentaciones a congresos

Core 2. Epidemiology and Prevention of CV Disease: Physiology, Pharmacology and Lifestyle

Session Title: Cardiometabolic Effects of Popular Diets

Abstract 12917: Polymorphism at the Tnf-alpha Gene Promoter Interacts with Mediterranean Diet to Influence Triglyceride Metabolism and Inflammation Status in Metabolic Syndrome Patients: From the Cordioprev Clinical Trial

Francisco Gómez Delgado; Antonio García Ríos; Francisco Javier Delgado Lista; Oriol Rangel Zuñiga; Ana Ortiz Morales; Juan Francisco Alcalá Díaz; José López Miranda; Pablo Pérez Martínez

Lipid and Atherosclerosis Unit, Lipid and Atherosclerosis Unit. IMIBIC/Reina Sofia Univ Hosp/Univ of Cordoba, Córdoba, Spain

Several polymorphic sites have been studied for their potential use as risk markers for T2DM (type 2 diabetes mellitus) and MetS (metabolic syndrome). In this regard, *TNF-alpha* is a proinflammatory cytokine involved in the regulation of

Hypothesis and methods: our aim was to examine whether the chronic consumption of a MedDiet (Mediterranean diet) enriched in olive oil (35% fat: 22% monounsaturated; 6% polyunsaturated; 7% saturated) compared with a low fat diet (28% fat: 12% monounsaturated; 8% polyunsaturated; 8% saturated) interacts with two candidate SNPs at the *TNF-alpha* gene promoter in order to improve triglyceride metabolism and inflammation markers. Two polymorphisms (rs1800629, rs1799964) at the *TNF-alpha* gene, biochemical measurements, dietary intervention and a fat load test were determined among 581 MetS patients from CordioPrev clinical trial (NCT00924937).

Results: At baseline, individuals carrying the G/G genotype at the rs1800629 polymorphism, displayed higher fasting ($P=0,003$) and postprandial ($P=0,025$) TG (triglycerides), apoB (apo lipoprotein B) ($P=0,01$) and hsCRP (high sensitivity C-reactive protein) ($P=0,003$) plasma concentrations than did carriers of the minor A-allele (G/A + A/A). After 12 months of MedDiet intervention, we observed that baseline differences between genotypes disappeared. Specifically, during the consumption of this diet, the decrease in plasma TG and hsCRP concentrations was more intense in G/G subjects compared with carriers of the minor A allele ($P=0,005$ and $P=0,034$, respectively). No other gene-diet interactions were observed in low fat group.

Conclusions: These results suggest that the rs1800629 at the *TNF-alpha* gene interacts with MedDiet to influence TG metabolism and inflammation status in MetS subjects. Understanding the role of diet in optimizing TG metabolism and inflammation may be the best strategy for personalized treatment of MetS and may facilitate the choice of more effective and specific measures for prevention.

Author Disclosures: **F. Gómez Delgado:** None. **A. García Ríos:** None. **F. Delgado Lista:** None. **O. Rangel Zuñiga:** None. **A. Ortiz Morales:** None. **J. Alcalá Díaz:** None. **J. López Miranda:** None. **P. Pérez Martínez:** None.

Key Words: Nutrition · Cardiovascular disease prevention · Genetics · Lipids

Core 2. Epidemiology and Prevention of CV Disease: Physiology, Pharmacology and Lifestyle

Session Title: Nutrition in CVD Risk and Prevention

Abstract 11239: Chronic Consumption of a Healthy Diet Interacts With the CLOCK Gene Locus to Modify Glucose Metabolism Among Metabolic Syndrome Patients From the CORDIOPREV Intervention Study

Antonio García Ríos¹; Juan Francisco Alcalá Díaz¹; Francisco Gomez Delgado¹; Antonio Camargo García²; Gracia María Quintana Navarro¹; Purificación Gomez Luna¹; Jose Lopez Miranda¹; Pablo Perez Martinez¹

¹ Internal Medicine, Lipids and Atherosclerosis Unit, IMIBIC/Hosp Universitario Reina Sofía/Universidad de Córdoba and Ciber Fisiopatología Obesidad y Nutrición, Instituto Salud Carlos III. Spain, Córdoba, Spain

² Lipids and Atherosclerosis Rsch Unit, Lipids and Atherosclerosis Unit, IMIBIC/Hosp Universitario Reina Sofía/Universidad de Córdoba and Ciber Fisiopatología Obesidad y Nutrición, Instituto Salud Carlos III. Spain, Córdoba, Spain

Introduction: Circadian Locomotor Output Cycles Kaput (CLOCK) gene has been related with lifestyle-related diseases such as obesity, metabolic syndrome (MetS), and cardiovascular diseases.

Hypothesis: We assessed whether the chronic consumption of a Mediterranean diet enriched in olive oil, compared with a Low fat diet, interacts with three common single nucleotide polymorphisms (SNPs) at CLOCK locus (rs1801260, rs3749474, and rs4580704) in order to improve glucose metabolism among MetS patients.

Methods: Index related with glucose metabolism (the homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) and quantitative insulin sensitivity check index (QUICKI)), insulin concentrations, and CLOCK SNPs were determined in 581 MetS subjects from the CORDIOPREV clinical trial (NCT00924937). Gene-diet interactions were analysed after one year of dietary treatment (Mediterranean diet (38% fat, 22% MUFA) vs Low fat diet (<28% fat, 12% MUFA)).

Results: We found a gene-diet interaction between rs1801260 SNP and dietary pattern for insulin concentrations ($P=0.009$), HOMA-IR ($P=0.014$) and QUICKI ($P=0.028$). Specifically, after 12 months of Low fat intervention, homozygous for the major allele (AA) displayed lower plasma insulin concentrations ($P=0.032$), lower insulin resistance (HOMA-IR; $P=0.027$) and higher sensibility of insulin (QUICKI index; $P=0.024$) compared with carriers of the minor allele G (AG+GG). No other gene-diet interactions were found.

Conclusions: Chronic consumption of a healthy diet may play a contributing role in triggering glucose metabolism by interacting with the rs1801260 SNP at CLOCK gene locus in MetS patients. Due to the complex nature of gene-environment interactions, dietary adjustment in subject with the MetS may require a personalized approach.

Author Disclosures: **A. García Ríos:** None. **J. Alcalá Díaz:** None. **F. Gomez Delgado:** None. **A. Camargo García:** None. **G. Quintana Navarro:** None. **P. Gomez Luna:** None. **J. Lopez Miranda:** None. **P. Perez Martinez:** None.

Key Words: Insulin resistance · Metabolic syndrome · Genetics

2.Publicaciones en revistas científicas