



**UNIVERSIDAD DE  
CÓRDOBA**  
Departamento de Medicina

**INFLUENCIA DEL GRADO DE OBESIDAD SOBRE  
LA RESPUESTA LIPÉMICA POSTPRANDIAL A  
DIFERENTES TIPOS DE GRASA EN JÓVENES  
SANOS**

Trabajo presentado por Aquiles Lozano Rodríguez-Mancheño,  
licenciado en Medicina y Cirugía, para optar al grado de Doctor

Fdo: Aquiles Lozano Rodríguez-Mancheño  
Córdoba, 6 de Noviembre de 2015



TITULO: *INFLUENCIA DEL GRADO DE OBESIDAD SOBRE LA RESPUESTA  
LIPÉMICA POSTPRANDIAL A DIFERENTES TIPOS DE GRASA EN  
JOVENES SANOS*

AUTOR: *Aquiles Lozano Rodríguez-Mancheño*

---

© Edita: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba. 2016  
Campus de Rabanales  
Ctra. Nacional IV, Km. 396 A  
14071 Córdoba

[www.uco.es/publicaciones](http://www.uco.es/publicaciones)  
[publicaciones@uco.es](mailto:publicaciones@uco.es)

---





**TÍTULO DE LA TESIS: Influencia del grado de obesidad sobre la respuesta lipémica postprandial a diferentes tipos de grasa en jóvenes sanos.**

**DOCTORANDO: Aquiles Lozano Rodríguez-Mancheño**

### **INFORME RAZONADO DE LOS DIRECTOR/ES DE LA TESIS**

El trabajo titulado “Influencia del grado de obesidad sobre la respuesta lipémica postprandial a diferentes tipos de grasa en jóvenes sanos” ha sido realizado de manera satisfactoria por D. Aquiles Lozano Rodríguez-Mancheño bajo nuestra dirección en la Unidad de Lípidos y Arteriosclerosis del Hospital Universitario Reina Sofía/Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba (IMIBIC), en el periodo correspondiente a los años 2006-2015.

Se trata de un estudio realizado en hombres jóvenes y sanos, con un diseño randomizado y cruzado, cuyo objetivo era evaluar la influencia que tiene el índice de masa corporal en el efecto de la ingesta aguda de diferentes tipos de grasa sobre la respuesta lipémica postprandial, así como comparar los efectos de esta ingesta en la respuesta postprandial de adipocinas y moléculas solubles de adhesión. Las determinaciones de lípidos así como las de adipocinas circulantes fueron realizados en los laboratorios de nuestra unidad, con los posteriores estudios estadísticos correspondientes y la redacción del texto de la tesis, desarrollándose sin incidencias en los plazos fijados y alcanzando los objetivos planteados.

En este tiempo, parte de los resultados preliminares han sido presentados públicamente en congresos nacionales e internacionales de la especialidad. Destacar además que este trabajo ha conseguido un nivel científico de suficiente relevancia como para derivar en la publicación de dos artículos en revistas de impacto; *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, revista del cuartil 1 con un índice de impacto de 3.978 y *Nutrition Research*, , revista del cuartil 2 con un índice de impacto de 2.585:

**Lozano A**, Perez-Martinez P, Delgado-Lista J, Marin C, Cortes B, Rodriguez-Cantalejo F, Gomez-Luna MJ, Cruz-Teno C, Perez-Jimenez F, Lopez-Miranda J. **Body mass interacts with fat quality to determine the postprandial lipoprotein response in healthy young adults.** Nutr Metab Cardiovas Dis 2012; 22: 355-61.

**Lozano A**, Perez-Martinez P, Marín C, Tinahones FJ, Delgado-Lista J, Cruz-Teno C, Gómez-Luna P, Rodríguez-Cantalejo F, Pérez-Jiménez F, López-Miranda J. **An acute intake of a walnut enriched-meal improves postprandial adiponectin response in healthy young adults.** Nutr Res 2013;33(12):1012-8.

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, 6 de Noviembre de 2015

Firma de los directores



Fdo.: DR. FRANCISCO PÉREZ JIMÉNEZ



Fdo: DR. JOSÉ LÓPEZ MIRANDA

*"Alberto Moravia dijo hace años que Córdoba era la ciudad más bella del mundo. Por principio, hay que considerar esta frase inexacta... Yo me limito a decir que Córdoba me parecía muy bella y que, para mí también, no era intercambiable"*

**"Apresúrense a visitar Córdoba", Triunfo (1973)  
Carlos Castilla del Pino**

*"... que veinte años no es nada"*

**"Volver" (1935)  
Carlos Gardel**



*Para Begoña, Javi y Fernando*





## AGRADECIMIENTOS

A los directores de esta tesis, **profesores Dr. D. Francisco Pérez Jiménez y Dr. D. José López Miranda**, ejemplos y maestros en la medicina, por haber mantenido su confianza en este trabajo y su apoyo y disposición intactos todos estos años.

A los **Dres. D. Pablo Pérez Martínez y D. Javier Delgado Lista**, por su inestimable ayuda y sentido crítico cuando el trabajo estaba más complicado.

A los residentes y adjuntos del Servicio de Medicina Interna del Hospital Reina Sofía con los que coincidí. De todos aprendí mucho. Mención especial a los **Dres. D. Rafael Angel Fernández de la Puebla y D. Francisco Fuentes Jiménez** y mi tutora, la **Dra. D<sup>a</sup>. Angeles Blanco Molina**, esenciales en mi formación, y no sólo en lo profesional.

Por su buen trabajo, su ayuda, su generosidad, y por tantas risas en el laboratorio experimental, a los **Dres. D. Rafael Moreno, D. Juan Moreno, D<sup>a</sup>. Purificación Gómez, D<sup>a</sup>. María José Gómez, D<sup>a</sup>. Mercedes García, D<sup>a</sup>. Yolanda Jiménez...** y por supuesto, a la **Dra. D<sup>a</sup>. Carmen Marín**, por su infinita paciencia y eterna sonrisa.

A mis compañeros de la Agencia Sanitaria Alto Guadalquivir, aventura especial y gratificante. A mis directores, **D. Cesáreo Granados y D. Francisco Moreno**, por hacérmelo más fácil.

A **Bego**, por fin lo conseguimos. Por la pasión y el empuje que le pones a todo lo que haces, y lo bien que lo haces. Por haber abierto esta cabeza a cosas que ni imaginaba y haberme hecho mejor persona a tu lado. Porque esta tesis y tantas cosas en mi vida y tantas que nos quedan por venir son inconcebibles sin ti.

A **Javi y Fernando**, porque el mayor aliciente para acabar este trabajo ha sido su ilusión en que “Papá está escribiendo un libro”. Por hacerme disfrutar día a día.

A **mis padres, Aquiles y Maria José**, por habernos mostrado que vuestros hijos éramos la prioridad de vuestra vida, dejarnos elegir nuestro camino y darnos los medios para seguirlo. A fé que habéis triunfado.

A **Carlos**, hermano, “Yo vine después. Yo siempre he ido después...”, pero no sólo por eso has sido una influencia constante en mi vida.

A **mis tíos, primos, mi familia** en general, porque me estaré haciendo mayor, pero cada vez tengo más presente lo feliz de mi infancia. A **mis suegros, cuñados** y todos en **Corvadiro**, también mi familia, por hacerme sentir parte de ella. Sólo como vosotros sabéis formais parte de este trabajo.

A **mis sobrinos Carmen, Ana, Palma, Guille y Noa** (por poderte incluir ha merecido la pena que esto se haya retrasado), mis otros tesoros junto a sus primos.

A los **amigos** que están más presentes en el día a día, **Juanes, Cristina..** y a los que aunque pasen meses sin vernos, hacen que parezca que sólo son horas.

Y por último, por la ilusión que te hubiera hecho incluir con todo detalle esto en uno de tus dietarios o colgarlo en la pared de tu despacho, a **mi abuelo Pepe**. Por el amor que me disteis, de segundas madres, a **mi abuela Mariquita y mi tía Carmen**. Gracias a los tres, eternamente en vuelo.

# ÍNDICE



<b>RESUMEN</b>	<b>17</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>21</b>
<b>I.- Lipemia Postprandial</b>	<b>23</b>
1 Metabolismo lipoproteico postprandial	23
1.1 Catabolismo de Quilomicrones y Remanente de Quilomicrones	23
1.2 Aclaramiento hepático de los remanentes de quilomicrones	25
1.3 Contribución de QM y VLDL a la trigliceridemia postprandial	27
1.4 Lipoproteínas ricas en ésteres de colesterol (HDL y LDL)	28
1.5 Efecto de las LRT	28
1.6 Asociación de lipemia postprandial y enfermedad vascular	32
2 Factores modificadores de la magnitud de la lipemia postprandial	33
2.1 Cantidad y calidad de la grasa	33
2.2 Otros componentes nutricionales	36
2.3 Factores fisiológicos y genéticos	37
2.4 Factores higiénicos-dietéticos	39
2.5 Obesidad, resistencia a la insulina y Diabetes Mellitus tipo 2	39
<b>II.- Obesidad</b>	<b>41</b>
1. Métodos de medida de la composición corporal	42
1.1 Métodos antropométricos	42
1.1.1 IMC	42
1.1.2 Otras medidas antropométricas	45
1.2 Otros métodos no antropométricos de medida de la composición corporal	48
2. La grasa como un órgano endocrino	49
2.1 Leptina	51
2.2 Adiponectina	53
2.3 Resistina	55
2.4 Otras adipocinas	56
3. Tejido adiposo e inflamación	59
<b>III.- Síndrome metabólico, tejido adiposo y lipemia postprandial</b>	<b>63</b>
1. Respuesta postprandial de adipocinas a una sobrecarga grasa	64
1.1 Adiponectina	64
1.2 Resistina	66

1.3 Leptina	67
2. Respuesta postprandial de moléculas solubles de adhesión a una sobrecarga grasa	69
<b>HIPÓTESIS Y OBJETIVOS</b>	<b>71</b>
<b>DISEÑO Y METODOLOGÍA</b>	<b>75</b>
<b>RESULTADOS</b>	<b>89</b>
1. Características basales	91
2. Análisis de la lipemia postprandial en función del índice de masa corporal	92
3. Análisis de las adipocinas postprandiales tras una sobrecarga grasa	102
4. Análisis de las moléculas solubles de adhesión tras una sobrecarga grasa	107
<b>DISCUSIÓN</b>	<b>109</b>
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>125</b>
<b>ABREVIATURAS</b>	<b>129</b>
<b>REFERENCIAS</b>	<b>135</b>
<b>ARTÍCULOS</b>	<b>161</b>

## INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

### TABLAS EN INTRODUCCIÓN

<b>Tabla 1:</b> <i>Receptores implicados en la captación hepática de LRT</i>	26
<b>Tabla 2:</b> <i>Definición y clasificación de la OMS de sobrepeso y obesidad según el IMC</i>	43
<b>Tabla 3:</b> <i>Definición y clasificación del consenso SEEDO-2007 de sobrepeso y obesidad según el IMC</i>	43
<b>Tabla 4:</b> <i>Estudios que relacionan positivamente el IMC y diversos objetivos principales de morbimortalidad</i>	44
<b>Tabla 5:</b> <i>Clasificación de la obesidad según la distribución anatómica de la grasa</i>	46
<b>Tabla 6:</b> <i>Métodos no antropométricos de medida de la composición corporal</i>	49
<b>Tabla 7:</b> <i>Variación postprandial de adiponectina en estudios con moderado, bajo o no especificado contenido de grasa</i>	64
<b>Tabla 8:</b> <i>Variación postprandial de adiponectina en estudios con alto contenido de grasa</i>	65
<b>Tabla 9:</b> <i>Variación postprandial de resistina en estudios con sobrecarga grasa moderada</i>	66
<b>Tabla 10:</b> <i>Variación postprandial de leptina en estudios con alto contenido de grasa</i>	67
<b>Tabla 11:</b> <i>Variación postprandial de leptina en estudios con bajo o moderado contenido de grasa</i>	68
<b>Tabla 12:</b> <i>Variación postprandial de moléculas de adhesión solubles en estudios con sobrecarga grasa</i>	69

### TABLAS EN RESULTADOS

<b>Tabla 13:</b> <i>Características basales de los participantes antes de cada sobrecarga</i>	91
<b>Tabla 14:</b> <i>Características basales de los participantes en cada grupo de IMC</i>	92
<b>Tabla 15:</b> <i>ABC en plasma según desayuno consumido y grupo de IMC</i>	93
<b>Tabla 16:</b> <i>ABC en LRT grandes según desayuno consumido y grupo de IMC</i>	94
<b>Tabla 17:</b> <i>ABC en LRT pequeñas según desayuno consumido y grupo de IMC</i>	95
<b>Tabla 18:</b> <i>Correlación del IMC con ABC de parámetros lipídicos en plasma, LRT grandes y LRT pequeñas de forma global tras un desayuno rico en grasa independientemente del tipo de grasa</i>	102
<b>Tabla 19:</b> <i>ABC de adipocinas según desayuno consumido</i>	102
<b>Tabla 20:</b> <i>Concentraciones de adipocinas en cada tiempo postprandial según desayuno consumido</i>	103
<b>Tabla 21:</b> <i>ABC de moléculas solubles de adhesión según el desayuno consumido</i>	107
<b>Tabla 22:</b> <i>Concentraciones de moléculas solubles de adhesión</i>	



en cada tiempo postprandial según el desayuno consumido 107

#### **FIGURAS EN DISEÑO Y METODOLOGÍA**

**Figura 1:** Administración randomizada de las comidas grasas 81

#### **FIGURAS EN RESULTADOS**

**Figura 2:** Concentración de triglicéridos plasmáticos (mg/dl) en cada tiempo y desayuno rico en grasa para cada grupo de IMC 97

**Figura 3:** Concentración de colesterol en LRT grandes (mg/dl) en cada tiempo y desayuno rico en grasa para cada grupo de IMC 98

**Figura 4:** Concentración de triglicéridos en LRT grandes (mg/dl) en cada tiempo y desayuno rico en grasa para cada grupo de IMC 99

**Figura 5:** Concentración de colesterol en LRT pequeñas (mg/dl) en cada tiempo y desayuno rico en grasa para cada grupo de IMC 100

**Figura 6:** Concentración de TG en LRT pequeñas (mg/dl) en cada tiempo desayuno rico en grasa para cada grupo de IMC 101

**Figura 7:** Concentración postprandial de adiponectina (ng/mL) en cada tiempo y desayuno rico en grasa 104

**Figura 8:** Concentración postprandial de AGL (mmol/L) en cada tiempo y desayuno rico en grasa 105

**Figuras 9 y 10:** Concentración postprandial de Resistina (ng/mL) y Leptina (ng/mL) en cada tiempo y desayuno rico en grasa 106

**Figura 11 y 12:** Concentración postprandial de ICAM-1 y VCAM-1 (ng/mL) en cada tiempo y desayuno rico en grasa 108

## **RESUMEN**



**Introducción:** Las lipoproteínas ricas en triglicéridos (LRT) postprandiales son predictivas del desarrollo de enfermedad cardiovascular. La obesidad está asociada a un aumento de la magnitud de la lipemia postprandial. Las citoquinas producidas en el tejido adiposo, adipocinas, juegan un importante papel en el desarrollo de resistencia a la insulina, diabetes y enfermedad cardiovascular.

**Objetivo:** Evaluar la influencia que tiene el índice de masa corporal (IMC) en el efecto de la ingesta aguda de diferentes tipos de grasa sobre la respuesta lipémica postprandial, así como comparar los efectos de esta ingesta en la respuesta postprandial de adipocinas y moléculas solubles de adhesión.

**Diseño y Metodología:** 21 hombres jóvenes y sanos, siguiendo un diseño randomizado cruzado, consumieron 3 desayunos ricos en grasa (1 gr/Kg de peso corporal, 65% grasa): desayuno rico en aceite de oliva (38% ácidos grasos monoinsaturados-MONO-), desayuno rico en mantequilla (35% ácidos grasos saturados –SAT-) y desayuno rico en nueces (16% ácidos grasos poliinsaturados-POLI- y 4% ácido  $\alpha$ -linolénico). Tras la ingesta, se realizaron extracciones durante 11 horas. Posteriormente, se determinaron los niveles de colesterol (Col) y triglicéridos (TG) en plasma, LRT grandes y pequeñas y apoB48, apoB100 y retinil palmitato (RP) en LRT grandes y pequeñas. También se determinaron en plasma las concentraciones de adiponectina, leptina, resistina, ácidos grasos libres (AGL), molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1) y molécula de adhesión vascular 1 (VCAM-1).

**Resultados:** Los sujetos con mayor IMC (HW; IMC mayor que la mediana, 26.18 Kg/m<sup>2</sup>, n=11) presentaron un incremento del área bajo la curva (iABC) para TG en LRT grandes y pequeñas mayor que los sujetos con menor IMC (LW; IMC <26.18 Kg/m<sup>2</sup>), con una tendencia similar para TG plasmáticos. Además, los sujetos del grupo HW mostraron concentraciones más elevadas de Col y TG en LRT pequeñas en diferentes puntos de la lipemia postprandial tras la ingesta de desayunos ricos en mantequilla o nueces que tras la ingesta del desayuno rico en aceite de oliva. Por otro lado, tras el desayuno rico en nueces, el ABC de adiponectina fue mayor que con los otros desayunos, con concentraciones significativamente mayores a las 3 y 6 horas que tras el desayuno rico en mantequilla, y a las 6 horas comparada con el desayuno rico en aceite de oliva, con una tendencia similar a las 3 horas.

## Resumen

**Conclusiones:** Los voluntarios en el grupo con mayor IMC presentaron una mayor respuesta postprandial y se benefician del aporte de grasa en forma de MONO, como el aceite de oliva, al disminuir en mayor medida que los otros tipos de grasas estudiadas sus niveles de LRT postprandiales. Por otro lado, hemos hallado un perfil beneficioso en la respuesta postprandial tras una comida rica en POLI de origen vegetal, a expensas de nueces, con una mayor respuesta de adiponectina. Estos hallazgos pueden estar involucrados en el menor riesgo de enfermedad cardiovascular asociado con el consumo de modelos de alimentación ricos en ácidos grasos insaturados frente a los ricos en grasas saturadas.

# **INTRODUCCIÓN**



## **I.- LIPEMIA POSTPRANDIAL**

Las decisiones de la práctica clínica, generalmente, se establecen sobre mediciones de parámetros analíticos realizadas en el período de ayuno. Sin embargo, la mayor parte del tiempo, las personas de los países desarrollados, se encuentran en un estado postprandial y no de ayuno. En los patrones occidentales de alimentación, se consumen tres o más comidas al día, que contienen entre 20 y 70 gramos (gr.) de grasa cada una, que son consumidas antes de que los triglicéridos (TG) resultantes de la ingesta anterior hayan vuelto a sus valores basales<sup>1</sup>. Por consiguiente, los humanos viven la mayor parte del tiempo en un estado postprandial con una fluctuación constante del grado de lipemia a lo largo del día. Este estado representa un condición dinámica, con un rápido remodelado de lipoproteínas, comparado con el relativamente estable estado del ayuno.

### **1.- METABOLISMO LIPOPROTEICO POSTPRANDIAL**

#### **1.1. CATABOLISMO DE QUILOMICRONES Y REMANENTES DE QUILOMICRONES**

Las lipoproteínas ricas en TG (LRT) constituyen una población heterogénea formada por los quilomicrones (QM), lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), que forman parte de las LRT grandes y los remanentes de ambos, incluidas en las LRT pequeñas.

Los QM se sintetizan en el epitelio intestinal, se secretan a la linfa y desde ahí pasan a la circulación general a través del conducto torácico. Una vez en el torrente circulatorio, los QM sufren varias modificaciones necesarias para su catabolismo y aclaramiento plasmático: interacción



con las lipoproteínas de alta densidad (HDL) para adquirir apolipoproteínas C (apoC) y E (apoE) , interacción con la lipoproteínlipasa (LPL) para ser hidrolizados y transformados en remanentes y transferencia de lípidos y lipoproteínas a las HDL.

La interacción inicial de los QM nacientes con las HDL los provee de apoC y E. La apoC-I inhibe a la lipasa hepática (LH) y la captación de remanentes por el hígado. La apoC-II favorece la hidrólisis de los TG por la LPL, de la que es cofactor. La apoC-III inhibe la activación de la LPL por la C-II, e impide la captación de LRT por sus receptores específicos. Por otra parte, la apoE, una de las lipoproteínas más importantes de los QM y las VLDL, actúa como ligando para la captación hepática de remanentes, permitiendo su aclaramiento plasmático.

La interacción de los QM con la LPL anclada en el endotelio vascular favorece la hidrólisis de los TG, liberándose ácidos grasos (AG) para su transformación progresiva en remanentes. Estos AG libres (AGL) son almacenados como TG en el tejido adiposo, o bien son utilizados como fuente de energía en el músculo y otros tejidos. Los lípidos y proteínas que los QM parcialmente hidrolizados pierden de la superficie se incorporan a las HDL. Los QM, ya transformados en remanentes, son captados por el hígado y otros órganos, como la médula ósea.

Los remanentes de QM son captados preferentemente por el hígado, mientras que los QM nacientes lo son por la médula ósea, siendo el grado de hidrólisis lo que determina el porcentaje a captar por cada órgano. Estudios realizados en conejos han observado que tras la administración de QM marcados y anticuerpos anti-LPL se produce un descenso en la captación hepática, pero no en la medular, demostrando que

la LPL es necesaria para la captación hepática, y que son los remanentes los aclarados a este nivel. EL tratamiento de los QM con LH acelera su aclaramiento por el hígado<sup>2</sup>.

Por otra parte, algunos estudios demuestran que el aclaramiento de los remanentes puede ser independiente de la composición y contenido de las apoproteínas, como demuestra el hecho de que los ratones deficientes en apoE sean capaces de aclarar eficazmente los lípidos provenientes de la alimentación<sup>3</sup>. La adición de un exceso de apoE a los QM acelera el aclaramiento de estas partículas del plasma en conejos, favoreciendo el descenso de las lipoproteínas postprandiales. La disponibilidad de apoE limita la captación hepática (necesaria para el aclaramiento de los remanentes), pero no la medular (que es la responsable del aclaramiento de los QM nacientes). La apoC-I inhibe la captación hepática de remanentes de QM en ratas por un mecanismo inhibitorio sobre la apoE, y la hiperexpresión de apoC-III produce una hipertrigliceridemia en ratas por idéntico mecanismo.

## **1.2. ACLARAMIENTO HEPÁTICO DE LOS REMANENTES DE QM**

Los mecanismos implicados en el aclaramiento hepático de remanentes tiene lugar, en su práctica totalidad, en el espacio de Disse. Ésta es la zona de intercambio entre el hepatocito y la sangre y comunicado con el sinusoides hepático a través de unas fenestraciones endoteliales, siendo su tamaño el determinante de la entrada en el espacio de Disse de los QM pequeños y sus remanentes, pero no de los QM de mayor tamaño. A este nivel se sitúan las enzimas LPL y LH, los proteoglicanos, y receptores de tipo lipoproteínas de baja densidad (LDL) y proteína relacionada con el receptor de LDL (LRP), que colaboran en la internalización de los remanentes.

Los QM sufren lipólisis en la circulación general gracias a la LPL. Durante este proceso pierden apoC, pero adquieren apoE. La proporción de apoC y E y el tamaño de la partícula son los dos mecanismos principales para evitar un aclaramiento hepático prematuro. Una vez en este lugar, la partícula puede unirse directamente al receptor de LDL, siendo esta vía la de mayor afinidad y más rápida endocitosis. No está bien definido si existe una captación directa por la vía del LRP, y aún así debe ser limitada, quizás porque las partículas necesitan una serie de modificaciones previas antes de poder actuar como ligandos para este receptor. Existen otros receptores de LRT cuya importancia en humanos permanece aún por elucidar. En la **Tabla 1** se recogen los diferentes receptores implicados en la captación hepática de LRT.

<i>Receptor</i>	<i>Ligando</i>	<i>Reconocimiento</i>
LDL	LDL, Remanentes	apoB, apoE
LRP	QM, VLDL	apoE, LPL, LH
VLDL	VLDL, IDL	ApoE
LSR	VLDL, QM, LDL	apoE, apoB
MBP	VLDL	No conocido

**Tabla 1:** Receptores implicados en la captación hepática de LRT. LDL: lipoproteína de baja densidad, apo: apolipoproteína, LRP: proteína relacionada con el receptor de LDL, QM: quilomicrones, VLDL: lipoproteína de muy baja densidad, IDL: lipoproteína de densidad intermedia, LPL: lipoproteinlipasa, LH: lipasa hepática, LSR: receptor estimulado por lipólisis, MBP: proteína ligadora de membrana

Si los receptores de LDL están disminuidos en número, saturados o ausentes, los remanentes quedan secuestrados en el espacio de Disse, debido a las interacciones entre la apoE y los proteoglicanos anclados en dicho espacio y de la apoB con la LH, respectivamente. Estas partículas secuestradas pueden ser captadas por endocitosis mediada por receptor, pero si

adquieren suficiente apoE en el espacio de Disse, pueden actuar como ligandos para la LRP y ser internalizados en el hepatocito.

La LPL establece uniones de alta afinidad con los proteoglicanos y el LRP, favoreciendo el reconocimiento de apoE y la captación del remanente por el receptor. La LH interviene en el procesamiento hepático de los remanentes hidrolizando los TG y fosfolípidos que transportan.

### **1.3. CONTRIBUCIÓN DE QM Y VLDL A LA TRIGLICERIDEMIA POSTPRANDIAL**

Este hecho fue demostrado por primera vez por Zilversmit y colaboradores (cols.), que objetivaron como, tras una comida rica en grasa, se producía un incremento en los niveles de LRT portadoras de apoB48 y apoB100, representados por los QM (secreción intestinal) y las VLDL (secreción hepática), respectivamente<sup>4</sup>.

El aumento de VLDL postprandial puede deberse, por una parte, a un incremento en su producción y, por otra, al retraso en su catabolismo. Lo primero se ha observado en el elevado aporte de lípidos procedentes de la alimentación, vehiculizados por el sistema porta o los remanentes de QM<sup>5</sup>, y en la capacidad del intestino humano para sintetizar apoB100. Lo segundo se debe a la preferencia de la LPL por los QM como sustrato. Este hecho fue demostrado por Karpe al observar que, tras administrar una emulsión lipídica con similar composición a los QM se producía un incremento lineal e inmediato de las VLDL<sup>6</sup>.

#### **1.4 LIPOPROTEÍNAS RICAS EN ÉSTERES DE COLESTEROL (HDL Y LDL)**

La magnitud de los TG postprandiales, a través de su efecto sobre la proteína de transporte de ésteres de colesterol (CETP) determina el grado de alteración del perfil lipídico que se produce durante el estado postprandial.

La CETP cataliza la transferencia de ésteres de colesterol y TG entre las lipoproteínas, determinando el enriquecimiento en ésteres de colesterol por parte de los QM y VLDL. El acúmulo de estas dos partículas durante el estado postprandial podría ser explicado por la resistencia de los ésteres de colesterol transferidos a la acción de la LPL. Sin embargo, cuando estos ésteres son transferidos a las HDL y LDL, sí son susceptibles de ser hidrolizados por la LH, lo que determina una disminución en su tamaño<sup>7</sup>.

La LDL postprandial es aterogénica, debido a su reducido tamaño, su mayor susceptibilidad a ser oxidada, y el acúmulo de ésteres de colesterol.

El descenso en el catabolismo de las LRT condiciona la aparición de un perfil lipídico aterogénico y caracterizado por acumulación de QM, VLDL, lipoproteínas de densidad intermedia (IDL) ricas en ésteres de colesterol, reducción de los niveles de HDL en plasma, enriquecimiento de HDL en TG y predominio de HDL y LDL de pequeño tamaño<sup>8</sup>.

#### **1.5. EFECTOS DE LAS LRT**

La aterogenicidad potencial de los TG postprandiales y las LRT fue propuesta por Zilversmit en 1979<sup>4</sup>, en el artículo "aterosclerosis: un fenómeno postprandial" por el que la hidrólisis de QM por la LPL conllevaba la internalización de remanentes de QM ricos en ésteres de colesterol por las células musculares lisas arteriales.

Los estudios diseñados para establecer la aterogenicidad directa de las LRT postprandiales tuvieron como objeto observar su interacción con el endotelio arterial, determinando la habilidad de las LRT postprandiales para penetrar la capa endotelial hacia el espacio subintimal, y evaluando la interacción de las LRT con los monocitos-macrófagos y otros componentes de la lesión aterosclerótica en desarrollo. En estudios de cultivos celulares, los remanentes postprandiales son directamente citotóxicos para las células endoteliales<sup>9</sup>. Las HDL las protege de este efecto. Los productos de lipólisis de las LRT, incluyendo los AGL pueden empeorar la función endotelial, dado que la presencia de AGL realza la recaptación de LDL, sugiriendo una aumento de la permeabilidad<sup>10</sup>.

Las LRT postprandiales afectan adversamente al endotelio mediando cambios en el tono vascular. Después del consumo de una comida rica en grasa, se observó una correlación entre los TG postprandiales y la reducción en la dilatación dependiente de flujo en la arteria braquial<sup>11</sup>. Además, las concentraciones de remanentes en sujetos sanos se correlacionaron de forma inversa con el flujo sanguíneo coronario en ayunas<sup>12</sup>. Se ha propuesto que el efecto de las LRT sobre el tono endotelial está mediado en parte por la dismunición en la producción de óxido nítrico (NO), bien por las LRT *per sé* o por las LDL oxidadas asociadas al postprandio. En un modelo de célula endotelial de vena umbilical humana<sup>9</sup>, la incubación con partículas remanentes, pero no VLDL o LDL, indujo una elevación en la expresión de ICAM-1, VCAM-1 y factor tisular, así como de CD11a, CD18, CD49d e interleucina (IL)-1b<sup>13</sup>, lo que pone de relieve el papel de las lipoproteínas remanentes en el inicio de la inflamación vascular.

Dado que la presencia de disfunción endotelial es un marcador precoz de aterosclerosis, las evidencias orientan hacia el papel de las LRT en el inicio de la misma. Sin embargo, para perpetuar la progresión de la enfermedad, las LRT necesitan penetrar y permanecer en el espacio intimal de la pared arterial. El flujo de lipoproteínas al endotelio aumenta en proporción directa a las concentraciones de LRT en el plasma y disminuye a medida que el tamaño de las partículas se hace mayor<sup>14</sup>. Este proceso incluye la formación de vesículas en la luz de las células endoteliales, que migran a la superficie basolateral de las células endoteliales, donde su contenido es expulsado por exocitosis al espacio subendotelial. En estas vesículas se transportan lipoproteínas de hasta 70 nm de diámetro, lo que excluye la posibilidad de transportar LRT sin hidrolizar, como QM (75 a 1200 nm). Sin embargo, QM más pequeños y remanentes de VLDL (40 a 70 nm) podrían penetrar la pared arterial por este mecanismo.

Estudios animales aportan evidencias sobre la afluencia y retención selectiva de remanentes de QM y VLDL. En ratones hipercolesterolémicos, un método isotópico dual demostró el aflujo de VLDL, IDL y LDL radiomarcadas sobre íntimas arteriales sanas y lesionadas. Hubo una relación inversa entre el diámetro de las lipoproteínas y la pérdida fraccional de la íntima arterial. Fue más probable que fueran atrapadas en la íntima arterial las VLDL, remanentes de VLDL, IDL y las LDL que partículas más pequeñas como las HDL<sup>15</sup>. Se ha comunicado la presencia de partículas del tamaño de las VLDL o IDL en la íntima humana y en la placa aterosclerótica<sup>16</sup>. Las muestras tomadas de placas contenían VLDL e IDL con una composición lipídica similar a las lipoproteínas plasmáticas correspondientes, sugiriendo que las LRT pueden entrar y ser retenidas en la placa aterosclerótica.

La incubación de macrófagos con QM y VLDL grandes provenientes de sujetos con hipertrigliceridemia resultó en la transformación hacia células que remedan las células espumosas de las lesiones ateroscleróticas<sup>17</sup>. Además, tras la incubación con LRT durante 4 horas, se han observado incrementos en el contenido de los macrófagos en TG y ésteres de colesterol. La hidrólisis de los remanentes de LRT fue citotóxica para los macrófagos, aunque este efecto podría ser inhibido por la adición de HDL a la capa media<sup>18</sup>.

En el postprandio tiene lugar un marcado intercambio de lípidos entre las lipoproteínas circulantes, cuya intensidad está determinada por el tiempo de permanencia de las partículas en la circulación<sup>19</sup>. Las LDL y HDL enriquecidas con TG resultantes sufren lipólisis por acción de la LH, dando lugar a partículas pequeñas y densas. Aunque los remanentes de QM, de origen exógeno, probablemente tienen un papel en este proceso, el principal responsable es el incremento en la secreción de VLDL procedente de la síntesis endógena<sup>20</sup>. Este punto es importante, porque las dietas muy ricas en hidratos de carbono (HC) incrementan la tasa de síntesis de VLDL, mientras que las dietas con más grasa producen un mayor aumento postprandial de TG. Aún no se ha demostrado que la reducción de la lipemia postprandial *per sé* conduzca a un incremento de HDL o a la reducción de LDL densas. Tampoco parece existir ningún efecto sobre el tamaño de las LDL de las dietas con alto contenido en AG monoinsaturados (MONO) comparadas con dietas ricas en AG saturados (SAT)<sup>21,22</sup>. El incremento en el tamaño de las LDL observado tras el consumo elevado de AG poliinsaturados (POLI) n-3 en hipertrigliceridemia puede atribuirse a la reducción de la síntesis de VLDL<sup>23</sup>.



Karpe<sup>24</sup> demostró que los niveles de LRT y la actividad de la LPL justifica el 50% de la variabilidad en el tamaño de las LDL. Éste no se afecta por la ingesta de una comida rica en grasa, pero es bien conocido que los niveles elevados de TG tanto basales como postprandiales se relacionan con la presencia de LDL pequeñas y densas<sup>20</sup>. La gran aterogenicidad de estas partículas se explica por diversos mecanismos, y estudios prospectivos confirman su poder predictivo de enfermedad coronaria, estando presentes en la mitad de los pacientes con enfermedad coronaria y niveles basales de LDL normales<sup>25</sup>. En un grupo de hombres jóvenes que habían sufrido un infarto agudo de miocardio (IAM), los niveles de apoB48 se correlacionaron con los niveles plasmáticos de LDL pequeñas y densas<sup>24</sup>. En sujetos diabéticos se han descrito LDL postprandiales muy susceptibles a la oxidación<sup>26</sup>.

#### **1.6 ASOCIACIÓN DE LIPEMIA POSTPRANDIAL Y ENFERMEDAD VASCULAR**

La sugerencia de una relación entre clases específicas de lipoproteínas (incluyendo VLDL e IDL) y la enfermedad coronaria fue propuesta hace más de 60 años por Gofman y *cols*<sup>27</sup>. Numerosos estudios clínicos han mostrado que el retraso en la eliminación de las LRT postprandiales está asociado con la arteriosclerosis. Existe también asociación entre la respuesta lipémica postprandial y una progresión de la aterosclerosis en pacientes con enfermedad coronaria preexistente.

Se han publicado revisiones con diversos estudios clínicos donde se asocia a la lipemia postprandial con un factor de riesgo cardiometabólico más por el aumento de TG y LRT postprandiales<sup>28</sup>. Varias cohortes de seguimiento han mostrado la relación entre los niveles de TG postprandiales y

la presencia de enfermedad cardiovascular. En el seguimiento de una cohorte de mujeres sanas del *The Women's Health Study*<sup>29</sup>, mientras los valores basales de TG solo mostraron una ligera independiencia de los factores de riesgo vascular clásicos, los niveles de TG postprandiales mostraron una fuerte asociación con la incidencia de eventos cardiovasculares. Por otro lado, una cohorte danesa, *The Copenhagen City Heart Study*<sup>30</sup>, que siguió a 7587 mujeres y 6394 hombres de 20 a 93 años durante una media de 26 años, observó que los niveles elevados de TG postprandiales se asociaron con un incremento del riesgo de IAM, enfermedad coronaria y muerte. Además, en un subestudio de la misma cohorte, se describió una asociación con el ictus isquémico<sup>31</sup>.

En algunos estudios, el engrosamiento de la íntima-media carotídea se usa como marcador subrogado de aterosclerosis. Hamsten y cols mostraron que varias mediciones postprandiales (TG a las 2 horas, LRT a las 6 horas de una ingesta) se correlacionaron con el grosor carotídeo<sup>32</sup>.

## **2.- FACTORES MODIFICADORES DE LA MAGNITUD DE LA LIPEMIA POSTPRANDIAL**

### **2.1. CANTIDAD Y CALIDAD DE LA GRASA**

La cantidad de grasa requerida para producir un aumento significativo de los TG plasmáticos es de unos 40 ó 50 gr de grasa. Se han realizado estudios de respuesta a distintas dosis de grasa en sujetos sanos<sup>33</sup>, observándose que una dosis muy baja (5 gr) o baja (15 gr) de grasa no aumenta significativamente los TG en situación postprandial, dosis moderadas (30-50 gr) incrementan los TG postprandiales en forma dosis-dependiente y muy altas ( $\geq 80$  gr, 1-1.5 gr/ Kg de

peso) incrementan exageradamente los TG postprandiales, pero sin relación con la dosis, de forma más duradera (8-12 horas) que una comida con concentración moderada de grasa (alrededor de 6 horas). Dado que una comida normal contiene de 20 a 40 gr de grasa, un patrón normal de 3 ó 4 comidas al día mantiene la concentración de TG por encima de concentraciones de ayuno, realzando la lipemia postprandial, la mayor parte del día<sup>34,35</sup>.

Si se analiza el efecto aislado de una comida, un amplio número de estudios han intentado comparar los efectos que el aporte de diferentes tipos de grasa tiene sobre la magnitud de la lipemia postprandial<sup>36</sup>. Los AG de cadena media o corta tienen efectos limitados sobre los TG postprandiales, dado que entran en la circulación portal, en lugar de la secreción de QM a la circulación general. Las grasas lácteas contienen cantidades significativas de dichos AG. Esto explicaría que los estudios que han usado lácteos como fuente de SAT, en general, han evidenciado una respuesta de TG postprandiales menor que otros SAT u otros tipos de grasa<sup>37</sup>.

Otros trabajos compararon comidas que contenían AG de cadena larga. La mayoría de ellos han mostrado que las comidas enriquecidas con SAT (ácidos palmítico y esteárico), MONO (ácido oleico esencialmente) o POLI n-6 (normalmente ácido linoleico) no obtienen generalmente respuestas lipídicas postprandiales diferentes<sup>38</sup>. Sin embargo, algunos estudios obtuvieron respuesta aumentada<sup>39</sup> o reducida<sup>40</sup> tras la toma de grasa saturada en forma de mantequilla. Una hipótesis que se postula es que la posición del AG dentro de la LRT influye sobre la acción de las lipasas digestivas y la propia estructura de la partícula<sup>41</sup>.

Diferentes comparaciones del efecto de aceites enriquecidos en POLI n-6 con aceites de oliva ricos en MONO

mostraron magnitudes menor<sup>42</sup> o comparables<sup>40,43</sup> de lipemia postprandial. Los POLI n-3 pueden disminuir la respuesta de TG postprandiales si está presente en la cantidad suficiente dentro de la comida<sup>44</sup>, lo que representa niveles mayores a los normalmente consumidos por la mayoría de personas, no encontrándose el efecto cuando se administran a bajas dosis dentro de una comida rica en grasa<sup>36</sup>.

La medida más habitualmente utilizada para determinar la magnitud de la lipemia postprandial ha sido los TG postprandiales, pero también encontramos estudios que han medido otras respuestas como la apoB48 intestinal u otras apoproteínas como las apoE o C-III<sup>46</sup>.

La dieta habitual de un individuo también puede influir sobre la respuesta lipémica postprandial<sup>37</sup>. La dieta habitual rica en MONO o en POLI n-3 tiende a mitigar la respuesta lipémica postprandial al compararla con la que se produce con la dieta habitual rica en SAT<sup>47</sup>. Comparándolo con una dieta rica en SAT, un incremento en la ingesta habitual de MONO, se tradujo en una marcada reducción en la producción de apoB48 postprandial, aunque sin diferencias en la lipemia postprandial, lo que indica que las dietas con MONO conllevan una producción de QM de un tamaño mayor<sup>48</sup>. Esto sugiere una ventaja en el procesamiento postprandial de los TG de la dieta.

Está bien documentado que las dietas ricas en POLI n-3 de cadena larga pueden disminuir la lipemia postprandial, aunque para ello son necesarias dosis elevadas (2.7-4 gr diarios), no observándose cuando la ingesta diarias es menor<sup>49</sup>. Disponemos de una fuerte evidencia que indica que la reducción de la lipemia postprandial tras la suplementación con n-3 se debe a un descenso en la síntesis/secreción de QM y VLDL<sup>50</sup>. Por el contrario, hay escasa evidencia que apoye la

hipótesis de que este hecho pueda deberse a un aumento del aclaramiento de TG asociado a un incremento de la actividad de la LPL endógena. En varios estudios, la actividad de la LPL aumenta por la suplementación con 3 ó 4 gr diarios de POLI n-3<sup>51</sup>. Khan *y cols.* observaron el mismo efecto tanto con ácido eicosapentanoico purificado (20:5 n-3, EPA) como con ácido docosahexanoico (22:6 n-3, DHA)<sup>52</sup>. En contraste, el consumo de una dieta rica en ácido alfa-linolénico (18:3 n-3) con ingesta de entre 4.5 y 9.5 gr al día en forma de margarina durante 6 meses, no tuvo efecto sobre la lipemia postprandial<sup>53</sup>. Parece que la diferencia entre el ácido alfa-linolénico y el EPA o DHA podría estribar en la facultad de éstos de actuar como ligando para el receptor activado de proliferación de los peroxisomas (PPAR)-alfa<sup>54</sup>, que es un conocido inductor de la expresión de la LPL e inhibidor de la síntesis de VLDL.

Todos los estudios que han evaluado el impacto del tipo habitual de grasa consumida sobre la respuesta postprandial a una ingesta aguda han mostrado que, en cuanto a los TG postprandiales, el orden de dicha respuesta es: la de SAT es la mayor de todas, seguida de la de MONO, que es de igual magnitud que la de n-6 y, a su vez, son mayores que la provocada por n-3.

No solo con la sustitución de AG en la dieta, sino también con el cambio global de patrón alimentario hacia una dieta mediterránea, eficaz en la prevención primaria de eventos vasculares<sup>55</sup>, se ha observado un efecto beneficioso a nivel postprandial tras la ingesta durante 1<sup>56</sup> ó 3<sup>57</sup> meses.

## **2.2. OTROS COMPONENTES NUTRICIONALES**

Estudios clínicos apoyan el hecho de que dietas ricas en HC altamente digeribles pueden llevar a un aumento de TG

plasmáticos como resultado de la acumulación de remanentes de QM y VLDL hepático debido a cambios en la secreción y/o aclaramiento de las lipoproteínas<sup>58</sup>. También se ha mostrado que la cantidad o naturaleza de los HC en una comida pueden alterar el metabolismo lipídico postprandial. Así, la adición de sucrosa<sup>59</sup> o fructosa<sup>60</sup> incrementa los TG postprandiales, no siendo significativo cuando es en forma de glucosa<sup>61</sup> o con alimentos ricos en almidón (pan blanco, pasta...). Estos últimos retrasan y aumentan el acúmulo de partículas de apoB48 de origen intestinal motivadas por la hiperinsulinemia<sup>62</sup>. En sujetos con resistencia a la insulina, la ingesta de una comida con alto índice glucémico frente a otra con bajo índice glucémico aumenta la elevación postprandial de la insulinemia y la acumulación de LRT que contienen apoB100 y apoB48, mediado por el incremento de los TG postprandiales<sup>63</sup>.

La adición de varias fuentes de fibra a comidas en una cantidad entre 4 y 10 gr por comida puede reducir moderadamente los TG o QM postprandiales<sup>64</sup>. Las fibras viscosas solubles, como el psilio, han mostrado efecto en la reducción de los TG y apoB48 postprandiales<sup>65</sup>.

Disponemos de evidencias que indican que la lipemia postprandial se reduce cuando se añaden proteínas a una comida rica en grasa<sup>66</sup>, siendo este efecto variable según el tipo de proteína añadida<sup>67</sup>.

### **2.3. FACTORES FISIOLÓGICOS y GENÉTICOS**

Varios estudios han demostrado diferencias significativas atribuibles al sexo en los TG postprandiales, con niveles mayores en hombres<sup>68</sup> y mujeres en la menopausia<sup>69</sup>. Esto podría deberse a que el estradiol promueve el aclaramiento rápido de remanentes de QM a través de sus

efectos permisivos sobre el receptor de LDL, y al incremento de la actividad de la LPL, que puede ser debido a que aumenta la producción de NO. Éste es un potente vasodilatador que aumentaría el área de superficie del endotelio capaz de expresar la LPL en la fase postprandial. Por el contrario, la terapia hormonal sustitutiva se asocia con un incremento en los TG, en paralelo con una disminución en los niveles de colesterol en remanentes<sup>70</sup>. Estos resultados sugieren que los estrógenos podrían inducir un desplazamiento del patrón de distribución de LRT, con un descenso en sus fracciones más aterogénicas.

Los estudios que han demostrado diferencias atribuibles al grupo étnico son múltiples<sup>71,72</sup>, y sus resultados pueden estar parcialmente debidos al realce en la expresión, actividad y disponibilidad intravascular de la LPL. Además, parece que las diferencias raciales en la expresión y función de la LPL son atenuadas por la presencia de obesidad<sup>73</sup>.

También se ha descrito variabilidad en la respuesta postprandial asociada a polimorfismos genéticos, es decir, a la existencia de múltiples alelos de un mismo gen. Estos genes pueden codificar:

- Enzimas (LPL<sup>74</sup>, LH<sup>75</sup>)
- Proteínas de transporte (Proteína de unión de ácidos grasos intestinales-FABP-2<sup>76</sup>-, Proteína de transporte de ácidos grasos -FATPs<sup>77</sup>-)
- Apolipoproteínas (ApoA-I<sup>78</sup>, ApoA-II<sup>79</sup>, ApoA-IV<sup>80</sup>, apoC-III<sup>81</sup>, apoE<sup>82</sup>, ApoA-V<sup>83</sup>, apoB<sup>84</sup>, apoC-I<sup>85</sup>)
- Receptores (proteína de transferencia de TG microsomal -MTP-<sup>86</sup>, Receptor Scavenger<sup>87</sup>).

## 2.4. FACTORES HIGIÉNICO-DIETÉTICOS

Valorando la influencia del horario de comidas, las comidas nocturnas han mostrado un pico de TG más tardío y un retorno más prolongado a las concentraciones basales que puede deberse a un vaciamiento gástrico enlentecido por la noche<sup>88</sup>. El ejercicio aeróbico reduce significativamente la lipemia postprandial<sup>89</sup> e incrementa la actividad de la LPL y por tanto del aclaramiento de TG<sup>90</sup>. La respuesta postprandial a una sobrecarga oral de grasa es menor y las tasas de aclaramiento de LRT son mayores en individuos entrenados frente a no entrenados<sup>91</sup>.

En cuanto al tabaco, se ha observado una respuesta de TG un 50% mayor en fumadores habituales<sup>92</sup>, y un aumento fundamentalmente de las LRT de origen intestinal, ya que los fumadores tenían respuestas de retinilpalmitato y apoB48 postprandiales mayores que los no fumadores<sup>93</sup>.

En lo que respecta al alcohol, el etanol consumido en una comida incrementa la síntesis de AGL, eleva los TG plasmáticos<sup>94</sup> y los presentes en las VLDL, por reducción de su aclaramiento. La adición de 47.5 gr de etanol a una comida rica en grasa (54% de energía)<sup>95</sup> puede producir un aumento de hasta un 60% en la concentración pico de TG.

## 2.5. OBESIDAD, RESISTENCIA A INSULINA Y DIABETES MELLITUS TIPO 2

La obesidad, especialmente la adiposidad central, está asociada con varias alteraciones metabólicas, incluyendo la hipertrigliceridemia e hiperinsulinemia, las cuales predecirían una respuesta postprandial exagerada. Sin embargo, incluso en ausencia de estas condiciones asociadas, los sujetos obesos pueden tener TG postprandiales hasta tres veces mayores que los individuos no obesos<sup>96</sup>. La correlación



significativa entre la actividad de la LPL y la respuesta de TG postprandiales se ha observado en los sujetos sin obesidad<sup>97</sup>, lo que sugiere una relación diferente entre la actividad de la LPL y las lipoproteínas en la obesidad. Una pérdida de 10 Kg de peso condujo a una reducción en el tamaño de los QM, pero no en el número de partículas<sup>98</sup>.

Los defectos metabólicos asociados a la resistencia a la insulina incluyen un deterioro en el metabolismo de los AGL, menor aclaramiento de los remanentes de QM y un incremento en la secreción hepática de las partículas de VLDL<sup>99</sup>. En análisis de regresión múltiple, el índice HOMA (Homeostasis Model Assessment), medidor de la resistencia a la insulina, estuvo fuertemente relacionado con los niveles de colesterol en las partículas remanentes<sup>100</sup>. El grado de sensibilidad a la insulina fue un determinante de la lipemia postprandial en sujetos sanos<sup>101</sup>. El mecanismo probable de esta relación es la falta de supresión de la producción hepática de VLDL y liberación de AG por el tejido adiposo, que son suprimidas por la hiperinsulinemia aguda en sujetos sanos, mecanismo defectuoso en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 (DM). El incremento resultante en la secreción de VLDL está asociado con un tiempo de permanencia prolongado en la circulación, debido a la competencia con los QM intestinales por el mecanismo común de eliminación. Tanto en ayunas como a nivel postprandial, los niveles de colesterol en las partículas remanentes se encuentran elevados en sujetos con DM<sup>102</sup>. Las mujeres con DM tienen una mayor proporción de partículas de LDL pequeñas y densas<sup>19</sup>, y tienen niveles plasmáticos mayores de colesterol en partículas remanentes que los hombres<sup>103</sup>. Ambos parámetros contribuyen al perfil lipoproteico aterogénico observado en DM.

## **II.- OBESIDAD**

A nivel global, el exceso de peso corporal es el sexto factor de riesgo más importante para el desarrollo de enfermedades. Se calcula que 1.100 millones de adultos y un 10% de todos los niños del mundo están dentro del rango de sobrepeso/obesidad<sup>104</sup>. La Organización Mundial de la Salud (OMS) describe la obesidad como uno de los problemas de salud públicos más impudicamente visibles y descuidados, que amenaza con desbordar tanto a los países más desarrollados como a los que están en vías de desarrollo. Hipócrates (siglos V-IV a.C.) escribió que "La corpulencia no es solo una enfermedad en sí misma, sino la precursora de otras".

La etiología de la obesidad es múltiple e incluye influencias prenatales por hábitos maternos como el tabaquismo<sup>105</sup>, efecto preventivo de la lactancia materna<sup>106</sup>, edad de inicio de la obesidad<sup>107</sup> como predictor de la obesidad en edad adulta, edad (más propensas las mujeres postmenopáusicas<sup>108</sup>), baja actividad física<sup>109</sup> u otros hábitos sedentarios como ver la televisión<sup>110</sup>, sueño inadecuado<sup>111</sup>, alimentación (sobrealimentación<sup>112</sup>, pérdida de control de la ingesta<sup>113</sup>, consumo de comida rápida<sup>114</sup>, consumo nocturno<sup>115</sup>, porcentaje alto en grasas<sup>116</sup>), hábitos tóxicos como tras el abandono del tabaco<sup>117</sup>, trastornos neuroendocrinos<sup>118</sup>, trastornos genéticos<sup>119</sup>, factores socioeconómicos o étnicos<sup>120</sup> o el uso de fármacos<sup>121</sup> (neurolépticos, antidepresivos, insulina, glucocorticoides...) .

## **1.- MÉTODOS DE MEDIDA DE LA COMPOSICIÓN CORPORAL**

### **1.1. MÉTODOS ANTROPOMÉTRICOS**

Incluyen aquellos destinados a establecer de forma indirecta la cantidad de masa grasa total y la clasificación de los individuos según su peso (índice de masa corporal -IMC-, índice ponderal o medición de pliegues), y aquellos destinados a estimar la distribución de la masa grasa entre los diferentes compartimentos (índice cintura-cadera -ICC- y circunferencia abdominal).

#### **1.1.1 ÍNDICE DE MASA CORPORAL (IMC)**

El IMC es la medida de elección y más frecuentemente empleada, y se obtiene según la siguiente fórmula, siendo el peso calculado en kilogramos y la altura en metros:

$$\text{IMC} = \text{Índice de Quetelet} = \text{Peso (Kg)} / \text{Altura (m)}^2$$

Presenta los siguientes inconvenientes: no es aplicable en niños; no distingue si la sobrecarga ponderal es debido a masa grasa o magra (algunos individuos muy musculosos pueden ser considerados obesos sin serlo, aunque para la población general las variaciones de peso entre individuos de una misma talla son debidas principalmente a la masa grasa); y no aporta información alguna sobre la distribución de la grasa en los distintos compartimentos corporales.

A pesar de esto, el cálculo de IMC ha sido establecido como la medida básica en la evaluación inicial del sobrepeso y como indicador de adiposidad corporal en los estudios epidemiológicos realizados en la población adulta entre 20 y

69 años. Se tiende a aceptar como punto de corte para definir la obesidad valores para el  $IMC > 30 \text{ Kg/m}^2$ , aunque también se han definido valores superiores al percentil 85 de la distribución de referencia. Como ejemplos, la clasificación de la OMS<sup>122</sup> (**Tabla 2**), y de la Sociedad Española de Estudio de la Obesidad (SEEDO) en su consenso de 2007<sup>123</sup> (**Tabla 3**).

	<i>Grado de obesidad</i>	<i>IMC (Kg/m<sup>2</sup>)</i>
Infrapeso		<b>&lt;18.5</b>
Normopeso		<b>18.5-24.9</b>
Sobrepeso		<b>25-29.9</b>
Obesidad	I	<b>30-34.9</b>
	II	<b>35-39.9</b>
Obesidad extrema	III	<b>≥40</b>

**Tabla 2:** Definición y clasificación de la OMS de sobrepeso y obesidad según el IMC. IMC: índice de masa corporal

	<i>IMC (Kg/m<sup>2</sup>)</i>
Peso insuficiente	<b>&lt;18.5</b>
Normopeso	<b>18.5-24.9</b>
Sobrepeso grado I	<b>25-26.9</b>
Sobrepeso grado II (preobesidad)	<b>27-29.9</b>
Obesidad tipo I	<b>30-34.9</b>
Obesidad tipo II	<b>35-39.9</b>
Obesidad tipo III (mórbida)	<b>40-49.9</b>
Obesidad tipo IV (extrema)	<b>≥50</b>

**Tabla 3:** Definición y clasificación del consenso SEEDO-2007 de sobrepeso y obesidad según el IMC. IMC: índice de masa corporal

Existen diferencias en estas dos clasificaciones. Por una parte, el consenso de la SEEDO divide el sobrepeso en dos categorías, calificando al sobrepeso de grado II como preobesidad. Una segunda diferencia es la introducción de un

grado de obesidad extrema u obesidad grado IV para aquellos pacientes con un IMC  $\geq 50$  kg/m<sup>2</sup> y que son tributarios de indicaciones especiales en la elección del procedimiento de cirugía bariátrica aconsejable.

A favor de este índice se encuentra su mayor aplicabilidad, realizándose prácticamente de rutina en cualquier acto médico. Es el índice utilizado por la mayoría de estudio epidemiológicos y el recomendado por diversas sociedades médicas y organizaciones de salud internacional para el uso clínico, dada su reproducibilidad, facilidad de utilización y capacidad de reflejar la adiposidad en la mayoría de la población, hecho por el que ha sido el parámetro utilizado para estudiar y confirmar la relación entre la obesidad y diversos objetivos principales de morbimortalidad en gran cantidad de estudios (**Tabla 4**)

	<i>Objetivo principal</i>	<i>Autor</i>
MORTALIDAD	<b>Cualquier causa</b>	<b>Adams<sup>125</sup> Jee<sup>124</sup></b>
	<b>Enf.Cardiovascular</b>	<b>Ajani<sup>126</sup></b>
	<b>Cáncer</b>	<b>Calle<sup>127</sup></b>
MORBILIDAD	<b>Enf.Cardiovascular/HTA</b>	<b>Wilson<sup>128</sup></b>
	<b>Enfermedad coronaria</b>	<b>Li<sup>129</sup></b>
	<b>Insuficiencia cardiaca</b>	<b>Kenchaiah<sup>130</sup></b>
	<b>Ictus</b>	<b>Kurth<sup>131</sup></b>

**Tabla 4:** Estudios que relacionan positivamente el IMC y diversos objetivos principales de morbimortalidad. Enf: enfermedad; HTA: hipertensión arterial

### 1.1.2 OTRAS MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS

El índice cintura-cadera (ICC) es el parámetro más atractivo para la evaluación de la obesidad abdominal. Su resultado tiene una muy buena correlación con la cantidad de grasa visceral, es de muy fácil obtención y reproducible en el tiempo.

Se calcula con la fórmula:

**ICC: Perímetro de cintura(cm)/Perímetro de cadera(cm)**

Para su obtención se necesita una cinta métrica ajustada milimétricamente, el paciente debe estar de pie y con los brazos relajados a ambos lados del cuerpo. El perímetro de la cintura es la circunferencia mínima entre el reborde costal y la cresta iliaca; el perímetro de la cadera es la circunferencia máxima entre la cintura y los muslos. Se ha establecido como factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades asociadas a la obesidad cuando el índice resulta mayor de 0.9 en mujeres y mayor de 1.0 en varones. Permite clasificar anatómicamente la obesidad según la distribución de la grasa **(Tabla 5)**.

Cada vez hay más evidencias que demuestran que la determinación aislada de la circunferencia de la cintura tiene un valor similar al ICC. Se debe determinar con una cinta métrica flexible, milimetrada, con el paciente en bipedestación, sin ropa y relajado. Se debe localizar el borde superior de las cresta ilíacas y por encima de este punto rodear la cintura con la cinta métrica de manera paralela al suelo, asegurando que esté ajustada, pero sin comprimir la piel. La lectura se realizará al final de una espiración normal. En la raza europea se considera factor de riesgo cuando es

mayor de 82 cm en mujeres y más de 95 cm en varones (siendo el riesgo muy elevado cuando es mayor de 88 cm en mujeres y 102 cm en varones). Es cada vez más utilizado, y ha tomado un valor preponderante en los criterios diagnósticos de síndrome metabólico según el ATP-III y la Federación Internacional de Diabetes, por encima del IMC.

<b>OBESIDAD CENTRAL ABDÓMINOVISCERAL o VÍSCEROPORTAL (ANDROIDE)</b>
<p><b>Acúmulo de grasa en <i>región abdominal, tórax y cara</i></b>  <b>ICC: &gt;1.0 en varones</b>  <b>&gt;0.9 en mujeres</b>  <b>Mayor riesgo de enfermedad asociadas: insulinoresistencia</b>  <b>Subtipos: <i>Subcutánea o Visceral (TAC o RM)</i></b></p>
<b>OBESIDAD PERIFÉRICA GLÚTEO-FEMORAL (GINECOIDE)</b>
<p><b>Acúmulo de grasa en <i>caderas y glúteos</i></b>  <b>ICC: &lt;1.0 en varones</b>  <b>&lt;0.8 en mujeres</b>  <b>Menor riesgo de enfermedades asociadas</b></p>

**Tabla 5:** Clasificación de la obesidad según la distribución anatómica de la grasa. ICC: índice cintura-cadera; TAC: tomografía axial computerizada; RM: resonancia magnética

El índice ponderal también se denomina índice de Rohrer. Se calcula mediante la división del peso (expresado en Kg) y la altura (en metros). Se usa principalmente para las desviaciones de talla extremas.

La utilidad de la medición de los pliegues cutáneos deriva de que la grasa subcutánea representa el 50% de la grasa total del organismo. Para realizar la medición de usa el calibrador o caliper, y su resultado se obtiene en milímetros. En cada zona se realizan tres mediciones y se hace la media aritmética, siendo esta el resultado final para cada pliegue. Se

consideraría obesidad cuando la medición es superior al percentil 85 en las tablas de referencia.

Los pliegues cutáneos más usados son:

- Tricipital: Punto medio entre olécranon y acromion
- Bicipital: Cara anterior del brazo a la misma altura que el pliegue tricipital. Ambos en brazo no dominante.
- Subescapular: 1 cm bajo el ángulo inferior de la escápula con los brazos relajados.
- Suprailíaco: 2 cm por encima de la cresta ilíaca izquierda, en la línea media.

Dentro de las distintas clasificaciones y criterios diagnósticos para el diagnóstico de Síndrome Metabólico, varía el papel que se le concede a la obesidad o adiposidad excesiva y la medida antropométricas usada en cada una de ellas. Por ejemplo:

- La OMS la considera un criterio auxiliar y puede ser satisfecha por una obesidad global y determinada por el IMC (>30 en ambos sexos) o el ICC (> 0.9 en hombres, >0.85 en mujeres)
- El panel de expertos ATP-III equipara en importancia a todos los criterios diagnósticos, entre ellos la adiposidad, exclusivamente medida por la circunferencia de la cadera (> 102 cm en hombres, >88 cm en mujeres)<sup>132</sup>
- La Federación Internacional de Diabetes (IFD) considera la adiposidad imprescindible para el diagnóstico, medida por la circunferencia de la cadera (94 cm en hombres europeos y 80 cm en mujeres europeas, con valores específico de corte para otras etnias), aunque indicando que si el IMC es superior a



30, se puede asumir obesidad central y no es necesario la medicación de la circunferencia de la cadera<sup>133</sup>.

Pese a esto, no es obvio a priori que la circunferencia de la cadera sea un predictor superior de los efectos adversos de la adiposidad excesiva, aunque sea considerado el criterio diagnóstico esencial para la versión de síndrome metabólico de la IFD. El peso y la altura son medidas de rutina que son fácilmente cuantificadas, en contraste a la circunferencia de la cadera, que no está tan extendida ni estandarizada. Además, el IMC ha sido ampliamente usado para definir el estado de obesidad y la clasificación de peso normal, sobrepeso y obesidad está basado en el uso de IMC.

Por ejemplo, en el estudio NHANRES III, las mediciones obtenidas de 15000 participantes indicaron que el coeficiente de correlación entre el IMC y la circunferencia de la cadera fue superior a 0.9, independiente de la edad, sexo o raza. Por eso, no es sorprendente que posteriormente se haya descrito una correlación entre el grado de adiposidad y resistencia a la insulina similar ( $r=0.6$ ), independientemente del parámetro usado para determinar el grado de obesidad<sup>134</sup>, con una alta correlación entre ambos ( $r=0.9$ ).

## **1.2. OTROS MÉTODOS NO ANTROPOMÉTRICOS DE MEDIDA DE LA COMPOSICIÓN CORPORAL**

Otros métodos de uso clínico menos frecuente quedan reflejados en la **Tabla 6**.

<b>CONDUCTANCIA ELÉCTRICA</b>
<b>Impedancia Corporal</b> <b>Conductividad Eléctrica Corporal (TOBEC)</b>
<b>ABSORCIOMETRÍA</b>
<b>Absorciometría de fotón único (SPA)</b> <b>Absorciometría de doble fotón (DPA)</b> <b>Absorciometría de Rayos X de doble energía (DEXA)</b>
<b>DIAGNÓSTICO POR IMAGEN</b>
<b>Ecografía</b> <b>Tomografía axial computerizada (TAC)</b> <b>Resonancia Magnética (RM)</b>
<b>OTROS MÉTODOS</b>
<b>Densitometría por inmersión</b> <b>Agua corporal total</b> <b>Potasio corporal total</b> <b>Análisis de activación de neutrones</b> <b>Espectrofotometría o interactancia por infrarrojos</b> <b>Captación de gases inertes liposolubles</b>

**Tabla 6:** Métodos no antropométricos de medida de la composición corporal

## **2.- LA GRASA COMO UN ÓRGANO ENDOCRINO**

Hasta fechas recientes, el papel de la grasa en el desarrollo de la obesidad y sus consecuencias ha sido considerado pasivo; los adipocitos se describían básicamente como células de almacenamiento de grasa. Ahora sabemos, sin embargo, que los adipocitos son un componente vital del control metabólico y los órganos endocrinos. Este hecho fue inicialmente comprobado en modelos de ratones alterados genéticamente, de manera que carecían del tejido adiposo

blanco, condicionando una diabetes lipoatrófica severa: resistencia a la insulina, hiperglucemia, hiperlipemia e hígado graso<sup>135</sup>. El trasplante de tejido adiposo desde ratones sanos a lipoatróficos, llevó a la corrección de la hiperglucemia, descenso de las concentraciones de insulina, mejora de la sensibilidad a la insulina, descenso de TG séricos, de la glucogenogénesis hepática y del depósito de grasa en músculo e hígado. En otras palabras, la introducción de adipocitos en dichos ratones transformó el fenotipo descrito, siendo, por tanto, la ausencia de adipocitos metabólicamente perjudicial.

La adiposidad central, una de las características principales del síndrome de resistencia a la insulina y/o síndrome metabólico, es la base de la hipótesis que establece que el aumento de la adiposidad, particularmente en los depósitos viscerales, conlleva a un mayor flujo de AGL a los tejidos y la inhibición de la acción de la insulina en tejidos sensibles a la misma. La alta disponibilidad de AGL reduce el uso muscular de glucosa, estimula fuertemente la producción hepática de glucosa y VLDL y potencia la secreción de insulina estimulada por la glucosa.

El depósito de grasa ectópica<sup>136</sup> es una causa importante de resistencia a la insulina en humanos. En la mayoría de las personas obesas, los lípidos se dirigen hacia el músculo esquelético, hígado y, probablemente, las células beta, y el grado de infiltración lipídica se correlaciona estrechamente con la resistencia a la insulina. Además, el tamaño de la célula grasa está asociado con la resistencia a la insulina y la DM. Estas observaciones apoyan a la lipodistrofia adquirida como hipótesis de unión entre la adiposidad y la resistencia a la insulina.

El tejido adiposo ha sido tradicionalmente considerado como un órgano de almacenamiento de energía. Sin embargo,

en las últimas décadas ha emergido como un órgano endocrino<sup>137</sup>. Produce multitud de péptidos bioactivos, conocidos como citoquinas, que influyen en la función de los adipocitos de modo autocrino y paracrino, además de afectar a diversas vías metabólicas a través del torrente circulatorio. El concepto de tejido adiposo blanco como órgano endocrino se estableció en 1995, con el descubrimiento de la leptina y sus funciones biológicas<sup>138</sup>. Al ser el tejido adiposo el más extenso del cuerpo humano, la cantidad total de adipoquinas tiene gran impacto en la función corporal, integrando un sistema de comunicación con otros tejidos y órganos, como músculo esquelético, corteza adrenal, cerebro y sistema nervioso simpático, que participa en el apetito y en el balance energético, inmunidad, sensibilidad a la insulina, angiogénesis, presión sanguínea, metabolismo lipídico y homeostasis.

### **2.1. LEPTINA**

La leptina es sintetizada en los adipocitos y liberada en respuesta a cambios en la grasa corporal. Está codificada por el gen *Ob*, nombre proveniente del inglés "Obesity Mice". Circula parcialmente unido a proteínas plasmáticas, introduciéndose en el sistema nervioso central por dos mecanismos: en la eminencia media, por difusión a través de las uniones capilares y en el plexo coroideo, por transporte asociado a un receptor saturable. En el hipotálamo, la leptina se une a receptores que estimulan péptidos anorexígenos como la proopiomelanocortina e inhiben péptidos orexígenos como el neuropéptido Y<sup>139</sup>.

La leptina reduce los niveles lipídicos intracelulares en el músculo esquelético, hígado y células pancreáticas beta, debido a la mejora en la sensibilidad a la insulina. La acción

dominante de la leptina es actuar como una "señal de hambre". La leptina decrece rápidamente durante el ayuno y produce un aumento en los glucocorticoides y un descenso en la tirosina, hormonas sexuales y hormona del crecimiento. Además, el característico descenso en la termogénesis durante el ayuno y la hiperfagia consecuente está mediado, al menos en parte, a través de un descenso en la leptina. Por consiguiente, la deficiencia de leptina se percibe como un estado de inanición no mitigado, que lleva a respuestas compensadoras, como la hiperfagia, descenso en la tasa metabólica y cambios en los niveles hormonales, dirigido a restaurar el balance energético<sup>140</sup>.

La administración de leptina recombinante subcutánea dos veces al día consiguió un descenso de la ingesta calórica diaria así como de la tasa de metabolismo y basal en niños con obesidad severa y sin leptina funcional<sup>141</sup> y en sujetos con DM y lipodistrofia<sup>142</sup>. Además en estos últimos se vió una reducción de la hemoglobina glicosilada, de los TG, del volumen hepático y la suspensión o reducción de la medicación antidiabética.

El concepto de resistencia a la leptina se introdujo tras observar niveles aumentados de leptina en individuos obesos<sup>143</sup> que no eran deficitarios de leptina. En general, las concentraciones de leptina están altamente relacionadas con el IMC. La base molecular de la resistencia a la leptina aún no ha sido establecida, aparte de las mutaciones en el receptor de la leptina<sup>144</sup>. Éstas pueden condicionar familias de obesos mórbidos, hiperfágicos, con un desarrollo sexual fallido y sin respuesta a tests con TRH y hormonas del crecimiento, lo que sugiere un papel crucial de la leptina en la regulación neuroendocrina<sup>145</sup>.

En el estudio WOSCOPS (*the West of Scotland Coronary Prevention Study*) se mostró por primera vez que la leptina podría ser un factor de riesgo independiente de enfermedad coronaria, al encontrarse en condiciones basales más elevada en sujetos con eventos coronarios<sup>146</sup>. Los ensayos *in vitro* e *in vivo* revelan que la leptina tiene actividad angiogénica<sup>147</sup> y contribuye a la trombosis arterial a través del receptor plaquetario de leptina<sup>148</sup>. También estimula la producción de radicales de oxígeno como resultado de la activación monocitaria *in vitro*<sup>149</sup>.

## 2.2. ADIPONECTINA

También llamada Adipo Q o proteína adipocítica relacionada con el complemento (Acrp 30), a causa de su homología con el factor del complemento C1q. Está casi exclusivamente expresada en el tejido blanco adiposo. Las concentraciones de adiponectina circulante son altas (500-30000 microgramos/l), lo que supone un 0.01% del total de proteínas plasmáticas. Está presente en el suero como un trímero, hexámero o isoforma de alto peso molecular<sup>150</sup>. La isoforma de alto peso molecular activa la proteinquinasa activada por AMP (AMPK) en hepatocitos<sup>151</sup>. En el músculo, ésta solo se activa por los trímeros, mientras que los hexámeros y la isoforma de alto peso molecular activan el factor nuclear de transcripción  $K\beta$  (NF- $K\beta$ )<sup>152</sup>. Estos diferentes patrones de expresión de los dos receptores de adiponectina según el tejido pueden contribuir a estas actividades divergentes<sup>153</sup>.

La adiponectina tiene también propiedades antiaterogénicas, mostradas *in vitro* a través de la inhibición de la adhesión de monocitos a las células endoteliales y de la transformación de los macrófagos en células espumosas

(gracias a la regulación de los receptores *scavengers*<sup>154</sup>) y de la activación de las células endoteliales (gracias a la menor producción de moléculas de adhesión y la inhibición del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) y el NF- $\kappa$ B<sup>155</sup>).

La IL-6 y el TNF- $\alpha$  son potentes inhibidores de la expresión y secreción de adiponectina, lo que se ha observado tanto en biopsias de tejido adiposo blanco como en cultivos de células adiposas<sup>156</sup>. Por el contrario, sus niveles plasmáticos y expresión génica en el tejido adiposo blanco se ven elevados por la pérdida de peso, la restricción calórica y fármacos como las tiazolidinedionas, vía receptor nuclear PPAR- $\gamma$ <sup>157</sup>.

Se ha descrito que, en ratones lipoatróficos a los que se administró una combinación de adiponectina y leptina a dosis fisiológicas, la resistencia a la insulina revirtió completamente, mientras que con adiponectina o leptina sola sólo lo hizo parcialmente<sup>158</sup>. Esto sugiere que ambas trabajan juntas para sensibilizar los tejidos periféricos a la insulina. Sin embargo, la adiponectina mejora la resistencia a la insulina pero no la obesidad en ratones homocigotos para el gen Ob (ob/ob) deficientes en leptina<sup>153</sup>, por lo que la adiponectina y la leptina parecen tener funciones distintas aunque solapadas.

Se han clonado dos receptores para la adiponectina, adipo-R1 y adipo-R2, que se expresan predominantemente en músculo e hígado. La sensibilización a la insulina ligada a la acción de la adiponectina está mediada, al menos en parte, por la activación de AMPK en el músculo esquelético y el hígado, que incrementa la oxidación de los AG y reduce la producción hepática de glucosa<sup>159</sup>. Al contrario que la mayoría de adipocinas, la expresión y la concentración sérica de adiponectina se encuentran disminuidas en los obesos y los estados de resistencia a la insulina.

La elevación en plasma de adiponectina está asociado con un riesgo reducido de IAM en hombres<sup>160</sup>. En pacientes con DM, los niveles elevados de adiponectina se relacionan con un descenso moderado del riesgo de enfermedad coronaria, lo cual está mediado a través del efecto de la adiponectina sobre las HDL<sup>161</sup>. Por el contrario, en los indios americanos, población con riesgo especial de obesidad y DM, la adiponectina no se correlaciona con la incidencia de enfermedad coronaria<sup>162</sup>. En estudios observacionales<sup>163,164</sup> se ha descrito que niveles altos de adiponectina disminuyen la probabilidad de desarrollar DM.

### **2.3. RESISTINA**

La resistina humana es una proteína dimérica que contiene 108 aminoácidos. También es conocida como FIZZ3 o factor secretor específico del adipocito. Tiene otros homólogos, como la FIZZ1 o resistina-like  $\alpha$  (RELM- $\alpha$ ), que fue la primera descrita en lavados broncoalveolares por Holcomb y cols.;<sup>165</sup> y la FIZZ2 o RELM- $\beta$ , que se localiza en el epitelio de la cripta intestinal<sup>166</sup>.

En modelos de roedores, la obesidad está asociada con elevaciones de las concentraciones de resistina circulante<sup>167</sup>. La resistina incrementa la glucosa en sangre y las concentraciones de insulina y empeora la respuesta hipoglucémica a la infusión de insulina<sup>168</sup>. En ratones obesos, los anticuerpos antirresistina disminuyen la glucosa plasmática y mejoran la sensibilidad a la insulina<sup>169</sup>. En humanos, este papel todavía es controvertido. Al ser la resistina primariamente producida en monocitos de sangre periférica y estar sus niveles correlacionados con los de IL-6<sup>170</sup>, existe controversia sobre su papel inflamatorio<sup>171,172</sup>.



Dos genes situados en el cromosoma 19 codifican la resistina en humanos<sup>173</sup>. Algunos estudios de casos y controles han demostrado que las variaciones genéticas en el gen de la resistina están asociadas con la resistencia a la insulina y la obesidad en los humanos<sup>174-176</sup>. Otros muestran que la muy escasa expresión de ARN mensajero (ARNm) de resistina en adipocitos humanos aislados no se correlaciona consistentemente con la resistencia a la insulina, por lo que el papel de la resistina humana en la resistencia a la insulina no está claro<sup>177,178</sup>. Se ha comunicado una mayor expresión de ARNm de resistina en depósitos de grasa abdominal que en el muslo<sup>179</sup>, pero no se han observado diferencias en su expresión entre adipocitos de individuos normales, resistentes a la insulina o con DM<sup>180,181</sup>.

### **2.4. OTRAS ADIPOCINAS**

La IL-6 es una citoquina circulante como una proteína glicosilada secretada por muchos tipos celulares, que incluyen células inmunes, fibroblastos, células endoteliales, músculo esquelético y tejido adiposo, en este último en un 10%. La grasa del epiplon produce tres veces más IL-6 que la grasa del tejido adiposo subcutáneo, así como las células aisladas tomadas de dichos tejidos<sup>182</sup>. La pérdida de peso reduce significativamente los niveles de IL-6 en suero y tejido adiposo<sup>183</sup>. Las concentraciones de IL-6 se correlacionan positivamente con la obesidad humana y la resistencia a la insulina, y los niveles elevados de IL-6 son predictivos de DM e IAM<sup>184</sup>. La administración de IL-6 en voluntarios sanos incrementó la glucosa de forma dosis-dependiente, probablemente por inducción de resistencia a la insulina, que podría estar mediado en parte por la supresión de la citoquina señalizadora 3 (Cytokine signalling 3- SOCS-3), el incremento

de AGL circulantes del tejido adiposo, y la reducción en la secreción de adiponectina<sup>185,186</sup>.

El TNF- $\alpha$  fue el primer producto secretado por el tejido adiposo propuesto como vínculo metabólico entre la obesidad y la resistencia a la insulina<sup>187</sup> y, de hecho, la neutralización del TNF- $\alpha$  mejora la resistencia a la insulina en ratas obesas<sup>188</sup>. La producción de TNF- $\alpha$  desde la grasa alrededor de la arteriola, que inhibe la síntesis de NO,<sup>189</sup> sugiere una homología entre la grasa periarteriolar vasoactiva y la visceral, lo que explicaría relaciones entre grasa visceral, resistencia a la insulina y enfermedad vascular. El ARNm de TNF- $\alpha$  en el tejido adiposo se correlaciona con el IMC, porcentaje de grasa corporal e hiperinsulinemia, produciendo la pérdida de peso una disminución de los niveles de TNF- $\alpha$ <sup>190</sup>. El efecto del TNF- $\alpha$  sobre el incremento de la liberación de AGL por los adipocitos y la síntesis reducida de adiponectina podrían explicar su vinculación con la resistencia a la insulina. Se observó un mayor riesgo de eventos coronarios entre las personas con los niveles más altos de TNF- $\alpha$  tanto en el estudio CARE (*Cholesterol And Recurrent Events trial*)<sup>191</sup>, en el *Health ABC*<sup>192</sup> y en los varones participantes en el *Health Professionals Follow-Up Study* y el *Nurses' Health Study*<sup>193</sup>.

Otros citoquinas conocidas son:

- ASP (proteína estimuladora de la acilación): estimula el depósito de TG en las células adiposas a través de la reesterificación de AG y la inhibición de la lipólisis<sup>194</sup>, encontrándose elevada en obesos<sup>195</sup> y pacientes coronarios.
- PAI-1 (inhibidor de la activación del plasminógeno): Sintetizado en hígado y tejido adiposo, regula la formación de trombos mediante la inhibición del

activador del plasminógeno tisular. Las concentraciones séricas se elevan con la adiposidad visceral, disminuyendo con la restricción calórica, ejercicio, pérdida de peso y el tratamiento con metformina<sup>130</sup>. En *The Insulin Resistance Atherosclerosis Study*, el PAI-1 apareció como un marcador inflamatorio precoz de DM, siendo sus niveles mayores en aquellos que evolucionaron de resistentes a la insulina a diabéticos, independientemente de la sensibilidad a la insulina y el IMC<sup>197</sup>.

- Angiotensinógeno: La producción aumentada de angiotensinógeno podría también contribuir a aumentar la masa adipocítica, debido a que la angiotensina II actúa localmente como un factor trófico para la formación de nuevas células grasas<sup>198</sup>.
- 11-Hidrosteroides Deshidrogenada (11-HSD): es un enzima que cataliza la interconversión de cortisol activo y cortisona inerte. Al no detectarse diferencias en su actividad entre obesos con DM y obesos no diabéticos, se sugiere que la disregulación de la actividad de la 11-HSD se asocia más cercanamente con la obesidad que con el fenotipo diabético<sup>199</sup>.
- Aromatasa: Transforma la androstenodiona en estrona. La producción de estrógenos en la grasa aumenta con el peso corporal y la edad. Los estrógenos derivados del tejido adiposo conducen la grasa al tejido subcutáneo y mamas, donde los andrógenos promueven la acumulación central o visceral de grasa<sup>200</sup>.
- Visfatina: es una adipocina descubierta en la grasa visceral humana. Ejerce acciones insulínimiméticas en

células cultivadas y desciende los niveles de glucosa plasmática en ratones a través de la activación del receptor de la insulina<sup>201</sup>.

- Quemerina<sup>202</sup>, Orosomucoide<sup>203</sup>: nuevas adipocinas asociadas con los valores de IMC.

### **3.- TEJIDO ADIPOSO E INFLAMACIÓN**

A medida que los adipocitos se hipertrofian en un contexto de obesidad, el tejido adiposo sufre alteraciones celulares y moleculares que afectan al metabolismo sistémico. Los AGL circulantes y el glicerol provenientes de los adipocitos aumentan en las personas obesas respecto a las delgadas<sup>204</sup>, lo que promueve resistencia a la insulina en tejidos periféricos como el músculo esquelético<sup>205</sup>. El aumento de AGL se potencia por la alteración en la expresión de perilipinas, deficitaria en los individuos obesos<sup>206</sup>. Las perilipinas son fosfoproteínas que se encuentran en la superficie de los depósitos de triacilglicerol y actúan evitando que las lipasas hidrolicen los TG para facilitar la producción de AGL<sup>207</sup>.

Como se observó en mujeres premenopáusicas obesas (IMC medio 37.2 Kg/m<sup>2</sup>), el tejido adiposo muestra una expresión mayor de proteínas proinflamatorias, con concentraciones basales aumentadas de TNF- $\alpha$ , IL-6, P-selectina, ICAM-1, VCAM-1, así como una peor respuesta vascular a L-arginina, el precursor natural del NO. En estas mismas mujeres, una pérdida del 10% de peso corporal produjo un descenso de las concentraciones de citoquinas y moléculas de adhesión, así como la mejora en la respuesta vascular<sup>208</sup>.

El número de macrófagos en el tejido adiposo también se incrementa con la obesidad<sup>209,210</sup>, fagocitando adipocitos

moribundos, que están aumentados en la obesidad. Estos macrófagos son responsables de gran parte de la producción de citoquinas en el tejido adiposo del obeso<sup>211</sup>.

Este estado inflamatorio de bajo grado, así como los cambios en la expresión de adipocinas (aumento de niveles de resistina y leptina y disminución de los de adiponectina), afectan a la homeostasis glucémica, función endotelial vascular y el sistema de la coagulación, acelerando la aterosclerosis. Por ello, se propone como el puente de unión entre síndrome metabólico, obesidad y resistencia a la insulina con la enfermedad cardiovascular. De hecho, la aterosclerosis está reconocida actualmente como un proceso inflamatorio de la pared arterial. Los monocitos se adhieren al endotelio y migran al espacio subendotelial, donde se convierten en células espumosas cargadas con lipoproteínas oxidadas. La producción por parte de las células espumosas de metaloproteasas lleva a la ruptura de la capa fibrosa de la placa aterosclerótica y posteriormente de la placa en sí<sup>212</sup>.

En este proceso inflamatorio, las adipocinas juegan múltiples papeles. El TNF- $\alpha$  aumenta la actividad del NF- $\kappa$ B, con los consecuentes cambios inflamatorios en el tejido vascular. Estos incluyen la expresión aumentada de ICAM-1 y VCAM-1<sup>213</sup>, facilitando la adhesión monocitaria a la pared del vaso, mayor producción de MCP-1 (proteína quimio-atrayente de monocitos) y M-CSF (factor estimulante de colonias de macrófagos) de las células endoteliales y musculares lisas vasculares<sup>214</sup> y la expresión del macrófago de sintasa de NO, ILs o dismutasa superóxido<sup>215</sup>. La leptina, especialmente en presencia de niveles elevados de glucosa, estimula al macrófago a acumular colesterol<sup>216</sup>. La IL-6 incrementa la actividad inflamatoria *per sé* y mediante el aumento de la IL-1

y el TNF- $\alpha$ <sup>217</sup>. Además, la IL-6 estimula la producción hepática de PCR, predictor de aterosclerosis<sup>218</sup>. Por otra parte, aumenta la resistencia a la insulina disminuyendo los niveles de visfatina.

Las concentraciones de PAI-1, reguladas por NF- $\kappa$ B, están anormalmente altas en la hiperglucemia, la obesidad y la hipertrigliceridemia<sup>219</sup>, debido a la expresión aumentada del gen del PAI-1<sup>220</sup>. Inhibe la degradación del tapón de fibrina, favoreciendo la formación de trombos sobre las placas ateroscleróticas rotas<sup>221</sup>. En humanos, los niveles de PAI-1 circulantes se correlacionan con eventos ateroscleróticos y mortalidad, y algunos estudios sugieren que el PAI-1 es un factor de riesgo independiente para enfermedad coronaria<sup>222</sup>.

La angiotensina II estimula la expresión de ICAM, VCAM, MCP-1 y M-CSF en la pared de células vasculares<sup>223</sup>. Reduce la biodisponibilidad del NO con pérdida de la capacidad vasodilatadora y el aumento de la adhesión plaquetaria a la pared vascular<sup>224</sup>.

En humanos, la disfunción endotelial es indicativa de los estados preclínicos de aterosclerosis y pronóstica de futuros eventos cardiovasculares<sup>225,226</sup>. El aumento de adipocinas proinflamatorias puede contribuir al desarrollo de disfunción endotelial, siendo particularmente interesante el papel de la resistina. Los estudios *in vitro* muestran que la resistina activa la célula endotelial, dado que al incubarse con resistina humana recombinante, produce más endotelina y VCAM-1<sup>227</sup>. La resistina humana recombinante también induce más expresión de ARNm de VCAM, ICAM y pentraxina-3 de células endoteliales, expresando un patrón bioquímico de disfunción endotelial<sup>228</sup>. Además, la resistina induce la proliferación de células musculares lisas aórticas<sup>229</sup>.

## Introducción

Por ende, la reducción de la masa del tejido adiposo prevendrá del síndrome metabólico y del desarrollo de aterosclerosis.

### **III.- SÍNDROME METABÓLICO, TEJIDO ADIPOSO Y LIPEMIA POSTPRANDIAL**

En un reciente metaanálisis, el síndrome metabólico se ha asociado con un incremento de los eventos cardiovasculares y de la mortalidad por todas las causas<sup>230</sup>. No sólo los TG aumentados en ayunas<sup>231</sup>, componente del síndrome metabólico, es factor de riesgo independiente para la enfermedad vascular, sino también las LRT derivadas de la ingesta durante la fase postprandial<sup>232,233</sup>.

Jackson y *cols.* han demostrado la relación entre la presencia de un mayor número de componentes del síndrome metabólico y la extensión de la lipemia postprandial<sup>234</sup>, lo que determina la relevancia de mitigar el efecto de la fase postprandial, sobre todo en estos sujetos<sup>235</sup>.

Se ha observado que tanto la cantidad como la composición en grasa de la dieta influyen en alteraciones presentes en el estado postprandial, como la disfunción endotelial<sup>236</sup>, el estrés oxidativo<sup>237</sup> y los estados proinflamatorios<sup>238</sup> y procoagulantes<sup>239</sup>.

En los siguientes apartados, analizaremos los trabajos más relevantes que han estudiado la respuesta postprandial a una sobrecarga grasa de las principales adipocinas y moléculas solubles de adhesión implicadas en dichas alteraciones postprandiales, y los escasos estudios que han comparado distintos tipos de grasa.



## 1.- RESPUESTA POSTPRANDIAL DE ADIPOCINAS A UNA SOBRECARGA GRASA

### 1.1. ADIPONECTINA

Tanto los estudios realizados con una sobrecarga con bajo o medio contenido en grasa (**Tabla 7**), como aquellos que utilizaron una sobrecarga con alto contenido en grasa (**Tabla 8**), no mostraron una respuesta constante en la variación postprandial de adiponectina, con aumento, disminución o sin cambio respecto al basal.

Autor	Muestra	Grasa comida	h	Cambio
Esposito <sup>244</sup>	30 DM 15♂/15♀	16-19 gr (2.2 gr AGS)	4	↓
	30 S 15♂/15♀			=
Hotta <sup>245</sup>	7S 3♂/4♀ 6DM 4♂/2♀	NE (varias comidas)	22	=
Imbeault <sup>246</sup>	15 ♂ SP	23.3 gr	1	=
English <sup>247</sup>	13 Ob	24.6 gr	3	↑
	11 S			=
Karlsson <sup>248</sup>	10 ObM 10 S	CE (770 Kcal)	3	=
Paniagua <sup>249</sup>	11 RI (4♂/7♀)	9.84 gr (20%: 6% AGS; 8% AGM; 6%AGP)	3	=
		18.7 gr (38%: 9% AGS; 23%AGM; 6%AGP)		
		18.7 gr (38%: 23% AGS; 9%AGM; 6%AGP)		
Shimabukoro <sup>240</sup>	12S 6♂/6♀	17.36 gr	4	=
Yamauchi <sup>241</sup>	33S 12♂/21♀	35 gr	4	=
Gil-Campos <sup>242</sup>	34Ob23♂/11♀ 20S 13♂/7♀	15.52 gr	3	=
Caixas <sup>243</sup>	7 S	25 gr	6	=
	7 Ob			↓ (4h)
	7 SPW			

**Tabla 7:** Variación postprandial de adiponectina en estudios con moderado, bajo o no especificado contenido de grasa. DM: Diabetes Mellitus tipo 2; S: Sanos; NASH: Esteatohepatitis no alcohólica; SM: Síndrome metabólico; SP: Sobrepeso; Ob: Obesos; ObM: Obesos mórbidos; RI: Resistencia a la insulina; SPW: Síndrome de Prader-Willi. NE: No estandarizada; CE: Comida estándar; AGS: Ácidos grasos saturados; AGM: Ácidos grasos monoinsaturados; AGP: Ácidos grasos poliinsaturados

<i>Autor</i>	<i>Muestra</i>	<i>Grasa comida</i>	<i>h</i>	<i>Cambio</i>
Esposito <sup>244</sup>	30 DM 15♂ / 15♀	52 gr (20.4 gr AGS)	4	↓
	30 S 15♂/15♀			↓
Musso <sup>251</sup>	25 NASH 23♂/2♀	78.3 gr (55.6% AGS, 29.6% AGM, 14.8% AGP)	10	↓ (8 y 10h)
	25 S 23♂/2♀			↑ (6h)
Rubin <sup>252</sup>	27 SM/83 noSM ♂	58 gr (65% AGS)	4	↓
Peake <sup>253</sup>	20 S 24 AF DM	80 gr (40 gr AGS)	6	=
Ozeki <sup>254</sup>	11 S 6♂/5♀	30 gr/m <sup>2</sup> (64.3% AGS, 29.3% AGM, 3.5% AGP)	8	=
Shimabukoro <sup>240</sup>	12S 6♂/6♀	30 gr/m <sup>2</sup>	4	=
Poppitt <sup>250</sup>	18 ♂S	59.1 gr (70.5%AGS)	6	=
		59.1 gr (54.4% AGS)		

**Tabla 8:** Variación postprandial de adiponectina en estudios con alto contenido de grasa. DM:Diabetes Mellitus tipo 2;S:Sanos; NASH: Esteatohepatitis no alcohólica; SM: Síndrome metabólico; AGS: Ácidos grasos saturados; AGM: Ácidos grasos monoinsaturados; AGP: Ácidos grasos poliinsaturados

Los trabajos han sido muy variables en cuanto a la población participante, el contenido en grasa de la comida ingerida o las horas de seguimiento postprandial.

La hiperinsulinemia aguda ha sido asociada con las concentraciones plasmáticas de adiponectina<sup>255</sup>, dada la capacidad de la insulina para suprimir la expresión génica de la adiponectina<sup>244</sup>. Sin embargo, esta relación no se ha observado en varios de los estudios publicados, incluso en los que la comida utilizada tenía muy bajo contenido en HC o carecía de ellos, de manera que se previniera el aumento postprandial de glucosa e insulina. Esto sugiere que la insulina no juega un papel relevante en el control de la adiponectina, al menos en situación postprandial.

De forma interesante, algún estudio también ha mostrado la relación entre los niveles de adiponectina basal y

la respuesta lipémica postprandial<sup>251</sup>, tanto de TG plasmáticos totales, como del metabolismo de las LRT, al haberse observado que la adiponectina puede regular hasta en un 25% la actividad de la LPL<sup>256</sup>, y ser un importante regulador del catabolismo de la apoB de VLDL, independientemente de otras adipocinas o los índices de resistencia a la insulina<sup>257</sup>.

## 1.2. RESISTINA

Autor	Muestra	Grasa comida	h	Cambio
Paniagua <sup>249</sup>	11 RI 4♂/7♀	9.84 gr (20%: 6%; AGS 8% AGM; 6%AGP)	3	=
		18.7 gr (38%: 9% AGS 23%AGM 6%AGP)		
		18.7 gr (38%: 23% AGS 9%AGM 6%AGP)		
Yamauchi <sup>241</sup>	33S 12♂/21♀	35 gr	4	↓
Gruendel <sup>258</sup>	19 ♂S	23.2 gr	5	↑

**Tabla 9:** Variación postprandial de resistina en estudios con sobrecarga grasa moderada. RI: Resistencia a la insulina; S: Sanos; AGS: Ácidos grasos saturados; AGM: Ácidos grasos monoinsaturados; AGP: Ácidos grasos poliinsaturados

Los escasos estudios que han analizado la resistina a nivel postprandial en humanos han empleado una cantidad moderada de grasa, ninguno un alto contenido (**Tabla 9**).

La variabilidad en la respuesta se puede explicar por la escasa uniformidad de los estudios en cuanto al contenido calórico, la cantidad de grasa o incluso la población participante. Aunque los estudios de Yamaouchi y Gruendel están realizados en población sana y delgada, difieren en 3 puntos de IMC (23 vs 20.4 Kg/m<sup>2</sup>, respectivamente). La resistina en humanos está producida en monocitos y macrófagos (a diferencia de los ratones, donde es producida en los adipocitos). A medida que aumenta el peso y el IMC,

los macrófagos infiltran el tejido adiposo<sup>259</sup>, y podrían variar en su respuesta respecto a los monocitos circulantes.

### 1.3. LEPTINA

Los resultados de estudios realizados con sobrecargas con alto contenido en grasa (**Tabla 10**) así como con moderado o bajo contenido (**Tabla 11**) y su variación respecto al basal se presentan en las siguientes tablas.

En general, se ha observado mayor respuesta en distintos sentidos cuando se ha usado un alto contenido en grasa, siendo la respuesta más neutra cuando el contenido graso era moderado o bajo.

Autor	Muestra	Grasa comida	h	Cambio
Imbeault <sup>264</sup>	12 ♂ S	60 gr/m <sup>2</sup>	8	↑
	12♂ Ob			↓
Poppitt <sup>265</sup>	18 ♂S	59.1 gr (70.5%AGS; 25.1%AGM/P)	6	↓
		59.1 gr (54.4% AGS; 42.5 AGM/P)		↓
Giacco <sup>266</sup>	16 ♂S	55.35 gr (50%AGS)	8	=
Romon <sup>267</sup>	8Ob 11S ♀	70 gr	9	=
Joannic <sup>268</sup>	12 ♂S	66.6 gr	8	↑
Dallongeville <sup>269</sup>	18 ♂ S	1 gr/Kg	10	↓ (2h, NS) ↑ 6,8 y 10 h
Romon <sup>260</sup>	11 ♂S	70.71 gr (94.5%AGS)	9	=
	11 ♀S			↑ ( 5 y 9 h)
Guerci <sup>261</sup>	16Ob 4♂,12♀	84 gr (35 gr AGS 30 gr AGM 15 gr AGP)	8	↓ (6h)
	16 S 4♂,12♀			=
Monteleone <sup>262</sup>	14 ♀S	101.41 gr	3	=
Tentolouris <sup>263</sup>	15Ob 15S ♀	52 gr	3	=

**Tabla 10:** Variación postprandial de leptina en estudios con alto contenido de grasa. S: Sanos; Ob: Obesos; AGS: Ácidos grasos saturados; AGM: Ácidos grasos monoinsaturados; ÁGP: Ácidos grasos poliinsaturados

Autor	Muestra	Grasa comida	h	Cambio
Paniagua <sup>249</sup>	11 RI 4♂/7♀	9.84 gr (20%: 6%AGS; 8% AGM; 6%AGP)	3	=
		18.7 gr (38%: 9% AGS 23% AGM; 6% AGP)		↓ (11%)
		18.7 gr (38%: 23% AGS; 9%AGM; 6%AGP)		↓ (36%)
Lopes <sup>270</sup>	7Ob 6S ♂	2.6-3-3 gr	4	=
Clapham <sup>271</sup>	10Ob 8S ♀	14.8 gr	3	=
Considine <sup>272</sup>	2♂S, 2♀S 3♀Ob	32-35 gr	8	=
Monteleone <sup>262</sup>	14 ♀S	15.57 gr	3	=
Panarotto <sup>273</sup>	10♂, 7♀ SP	18-25 gr	2	↓ 12-15%)

**Tabla 11:** Variación postprandial de leptina en estudios con bajo o moderado contenido de grasa. RI: Resistencia a la insulina; S: Sanos; Ob: Obesos; SP: Sobrepeso; AGS: Ácidos grasos saturados; AGM: Ácidos grasos monoinsaturados; AGP: Ácidos grasos poliinsaturados

En otro estudio realizado en mujeres delgadas, donde a lo largo de 24 horas se les administraron 3 comidas ricas en grasa (60% de la energía) o 3 comidas ricas en HC, se observó un aumento de los niveles de leptina desde las 8 horas de la mañana, mucho menos acusado en el subgrupo con comidas ricas en grasa. Los autores sugirieron que esto es debido a una disminución del metabolismo de la glucosa mediado por insulina en el tejido adiposo, y que esta disminución postprandial de leptina tras un bolo de grasa podría ser aterogénica<sup>274</sup>. Tampoco se ha demostrado evidencia de asociación entre la respuesta de leptina en el postprandio y el nivel de saciedad o hambre tras la ingesta<sup>260</sup>. Finalmente, debido al ritmo circadiano de la leptina, se ha comparado la respuesta de la leptina entre una misma comida grasa administrada por la mañana (7 a.m.) y por la noche (22 p.m.), sin hallarse diferencias entre ellas<sup>261</sup>.

## 2.- RESPUESTA POSTPRANDIAL DE MOLÉCULAS DE ADHESIÓN SOLUBLES A UNA SOBRECARGA GRASA

Autor	Muestra	Grasa comida	h	Cambio
Peairs <sup>278</sup>	4♂,6♀ Ob	59-104 gr ↑AGS)	6(I,V)	=
		59-104 gr (↑AGM)		
		59-104 gr (↑AGP)		
Bellido <sup>283</sup>	8♂S	1 gr/Kg 35% AGS 22% AGM;4%AGP	9 (I)	↑ (9h)
		1 gr/Kg 22% AGS 38% AGM 4%AGP		=
		1 gr/Kg 20%AGS 24%AGM 16%AGP		=
Davis <sup>284</sup>	6♂,21♀ Ob DM	13.8 gr	3 (I)	=
		41.6 gr		
Rubin <sup>275</sup>	30 ♂ S	58 gr (65% AGS)	6 (I,V)	=
Dekker <sup>276</sup>	16 ♂ S	1 gr/Kg ≠ ratio AGP/AGS	8 (I,V)	=
Nappo <sup>277</sup>	10♂,10♀ S	50 20.4 gr AGS	4 (I,V)	↑
		17 2.2 gr AGS		=
		50 20.4 gr AGS+Vt		=
	17 2.2 gr AGS+Vt	↑		
	10♂,10♀ DM	50 20.4 gr AGS		=
	17 2.2 gr AGS	=		
Ceriello <sup>279</sup>	12♂,8♀ SP	75 gr	4 (I,V)	↑ (1-3 h)
	22♂,8♀ DM			↑ (1-4 h)
Aljada <sup>280</sup>	9S	51 gr	3 (I)	=
Marchesii <sup>281</sup>	7♂,3♀ TG	65 gr	8 (I,V)	↑ (2,4,6 h)
Pacheco <sup>282</sup>	28 TG 14	76.8-79.2 gr (AGM/AGS 5.43)	8 (I,V)	↑(menos horas)
	S ♂	76.8-79.2 gr (AGM/AGS 2.42)		↑

**Tabla 12:** Variación postprandial de moléculas de adhesión solubles en estudios con sobrecarga grasa. S: Sanos; Ob: Obesos; SP: Sobrepeso; DM: Diabetes mellitus tipo 2; TG: Hipertriglicéridémicos; AGS: Ácidos grasos saturados; AGM: Ácidos grasos monoinsaturados; AGP: Ácidos grasos poliinsaturados; Vt: Adición de vitamina C y E; I: ICAM-1; V: VCAM-1

La mayoría de los estudios publicados que han evaluado la respuesta postprandial de ICAM-1 y/o VCAM-1 tras una sobrecarga aguda de grasa (**Tabla 12**) han mostrado un aumento de sus concentraciones a nivel postprandial, al igual

## Introducción

que se había descrito anteriormente con otros factores proinflamatorios como IL-6<sup>285</sup> o TNF- $\alpha$ <sup>286</sup>.

## **HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**





La lipemia postprandial se caracteriza por un aumento de los triglicéridos totales y de las lipoproteínas ricas en triglicéridos de origen intestinal y hepático. Las partículas postprandiales remanentes de quilomicrones, procedentes de la absorción intestinal, desempeñan un papel importante en la patogenia de la arteriosclerosis y el desarrollo de enfermedad macrovascular.

En los sujetos obesos, durante el postprandio, se produce un aumento de los triglicéridos circulantes y una disminución de la capacidad para remover las partículas remanentes.

Esta alteración es más evidente con la obesidad visceral y el acúmulo de grasa a nivel abdominal, dado que el tejido adiposo es un órgano endocrino capaz de sintetizar y liberar numerosas hormonas que actúan como verdaderas señales de información entre las áreas periféricas y el cerebro, controlando la homeostasis energética: leptina, resistina, citoquinas proinflamatorias (interleucinas 6 y 8), adiponectina.

Los estudios realizados con comidas ricas en grasa de distintos tipos sin influencia de la dieta habitual no han mostrado resultados consistentes al analizar el efecto que tienen sobre la magnitud de la lipemia postprandial.

Nuestra hipótesis es que el índice de masa corporal reflejo del grado de obesidad, al estar relacionado con la magnitud de la lipemia postprandial, interacciona con el tipo de ácido graso administrado, produciéndose un efecto beneficioso con la ingesta de una comida rica en ácidos grasos

## Hipótesis y objetivos

monoinsaturados en aquellos sujetos con una lipemia postprandial más exacerbada.

### OBJETIVO PRINCIPAL

Estudiar si el grado de obesidad, determinado por el índice de masa corporal, influye en la magnitud de la lipemia postprandial en respuesta a diferentes modelos de alimentación, con el objetivo último de establecer si existe una interacción entre el peso y la respuesta postprandial en función del tipo de grasa.

### OBJETIVOS SECUNDARIOS

1.- Determinar si la respuesta postprandial, tras la ingesta de una sobrecarga grasa con distintos tipos de ácidos grasos, modifica los niveles plasmáticos de adiponectina, leptina, resistina y ácidos grasos libres.

2.- Analizar si el tipo de ácido graso ingerido modifica la expresión de moléculas de adhesión, ICAM-1 y VCAM-1, en adultos sin evidencias de enfermedad cardiovascular.

# **DISEÑO Y METODOLOGÍA**



### **1.-Población**

La población participante consistió en 21 voluntarios sanos de sexo masculino y de edades comprendidas entre 18 y 30 años. A esta población se le realizó un análisis del genotipo de la apolipoproteína E con objeto de seleccionar aquellos que presentaron el genotipo más común en la población general (E3E3) y eliminar la influencia que dicha variación genética induce sobre la respuesta lipémica postprandial, los niveles plasmáticos de colesterol y el grado de respuesta lipídica a dietas con alto contenido graso. Dicho grupo, tras una dieta de estabilización de 4 semanas de duración, fueron sometidos a tres estudios de lipemia postprandial.

#### 1.1.- Criterios de inclusión:

Edad entre 18 y 30 años

Varones sanos portadores del genotipo de apoE3/E3

IMC inferior a 30 Kg/m<sup>2</sup>

Cifras de colesterol plasmático inferiores a 200 mg.dL<sup>-1</sup>

Cifras de TG menores de 200 mg.dL<sup>-1</sup>

#### 1.2.- Criterios de exclusión

Mostrar evidencia de enfermedad crónica

Actividad física significativamente superior a la normalidad

Ingesta de alcohol superior a 20 gr/día

Ingesta de fármacos que afecten al metabolismo lipídico, anticoagulantes y antiagregantes plaquetarios

## Diseño y Metodología

1.3.- Cálculo del tamaño muestral. El cálculo del tamaño muestral se realizó en base a las siguientes asunciones tomadas de nuestros estudios previos:

- Variable principal del estudio: Incremento postprandial máximo de TG
- Desviación estándar de la variable principal del estudio: 30 mg/dl
- Diferencia mínima esperada: 40 mg/dL ( $H_0=235$  mg/dL;  $H_1=275$  mg/dL;  $r=0.75$ )
- Riesgo alfa= 0.05
- Potencia ( $1-\beta$ )= 0.90

En base a estas premisas, se precisan al menos un total de 19 voluntarios estudiados.

### **2.- Diseño del estudio**

Todos los voluntarios, después de una dieta de estabilización tipo occidental rica en grasa saturada (38% de grasa con: 16% de SAT, 16% MONO, 6% POLI, 15% de proteínas y 47% HC) de 4 semanas de duración, fueron sometidos a tres estudios de lipemia postprandial similares a los realizados en nuestros estudios previos<sup>287</sup>, y que se llevaron a cabo con la misma cantidad de grasa en el desayuno administrado (1 gr de grasa/Kg de peso corporal y 7 mg de colesterol/Kg de peso), pero con una composición diferente y siguiendo un proceso aleatorizado y cruzado en cuanto al orden de administración de los desayunos ricos en grasa (**Figura 1**).

La composición en grasa de los desayunos para el estudio de la lipemia postprandial fue el siguiente:

1. Desayuno rico en grasa saturada a expensas de mantequilla. (35% SAT, 22% MONO, 4% POLI, 0.7% ácido linolénico).

2. Desayuno rico en grasa monoinsaturada a expensas de aceite de oliva virgen (22% SAT, 38% MONO, 4% POLI, 0.7% ácido linolénico)

3. Desayuno rico en ácidos grasos poliinsaturados a expensas de fuentes vegetales con nueces (*Junglans regia* L). (20% SAT, 24% MONO, 16% POLI, 4% ácido linolénico)

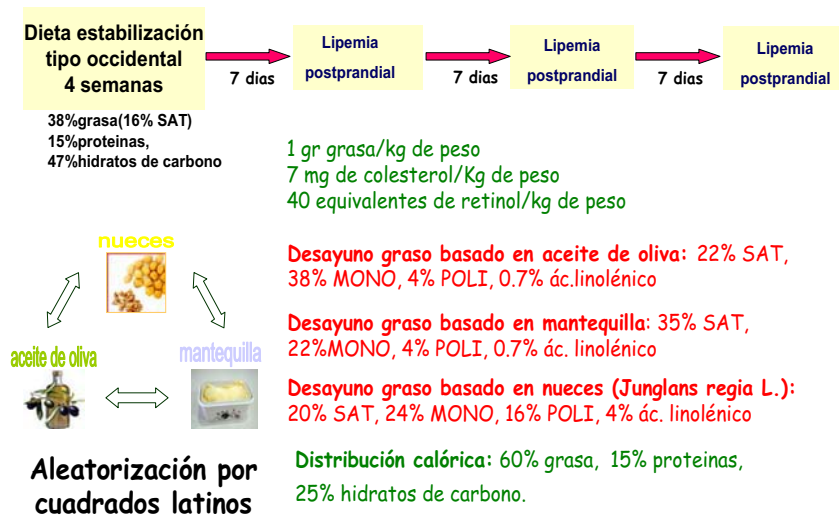
El estudio se diseñó acorde a una distribución de cuadrados latinos, por lo se administraron de forma aleatorizada y cruzada a todos los voluntarios los tres tipos de desayuno rico en grasa en tres tiempos diferentes separados entre sí dos semanas. Para ello, de forma aleatorizada, se dividieron los voluntarios en tres grupos (A-C), que participaron en los tres estudios de lipemia postprandial con cada uno de los tres tipos de desayuno rico en grasa de acuerdo al siguiente esquema:

	<u>GRUPO A</u>	<u>GRUPO B</u>	<u>GRUPO C</u>
<b>ENTRADA (tiempo 0)</b>			
<b>TIEMPO 1 (semana 4)</b>	<b>MANTEQ</b>	<b>OLIVA</b>	<b>NUECES</b>
<b>TIEMPO 2 (semana 5)</b>	<b>OLIVA</b>	<b>NUECES</b>	<b>MANTEQ</b>
<b>TIEMPO 3 (semana 6)</b>	<b>NUECES</b>	<b>MANTEQ</b>	<b>OLIVA</b>



## Diseño y Metodología

Todos los participantes en el estudio en cada uno de los tiempos indicados tomaron parte, tras 12 horas de ayunas, en la realización del estudio de lipemia postprandial, para lo que se les administró en el tiempo 0 un desayuno rico en grasa de composición acorde a los tres tipos de comidas, consistente entre la mitad y dos tercios de las calorías diarias ingeridas habitualmente por el individuo y compuesta de 1 gr de grasa, 7 mg de colesterol y 40 equivalentes de retinol por Kg de peso corporal, con la siguiente distribución calórica: 60% de grasa, 15% de proteínas y 25% de HC. A lo largo de las 11 horas siguientes, los voluntarios no realizaron actividad física ni consumieron ninguna comida o bebida, excepto agua. Para el estudio de la lipemia postprandial, se llevaron a cabo extracciones de sangre venosa en tubos conteniendo 1 mg/mL de EDTA en el tiempo 0 y a las 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8.5 y 11 horas tras la administración del desayuno rico en grasa.



**Figura 1:** Administración randomizada de las comidas grasas

### 3.- Métodos

#### 3.1. Estudio de la lipemia postprandial

##### 3.1.1. Determinación de lípidos plasmáticos

Las determinaciones de colesterol y TG en plasma y fracciones lipoproteicas se realizaron por métodos colorimétricos-enzimáticos<sup>288,289</sup>. Como control de calidad se usó el C-fas (Roche). Los niveles plasmáticos de las apoA-I y apoB se determinaron por turbidimetría<sup>290</sup>. El HDL-Colesterol fue medido analizando el sobrenadante obtenido después de la precipitación de una alícuota de con sulfato de dextrano y Mg<sup>2+</sup>, como fue descrito por Warnick y cols.<sup>291</sup>.

## Diseño y Metodología

### 3.1.2. Aislamiento de las LRT

La sangre se recogió en tubos con EDTA para conseguir una concentración final de 0.1% EDTA. El plasma fue separado por centrifugación (1500 G, 15 minutos, 4°C). La fracción de QM de las LRT (LRT grandes) se aisló a partir de 4 mL de plasma recubierto por 0,15 moles de NaCl/L, 1 mmol EDTA/L (pH 7.4, densidad < 1,006 kg/L) por ultracentrifugación (36200 G, 30 min, 4°C) en un rotor Beckman tipo 50 (Beckman Instruments, Fullerton, CA). Los QM, contenidos en la capa superior, se eliminaron por aspiración después de cortar los tubos, y el infranadante se centrifugó a una densidad de 1.019 kg/L durante 24 horas a 183000 G en el mismo rotor. La fracción sin QM de las LRT (LRT pequeñas) fue retirada de la parte superior del tubo. Todas las operaciones se realizaron bajo luz tenue. Las LRT grandes y pequeñas fueron almacenadas a -70°C hasta la determinación del retinil palmitato (RP).

### 3.1.3 Determinación de RP

El contenido de RP en las LRT grandes y pequeñas fue determinado mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) utilizando un método descrito previamente por Ruotolo<sup>292</sup>. Brevemente, diferentes volúmenes de las diversas fracciones (100µl de las LRT grandes y 100-500µl de las LRT pequeñas) se colocaron en tubos de vidrio de 13x100 mm. El volumen total en cada tubo se ajusta, según sea necesario, a 500µl con el uso de una solución isotónica de cloruro sódico. El retinil acetato (40 ng en 200µl de tampón fase móvil) se

añadió a cada tubo, como un estándar interno. Se añadieron 500  $\mu$ l de metanol, seguidos de 500  $\mu$ l de tampón fase móvil, para un volumen total de 1.7 ml. El tampón fase móvil fue preparado en fresco diariamente mediante la combinación de 90 mL de hexano, 15 mL de cloruro de n-butilo, 5 mL de acetonitrilo, y 0.01 mL de ácido acético (82:13:5 en volumen con 0.01 ml de ácido acético). Los tubos fueron mezclados a fondo después de cada paso. La mezcla final se centrifugó a 350G durante 15 min a temperatura ambiente, la capa superior se eliminó cuidadosamente por aspiración y se colocaron en viales individuales autoinyectores. El autoinyector se programó para proporcionar 100  $\mu$ L/ inyección y una nueva muestra cada 10 minutos en una columna de sílice preenvasada personalizada Supelcosil LC-SI (5 mm, 25 cm x 4,6 mm de diámetro interior) proporcionado por Supelco Inc. (Bellefonte, PA). El flujo se mantuvo constante a una velocidad de 2 mL/min, y los picos se detectaron a 330 nm. Los picos de RP y retinil acetato se identificarán por comparación de los tiempos de retención de un estándar purificado de ambos (Sigma, St Louis, MO, USA). La concentración de RP en cada muestra se expresa como la relación del área bajo el pico de RP al área bajo el pico de retinil acetato. Todos los procedimientos se realizaron protegiendo las muestras de la exposición a la luz.

## Diseño y Metodología

### 3.1.4. Determinación de apoB48 y apoB100

apoB-48 y apoB-100 se determinaron por electroforesis en gel de poliacrilamida en presencia de dodecil sulfato sódico (SDS-PAGE) como ha sido descrito previamente por Karpe y Hamsten<sup>293</sup>. La separación electroforética se realizó utilizando un gel de gradiente de poliacrilamida 3-20% con un aparato de electroforesis vertical Hoeffer Mighty Small II (Hoeffer Pharmacia Biotech, San Francisco, CA). Los geles fueron escaneados con un escáner de densitómetro de vídeo (TDI, Madrid, España) conectado a un ordenador personal para integrar señales. La intensidad de fondo se calculó después de escanear un carril vacío. El coeficiente de variación para el SDS-PAGE fue de 7.3% para la apoB48 y 5.1% para la apoB100.

### 3.2. Determinación de Leptina

Las concentraciones plasmáticas postprandiales de leptina se determinaron en los tiempos 0, 3, 6 y 8.5 horas tras la ingesta aguda de grasa. Se determinó por ELISA (análisis por inmunoadsorción con enzimas ligados) mediante un kit comercial, Leptin ELISA (DRG Instruments GmgH).

### 3.3. Determinación de Adiponectina

Los niveles plasmáticos postprandiales de adiponectina se cuantificaron en los tiempos 0, 3, 6 y 8.5 horas tras la ingesta aguda de grasa. Se determinó por ELISA mediante un kit comercial, Human adiponectin/Acrp30 immunoassay (R&D Systems, Inc).

### 3.4. Determinación de Resistina

Los niveles plasmáticos postprandiales de resistina fueron evaluadas en los tiempos 0, 3, 6 y 8.5 horas tras la ingesta aguda de grasa. Se determinó por ELISA mediante un kit comercial, Human resistin ELISA kit (Linco Research, Inc).

### 3.5. Determinación de AGL

Los niveles plasmáticos postprandiales de AGL se determinaron en los tiempos 0, 3, 6 y 8.5 horas tras la ingesta aguda de grasa. Se determinó por ensayo colorimétrico enzimático mediante un kit comercial, Free fatty acids, Half-micro test (Roche Diagnostic GMBH).

### 3.6. Determinación de Moléculas Solubles de Adhesión

Los niveles plasmáticos de VCAM-1 e ICAM-1 se determinaron en los tiempos 0, 3 y 8.5 horas tras la ingesta aguda de grasa. Se determinó por ELISA mediante un kit comercial, Human sVCAM-1 Inmunoassay y Human sICAM-1 Inmunoassay (R&D Systems), respectivamente.

### 3.7. Determinación de genotipo de apoE

Se realizó la amplificación mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de una región del ácido desoxirribonucleico (ADN) de 266 bp del cuarto exón del gen de la apoE. Se emplearon 0.5 mcg de ADN genómico, 1.5 mmol/L de Cl<sub>2</sub>Mg, 1 micromol/L de cada oligonucleótido

## Diseño y Metodología

cebador (E1 5´-GAACAAGTACCCCGGTGGCGGGAG-3´ y E2 5´-TCGCGGGCCCCGGCCTGGTACTGCCA-3´), 2.5 u DE Taq polimerasa (Promega, Madison USA), 200 micromol/l de nucleótidos y dimetilsulfóxido al 10% (Merck, Darmstadt, Alemania) en un volumen final de 50 µL. El ADN se desnaturalizó a 95°C durante 5 minutos, seguidos de 30 ciclos de desnaturalización (96°C, 1 minuto), amplificación (63°C, 1,5 minutos) y extensión (72°C, 2 minutos). Se extrajeron 20µL de producto de la PCR, digeridos con 10 U de la enzima de restricción Cfo-I (Promega, Madison, WI, USA) en un volumen total de 35 µL. El ADN fue separado por electroforesis en gel de poliacrilamida no desnaturalizante al 8% a 150V durante 2 horas. La estimación del tamaño de los fragmentos obtenidos se realizará por comparación con el marcador X174 DNA/HAE-III. Las bandas obtenidas se visualizaron mediante tinción con sales de plata.

### 4.- Análisis estadístico

En el estudio estadístico de los datos se utilizó el programa SPSS® versión 14.0 para Windows®. En todas las pruebas estadísticas se consideraron significativos los valores de  $p$  inferiores a 0.05. Se utilizaron los siguientes parámetros estadísticos:

- Para contrastar la normalidad de la distribución de las variables: test de Kolmogorov-Smirnov. A aquellos parámetros que no siguieron una distribución normal (TG, TG en LRT grandes y TG en LRT pequeñas) se les realizó una transformación logarítmica para su análisis estadístico.

- Para el análisis descriptivo de variables cualitativas: frecuencias y porcentajes; de variables cuantitativas: media aritmética y error estándar de la media (EE).
- Para la comparación de medias aritméticas entre muestras apareadas: análisis de la varianza (ANOVA) para medidas repetidas. Cuando se observaron diferencias significativas se realizó el test de Bonferroni en comparación *post-hoc* para identificar las diferencias existentes entre cada grupo. En función del uso del ABC o los valores absolutos y que se incluyeran en el análisis todos los sujetos o divididos según el IMC se usaron dos distintos *factores intra-sujeto*: tiempo (con varios niveles según el parámetro correspondiente a cada una de las determinaciones en los tiempos de la lipemia postprandial) y grasa de la comida (con 3 niveles: mantequilla, oliva y nueces) y 1 *factor inter-sujeto*: IMC (2 niveles: grupo con menor peso- LW- y grupo con mayor peso- HW-)
- Se calculó el coeficiente de correlación lineal  $r$  de Pearson para relacionar las distintas variables.
- Para determinar la respuesta postprandial, se determinó el área bajo la curva (ABC) o área creada entre la concentración frente al tiempo y la línea trazada paralelamente al eje horizontal pasando por la concentración en el tiempo cero. Fue calculada mediante el método trapezoidal en un programa de ordenador. El incremento del área bajo la curva (iABC) se calculó restando al ABC las concentraciones basales multiplicado por el tiempo máximo de extracción (660 minutos).





## **RESULTADOS**



### 1.-CARACTERÍSTICAS BASALES

En la **tabla 13** se muestran las características basales de los participantes en el estudio (21 hombres), antes de cada desayuno rico en grasa, sin diferencias en ningún parámetro.

	MANTEQUILLA	OLIVA	NUECES	<i>p</i>
<b>Col</b>	145.27±4.98	147.90±5.72	146.00±5.41	0.938
<b>TG</b>	75.34±9.74	73.33±7.79	77.61±9.12	0.944
<b>HDL-C</b>	47.21±2.16	47.96±1.67	47.88±1.71	0.953
<b>Apo A-I</b>	116.37±3.24	117.15±2.85	118.23±2.85	0.907
<b>Apo B</b>	65.80±2.58	67.23±2.85	65.48±2.62	0.886
<b>Col-LRT grandes</b>	4.82±0.44	4.52±0.38	4.72±0.34	0.866
<b>TG-LRT grandes</b>	10.34±3.62	10.10±2.24	9.90±2.06	0.829
<b>Col-LRT pequeñas</b>	7.14±1.34	6.04±0.90	7.28±1.32	0.724
<b>TG-LRT pequeñas</b>	30.14±7.10	26.20±4.06	28.92±5.20	0.943
<b>Glucosa</b>	87.20±1.83	84.72±3.08	88.97±1.91	0.485
<b>Insulina</b>	8.32±1.77	7.94±2.17	8.13±1.34	0.990
<b>HOMA</b>	1.82±0.48	1.84±0.47	2.12±1.28	0.902

**Tabla 13:** Características basales de los participantes antes de cada sobrecarga. Datos expresados en X±EE (Media±Error estándar). Unidades en mg/dL, salvo insulina (mU/L). Col: colesterol; TG: triglicéridos; HDL-c: colesterol en lipoproteínas de alta densidad; apo: apolipoproteína; LRT: lipoproteínas ricas en triglicéridos; HOMA: Homeostasis model assessment ratio

## 2.- ANÁLISIS DE LA LIPEMIA POSTPRANDIAL EN FUNCIÓN DEL ÍNDICE DE MASA CORPORAL

### 2.1. CARACTERÍSTICAS BASALES

Se dividió la muestra según la mediana del IMC (26.18) en dos grupos: grupo con menor peso con  $IMC < 26.18$  (grupo LW) con 10 voluntarios y grupo con mayor peso con  $IMC > 26.18$  (grupo HW) que incluyó 11 voluntarios de la población.

	GRUPO LW	GRUPO HW	p
<b>Col</b>	142.76±3.11	149.69±5.09	0,261
<b>TG</b>	58.88±3.95	103.93±10.36	<b>0.001</b>
<b>HDL-C</b>	51.96±1.34	43.79±1.29	<b>0.001</b>
<b>Apo A-I</b>	121.21±2.37	113.64±2.28	<b>0.025</b>
<b>Apo B</b>	61.73±1.80	70,21±2.21	<b>0.005</b>
<b>Col-LRT grandes</b>	4.22±0.30	5.10±0.32	<b>0.050</b>
<b>TG-LRT grandes</b>	7.34±1.38	12.80±2.66	<b>0.043</b>
<b>Col-LRT pequeñas</b>	5.16±0.48	8.34±1.18	<b>0.021</b>
<b>TG-LRT pequeñas</b>	18.54±1.34	37.54±5.54	<b>0.005</b>
<b>Glucosa</b>	83.52±2.02	90.44±1.64	<b>0.013</b>
<b>Insulina</b>	5.89±0.88	9.38±1.41	0.090
<b>Indice HOMA</b>	1.30±0.20	2.43±0.45	<b>0.048</b>

**Tabla 14:** Características basales de los participantes en cada grupo de IMC (índice de masa corporal). Datos expresados en  $X \pm EE$  (Media  $\pm$  Error estándar). Unidades en mg/dL, salvo insulina (mU/L). Col: colesterol; TG: triglicéridos; HDL-c: colesterol en lipoproteínas de alta densidad; apo: apolipoproteína; LRT: lipoproteínas ricas en triglicéridos; HOMA: Homeostasis model assessment ratio; LW:  $IMC < 26.18$ ; HW:  $IMC > 26.18$

El grupo HW presentó concentraciones basales mayores de TG totales y en LRT grandes y pequeñas, Col en LRT grandes y pequeñas y apoB, así como menores concentraciones de HDL-Col y ApoA1 que el grupo LW. Además, los voluntarios del grupo LW presentaron menores niveles de glucosa plasmática en ayunas y un menor índice HOMA comparado con los voluntarios del grupo HW (**Tabla 14**).

## 2.2. INCREMENTO DEL ÁREA BAJO LA CURVA (iABC)

Se observó un efecto del IMC independiente del desayuno consumido en los TG en LRT grandes y pequeñas y apoB100 en LRT pequeñas, con una tendencia similar para los TG en plasma, de manera que las concentraciones postprandiales de estas partículas fueron mayores en el grupo HW.

Plasma		GRUPO LW	GRUPO HW
<b>Col</b> <i>P1: 0.549</i> <i>P2:0.288</i> <i>P3:0.850</i>	Mantequilla	-17874±5134	-27255±5134
	Oliva	-18067±6138	-28182±6138
	Nueces	-13242±5366	-29031±5366
<b>TG</b> <i>P1: 0.084</i> <i>P2:0.220</i> <i>P3:0.309</i>	Mantequilla	18869±9653	43039±9210
	Oliva	16649±5313	30730±5048
	Nueces	17003±9299	29844±6022

**Tabla 15:** iABC en plasma según desayuno consumido y grupo de IMC. Datos expresados en X ± EE (Media ± Error estándar), mg/dl· min. Col: colesterol; TG: triglicéridos LW: menor peso. HW: mayor peso. P1: Efecto del IMC. P2: Efecto de la grasa del desayuno. P3: Efecto de la interacción IMC-grasa.

## Resultados

LRT grandes		GRUPO LW	GRUPO HW
<b>Col</b> <i>P1: 0.690</i> <i>P2:0.068</i> <i>P3:0.502</i>	Mantequilla	2394±540	2895±540
	Oliva	1969±425	2394±425
	Nueces	1814±386	1396±386
<b>TG</b> <b><i>P1: 0.007</i></b> <i>P2:0.590</i> <i>P3:0.725</i>	Mantequilla	15409±4251 <sup>a</sup>	30110±4251
	Oliva	15940±4782	27719±4782
	Nueces	14701±3365	22937±3365
<b>apoB 48</b> <i>P1: 0.991</i> <i>P2:0.263</i> <i>P3:0.878</i>	Mantequilla	411±95	369±91
	Oliva	253±71	284±68
	Nueces	302±78	315±74
<b>apoB 100</b> <i>P1: 0.841</i> <i>P2:0.205</i> <i>P3:0.313</i>	Mantequilla	6895±1242	5698±1184
	Oliva	4603±933	4414±890
	Nueces	3816±1202	5807±1146
<b>RP</b> <i>P1:0.156</i> <b><i>P2:0.024</i></b> <i>P3:0.633</i>	Mantequilla	1000±381	1694±363
	Oliva	991±281	1482±268
	Nueces	616±217	884±207

**Tabla 16:** iABC en LRT grandes según desayuno consumido y grupo de IMC. Datos expresados en X±EE (Media±Error estándar), Col y TG (mg/dL· min), ApoB-48 and ApoB 100 (mg/L· min); RP (ng/mL·s). Col: colesterol; LRT: lipoproteínas ricas en triglicéridos; TG: triglicéridos; apo: apolipoproteína; RP: retinilpalmitato; LW: menor peso. HW: mayor peso. P1: Efecto del IMC. P2: Efecto de la grasa del desayuno. P3: Efecto de la interacción IMC-grasa. <sup>a</sup> Diferencia estadísticamente significativa comparada con el mismo desayuno en el otro grupo de IMC

Cuando se analizó el efecto del IMC en la lipemia postprandial tras cada desayuno consumido, se encontró que el iABC fue mayor en el grupo HW que en el grupo LW para TG en LRT grandes ( $p=0,039$ ), TG en LRT pequeñas ( $p=0,047$ ) y apoB100 en LRT pequeñas ( $p=0,005$ ) tras el desayuno rico en mantequilla; Col en LRT pequeñas, TG en LRT pequeñas ( $p=0,021$ ) y apoB100 en LRT pequeñas ( $p=0,010$ ) tras el desayuno rico en nueces.

LRT pequeñas		GRUPO LW	GRUPO HW
<b>Col</b> <i>P1: 0.106</i> <i>P2: 0.662</i> <b>P3: 0.016</b>	Mantequilla	2007±656	3938±656
	Oliva	2934±849	2664±811
	Nueces	1776±849 <sup>a</sup>	4787±811
<b>TG</b> <b>P1: 0.035</b> <b>P2: 0.003</b> <i>P3: 0.058</i>	Mantequilla	7882±3454 <sup>1 a</sup>	19926±3277 <sup>1</sup>
	Oliva	7970±2834 <sup>1</sup>	11601±2745 <sup>2</sup>
	Nueces	10981±4605 <sup>1 a</sup>	25416±4428 <sup>1</sup>
<b>apoB 48</b> <i>P1: 0.303</i> <b>P2: 0.046</b> <i>P3: 0.315</i>	Mantequilla	239±67	225±64
	Oliva	111±42	159±40
	Nueces	227±129	447±123
<b>apoB 100</b> <b>P1: 0.004</b> <i>P2: 0.347</i> <i>P3: 0.800</i>	Mantequilla	1874±1392 <sup>a</sup>	6488±1327
	Oliva	1458±1261	4653±1202
	Nueces	2502±1197 <sup>a</sup>	6766±1141
<b>RP</b> <i>P1: 0.367</i> <i>P2: 0.766</i> <i>P3: 0.305</i>	Mantequilla	330±157	605±157
	Oliva	423±121	429±121
	Nueces	325±117	486±117

**Tabla 17:** iABC en LRT pequeñas según desayuno consumido y grupo de IMC. Datos expresados en X±EE (Media±Error estándar), Col y TG (mg/dL·min), ApoB-48 and ApoB 100 (mg/L·min); RP (ng/mL·s). Col: colesterol; TG: triglicéridos; apo: apolipoproteína; RP: retinilpalmitato; LW: menor peso. HW: mayor peso. P1: Efecto del IMC. P2: Efecto de la grasa del desayuno. P3: Efecto de la interacción IMC-grasa. <sup>a</sup> Diferencia estadísticamente significativa comparada con el mismo desayuno en el otro grupo de IMC. Medias en una columna con distintos números en el superíndice son significativamente diferentes estadísticamente,  $P < 0.05$  (test post-hoc de Bonferroni para comparaciones múltiples).

Se observó un efecto de la interacción entre el IMC y el desayuno consumido para el iABC de Col en LRT pequeñas y una tendencia similar en TG en LRT pequeñas. De esta manera, en el grupo HW se observó una menor respuesta postprandial en TG en LRT pequeñas tras el consumo de desayuno rico en aceite de oliva comparado con el consumo del desayuno rico en mantequilla ( $p=0,027$ ) o en nueces ( $p=0,004$ ). Por el contrario, no hubo diferencias entre las distintas comidas en el grupo LW para ninguno de estos dos parámetros (**Tablas 15, 16 y 17**).

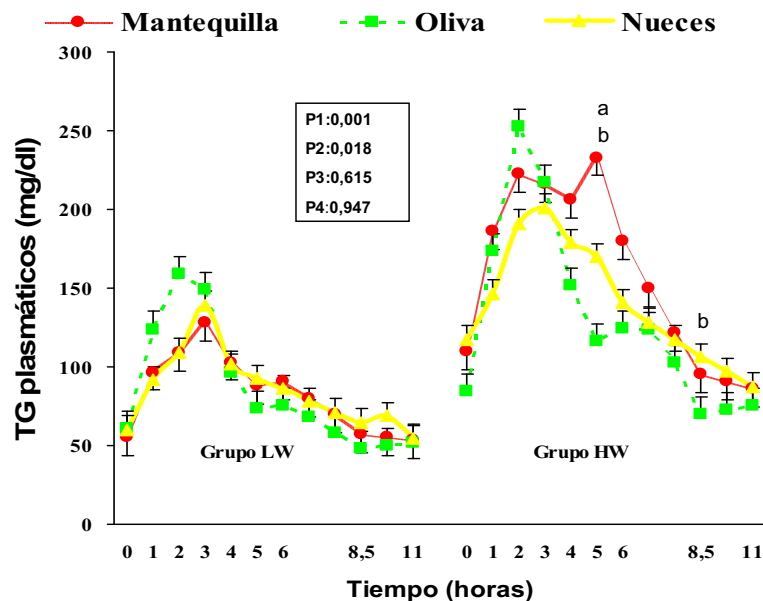


### **2.3. CURVAS DE LIPEMIA POSTPRANDIAL**

Se analizaron las diferencias entre las distintas sobrecargas para cada grupo de IMC. No se encontró ninguna diferencia en ninguno de los grupos para Col plasmático, apoB48 en LRT grandes y pequeñas, apoB100 en LRT grandes y pequeñas así como RP en LRT grandes y pequeñas.

En el grupo LW no hubo diferencias en los TG plasmáticos entre los distintos desayunos en ninguno de los tiempos estudiados, mientras que en el grupo HW, a las 5 horas, el desayuno rico en aceite de oliva produjo menores niveles de TG circulantes que el rico en mantequilla ( $p=0,001$ ), así como a las 5 y a las 8.5 horas, comparado con el desayuno rico en nueces ( $p=0.005$  y  $p=0.049$ , respectivamente) (**Figura 2**).

En cuanto al Col en LRT grandes, el desayuno rico en nueces produjo menores concentraciones a las 4 horas que el rico en mantequilla ( $p=0.025$ ) en el grupo HW, sin encontrarse diferencias entre las comidas en el grupo LW (**Figura 3**).

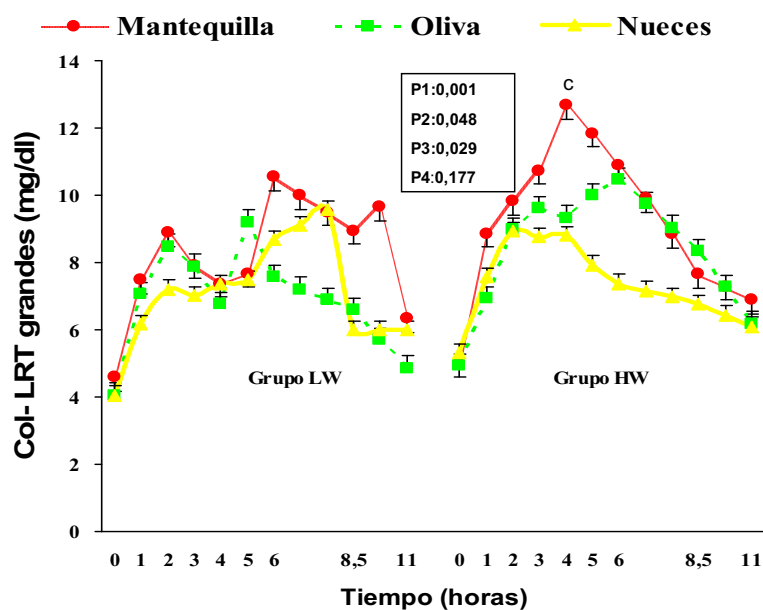


**Figura 2:** Concentración de triglicéridos plasmáticos (mg/dL) en cada tiempo y desayuno rico en grasa para cada grupo de IMC. a:  $p < 0,05$  entre oliva y mantequilla. b:  $p < 0,05$  entre oliva y nueces. P1: Efecto del tiempo. P2: Efecto del IMC. P3: Efecto de la grasa del desayuno. P4: Efecto de la interacción tiempo-IMC-grasa. LW: menor peso. HW: mayor peso.

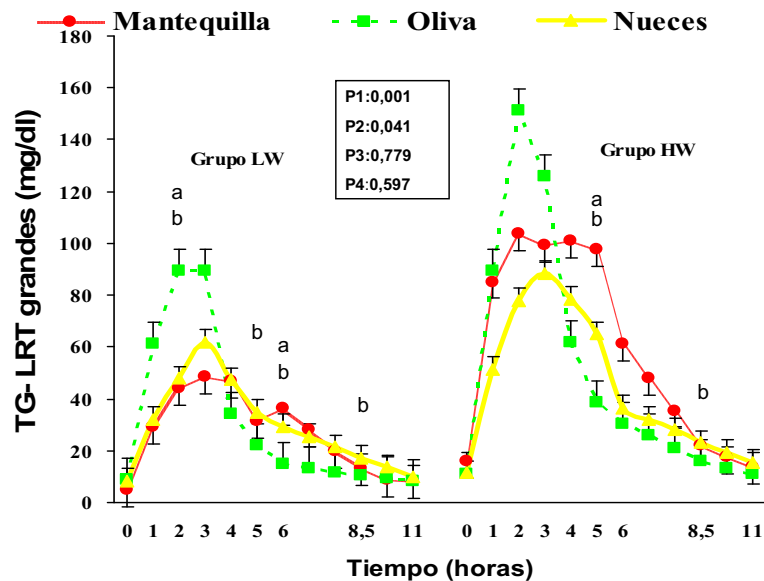
Quando se analizaron las curvas postprandiales de los TG en LRT grandes, se observó diferencias entre las grasas utilizadas en ambos grupos de IMC. De esta manera, en el grupo LW, inicialmente se observaron mayores niveles a las 2 horas tras la sobrecarga con aceite de oliva que con mantequilla o nueces ( $p=0.036$  y  $p=0.013$ , respectivamente). Sin embargo, posteriormente los niveles fueron menores tras el desayuno rico en aceite de oliva a las 6 horas comparado con el desayuno rico en mantequilla ( $p=0.008$ ) y a las 5 ( $p=0.023$ ), 6 ( $p=0.001$ ) y 8.5 horas ( $p=0.001$ ) al compararlo con el desayuno rico en nueces. En el grupo HW, se observó que el desayuno rico en aceite de oliva produjo menores

## Resultados

niveles que el rico en nueces a las 5 y 8.5 horas ( $p=0.014$  y  $p=0.015$ , respectivamente) y que el desayuno rico en mantequilla a las 5 horas ( $p=0.006$ ) (**Figura 4**).



**Figura 3:** Concentración de colesterol en LRT grandes (mg/dl) en cada tiempo y desayuno rico en grasa para cada grupo de IMC. c:  $p < 0,05$  entre mantequilla y nueces. P1: Efecto del tiempo. P2: Efecto del IMC. P3: Efecto de la grasa del desayuno. P4: Efecto de la interacción tiempo-IMC-grasa. LW: menor peso. HW: mayor peso.

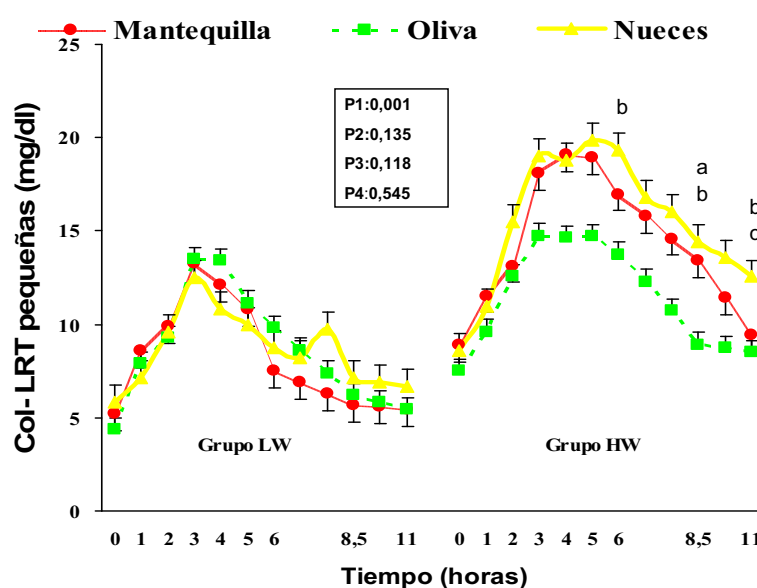


**Figura 4:** Concentración de triglicéridos en LRT grandes (mg/dl) en cada tiempo y desayuno rico en grasa para cada grupo de IMC. a:  $p < 0,05$  entre oliva y mantequilla. b:  $p < 0,05$  entre oliva y nueces. P1: Efecto del tiempo. P2: Efecto del IMC. P3: Efecto de la grasa del desayuno. P4: Efecto de la interacción tiempo-IMC-grasa. LW: menor peso. HW: mayor peso.

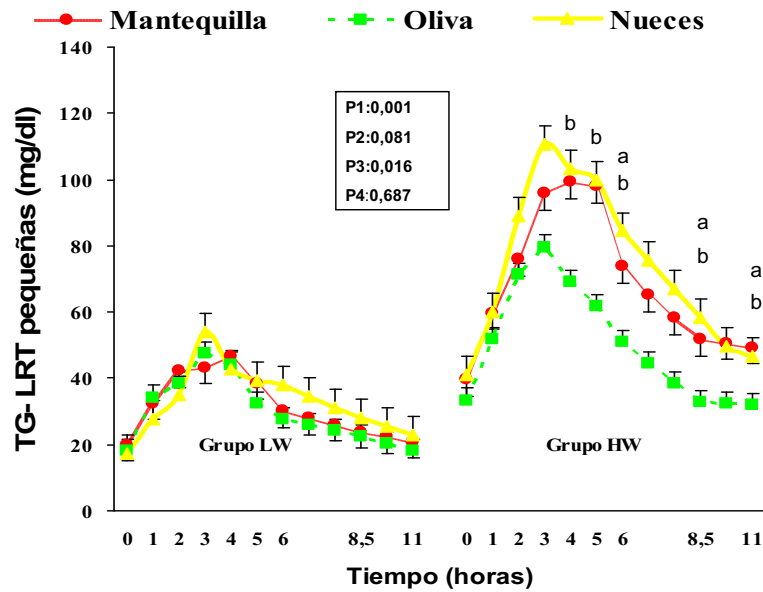
En las LRT pequeñas se observaron diferencias en el grupo HW entre los desayunos tanto en Col como en TG, sin que se objetivaran diferencias entre las 3 sobrecargas para ninguno de los puntos postprandiales en el grupo LW. En cuanto al Col en LRT pequeñas, hubo menores niveles tras el desayuno rico en aceite de oliva a las 6, 8.5 y 11 horas ( $p=0.016$ ,  $p=0.003$  y  $p=0.016$ , respectivamente) que con el desayuno rico en nueces, y a las 8.5 horas ( $p=0.003$ ) al compararla con el desayuno rico en mantequilla. Además, la concentración a las 11 horas tras el desayuno rico en nueces fue también mayor que tras el desayuno rico en mantequilla ( $p=0.032$ ) (**Figura 5**).

## Resultados

El desayuno rico en aceite de oliva produjo concentraciones menores de TG en LRT pequeñas respecto a los desayunos ricos en mantequilla y nueces en distintos puntos en el postprandio. En concreto, respecto a la comida con mantequilla fue menor a las 6 (p=0.003), 8.5 (p=0.022) y 11 horas (p=0.045), y respecto a la comida con nueces fue menor a las 4 (p=0.027), 5 (p=0.001), 6 (p=0.001), 8.5 (p=0.001) y 11 horas (p=0.045) (**Figura 6**).



**Figura 5:** Concentración de colesterol en LRT pequeñas (mg/dl) en cada tiempo y desayuno rico en grasa para cada grupo de IMC. a:  $p < 0,05$  entre oliva y mantequilla. b:  $p < 0,05$  entre oliva y nueces. P1: Efecto del tiempo. P2: Efecto del IMC. P3: Efecto de la grasa del desayuno. P4: Efecto de la interacción tiempo-IMC-grasa. LW: menor peso. HW: mayor peso.



**Figura 6:** Concentración de TG en LRT pequeñas (mg/dl) en cada tiempo y desayuno rico en grasa para cada grupo de IMC. a:  $p < 0,05$  entre oliva y manteca. b:  $p < 0,05$  entre oliva y nueces. P1: Efecto del tiempo. P2: Efecto del IMC. P3: Efecto de la grasa del desayuno. P4: Efecto de la interacción tiempo-IMC-grasa. LW: menor peso. HW: mayor peso.

## 2.4. CORRELACIONES DEL IMC CON EL ABC DE LIPEMIA POSTPRANDIAL

En la **Tabla 18** se presenta el estudio de la correlación lineal entre el IMC de los participantes y el ABC de lipoproteínas y apolipoproteínas analizando todos los desayunos en global como una sobrecarga grasa independientemente del tipo de AG empleado en el desayuno.

## Resultados

Plasma	Col	TG			
<b>IMC</b>	<b>r: 0.275</b> <b>p=0.031</b>	<b>r: 0.300</b> <b>p=0.017</b>			
LRT grandes	Col	TG	ApoB48	ApoB100	RP
<b>IMC</b>	<b>r: 0.301</b> <b>p=0.017</b>	<b>r: 0.260</b> <b>p=0.043</b>	NS	NS	NS
LRT pequeñas	Col	TG	ApoB48	ApoB100	RP
<b>IMC</b>	NS	<b>r: 0.275</b> <b>p=0.029</b>	NS	NS	NS

**Tabla 18:** Correlación del IMC con ABC de parámetros lipídicos en plasma, LRT grandes y LRT pequeñas de forma global tras un desayuno rico en grasa independientemente del tipo de grasa. IMC: índice de masa corporal; Col: colesterol; TG: triglicéridos; LRT: Lipoproteínas ricas en TG; r: coeficiente de correlación de Pearson. NS: no significativo estadísticamente

### 3.- ANÁLISIS DE LAS ADIPOCINAS POSTPRANDIALES TRAS UNA SOBRECARGA GRASA

#### 3.1. ÁREA BAJO LA CURVA

Cuando analizamos el ABC de las adipocinas, se evidenció un efecto de la grasa en los niveles plasmáticos de adiponectina ( $p=0.001$ ), con una mayor ABC postprandial tras el desayuno rico en nueces que tras el rico en aceite de oliva ( $p=0.015$ ) o mantequilla ( $p=0.013$ ). No se observaron diferencias entre las distintas grasas utilizadas en la respuesta postprandial de leptina, resistina o AGL (**Tabla 19**).

	Mantequilla	Oliva	Nueces	P
<b>Adipo</b>	47896±7568 <sup>1</sup>	46592±6719 <sup>1</sup>	59845±8696 <sup>2</sup>	<b>0.001</b>
<b>Resistina</b>	5002±333	4809±281	5106±349	0.220
<b>Leptina</b>	11537±958	12365±891	12900±1253	0.286
<b>AGL</b>	208±11	210±15	183±14	0.112

**Tabla 19:** ABC de adipocinas según desayuno consumido. Datos expresados en  $X \pm EE$  (Media ± Error estándar), Adiponectina (ng/mL·h), Resistina y Leptina (ng/mL·min), AGL (mmol/L·min). P: efecto de la grasa (ANOVA para medidas repetidas). Medias en una fila con distintos números en el superíndice son significativamente diferentes estadísticamente,  $P < 0.05$  (test post-hoc de Bonferroni para comparaciones múltiples). Adipo: adiponectina; AGL: ácidos grasos libres.

		0	3	6	8.5
<b>Adipo</b>	M	6272±1091	5379±876 <sup>1</sup>	5608±949 <sup>1</sup>	5544±949
<i>P1:0.084</i>	O	5608±874	5655±1008 <sup>1,2</sup>	5569±822 <sup>1</sup>	4721±721
<b>P2:0.002</b>	N	6814±874	6731±954 <sup>2</sup>	7703±1224 <sup>2</sup>	6597±1042
<i>P3:0.269</i>					
<b>Resistina</b>	M	10.52±0.82	9.70±0.64	9.69±0.65	9.47±0.68
<b>P1:0.045</b>	O	9.52±0.63	9.12±0.53	9.52±0.58	9.85±0.55
<i>P2:0.267</i>	N	11.07±1.30	9.87±0.65	9.74±0.60	9.66±0.50
<i>P3:0.257</i>					
<b>Leptina</b>	M	23.06±2.10	23.02±2.12	21.83±1.75	22.75±1.87
<i>P1:0.210</i>	O	25.31±2.09	23.52±1.93	25.11±1.88	22.03±2.24
<i>P2:0.224</i>	N	26.26±2.38	24.80±3.28	25.98±3.20	22.97±2.07
<i>P3:0.824</i>					
<b>AGL</b>	M	0.38±0.04	0.25±0.02 <sup>a</sup>	0.53±0.04 <sup>a</sup>	0.56±0.03 <sup>a</sup>
<b>P1:0.001</b>	O	0.34±0.04	0.29±0.03	0.52±0.05	0.56±0.07
<i>P2:0.115</i>	N	0.38±0.04	0.24±0.03 <sup>a</sup>	0.43±0.04	0.46±0.03
<i>P3:0.287</i>					

**Tabla 20:** Concentraciones de adipocinas en cada tiempo postprandial según desayuno consumido. Datos expresados en  $X \pm EE$  (Media  $\pm$  Error estándar), Adiponectina, Resistina y Leptina (ng/mL), AGL (mmol/L). P1: efecto del tiempo. P2: efecto de la grasa del desayuno. P3: efecto de la interacción tiempo-grasa del desayuno. (ANOVA para medidas repetidas). a Diferencia estadísticamente significativa respecto al basal en cada desayuno rico en grasa. Medias en una columna con distintos números en el superíndice son significativamente diferentes estadísticamente,  $P < 0.05$  (test post-hoc de Bonferroni para comparaciones múltiples). Adipo: adiponectina; AGL: ácidos grasos libres; M: mantequilla; O: oliva; N: nueces

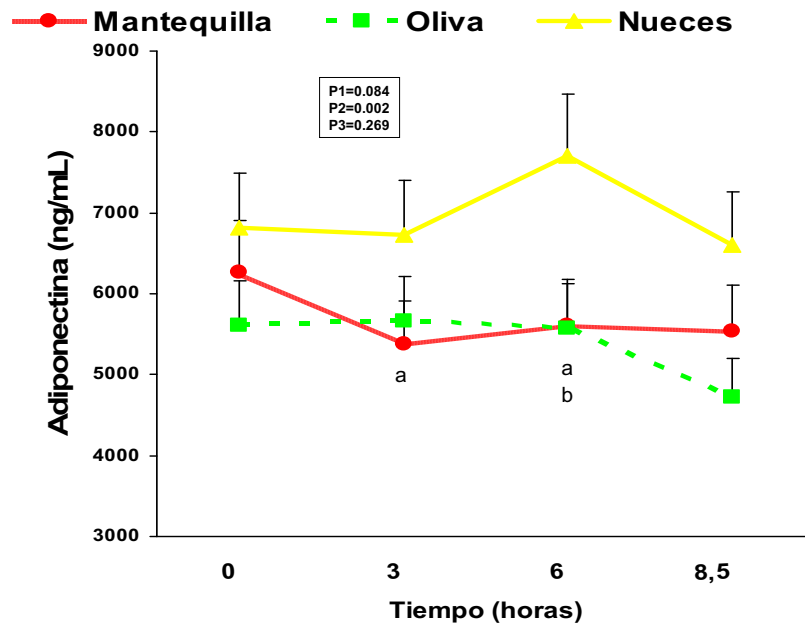
### 3.2. DIFERENCIA EN LOS PUNTOS POSTPRANDIALES ENTRE LOS DESAYUNOS RICOS EN GRASA

Se observó un efecto del desayuno consumido en las concentraciones de adiponectina ( $p=0.002$ ) (**Tabla 20**), mostrando en el análisis *post-hoc*, independientemente del tiempo, niveles mayores tras el desayuno con nueces que tras el de mantequilla ( $6961 \pm 1037$  vs.  $5701 \pm 923$  ng/mL,  $p=0.012$ ) o aceite de oliva ( $6961 \pm 1037$  vs.  $5388 \pm 744$  ng/mL,  $p=0.025$ ). Los niveles de adiponectina tras el desayuno rico en nueces fueron mayores a las 3 y 6 horas ( $p=0.011$ ,  $p=0.046$ , respectivamente) que tras el rico en mantequilla, y mayor a las 6 horas ( $p=0.036$ ) que tras el desayuno rico en aceite de



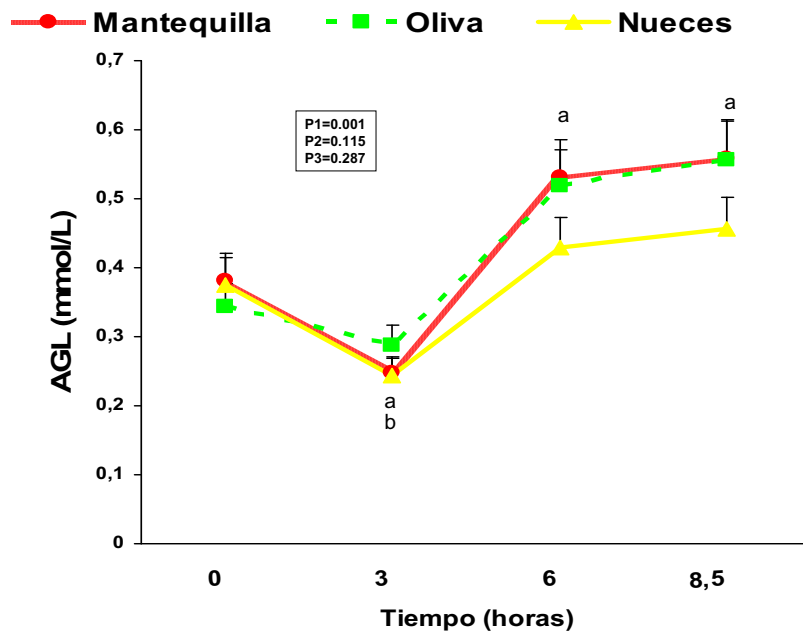
## Resultados

oliva, con una tendencia similar a las 3 horas ( $p=0.056$ ) (**Figura 7**).



**Figura 7:** Concentración postprandial de adiponectina (ng/mL) en cada tiempo y desayuno rico en grasa. a:  $p<0.05$  entre oliva y mantequilla. b:  $p<0.05$  entre oliva y nueces. P1: Efecto del tiempo. P2: Efecto de la grasa del desayuno. P3: Efecto de la interacción tiempo-grasa del desayuno.

No observamos diferencias entre las diferentes comidas grasas en ninguno de los puntos postprandiales en los niveles de AGL (**Tabla 20, Figura 8**), resistina (**Tabla 20, Figura 9**) o leptina (**Tabla 20, Figura 10**).



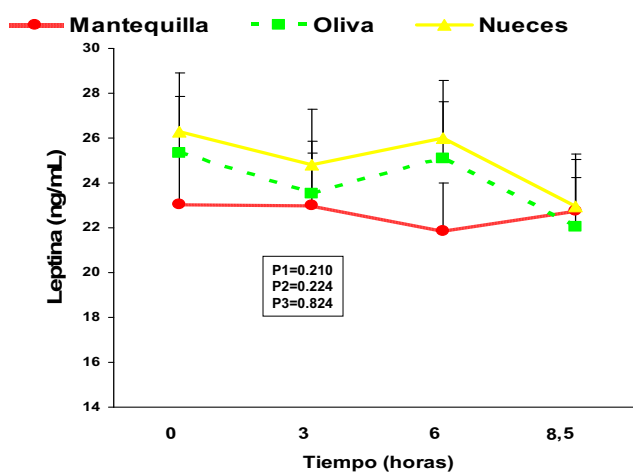
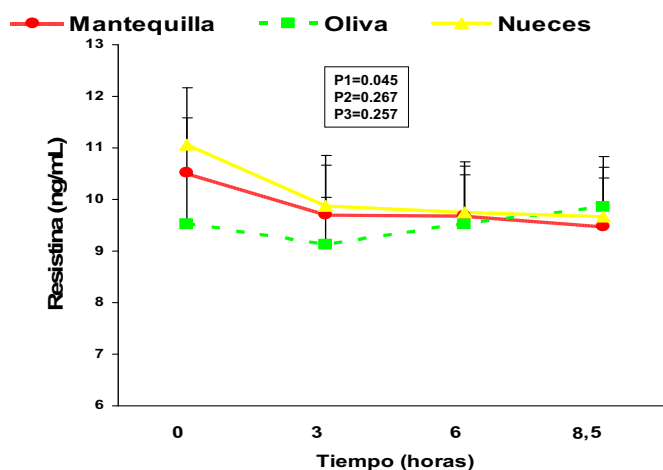
**Figura 8:** Concentración postprandial de AGL (mmol/L) en cada tiempo y desayuno rico en grasa. a: Cambio estadísticamente significativo respecto al basal tras el desayuno rico en mantequilla,  $p < 0.05$ . b: Cambio estadísticamente significativo respecto al basal tras el desayuno rico en nueces,  $p < 0.05$ . P1: Efecto del tiempo. P2: Efecto de la grasa del desayuno. P3: Efecto de la interacción tiempo-grasa del desayuno. AGL: ácidos grasos libres.

### 3.3. DIFERENCIAS RESPECTO AL BASAL TRAS LA INGESTA DE DESAYUNOS RICOS EN GRASA

Se evidenció un efecto del tiempo en las concentraciones de resistina ( $p = 0.045$ ) y AGL ( $p = 0.001$ ), con una tendencia similar con los niveles de adiponectina ( $p = 0.084$ ) (**Tabla 20**). Se observó un descenso de los niveles de AGL a las 3 horas respecto al basal tras la comida con nueces ( $p = 0.001$ ) y mantequilla ( $p = 0.013$ ), y un aumento a las 6 y 8.5 horas tras la comida con mantequilla ( $p = 0.008$  y  $p = 0.004$ , respectivamente) (**Figura 8**).

## Resultados

No hubo diferencias respecto al basal para adiponectina (Tabla 20, Figura 7), resistina (Tabla 20, Figura 9) y leptina (Tabla 20, Figura 10) para ninguno de los desayunos.



**Figuras 9 y 10:** Concentración postprandial de Resistina (ng/mL) y Leptina (ng/mL) en cada tiempo y desayuno rico en grasa. P1: Efecto del tiempo. P2:Efecto de la grasa del desayuno. P3:Efecto de la interacción tiempo-grasa del desayuno. AGL: ácidos grasos libres

#### 4.- ANÁLISIS DE LAS MOLÉCULAS SOLUBLES DE ADHESIÓN TRAS UNA SOBRECARGA GRASA

##### 4.1. ÁREA BAJO LA CURVA

No se encontraron diferencias en el ABC entre los tres desayunos ricos en grasa para el ICAM-1 o el VCAM-1 (**Tabla 21**)

	Mantequilla	Oliva	Nueces	P
<b>ICAM</b>	131855±6637	129094±7342	132052±7592	0.731
<b>VCAM</b>	347346±22294	343231±20355	332311±19267	0.492

**Tabla 21:** ABC de moléculas solubles de adhesión según el desayuno consumido. Datos expresados en X±EE (Media±Error estandar), ICAM-1 y VCAM-1 (ng/mL·min). P:efecto de la grasa del desayuno (Anova para medidas repetidas). ICAM: Molécula de adhesión intercelular; VCAM: Molécula de adhesión vascular

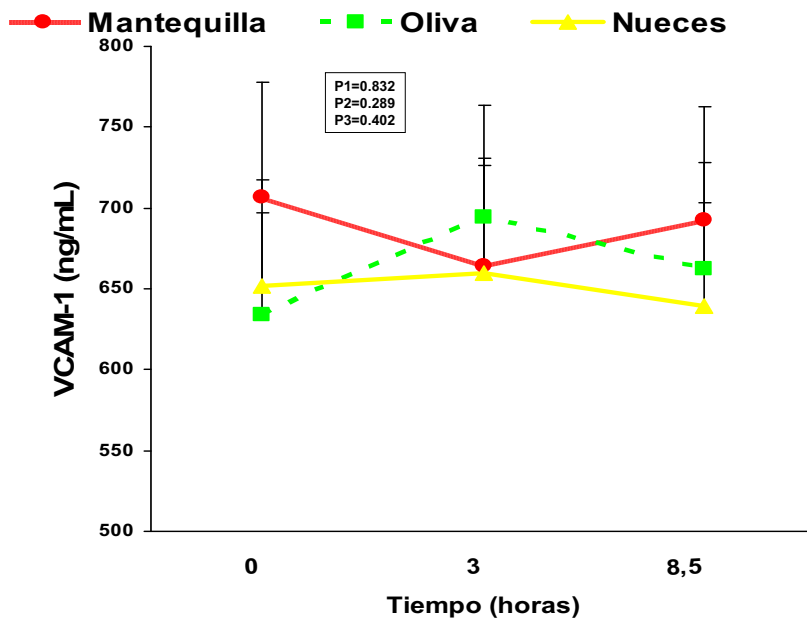
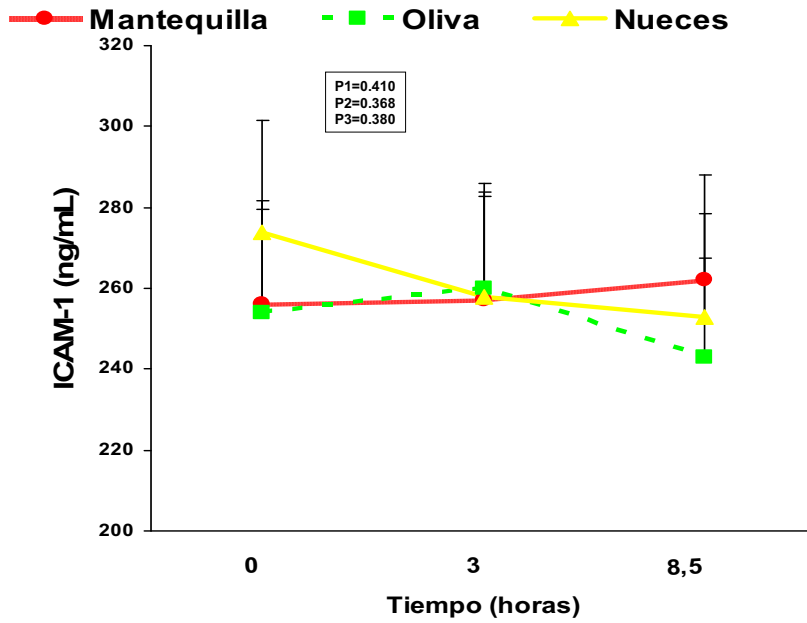
##### 4.2. CURVAS POSTPRANDIALES

No hubo diferencias entre las comidas grasas en ninguno de los puntos postprandiales estudiados ni se observó cambio respecto al basal en ninguno de los puntos para ninguno de los desayunos para el ICAM-1 (**Tabla 22, Figura 11**) o el VCAM-1 (**Tabla 22, Figura 12**).

		0	3	8.5
<b>ICAM-1</b> <i>P1:0.410</i> <i>P2:0.368</i> <i>P3:0.380</i>	Mantequilla	256±14	257±13	262±15
	Oliva	254±14	260±15	243±16
	Nueces	274±16	258±18	253±14
<b>VCAM-1</b> <i>P1:0.832</i> <i>P2:0.289</i> <i>P3:0.402</i>	Mantequilla	707±59	664±44	693±50
	Oliva	634±42	694±48	662±37
	Nueces	652±36	660±42	639±42

**Tabla 22:** Concentraciones de moléculas solubles de adhesión en cada tiempo postprandial según el desayuno consumido. Datos expresados en X±EE (Media±Error estandar), Adiponectina, Resistina y Leptina (ng/mL), AGL (mmol/L). P1:efecto del tiempo. P2: efecto de la grasa del desayuno. P3: efecto de la interacción tiempo-grasa del desayuno. (ANOVA para medidas repetidas). ICAM: Molécula de adhesión intercelular; VCAM: Molécula de adhesión vascular

Resultados



**Figuras 11 y 12:** Concentración postprandial de ICAM-1 y VCAM-1 (ng/mL) en cada tiempo y desayuno rico en grasa. P1: Efecto del tiempo. P2: Efecto de la grasa del desayuno. P3: Efecto de la interacción tiempo-grasa. ICAM: Molécula de adhesión intercelular; VCAM: Molécula de adhesión vascular

## **DISCUSIÓN**



Nuestros datos muestran que los sujetos en el grupo con mayor IMC presentan una respuesta lipémica postprandial mayor que los sujetos en el grupo con menor IMC, de forma que presentan a lo largo del postprandio un iABC mayor de TG en LRT grandes y TG en LRT pequeñas, y una tendencia similar en TG plasmáticos, independientemente del desayuno rico en grasa consumido. Este efecto está asociado a un aumento de partículas que contienen apoB100 de origen hepático. Además, en estos sujetos con mayor IMC observamos una respuesta postprandial diferencial según el tipo de grasa, de forma que la ingesta de un comida rica en aceite de oliva indujo una menor respuesta postprandial que los desayunos ricos en mantequilla o en nueces, con un menor iABC en TG y Col en LRT pequeñas, mientras que no hubo diferencias entre los tres desayunos en los voluntarios del grupo con menor IMC.

Se ha publicado que en las personas con mayor IMC, el ABC de TG a lo largo del día está aumentado respecto a los sujetos delgados<sup>294</sup>, siendo el IMC predictor independiente de la magnitud de dicho área<sup>295</sup>. Nuestros hallazgos son consistentes con este hecho, que es debido al aumento de la lipólisis, menor actividad de la LPL y menor capacidad para remover las partículas remanentes a medida que el IMC aumenta<sup>296</sup>. Metodológicamente, otros estudios han empleado el perímetro de la cintura, como más exacto indicador de la distribución androide de la grasa<sup>297</sup>. Se ha demostrado la asociación entre la medida de la cintura y los TG basales con la hipertrigliceridemia postprandial, condición que se denomina como fenotipo de "cintura hipertrigliceridémica".



## Discusión

Dado que tanto el IMC como el índice cintura-cadera se han demostrado como predictores de grasa subcutánea y visceral<sup>298</sup>, nosotros hemos utilizado el IMC como indicador del grado de obesidad, por su más sencillo y extendido uso en la práctica habitual.

En cuanto a las LRT postrandiales, su aumento en personas con sobrepeso se relaciona con el receptor de LDL, menos expresado en sus células mononucleares<sup>299</sup>, hecho que se corrige con la pérdida de peso, describiéndose en un estudio una mejoría de hasta en un 27% con la disminución de 10 kilogramos de peso<sup>98</sup>. Por otro lado, la producción aumentada de VLDL en los sujetos con sobrepeso compite por el receptor de LDL hepático y disminuye la captación a dicho nivel de las LRT postprandiales pequeñas<sup>300</sup>. Los pacientes con sobrepeso presentan un cierto grado de resistencia a la insulina, tal como se observa en los sujetos del grupo de mayor IMC de nuestro estudio, que presentan un mayor índice HOMA que los sujetos con menor IMC, que puede inducir un aumento de la producción de LRT de origen hepático y un descenso de su aclaramiento plasmático<sup>301</sup>, tal y como hemos observado en nuestro estudio, con mayores niveles de partículas de origen hepático que contienen apoB100 en las horas tardías del postprandio tras un desayuno rico en grasa. Además, existen evidencias de que este aumento de las LRT postprandiales puede inducir disfunción de la célula  $\beta$  pancreática, indicando que los cambios en las lipoproteínas plasmáticas presentes en el síndrome metabólico asociado a la obesidad no son sólo una consecuencia, sino también una causa de dicha enfermedad<sup>302,303</sup>.

Además, el grado de obesidad también puede determinar una diferente respuesta lipémica postprandial ante diferentes tipos de grasa en la dieta. Así, en nuestro estudio, en los sujetos con mayor IMC, la ingesta aguda de un desayuno rico en aceite de oliva virgen produjo un menor iABC, así como menores concentraciones en distintas horas postprandiales de colesterol y TG en LRT pequeñas que con los desayunos ricos en mantequilla y en nueces. Es posible que el consumo de aceite de oliva virgen y de grasa monoinsaturada produzca LRT con una mayor afinidad por el receptor hepático involucrado en su captación (LRP), induciendo un aclaramiento más rápido y eficiente de las mismas comparado con los de los otros tipos de grasas estudiadas. Varios son los mecanismos que podrían justificar esta respuesta. *In vitro*, se observó que los hepatocitos de rata internalizaban mejor las partículas remanentes al ser alimentados con aceite de pescado que con aceite de oliva<sup>304</sup>, pero faltan estudios en humanos que estudien el efecto de las distintas grasas sobre la expresión del receptor de LDL y la internalización de las partículas remanentes. Se ha demostrado que la insulina induce la captación hepática de los remanentes de Qm por el LRP1<sup>305</sup>, habiendo sido descrito previamente que el consumo de una dieta rica en MONO mejoraba la sensibilidad a la insulina<sup>306</sup>. Rivellese demostró que el consumo de una dieta rica en MONO modifica enzimas lipolíticas del tejido adiposo en pacientes con DM, incrementando la actividad tanto de la LPL como de la lipasa hormono-sensible<sup>47</sup>. Además, Zheng y cols. observaron que la ingesta de MONO activa vías catabólicas rápidas para el

## Discusión

metabolismo de LRT que contienen apoE y apoC-III y suprime el metabolismo más lento de las VLDL e IDLs, que no contienen estas apolipoproteínas<sup>307</sup>. Por otro lado, el consumo de aceite de oliva virgen determina la ingesta de otros componentes minoritarios con importantes efectos biológicos. En particular, experimentos *in vitro* han mostrado los efectos anti-aterogénicos de estos componentes minoritarios del aceite de oliva cuando forman parte de las LRT<sup>308</sup>. Uno de estos componentes son los compuestos fenólicos, en los que el aceite administrado a nuestros voluntarios es rico. Recientemente se ha demostrado que estos compuestos fenólicos, presentes en otras sustancias como el vino<sup>309</sup> o el té verde<sup>310</sup> son capaces de inducir un aumento en la actividad y expresión del gen del receptor para las LDL. Aunque no está estudiado específicamente en los polifenoles del aceite de oliva, esta circunstancia podría explicar la metabolización más rápida de las LRT pequeñas observada en nuestro trabajo.

Escasos estudios han medido el impacto de diferentes tipos de grasa en la respuesta postprandial atendiendo a los niveles de las partículas remanentes ricas en TG. Thomsen y cols. realizaron dos trabajos en los que midieron los TG presentes en la fracción pobre en QM, equiparable a las LRT pequeñas medidas en nuestro estudio, observando que no había diferencias entre la sobrecarga grasa con mantequilla y aceite de oliva en sujetos con sobrepeso y también diabéticos<sup>311</sup>, mientras que el consumo de aceite de oliva fue ventajoso en sujetos sanos y delgados<sup>312</sup>.

La medida más común en los distintos trabajos que han comparado el impacto de la ingesta de grasas en el

postprandio ha sido la respuesta de los TG postprandiales. También hemos encontrado que con el desayuno rico en aceite de oliva existe un pico precoz de TG a las dos horas comparado con las otras comidas. Este es significativo en los sujetos más delgados, y tiende a ser mayor pero sin significación en los de más IMC. Posteriormente, el aclaramiento es más rápido con el aceite de oliva. Esto concuerda con hallazgos previos publicados por el grupo de Zampelas<sup>313</sup>.

En general, se ha observado una menor respuesta postprandial con las dietas muy pobres en grasa y las ricas en POLI n-3<sup>314</sup>, y de forma intermedia con los POLI n-6 y MONO<sup>315</sup>. En cuanto a la grasa saturada, los estudios obtuvieron respuestas aumentadas<sup>312</sup>, pero paradójicamente también disminuidas<sup>40</sup> tras la toma de grasa saturada en forma de mantequilla. Comparaciones del efecto de aceites enriquecidos en POLI n-6 con aceites de oliva ricos en MONO mostraron magnitudes iguales<sup>43,316</sup> o menores<sup>317</sup> de lipemia postprandial. En cuanto a los POLI n-3, se ha descrito que sí pueden disminuir la respuesta postprandial de TG plasmáticos, pero precisan estar en cantidad suficiente dentro de la comida, niveles normalmente superiores a los consumidos por la mayoría de las personas. Estos trabajos, además de usar POLI n-3 de origen marino, están basados en la interacción entre la ingesta aguda y crónica de dichas grasas. Por ejemplo, en un estudio que evaluaba SAT, POLI y control con MONO, Park no encontró diferencias en la respuesta postprandial tras una sobrecarga grasa (1 gr/Kg de peso) en los voluntarios a los que se le había administrado 4 gr al día

## Discusión

de aceite de oliva durante 4 semanas frente a los dos AG de origen marino, DHA y/o EPA, a la misma dosis durante el mismo periodo de tiempo<sup>51</sup>. Rivellese ha observado que la sustitución de SAT por MONO tiene efecto beneficioso sobre la lipemia postprandial en TG y LRT, y que la suplementación con POLI omega-3 mejora los parámetros postprandiales independientemente de la dieta<sup>21</sup>. En estos, el efecto beneficioso del aceite de oliva pudo estar atenuado por la escasa proporción del aporte total energético que se realizaba en forma de MONO (menos del 2%), insuficiente para hablar de dieta mediterránea. Además, los AG omega-3 se administraron en forma de cápsulas de aceite de origen marino ricos en DHA y/o EPA, en cantidad superior a 4 gr al día, lo que supondría el consumo diario de dos platos de pescado graso (salmón, sardina, arenque...), por encima de la ingesta recomendable a la población general.

El efecto comparativo a nivel postprandial entre la ingesta aguda de MONO y POLI n-3 de origen vegetal no está estudiado. Por una parte, el consumo de ácido  $\alpha$ -linolénico se ha demostrado efectivo en la prevención secundaria de eventos vasculares y mortalidad tras un IAM<sup>318</sup>; por otra, los pacientes con enfermedad macrovascular presentan niveles superiores de TG postprandiales<sup>319</sup> y las LRT pequeñas de origen intestinal predicen de manera independiente el desarrollo de enfermedad cardiovascular<sup>320</sup>. Por todo ello, en nuestro trabajo hemos utilizado nueces, ricas en POLI n-3 de origen vegetal, para el estudio de su repercusión postprandial tras una sobrecarga grasa. Hemos proporcionado a los voluntarios alimentos naturales (mantequilla, aceite de oliva y

nueces, como ejemplo de grasas SAT, MONO y POLI omega-3, respectivamente) como un planteamiento dietético más práctico y exportable para la población general que los suplementos. Además, se ha demostrado que no solo es importante el tipo de grasa que se administre, sino también su estructura física, para su influencia sobre la magnitud de la lipemia postprandial<sup>321</sup>.

En una segunda parte del estudio, estudiamos el efecto de los tres desayunos ricos en grasa sobre las concentraciones postprandiales de adipocinas (adiponectina, leptina y resistina), así como de AGL.

Nuestro estudio muestra que tras un desayuno rico en POLI de origen vegetal a expensas de nueces se originó un ABC postprandial mayor de adiponectina, así como mayores niveles a las 3 y 6 horas tras la ingesta, que tras las sobrecarga rica en SAT o MONO, a expensas de desayunos ricos en mantequilla y aceite de oliva.

La relación entre los distintos tipos de AG de la dieta y la expresión y niveles de adiponectina ha sido documentada en ayunas. En modelos animales, la adición a la dieta de diferentes cantidades de POLI incrementó los niveles de adiponectina plasmática y la expresión de su ARNm en el tejido adiposo<sup>322</sup>. En humanos sanos, la ingesta de SAT se ha correlacionado de forma negativa con los niveles de adiponectina circulante, mientras que los POLI omega-3 se asociaron de forma positiva con ésta<sup>323</sup>. En cuanto a los MONO, un estudio mostró un aumento en las concentraciones de adiponectina tras el consumo diario de 6.5 mL de aceite de oliva durante 1 año en pacientes con esteatosis hepática no

## Discusión

alcohólica, pero este aceite estaba enriquecido con POLI n-3<sup>324</sup>. Ya en este grupo de pacientes, la ingesta de POLI predijo los niveles de adiponectina circulante<sup>251</sup>. Específicamente, la ingesta de nueces, alimento natural con el que realizamos nuestro trabajo y que es fuente de ácido  $\alpha$ -linolénico, POLI n-3, presentó una correlación directa con los niveles en ayunas de adiponectina en mujeres diabéticas<sup>325</sup>, encontrándose en otro trabajo reciente un aumento de sus niveles circulantes en pocos días de ingesta en pacientes obesos con síndrome metabólico<sup>326</sup>. El desayuno rico en nueces de nuestro estudio tenía un 12% más de POLI y un 3.3% más de ácido  $\alpha$ -linolénico como contenido en grasa respecto a los desayunos ricos en aceite de oliva y mantequilla, lo que significa de 3.5 a 4.7 gr de ácido  $\alpha$ -linolénico y de 17.5 a 23.5 gr de POLI según el peso de los voluntarios.

A nivel postprandial esta relación entre asociación entre tipo de AG y concentraciones de adiponectina ha sido escasamente estudiada y, por lo tanto, no establecida como en ayunas. Se han publicado dos trabajos que comparan directamente dos comidas grasas de idéntica cantidad pero diferente composición. En uno de ellos, Poppitt estudió el efecto de una comida rica en grasa (71% de la energía, 59.1 gr) durante las primeras 6 horas tras la ingesta en 18 varones sanos, no encontrando diferencias en la respuesta entre una comida con alto contenido en SAT (71 vs. 29% de insaturados) con otra con bajo contenido en SAT (55% vs. 45%)<sup>250</sup>. En un trabajo de nuestro grupo, la ingesta de 2 desayunos de contenido moderado en grasa (38% de la energía, 18.7 gr) de idéntica composición a la dieta consumida

durante 1 mes (rica en SAT- 23% SAT, 9% MONO, 6% POLI vs. rica en MONO (9% SAT, 23% MONO, 6% POLI), no produjo diferencias en los niveles postprandiales de adiponectina a los 180 minutos tras los desayunos, aunque en este estudio la población eran 11 pacientes con resistencia a la insulina y no fue estudiada la suplementación con AG POLI n-3<sup>249</sup>.

Nuestros datos no muestran diferencias entre los 3 desayunos en la respuesta postprandial de leptina. Poppitt también comparó la respuesta de leptina en un estudio de diseño similar en población y comidas empleadas, previo al descrito anteriormente, observándose descenso de la leptina tras ambas comidas, sin diferencias entre ellas<sup>265</sup>. El estudio referido de Paniagua<sup>249</sup> también mostró descenso de la leptina tras la comidas rica en SAT (36%) y rica en MONO (11%), sin diferencias entre ellas en ninguno de los puntos postprandiales.

Tampoco encontramos diferencia entre los 3 desayunos en la respuesta postprandial de resistina. El único estudio previo que lo había investigado, el de Paniagua, tampoco mostró diferencias entre sus dos comidas utilizadas.

La ingesta aguda de grasa modifica la sensibilidad a la insulina en el postprandio, habiéndose encontrado diferencias según el tipo de AG de la comida<sup>306</sup>, siendo las variaciones genéticas de adiponectina uno de los factores implicados en esta respuesta<sup>327</sup>. Por otro lado, tras una comida rica en grasa se han descrito aumentos postprandiales de citoquinas inflamatorias, como el TNF- $\alpha$ <sup>277</sup> o la IL-6<sup>285</sup>, que están implicadas en la regulación de la adiponectina, disminuyendo



## Discusión

las concentraciones de ésta. En nuestro grupo observamos, además, cómo la expresión del ARNm de estas citoquinas inflamatorias en células mononucleares era menor tras la ingesta de grasas insaturadas que tras saturada<sup>238</sup>. Sin embargo, la respuesta postprandial de las adipocinas a sobrecargas con medio y alto contenido graso no ha quedado establecida de forma tan evidente, con resultados muy dispares, posiblemente por la variabilidad en el contenido en grasa, el tipo de AG predominante, la población con la que se lleva a cabo el estudio y horas del postprandio estudiadas.

En nuestro trabajo no hemos encontrado que ninguna de las tres sobrecargas grasas administradas como desayuno modifique los niveles postprandiales respecto al basal de las adipocinas determinadas (leptina, resistina o adiponectina). Aquellos estudios que han determinado la leptina en el postprandio tras una sobrecarga con alto contenido graso han descrito su ausencia de cambios respecto al basal, como es el caso de nuestro estudio, tanto en sujetos delgados como obesos<sup>263,267</sup>, mientras que en otros estudios se observó un aumento<sup>264,268</sup> o descenso<sup>250,261</sup> respecto al basal. En cuanto a la adiponectina, los estudios con una comida con alto contenido en grasa normalmente han mostrado un descenso de los niveles en el postprandio, ya sea en trabajos realizados en voluntarios sanos o diabéticos<sup>244</sup>, con síndrome metabólico<sup>252</sup> o en pacientes con NASH, viéndose en este último trabajo también un aumento postprandial de la adiponectina en pacientes sanos<sup>251</sup>. También se han publicado estudios donde no se han evidenciado modificaciones de la adiponectina sobre la situación basal en distintas poblaciones,

pacientes sanos<sup>240,250,254</sup> como ha ocurrido en nuestro estudio, o sanos con antecedentes familiares de DM<sup>253</sup>. Por último, no se han publicado trabajos que analicen el cambio postprandial de resistina tras una sobrecarga con alto contenido en grasa. Los tres estudios que hemos encontrado, se han realizado con contenido moderado de grasa, habiéndose observado en pacientes sanos aumento<sup>258</sup> o disminución<sup>241</sup> respecto al basal, y ausencia de cambio respecto al basal en una población de personas con resistencia a la insulina, tanto con una comida rica en MONO como en SAT<sup>249</sup>.

Otra de las determinaciones que realizamos en nuestro trabajo fue la respuesta postprandial de AGL tras las distintas comidas grasas utilizadas. Aunque estadísticamente no se hayan observado diferencias en el ABC de las mismas o en los distintos puntos postprandiales analizados, se puede observar que las curvas son distintas para los 3 desayunos. De esta manera, la sobrecarga con mantequilla produce un aumento en las horas finales del postprandio, a las 6 y 8.5 horas respecto al basal, produciendo una mayor respuesta que los otros desayunos, hecho que ya había sido reflejado en estudios previos donde las respuestas postprandiales han sido mayores con SAT y menores con las comidas ricas en POLI<sup>43,328</sup>. Esto sugiere que el tipo de AG de la dieta influye en la segunda fase de respuesta postprandial de los AGL y que este mayor aumento de AGL en la comida rica en SAT puede deberse a una continua hidrólisis activa de LRT ricas en SAT y/o una menor recaptación de AGL ricos en SAT por el tejido adiposo, otros tejidos periféricos o el hígado. En la parte ascendente de la respuesta de los AGL, hemos observado en

## Discusión

nuestro trabajo una curva similar con los desayunos ricos en aceite de oliva y en mantequilla, como ya se había descrito en el trabajo de Robertson y cols. hasta la sexta hora postprandial<sup>329</sup> o en un trabajo de nuestro grupo en la tercera hora<sup>249</sup>. Además, en nuestro trabajo hubo un descenso significativo a las 3 horas con los desayunos ricos en mantequilla y en nueces, no así con el de aceite de oliva. Esto concuerda con resultados previos de Roche y cols.<sup>330</sup>, donde una comida rica en MONO mostró una menor supresión de AGL en las primeras horas postprandiales. Coiffier y cols.<sup>331</sup>, mostraron que los TG ricos en AG insaturados son hidrolizados más rápidamente que aquellos que contienen SAT. Por consiguiente, esta diferencia en la composición grasa de la comida podría estar asociada a una mayor tasa de hidrólisis de QM en la fase precoz postprandial que podría explicar las mayores concentraciones de AGL, así como picos precoces de hipertrigliceridemia respecto a otras grasas, descritos en otros trabajos<sup>313</sup>. Se ha propuesto que la adiponectina juega un papel significativo en la modulación de las concentraciones circulantes de AGL<sup>332</sup>, mecanismo que podría explicar, al menos en parte, nuestros hallazgos.

Por último, también analizamos la respuesta de las moléculas solubles de adhesión ICAM-1 y VCAM-1. No encontramos que ninguno de los tres desayunos modificase los niveles de ninguno de los parámetros respecto al basal. En la Tabla 12 en el apartado de Introducción, se resumen los estudios que han mostrado tanto un aumento como persistencia de sus niveles respecto al basal, ninguno de ellos ha descrito disminución. Por otro lado, no observamos

diferencias entre los tres desayunos en el ABC ni en los distintos puntos postprandiales analizados. Tres estudios previamente habían analizado diferencias entre tipos de grasa tras una sobrecarga con alto contenido en grasa. Peairs<sup>278</sup> dirigió un estudio con pacientes obesos y una sobrecarga rica en grasa entre 59 y 104 gr en función del peso, ricas en SAT, MONO o POLI. Aunque el ICAM-1 no cambió tras ninguna de las comidas, permaneció más bajo tras la sobrecarga rica en MONO ( $p = 0.031$ ) y el ABC de ICAM-1 fue mayor tras la comida rica en SAT que tras la rica en MONO ( $p = 0.051$ ). En el estudio de Pacheco y cols.<sup>282</sup>, se estudió, en personas con hipertrigliceridemia y sanos, la diferencia entre sobrecargas con alto contenido en grasa (76.79 gr) con distinto ratio MONO/SAT, obtenido a partir de aceite de oliva refinado (ratio 5.43) o de girasol rico en palmítico (ratio 2.42). Aunque mayor en el grupo con hipertrigliceridemia, en ambos grupos, tras ambas comidas, hubo un aumento postprandial de los niveles de ICAM-1 y VCAM-1, que disminuyeron más rápidamente tras la comida rica en aceite de oliva. En otro estudio de nuestro grupo con similar diseño al nuestro, pero con menor número de participantes (8), Bellido<sup>283</sup> observó un aumento de ICAM-1 respecto al basal a las 9 horas tras la ingesta de una comida rica en SAT a expensas de mantequilla, tiempo en el que sus niveles eran mayores que tras las comidas ricas en MONO o POLI, a expensas de aceite de oliva o nueces, respectivamente.

Nuestro estudio tiene una población cuidadosamente caracterizada. El diseño reproduce condiciones reales, con alimentos naturales y desayunos caseros reflejo de la práctica

## Discusión

real. También tiene algunas limitaciones, como el no haber medido el porcentaje de diferentes POLI presentes en cada desayuno (EPA, DHA...), por lo que no podemos asegurar que la diferencia con el desayuno rico en nueces sea debido al mayor contenido en ácido linolénico o al resto de POLI. Tampoco determinamos otros componentes presentes en las nueces o el aceite de oliva como los componentes fenólicos, que podrían ser responsables de los efectos encontrados.

En conclusión, los sujetos con mayor IMC presentan una mayor respuesta postprandial y se benefician del aporte de grasa en forma de MONO, como el aceite de oliva, para mejorar el metabolismo lipoproteico, al disminuir en mayor medida que los otros tipos de grasas estudiadas sus niveles de LRT postprandiales. Por otro lado, hemos hallado un perfil beneficioso en la respuesta postprandial tras una comida rica en POLI de origen vegetal, a expensas de nueces, con una mayor respuesta de adiponectina y una menor en AGL. Estos hallazgos pueden estar involucrados en el menor riesgo de enfermedad cardiovascular asociado al consumo de modelos de alimentación ricos en AG insaturados frente a los ricos en grasas saturadas, aunque nuevos estudios deben proponer evidencias sobre los mecanismos a través de los cuales ejercen sus efectos beneficiosos.

## **CONCLUSIONES**



### **CONCLUSIÓN PRINCIPAL:**

En los participantes con mayor índice de masa corporal, se observa que el consumo de desayunos ricos en mantequilla o en nueces produce un mayor área bajo la curva postprandial, con concentraciones mayores de colesterol y triglicéridos en las lipoproteínas ricas en triglicéridos pequeñas, comparado con la ingesta de un desayuno rico en aceite de oliva. Sin embargo, en el grupo de voluntarios con menor índice de masa corporal no se observan diferencias en la respuesta postprandial entre los tres desayunos estudiados.

### **CONCLUSIONES SECUNDARIAS:**

1º) El consumo de un desayuno rico en nueces produce un mayor área bajo la curva postprandial de adiponectina, con concentraciones mayores a las 3 y 6 horas comparados con la ingesta de los desayunos ricos en aceite de oliva o mantequilla.

2º) El consumo de un desayuno rico en nueces produce una menor respuesta de ácidos grasos libres, con un descenso de las concentraciones 3 horas después de la ingesta y sin aumento respecto a los valores basales a las 6 y 8 horas, hecho que sí se observa tras el desayuno rico en mantequilla.

3º) No se ha observado un efecto diferencial del tipo de grasa consumida ni cambios respecto al basal en la respuesta postprandial de leptina, resistina y las moléculas solubles de adhesión (ICAM-1 y VCAM-1) tras un desayuno rico en grasa.





## **ABREVIATURAS**



## Abreviaturas

- ABC= Área bajo la curva
- ADN= Ácido desoxirribonucleico
- AG= Ácidos grasos
- AGL=Ácidos grasos libres
- AMP= Adenosín monofosfato
- AMPK= Proteinkinasa activada por AMP
- ApoA1= Apolipoproteína A1
- ApoB= Apolipoproteína B
- ApoE= Apolipoproteína E
- ARNm= Ácido ribonucleico mensajero
- CETP= Proteína de transporte de ésteres de colesterol
- Col= Colesterol
- Col-LRT grandes= Colesterol en LRT grandes
- Col-LRT pequeñas= Colesterol en LRT pequeñas
- cols.= Colaboradores
- DHA= Ácido docosahexanoico
- DM= Diabetes mellitus tipo 2
- EE= Error estándar de la media
- ELISA= Análisis por inmunoadsorción con enzimas ligados
- EPA= Ácido eicosapentanoico
- gr= Gramos
- HC= Hidratos de carbono
- HDL= Lipoproteína de alta densidad
- HOMA= *Homeostatic Model Assessment*
- HW= (*High weight*) Grupo de participantes con IMC>26,18
- iABC= Incremento del área bajo la curva
- IAM= Infarto agudo de miocardio

## Abreviaturas

- ICAM= Molécula de adhesión intercelular
- ICC= Índice cintura-cadera
- IDL= Lipoproteína de densidad intermedia
- IL= Interleucina
- IMC= Índice de masa corporal
- Kg= Kilogramos
- LDL= Lipoproteína de baja densidad
- LDLc= Colesterol en lipoproteína de baja densidad
- LH=Lipasa hepática
- LPL=Lipoproteína lipasa
- LRP= Proteína relacionada con el receptor de LDL hepático
- LRT=Lipoproteínas ricas en triglicéridos
- LW= (*Low weight*) Grupo de participantes con IMC<26.18
- MCP-1= Proteína quimio-atrayente de monocitos
- MONO= Ácidos grasos monoinsaturados
- M-CSF= Factor estimulante de colonias de macrófagos
- NASH= Esteatohepatitis no alcohólica
- NF- $\kappa$ B= Factor nuclear de transcripción  $\kappa$ B
- n-3= Ácidos grasos poliinsaturados omega-3
- n-6= Ácidos grasos poliinsaturados omega-6
- NO= Óxido nítrico
- OMS= Organización Mundial de la Salud
- POLI= Ácidos grasos poliinsaturados
- PPAR= Receptores activados de proliferación de los peroxisomas
- QM= Quilomicrones
- RP= Retinil Palmitato

## Abreviaturas

- SAT= Ácidos grasos saturados
- TG= Triglicéridos
- TG-LRT grandes= Triglicéridos en LRT grandes
- TG-LRT pequeñas= Triglicéridos en LRT pequeñas
- TNF- $\alpha$ = Factor de necrosis tumoral alfa
- VCAM= Molécula de adhesión vascular
- VLDL= Lipoproteínas de muy baja densidad



## **REFERENCIAS**





## Referencias

1. Cohn JS. Postprandial Lipemia and Remnant Lipoproteins. *Clin. Lab. Med.* 2006;26:773-786.
2. Lambert MS, Avella MA, Berhane Y, et al. The differential hepatic uptake of chylomicron remnants of different fatty acid composition is not mediated by hepatic lipase. *Br. J. Nutr.* 2001;85:575-582.
3. Yu KC, Jiang Y, Chen W, et al. Rapid initial removal of chylomicron remnants by the mouse liver does not require hepatically localized apolipoprotein E. *J. Lipid Res.* 2000;41:1715-1727.
4. Zilversmit DB. Atherogenesis: a postprandial phenomenon. *Circulation.* 1979;60(3):473-485.
5. Shojaee-Moradie F, Ma Y, Lou S, et al. Prandial hypertriglyceridemia in metabolic syndrome is due to an overproduction of both chylomicron and vldl triacylglycerol. *Diabetes.* 2013;62:4063-4069.
6. Karpe F, Hultin M. Endogenous triglyceride-rich lipoproteins accumulate in rat plasma when competing with a chylomicron-like triglyceride emulsion for a common lipolytic pathway. *J Lipid Res.* 1995;36(7):1557-1566.
7. Alipour A, Elte JWF, van Zaanen HCT, Rietveld AP, Castro Cabezas M. Novel aspects of postprandial lipemia in relation to atherosclerosis. *Atheroscler. Suppl.* 2008;9:39-44.
8. Kolovou GD, Anagnostopoulou KK, Pilatis N, et al. Low fasting low high-density lipoprotein and postprandial lipemia. *Lipids Health Dis.* 2004;3:18.
9. Doi H, Kugiyama K, Oka H, et al. Remnant lipoproteins induce proatherothrombogenic molecules in endothelial cells through a redox-sensitive mechanism. *Circulation.* 2000;102(6):670-676.
10. Stapanian I, Pan XM, Rapp JH, et al. The role of dietary oxidized cholesterol and oxidized fatty acids in the development of atherosclerosis. *Mol. Nutr. Food Res.* 2005;49:1075-1082.
11. Esposito K, Ciotola M, Sasso FC, et al. Effect of a single high-fat meal on endothelial function in patients with the metabolic syndrome: role of tumor necrosis factor-alpha. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2007;17:274-279.
12. Kugiyama K, Doi H, Motoyama T, et al. Association of remnant lipoprotein levels with impairment of endothelium-dependent vasomotor function in human coronary arteries. *Circulation.* 1998;97(25):2519-2526.
13. Kawakami A, Tanaka A, Nakajima K, Shimokado K, Yoshida M. Atorvastatin attenuates remnant lipoprotein-induced monocyte adhesion to vascular endothelium under flow conditions. *Circ Res.* 2002;91(3):263-271.
14. Park JS, Park J, Kim CS, et al. Relationship of low-density lipoprotein particle size to insulin resistance and intima-media thickness in nondiabetic Koreans. *Metabolism.* 2006;55:1610-1615.
15. Shaikh M, Wootton R, Nordestgaard BG, et al. Quantitative studies of transfer in vivo of low density, Sf 12-60, and Sf 60-400 lipoproteins

## Referencias

- between plasma and arterial intima in humans. *Arter. Thromb.* 1991;11(3):569-577.
16. Palmer AM, Murphy N, Graham A. Triglyceride-rich lipoproteins inhibit cholesterol efflux to apolipoprotein (apo) A1 from human macrophage foam cells. *Atherosclerosis.* 2004;173:27-38.
  17. Gianturco SH, Bradley WA. Pathophysiology of triglyceride-rich lipoproteins in atherothrombosis: cellular aspects. *Clin Cardiol.* 1999;22(6 Suppl):II7-14.
  18. Cohn JS. Postprandial lipemia: emerging evidence for atherogenicity of remnant lipoproteins. *Can J Cardiol.* 1998;14 Suppl B:18B-27B.
  19. Guerin M, Le Goff W, Lassel TS, et al. Atherogenic role of elevated CE transfer from HDL to VLDL(1) and dense LDL in type 2 diabetes : impact of the degree of triglyceridemia. *Arter. Thromb Vasc Biol.* 2001;21(2):282-288.
  20. Kwiterovich Jr. PO. Clinical relevance of the biochemical, metabolic, and genetic factors that influence low-density lipoprotein heterogeneity. *Am J Cardiol.* 2002;90(8A):30i-47i.
  21. Rivellese AA, Maffettone A, Vessby B, et al. Effects of dietary saturated, monounsaturated and n-3 fatty acids on fasting lipoproteins, LDL size and post-prandial lipid metabolism in healthy subjects. *Atherosclerosis.* 2003;167(1):149-158.
  22. Minihane AM, Khan S, Leigh-Firbank EC, et al. ApoE polymorphism and fish oil supplementation in subjects with an atherogenic lipoprotein phenotype. *Arter. Thromb Vasc Biol.* 2000;20(8):1990-1997.
  23. Sanders TA, Sullivan DR, Reeve J, et al. Triglyceride-lowering effect of marine polyunsaturates in patients with hypertriglyceridemia. *Arteriosclerosis.* 1985;5(5):459-465.
  24. Karpe F, Tornvall P, Olivecrona T, et al. Composition of human low density lipoprotein: effects of postprandial triglyceride-rich lipoproteins, lipoprotein lipase, hepatic lipase and cholesteryl ester transfer protein. *Atherosclerosis.* 1993;98(1):33-49.
  25. Carmena R, Duriez P, Fruchart J-C. Atherogenic lipoprotein particles in atherosclerosis. *Circulation.* 2004;109:III2-17.
  26. Tsuzura S, Ikeda Y, Suehiro T, et al. Correlation of plasma oxidized low-density lipoprotein levels to vascular complications and human serum paraoxonase in patients with type 2 diabetes. *Metabolism.* 2004;53:297-302.
  27. Gofman JW, Lindgren F. The role of lipids and lipoproteins in atherosclerosis. *Science* 1950;111(2877):166-171.
  28. Pirillo A, Norata GD, Catapano AL. Postprandial lipemia as a cardiometabolic risk factor. *Curr Med Res Opin.* 2014;30(8):1489-1503.
  29. Bansal S, Buring JE, Rifai N, et al. Fasting compared with nonfasting triglycerides and risk of cardiovascular events in women. *Jama.* 2007;298(3):309-316.

## Referencias

30. Nordestgaard BG, Benn M, Schnohr P, et al. Nonfasting triglycerides and risk of myocardial infarction, ischemic heart disease, and death in men and women. *Jama*. 2007;298(3):299–308.
31. Freiberg JJ, Tybjaerg-Hansen A, Jensen JS, et al. Nonfasting triglycerides and risk of ischemic stroke in the general population. *Jama*. 2008;300(18):2142–2152.
32. Hamsten A, Silveira A, Boquist S, et al. The apolipoprotein CI content of triglyceride-rich lipoproteins independently predicts early atherosclerosis in healthy middle-aged men. *J Am Coll Cardiol*. 2005;45(7):1013–1017.
33. Dubois C, Beaumier G, Juhel C, et al. Effects of graded amounts (0-50 g) of dietary fat on postprandial lipemia and lipoproteins in normolipidemic adults. *Am J Clin Nutr*. 1998;67(1):31–38.
34. Jackson KG, Robertson MD, Fielding BA, et al. Olive oil increases the number of triacylglycerol-rich chylomicron particles compared with other oils: an effect retained when a second standard meal is fed. *Am J Clin Nutr*. 2002;76(5):942–949.
35. Van Oostrom AJHMM, Castro C, Ribalta J, et al. Diurnal triglyceride profiles in healthy normolipidemic male subjects are associated to insulin sensitivity, body composition and diet. *Eur. J. Clin. Invest*. 2000;30:964–971.
36. Lopez-Miranda J, Williams C, Lairon D. Dietary, physiological, genetic and pathological influences on postprandial lipid metabolism. *Br J Nutr*. 2007;98(3):458–473.
37. Williams CM. Dietary interventions affecting chylomicron and chylomicron remnant clearance. *Atherosclerosis*. 1998;141 Suppl :S87–92.
38. Burdge GC, Powell J, Calder PC. Lack of effect of meal fatty acid composition on postprandial lipid, glucose and insulin responses in men and women aged 50-65 years consuming their habitual diets. *Br. J. Nutr*. 2006;96:489–500.
39. Thomsen C, Rasmussen O, Christiansen C, et al. Comparison of the effects of a monounsaturated fat diet and a high carbohydrate diet on cardiovascular risk factors in first degree relatives to type-2 diabetic subjects. *Eur J Clin Nutr*. 1999;53(10):818–823.
40. Mekki N, Charbonnier M, Borel P, et al. Butter differs from olive oil and sunflower oil in its effects on postprandial lipemia and triacylglycerol-rich lipoproteins after single mixed meals in healthy young men. *J Nutr*. 2002;132(12):3642–3649.
41. Berry SEE, Tucker S, Banerji R, et al. Impaired postprandial endothelial function depends on the type of fat consumed by healthy men. *J. Nutr*. 2008;138:1910–1914.
42. De Bruin TW, Brouwer CB, van Linde-Sibenius Trip M, Jansen H, Erkelens DW. Different postprandial metabolism of olive oil and soybean oil: a possible mechanism of the high-density lipoprotein conserving effect of olive oil. *Am J Clin Nutr*. 1993;58(4):477–483.

## Referencias

43. Tholstrup T, Sandstrom B, Bysted A, et al. Effect of 6 dietary fatty acids on the postprandial lipid profile, plasma fatty acids, lipoprotein lipase, and cholesterol ester transfer activities in healthy young men. *Am J Clin Nutr.* 2001;73(2):198–208.
44. Rein P, Saely CH, Aczel S, et al. Omega-3 fatty acids significantly reduce postprandial triglyceridemia in male smokers: a pilot study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2009;19(2):e3–4.
45. Hanwell HE, Kay CD, Lampe JW, et al. Acute fish oil and soy isoflavone supplementation increase postprandial serum (n-3) polyunsaturated fatty acids and isoflavones but do not affect triacylglycerols or biomarkers of oxidative stress in overweight and obese hypertriglyceridemic men. *J Nutr.* 2009;139(6):1128–1134.
46. Jackson KG, Wolstencroft EJ, Bateman PA, et al. Greater enrichment of triacylglycerol-rich lipoproteins with apolipoproteins E and C-III after meals rich in saturated fatty acids than after meals rich in unsaturated fatty acids. *Am. J. Clin. Nutr.* 2005;81:25–34.
47. Rivellese AA, Giacco R, Annuzzi G, et al. Effects of monounsaturated vs. saturated fat on postprandial lipemia and adipose tissue lipases in type 2 diabetes. *Clin Nutr.* 2008;27(1):133–141.
48. Silva KD, Kelly CN, Jones AE, et al. Chylomicron particle size and number, factor VII activation and dietary monounsaturated fatty acids. *Atherosclerosis.* 2003;166(1):73–84.
49. Park Y, Harris WS. Dose-dependent effects of n-3 polyunsaturated fatty acids on platelet activation in mildly hypertriglyceridemic subjects. *J. Med. Food.* 2009;12:809–813.
50. Westphal S, Orth M, Ambrosch A, et al. Postprandial chylomicrons and VLDLs in severe hypertriacylglycerolemia are lowered more effectively than are chylomicron remnants after treatment with n-3 fatty acids. *Am J Clin Nutr.* 2000;71(4):914–920.
51. Park Y, Harris WS. Omega-3 fatty acid supplementation accelerates chylomicron triglyceride clearance. *J Lipid Res.* 2003;44(3):455–463.
52. Khan S, Minihane AM, Talmud PJ, et al. Dietary long-chain n-3 PUFAs increase LPL gene expression in adipose tissue of subjects with an atherogenic lipoprotein phenotype. *J Lipid Res.* 2002;43(6):979–985.
53. Finnegan YE, Minihane AM, Leigh-Firbank EC, et al. Plant- and marine-derived n-3 polyunsaturated fatty acids have differential effects on fasting and postprandial blood lipid concentrations and on the susceptibility of LDL to oxidative modification in moderately hyperlipidemic subjects. *Am J Clin Nutr.* 2003;77(4):783–795.
54. Jump DB. The biochemistry of n-3 polyunsaturated fatty acids. *J Biol Chem.* 2002;277(11):8755–8758.
55. Estruch R, Ros E, Salas-Salvadó J, et al. Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet. *N. Engl. J. Med.* 2013;368:1279–90.
56. Perez-Martinez P, Ordovas JM, Garcia-Rios A, et al. Consumption of diets with different type of fat influences triacylglycerols-rich lipoproteins

## Referencias

- particle number and size during the postprandial state. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 2011;21:39–45.
57. Defoort C, Vincent-Baudry S, Lairon D. Effects of 3-month Mediterranean-type diet on postprandial TAG and apolipoprotein B48 in the Medi-RIVAGE cohort. *Public Health Nutr.* 2011;14:2302–2308.
  58. Lairon D, Play B, Jourdeuil-Rahmani D. Digestible and indigestible carbohydrates: interactions with postprandial lipid metabolism. *J. Nutr. Biochem.* 2007;18:217–227.
  59. Kanazawa M, Xue CY, Kageyama H, et al. Effects of a high-sucrose diet on body weight, plasma triglycerides, and stress tolerance. *Nutr. Rev.* 2003;61:S27–S33.
  60. Stanhope KL, Bremer AA, Medici V, et al. Consumption of fructose and high fructose corn syrup increase postprandial triglycerides, LDL-cholesterol, and apolipoprotein-B in young men and women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2011;96(10):E1596–E1605
  61. Stanhope KL, Schwarz JM, Keim NL, et al. Consuming fructose-sweetened, not glucose-sweetened, beverages increases visceral adiposity and lipids and decreases insulin sensitivity in overweight/obese humans. *J. Clin. Invest.* 2009;119:1322–1334.
  62. Harbis A, Defoort C, Narbonne H, et al. Acute hyperinsulinism modulates plasma apolipoprotein B-48 triglyceride-rich lipoproteins in healthy subjects during the postprandial period. *Diabetes.* 2001;50(2):462–469.
  63. Harbis A, Perdreau S, Vincent-Baudry S, et al. Glycemic and insulinemic meal responses modulate postprandial hepatic and intestinal lipoprotein accumulation in obese, insulin-resistant subjects. *Am J Clin Nutr.* 2004;80(4):896–902.
  64. Kristensen M, Savorani F, Christensen S, et al. Flaxseed dietary fibers suppress postprandial lipemia and appetite sensation in young men. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 2013;23:136–143.
  65. Khossousi A, Binns CW, Dhaliwal SS, Pal S. The acute effects of psyllium on postprandial lipaemia and thermogenesis in overweight and obese men. *Br. J. Nutr.* 2008;99:1068–1075.
  66. Mamo JCL, James AP, Soares MJ, et al. A low-protein diet exacerbates postprandial chylomicron concentration in moderately dyslipidaemic subjects in comparison to a lean red meat protein-enriched diet. *Eur. J. Clin. Nutr.* 2005;59:1142–1148.
  67. Mortensen LS, Hartvigsen ML, Brader LJ, et al. Differential effects of protein quality on postprandial lipemia in response to a fat-rich meal in type 2 diabetes: Comparison of whey, casein, gluten, and cod protein. *Am. J. Clin. Nutr.* 2009;90:41–48.
  68. Kolovou GD, Anagnostopoulou KK, Damaskos DS, et al. Gender influence on postprandial lipemia in heterozygotes for familial hypercholesterolemia. *Ann. Clin. Lab. Sci.* 2007;37:335–342.
  69. Zaman GS, Rahman S, Rahman J. Postprandial lipemia in pre- and postmenopausal women. *J. Nat. Sci. Biol. Med.* 2012;3:65–70.

## Referencias

70. Ossewaarde ME, Dallinga-Thie GM, Bots ML, et al. Treatment with hormone replacement therapy lowers remnant lipoprotein particles in healthy postmenopausal women: results from a randomized trial. *Eur J Clin Invest.* 2003;33(5):376–382.
71. Cruz ML, Evans K, Frayn KN. Postprandial lipid metabolism and insulin sensitivity in young Northern Europeans, South Asians and Latin Americans in the UK. *Atherosclerosis.* 2001;159(2):441–449.
72. Dickinson S, Colagiuri S, Faramus E, et al. Postprandial hyperglycemia and insulin sensitivity differ among lean young adults of different ethnicities. *J Nutr.* 2002;132(9):2574–2579.
73. Bower JF, Deshaies Y, Pfeifer M, et al. Ethnic differences in postprandial triglyceride response to a fatty meal and lipoprotein lipase in lean and obese African American and Caucasian women. *Metabolism.* 2002;51(2):211–217.
74. Reiber I, Mezõ I, Kalina Á, et al. Postprandial triglyceride levels in familial combined hyperlipidemia. The role of apolipoprotein E and lipoprotein lipase polymorphisms. *J. Nutr. Biochem.* 2003;14:394–400.
75. Gomez P, López-Miranda J, Marin C, et al. Influence of the -514C/T polymorphism in the promoter of the hepatic lipase gene on postprandial lipoprotein metabolism. *Atherosclerosis.* 2004;174(1):73–79.
76. Georgopoulos A, Aras O, Tsai MY. Codon-54 polymorphism of the fatty acid-binding protein 2 gene is associated with elevation of fasting and postprandial triglyceride in type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85(9):3155–3160.
77. Gertow K, Skoglund-Andersson C, Eriksson P, et al. A common polymorphism in the fatty acid transport protein-1 gene associated with elevated post-prandial lipaemia and alterations in LDL particle size distribution. *Atherosclerosis.* 2003;167(2):265–273.
78. Marin C, Lopez-Miranda J, Gomez P, et al. Effects of the human apolipoprotein A-I promoter G-A mutation on postprandial lipoprotein metabolism. *Am J Clin Nutr.* 2002;76(2):319–325.
79. Van 't Hooft FM, Ruotolo G, Boquist S, et al. Human evidence that the apolipoprotein a-II gene is implicated in visceral fat accumulation and metabolism of triglyceride-rich lipoproteins. *Circulation.* 2001;104(11):1223–1228.
80. Ostos MA, Lopez-Miranda J, Marin C, et al. The apolipoprotein A-IV-360His polymorphism determines the dietary fat clearance in normal subjects. *Atherosclerosis.* 2000;153(1):209–217.
81. Woo SK, Kang HS. The apolipoprotein CIII T2854G variants are associated with postprandial triacylglycerol concentrations in normolipidemic Korean men. *J Hum Genet.* 2003;48(11):551–555.
82. Moreno JA, Lopez-Miranda J, Marin C, et al. The influence of the apolipoprotein E gene promoter (-219G/ T) polymorphism on postprandial lipoprotein metabolism in young normolipidemic males. *J Lipid Res.* 2003;44(11):2059–2064.

## Referencias

83. Jang Y, Kim JY, Kim OY, et al. The -1131T-->C polymorphism in the apolipoprotein A5 gene is associated with postprandial hypertriacylglycerolemia; elevated small, dense LDL concentrations; and oxidative stress in nonobese Korean men. *Am J Clin Nutr.* 2004;80(4):832-840.
84. López-Miranda J, Marín C, Castro P, et al. The effect of apolipoprotein B xbaI polymorphism on plasma lipid response to dietary fat. *Eur. J. Clin. Invest.* 2000;30:678-684.
85. Waterworth DM, Hubacek JA, Pitha J, et al. Plasma levels of remnant particles are determined in part by variation in the APOC3 gene insulin response element and the APOCI-APOE cluster. *J Lipid Res.* 2000;41(7):1103-1109.
86. Lundahl B, Hamsten A, Karpe F. Postprandial plasma ApoB-48 levels are influenced by a polymorphism in the promoter of the microsomal triglyceride transfer protein gene. *Arter. Thromb Vasc Biol.* 2002;22(2):289-293.
87. Perez-Martinez P, Lopez-Miranda J, Ordovas JM, et al. Postprandial lipemia is modified by the presence of the polymorphism present in the exon 1 variant at the SR-BI gene locus. *J Mol Endocrinol.* 2004;32(1):237-245.
88. Hadjadj S, Paul JL, Meyer L, et al. Delayed changes in postprandial lipid in young normolipidemic men after a nocturnal vitamin A oral fat load test. *J Nutr.* 1999;129(9):1649-1655.
89. Thomas TR, Horner KE, Langdon MM, et al. Effect of exercise and medium-chain fatty acids on postprandial lipemia. *J Appl Physiol.* 2001;90(4):1239-1246.
90. Zhang JQ, Smith B, Langdon MM, et al. Changes in LPLa and reverse cholesterol transport variables during 24-h postexercise period. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2002;283(2):E267-74.
91. Gill JM, Mees GP, Frayn KN, Hardman AE. Moderate exercise, postprandial lipaemia and triacylglycerol clearance. *Eur J Clin Invest.* 2001;31(3):201-207.
92. Kabagambe EK, Ordovas JM, Tsai MY, et al. Smoking, inflammatory patterns and postprandial hypertriglyceridemia. *Atherosclerosis.* 2009;203:633-639.
93. Sharrett AR, Heiss G, Chambless LE, et al. Metabolic and lifestyle determinants of postprandial lipemia differ from those of fasting triglycerides: The Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) study. *Arter. Thromb Vasc Biol.* 2001;21(2):275-281.
94. Suter PM, Gerritsen-Zehnder M, Häsler E, et al. Effect of alcohol on postprandial lipemia with and without preprandial exercise. *J. Am. Coll. Nutr.* 2001;20:58-64.
95. Fielding BA, Reid G, Grady M, et al. Ethanol with a mixed meal increases postprandial triacylglycerol but decreases postprandial non-esterified fatty acid concentrations. *Br J Nutr.* 2000;83(6):597-604.



## Referencias

96. Guerci B, Verges B, Durlach V, et al. Relationship between altered postprandial lipemia and insulin resistance in normolipidemic and normoglucose tolerant obese patients. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2000;24(4):468-478.
97. Goldberg IJ, Vanni-Reyes T, Ramakrishnan S, et al. Circulating lipoprotein profiles are modulated differently by lipoprotein lipase in obese humans. *J Cardiovasc Risk*. 2000;7(1):41-47.
98. James AP, Watts GF, Barrett PH, et al. Effect of weight loss on postprandial lipemia and low-density lipoprotein receptor binding in overweight men. *Metabolism*. 2003;52(2):136-141.
99. Taskinen MR. Diabetic dyslipidemia. *Atheroscler Suppl*. 2002;3(1):47-51.
100. Saito M, Eto M, Kaku K. Remnant-like lipoprotein particles in type 2 diabetic patients with apolipoprotein E3/3 and apolipoprotein E2 genotypes. *Metabolism*. 2002;51(8):964-969.
101. Boquist S, Hamsten A, Karpe F, et al. Insulin and non-esterified fatty acid relations to alimentary lipaemia and plasma concentrations of postprandial triglyceride-rich lipoproteins in healthy middle-aged men. *Diabetologia*. 2000;43(2):185-193.
102. Haffner SM. Lipoprotein disorders associated with type 2 diabetes mellitus and insulin resistance. *Am J Cardiol*. 2002;90(8A):55i-61i.
103. Schaefer EJ, McNamara JR, Shah PK, et al. Elevated remnant-like particle cholesterol and triglyceride levels in diabetic men and women in the Framingham Offspring Study. *Diabetes Care*. 2002;25(6):989-994.
104. Haslam DW, James WP. Obesity. *Lancet*. 2005;366(9492):1197-1209.
105. Power C, Jefferis BJ. Fetal environment and subsequent obesity: a study of maternal smoking. *Int J Epidemiol*. 2002;31(2):413-419.
106. Hediger ML, Overpeck MD, Kuczmarski RJ, et al. Association between infant breastfeeding and overweight in young children. *Jama*. 2001;285(19):2453-2460.
107. Guo SS, Wu W, Chumlea WC, et al. Predicting overweight and obesity in adulthood from body mass index values in childhood and adolescence. *Am J Clin Nutr*. 2002;76(3):653-658.
108. Lizcano F, Guzmán G. Estrogen deficiency and the origin of obesity during menopause. *Biomed Res. Int*. 2014;2014:757461.
109. Fox KR, Hillsdon M. Physical activity and obesity. *Obes. Rev*. 2007;8:115-121.
110. Hu FB, Li TY, Colditz GA, et al. Television watching and other sedentary behaviors in relation to risk of obesity and type 2 diabetes mellitus in women. *Jama*. 2003;289(14):1785-1791.
111. Spiegel K, Tasali E, Penev P, et al. Brief communication: Sleep curtailment in healthy young men is associated with decreased leptin levels, elevated ghrelin levels, and increased hunger and appetite. *Ann Intern Med*. 2004;141(11):846-850.

## Referencias

112. Schmidt SL, Harmon KA, Sharp TA, et al. The Effects of Overfeeding on Spontaneous Physical Activity in Obesity Prone and Obesity Resistant Humans. *Obesity*. 2012;20:2186–2193.
113. Bryant EJ, King NA, Blundell JE. Disinhibition: Its effects on appetite and weight regulation. *Obes. Rev.* 2008;9:409–419.
114. Pereira MA, Kartashov AI, Ebbeling CB, et al. Fast-food habits, weight gain, and insulin resistance (the CARDIA study): 15-year prospective analysis. *Lancet*. 2005;365(9453):36–42.
115. Allison KC, Wadden TA, Sarwer DB, et al. Night eating syndrome and binge eating disorder among persons seeking bariatric surgery: prevalence and related features. *Obes. (Silver Spring)*. 2006;14 Suppl 2:77S–82S.
116. Phillips CM, Kesse-Guyot E, McManus R, et al. High Dietary Saturated Fat Intake Accentuates Obesity Risk Associated with the Fat Mass and Obesity-Associated Gene in Adults. *J. Nutr.* 2012;142:824–831.
117. LaRowe TL, Piper ME, Schlam TR, et al. Obesity and smoking: comparing cessation treatment seekers with the general smoking population. *Obesity (Silver Spring)*. 2009;17:1301–1305.
118. Abraham SB, Rubino D, Sinaii N, et al. Cortisol, obesity, and the metabolic syndrome: a cross-sectional study of obese subjects and review of the literature. *Obesity (Silver Spring)*. 2013;21:E105–17.
119. Butler M. Prader-Willi Syndrome: Obesity due to Genomic Imprinting. *Curr. Genomics*. 2011;12(3): 204–215.
120. McTigue KM, Garrett JM, Popkin BM. The natural history of the development of obesity in a cohort of young U.S. adults between 1981 and 1998. *Ann Intern Med*. 2002;136(12):857–864.
121. Holt RIG, Peveler RC. Obesity, serious mental illness and antipsychotic drugs. *Diabetes, Obes. Metab.* 2009;11:665–679.
122. World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. *World Health Organ. Tech. Rep. Ser.* 2000;894:i–xii, 1–253.
123. Salas-Salvado J, Rubio MA, Barbany M, et al. SEEDO 2007 Consensus for the evaluation of overweight and obesity and the establishment of therapeutic intervention criteria. *Med Clin*. 2007;128(5):184–196.
124. Jee SH, Sull JW, Park J, et al. Body-mass index and mortality in Korean men and women. *N Engl J Med*. 2006;355(8):779–787.
125. Adams KF, Schatzkin A, Harris TB, et al. Overweight, obesity, and mortality in a large prospective cohort of persons 50 to 71 years old. *N Engl J Med*. 2006;355(8):763–778.
126. Ajani UA, Lotufo PA, Gaziano JM, et al. Body mass index and mortality among US male physicians. *Ann Epidemiol*. 2004;14(10):731–739.
127. Calle EE, Rodriguez C, Walker-Thurmond K, et al. Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults. *N Engl J Med*. 2003;348(17):1625–1638.

## Referencias

128. Wilson PW, D'Agostino RB, Sullivan L, et al. Overweight and obesity as determinants of cardiovascular risk: the Framingham experience. *Arch Intern Med*. 2002;162(16):1867–1872.
129. Li TY, Rana JS, Manson JE, et al. Obesity as compared with physical activity in predicting risk of coronary heart disease in women. *Circulation*. 2006;113(4):499–506.
130. Kenchaiah S, Evans JC, Levy D, et al. Obesity and the risk of heart failure. *N Engl J Med*. 2002;347(5):305–313.
131. Kurth T, Gaziano JM, Rexrode KM, et al. Prospective study of body mass index and risk of stroke in apparently healthy women. *Circulation*. 2005;111(15):1992–1998.
132. 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;285(19):2486–2497.
133. International Diabetes Federation. The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome. *IDF Consens. Worldw. Defin. Metab. Syndr*. 2006;28:1–7.
134. Farin HM, Abbasi F, Reaven GM. Body mass index and waist circumference correlate to the same degree with insulin-mediated glucose uptake. *Metabolism*. 2005;54(10):1323–1328.
135. Gavrilova O, Marcus-Samuels B, Graham D, et al. Surgical implantation of adipose tissue reverses diabetes in lipoatrophic mice. *J Clin Invest*. 2000;105(3):271–278.
136. Yki-Jarvinen H. Ectopic fat accumulation: an important cause of insulin resistance in humans. *J R Soc Med*. 2002;95 Suppl 4:39–45.
137. Chaldakov GN, Stankulov IS, Hristova M, et al. Adipobiology of disease: adipokines and adipokine-targeted pharmacology. *Curr Pharm Des*. 2003;9(12):1023–1031.
138. Barinaga M. "Obese" protein slims mice. *Science*. 1995;269(5223):475–476.
139. Ahima RS, Saper CB, Flier JS, et al. Leptin regulation of neuroendocrine systems. *Front Neuroendocr*. 2000;21(3):263–307.
140. Flier JS. Clinical review 94: What's in a name? In search of leptin's physiologic role. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83(5):1407–1413.
141. Frank S, Heni M, Moss A, et al. Leptin therapy in a congenital leptin-deficient patient leads to acute and long-term changes in homeostatic, reward, and food-related brain areas. *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 2011;96(8):E1283–E1287.
142. Wolfsdorf J, Sadeghi-Nejad A, Senior B. Leptin-replacement therapy in lipodystrophy. *N Engl J Med*. 2002;346(25):2008–2010.
143. Bakker AH, Van Dielen FM, Greve JW, et al. Preadipocyte number in omental and subcutaneous adipose tissue of obese individuals. *Obes Res*. 2004;12(3):488–498.

## Referencias

144. Montez JM, Soukas A, Asilmaz E, et al. Acute leptin deficiency, leptin resistance, and the physiologic response to leptin withdrawal. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(7):2537–2542.
145. Guízar-Mendoza JM, Amador-Licona N, Flores-Martínez SE, et al. Association analysis of the Gln223Arg polymorphism in the human leptin receptor gene, and traits related to obesity in Mexican adolescents. *J. Hum. Hypertens*. 2005;19:341–346.
146. Wallace AM, McMahon AD, Packard CJ, et al. Plasma leptin and the risk of cardiovascular disease in the west of Scotland coronary prevention study (WOSCOPS). *Circulation*. 2001;104(25):3052–3056.
147. Aleffi S, Navari N, Delogu W, et al. Mammalian target of rapamycin mediates the angiogenic effects of leptin in human hepatic stellate cells. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol*. 2011;301:G210–G219.
148. Bodary PF, Westrick RJ, Wickenheiser KJ, et al. Effect of leptin on arterial thrombosis following vascular injury in mice. *Jama*. 2002;287(13):1706–1709.
149. Xu FP, Chen MS, Wang YZ, et al. Leptin induces hypertrophy via endothelin-1-reactive oxygen species pathway in cultured neonatal rat cardiomyocytes. *Circulation*. 2004;110(10):1269–1275.
150. Ouchi N, Kihara S, Funahashi T, et al. Obesity, adiponectin and vascular inflammatory disease. *Curr Opin Lipidol*. 2003;14(6):561–566.
151. Waki H, Yamauchi T, Kamon J, et al. Impaired multimerization of human adiponectin mutants associated with diabetes. Molecular structure and multimer formation of adiponectin. *J Biol Chem*. 2003;278(41):40352–40363.
152. Tsao TS, Tomas E, Murrey HE, et al. Role of disulfide bonds in Acrp30/adiponectin structure and signaling specificity. Different oligomers activate different signal transduction pathways. *J Biol Chem*. 2003;278(50):50810–50817.
153. Yamauchi T, Kamon J, Waki H, et al. Globular adiponectin protected ob/ob mice from diabetes and ApoE-deficient mice from atherosclerosis. *J Biol Chem*. 2003;278(4):2461–2468.
154. Kojima S, Funahashi T, Maruyoshi H, et al. Levels of the adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, have a close relationship with atheroma. *Thromb. Res*. 2005;115:483–490.
155. Tan KC, Xu A, Chow WS, et al. Hypoadiponectinemia is associated with impaired endothelium-dependent vasodilation. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(2):765–769.
156. Bruun JM, Lihn AS, Verdich C, et al. Regulation of adiponectin by adipose tissue-derived cytokines: in vivo and in vitro investigations in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2003;285(3):E527–33.
157. Iwaki M, Matsuda M, Maeda N, et al. Induction of adiponectin, a fat-derived antidiabetic and antiatherogenic factor, by nuclear receptors. *Diabetes*. 2003;52(7):1655–1663.

## Referencias

158. Yamauchi T, Kamon J, Waki H, et al. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipotrophy and obesity. *Nat Med*. 2001;7(8):941–946.
159. Yamauchi T, Kamon J, Minokoshi Y, et al. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat Med*. 2002;8(11):1288–1295.
160. Pischon T, Girman CJ, Hotamisligil GS, et al. Plasma adiponectin levels and risk of myocardial infarction in men. *Jama*. 2004;291(14):1730–1737.
161. Schulze MB, Shai I, Rimm EB, et al. Adiponectin and future coronary heart disease events among men with type 2 diabetes. *Diabetes*. 2005;54(2):534–539.
162. Lindsay RS, Resnick HE, Zhu J, et al. Adiponectin and coronary heart disease: the Strong Heart Study. *Arter. Thromb Vasc Biol*. 2005;25(3):e15–6.
163. Lindsay RS, Funahashi T, Hanson RL, et al. Adiponectin and development of type 2 diabetes in the Pima Indian population. *Lancet*. 2002;360(9326):57–58.
164. Spranger J, Kroke A, Mohlig M, et al. Adiponectin and protection against type 2 diabetes mellitus. *Lancet*. 2003;361(9353):226–228.
165. Holcomb IN, Kabakoff RC, Chan B, et al. FIZZ1, a novel cysteine-rich secreted protein associated with pulmonary inflammation, defines a new gene family. *Embo J*. 2000;19(15):4046–4055.
166. Steppan CM, Bailey ST, Bhat S, et al. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature*. 2001;409(6818):307–312.
167. Rajala MW, Obici S, Scherer PE, et al. Adipose-derived resistin and gut-derived resistin-like molecule-beta selectively impair insulin action on glucose production. *J Clin Invest*. 2003;111(2):225–230.
168. Ukkola O. Resistin - a mediator of obesity-associated insulin resistance or an innocent bystander? *Eur J Endocrinol*. 2002;147(5):571–574.
169. Chen L, Nyomba BL. Glucose intolerance and resistin expression in rat offspring exposed to ethanol in utero: modulation by postnatal high-fat diet. *Endocrinology*. 2003;144(2):500–508.
170. Savage DB, Sewter CP, Klenk ES, et al. Resistin / Fizz3 expression in relation to obesity and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma action in humans. *Diabetes*. 2001;50(10):2199–2202.
171. Steppan CM, Lazar MA. The current biology of resistin. *J Intern Med*. 2004;255(4):439–447.
172. Reilly MP, Lehrke M, Wolfe ML, et al. Resistin is an inflammatory marker of atherosclerosis in humans. *Circulation*. 2005;111(7):932–939.
173. Ghosh S, Singh AK, Aruna B, et al. The genomic organization of mouse resistin reveals major differences from the human resistin: functional implications. *Gene*. 2003;305(1):27–34.

## Referencias

174. Osawa H, Onuma H, Murakami A, et al. Systematic search for single nucleotide polymorphisms in the resistin gene: the absence of evidence for the association of three identified single nucleotide polymorphisms with Japanese type 2 diabetes. *Diabetes*. 2002;51(3):863–866.
175. Engert JC, Vohl MC, Williams SM, et al. 5' flanking variants of resistin are associated with obesity. *Diabetes*. 2002;51(5):1629–1634.
176. Wang H, Chu WS, Hemphill C, et al. Human resistin gene: molecular scanning and evaluation of association with insulin sensitivity and type 2 diabetes in Caucasians. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87(6):2520–2524.
177. Patel L, Buckels AC, Kinghorn IJ, et al. Resistin is expressed in human macrophages and directly regulated by PPAR gamma activators. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003;300(2):472–476.
178. Hotamisligil GS. The irresistible biology of resistin. *J Clin Invest*. 2003;111(2):173–174.
179. McTernan CL, McTernan PG, Harte AL, et al. Resistin, central obesity, and type 2 diabetes. *Lancet*. 2002;359(9300):46–47.
180. Janke J, Engeli S, Gorzelnik K, et al. Resistin gene expression in human adipocytes is not related to insulin resistance. *Obes Res*. 2002;10(1):1–5.
181. Nagaev I, Smith U. Insulin resistance and type 2 diabetes are not related to resistin expression in human fat cells or skeletal muscle. *Biochem Biophys Res Commun*. 2001;285(2):561–564.
182. Hurtado Del Pozo C, Calvo RM, Vesperinas-García G, et al. Expression profile in omental and subcutaneous adipose tissue from lean and obese subjects. Repression of lipolytic and lipogenic genes. *Obes Surg*. 2011;21:633–643.
183. Esposito K, Pontillo A, Di Palo C, et al. Effect of weight loss and lifestyle changes on vascular inflammatory markers in obese women: a randomized trial. *Jama*. 2003;289(14):1799–1804.
184. Bastard JP, Jardel C, Bruckert E, et al. Elevated levels of interleukin 6 are reduced in serum and subcutaneous adipose tissue of obese women after weight loss. *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 2000;85:3338–3342.
185. Senn JJ, Klover PJ, Nowak IA, et al. Suppressor of cytokine signaling-3 (SOCS-3), a potential mediator of interleukin-6-dependent insulin resistance in hepatocytes. *J Biol Chem*. 2003;278(16):13740–13746.
186. Rotter Sopasakis V, Larsson BM, Johansson A, et al. Short-term infusion of interleukin-6 does not induce insulin resistance in vivo or impair insulin signalling in rats. *Diabetologia*. 2004;47(11):1879–1887.
187. Mishima Y, Kuyama A, Tada A, et al. Relationship between serum tumor necrosis factor-alpha and insulin resistance in obese men with Type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res. Clin. Pract*. 2001;52:119–123.

## Referencias

188. Nieto-Vazquez I, Fernández-Veledo S, Krämer DK, et al. Insulin resistance associated to obesity: the link TNF-alpha. *Arch. Physiol. Biochem.* 2008;114:183-194.
189. Yudkin JS, Eringa E, Stehouwer CD. "Vasocrine" signalling from perivascular fat: a mechanism linking insulin resistance to vascular disease. *Lancet.* 2005;365(9473):1817-1820.
190. Jellema A, Plat J, Mensink RP. Weight reduction, but not a moderate intake of fish oil, lowers concentrations of inflammatory markers and PAI-1 antigen in obese men during the fasting and postprandial state. *Eur J Clin Invest.* 2004;34(11):766-773.
191. Ridker PM, Rifai N, Pfeffer M, et al. Elevation of tumor necrosis factor-alpha and increased risk of recurrent coronary events after myocardial infarction. *Circulation.* 2000;101(18):2149-2153.
192. Cesari M, Penninx BW, Newman AB, et al. Inflammatory markers and onset of cardiovascular events: results from the Health ABC study. *Circulation.* 2003;108(19):2317-2322.
193. Pai JK, Pischon T, Ma J, et al. Inflammatory markers and the risk of coronary heart disease in men and women. *N Engl J Med.* 2004;351(25):2599-2610.
194. Matthan NR, Cianflone K, Lichtenstein AH, et al. Hydrogenated fat consumption affects acylation-stimulating protein levels and cholesterol esterification rates in moderately hypercholesterolemic women. *J Lipid Res.* 2001;42(11):1841-1848.
195. St-Pierre DH, Cianflone K, Smith J, et al. Change in plasma acylation stimulating protein during euglycaemic- hyperinsulinaemic clamp in overweight and obese postmenopausal women: A MONET study. *Clin. Endocrinol. (Oxf).* 2009;70:539-546.
196. Lindeman JHN, Pijl H, Toet K, et al. Human visceral adipose tissue and the plasminogen activator inhibitor type 1. *Int. J. Obes. (Lond).* 2007;31:1671-1679.
197. Festa A, D'Agostino Jr. R, Tracy RP, et al. 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;51(4):1131-1137.
198. Ailhaud G, Fukamizu A, Massiera F, et al. Angiotensinogen, angiotensin II and adipose tissue development. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2000;24 Suppl 4:S33-5.
199. Valsamakis G, Anwar A, Tomlinson JW, et al. 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 activity in lean and obese males with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(9):4755-4761.
200. Jones ME, Thorburn AW, Britt KL, et al. Aromatase-deficient (ArKO) mice have a phenotype of increased adiposity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000;97(23):12735-12740.
201. Fukuhara A, Matsuda M, Nishizawa M, et al. Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin. *Science* 2005;307(5708):426-430.

## Referencias

202. Bozaoglu K, Bolton K, McMillan J, et al. Chemerin is a novel adipokine associated with obesity and metabolic syndrome. *Endocrinology*. 2007;148:4687–4694.
203. Lee YS, Choi JW, Hwang I, et al. Adipocytokine orosomucoid integrates inflammatory and metabolic signals to preserve energy homeostasis by resolving immoderate inflammation. *J. Biol. Chem.* 2010;285:22174–22185.
204. Horowitz JF, Klein S. Whole body and abdominal lipolytic sensitivity to epinephrine is suppressed in upper body obese women. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2000;278(6):E1144–52.
205. Shulman GI. Cellular mechanisms of insulin resistance. *J Clin Invest.* 2000;106(2):171–176.
206. Wang Y, Sullivan S, Trujillo M, et al. Perilipin expression in human adipose tissues: effects of severe obesity, gender, and depot. *Obes Res.* 2003;11(8):930–936.
207. Zhang HH, Souza SC, Muliro K V, et al. Lipase-selective functional domains of perilipin A differentially regulate constitutive and protein kinase A-stimulated lipolysis. *J Biol Chem.* 2003;278(51):51535–51542.
208. Ziccardi P, Nappo F, Giugliano G, et al. Reduction of inflammatory cytokine concentrations and improvement of endothelial functions in obese women after weight loss over one year. *Circulation.* 2002;105(7):804–809.
209. Weisberg SP, McCann D, Desai M, et al. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest.* 2003;112(12):1796–1808.
210. Xu H, Barnes GT, Yang Q, et al. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J Clin Invest.* 2003;112(12):1821–1830.
211. Cinti S, Mitchell G, Barbatelli G, et al. Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans. *J Lipid Res.* 2005;46(11):2347–2355.
212. Libby P. Changing concepts of atherogenesis. *J Intern Med.* 2000;247(3):349–358.
213. Abdala-Valencia H, Berdnikovs S, Cook-Mills JM. Mechanisms for vascular cell adhesion molecule-1 activation of ERK1/2 during leukocyte transendothelial migration. *PLoS One.* 2011;6(10): e26706.
214. Bäck M, Bu D, Bränström R, et al. Leukotriene B4 signaling through NF-kappaB-dependent BLT1 receptors on vascular smooth muscle cells in atherosclerosis and intimal hyperplasia. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2005;102:17501–17506.
215. Maehara K, Hasegawa T, Isobe KI. A NF-kB p65 subunit is indispensable for activating manganese superoxide: Dismutase gene transcription mediated by tumor necrosis factor-?? *J. Cell. Biochem.* 2000;77:474–486.



## Referencias

216. O'Rourke L, Gronning LM, Yeaman SJ, et al. Glucose-dependent regulation of cholesterol ester metabolism in macrophages by insulin and leptin. *J Biol Chem*. 2002;277(45):42557-42562.
217. Yudkin JS, Kumari M, Humphries SE, et al. Inflammation, obesity, stress and coronary heart disease: is interleukin-6 the link? *Atherosclerosis*. 2000;148(2):209-214.
218. Ridker PM, Rifai N, Rose L, et al. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Engl J Med*. 2002;347(20):1557-1565.
219. Stentz FB, Umpierrez GE, Cuervo R, et al. Proinflammatory cytokines, markers of cardiovascular risks, oxidative stress, and lipid peroxidation in patients with hyperglycemic crises. *Diabetes*. 2004;53(8):2079-2086.
220. Gabriely I, Yang XM, Cases JA, et al. Hyperglycemia induces PAI-1 gene expression in adipose tissue by activation of the hexosamine biosynthetic pathway. *Atherosclerosis*. 2002;160(1):115-122.
221. Tanaka S, Koyama H, Ichii T, et al. Fibrillar collagen regulation of plasminogen activator inhibitor-1 is involved in altered smooth muscle cell migration. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 2002;22:1573-1578.
222. Mannucci PM, Bernardinelli L, Foco L, et al. Tissue plasminogen activator antigen is strongly associated with myocardial infarction in young women. *J. Thromb. Haemost*. 2005;3:280-286.
223. Tham DM, Martin-McNulty B, Wang YX, et al. Angiotensin II is associated with activation of NF-kappaB-mediated genes and downregulation of PPARs. *Physiol Genomics*. 2002;11(1):21-30.
224. Cai H, Li Z, Dikalov S, et al. NAD(P)H oxidase-derived hydrogen peroxide mediates endothelial nitric oxide production in response to angiotensin II. *J Biol Chem*. 2002;277(50):48311-48317.
225. Widlansky ME, Gokce N, Keaney Jr. JF, et al. The clinical implications of endothelial dysfunction. *J Am Coll Cardiol*. 2003;42(7):1149-1160.
226. Jambrik Z, Venneri L, Varga A, et al. Peripheral vascular endothelial function testing for the diagnosis of coronary artery disease. *Am Hear. J*. 2004;148(4):684-689.
227. Verma S, Li SH, Wang CH, et al. Resistin promotes endothelial cell activation: further evidence of adipokine-endothelial interaction. *Circulation*. 2003;108(6):736-740.
228. Kawanami D, Maemura K, Takeda N, et al. Direct reciprocal effects of resistin and adiponectin on vascular endothelial cells: a new insight into adipocytokine-endothelial cell interactions. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004;314(2):415-419.
229. Calabro P, Samudio I, Willerson JT, et al. Resistin promotes smooth muscle cell proliferation through activation of extracellular signal-regulated kinase 1/2 and phosphatidylinositol 3-kinase pathways. *Circulation*. 2004;110(21):3335-3340.

## Referencias

230. Mottillo S, Filion KB, Genest J, et al. The metabolic syndrome and cardiovascular risk a systematic review and meta-analysis. *J Am Coll Cardiol*. 2010;56:1113-1132.
231. Le NA, Walter MF. The role of hypertriglyceridemia in atherosclerosis. *Curr. Atheroscler. Rep*. 2007;9:110-115.
232. Mora S, Rifai N, Buring JE, et al. Fasting compared with nonfasting lipids and apolipoproteins for predicting incident cardiovascular events. *Circulation*. 2008;118:993-1001.
233. Varbo A, Nordestgaard BG, Tybjaerg-Hansen A, et al. Nonfasting triglycerides, cholesterol, and ischemic stroke in the general population. *Ann. Neurol*. 2011;69:628-634.
234. Jackson KG, Walden CM, Murray P, 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;220:237-243.
235. García-Ríos A, Delgado-Lista J, Pérez-Martínez, et. Al. Relevance of postprandial lipemia in metabolic syndrome. *Curr. Vasc. Pharmacol*. 2014;11:920-7.
236. Pérez-Martínez P, Moreno-Conde M, Cruz-Teno C, et al. Dietary fat differentially influences regulatory endothelial function during the postprandial state in patients with metabolic syndrome: From the LIPGENE study. *Atherosclerosis*. 2010;209:533-538.
237. Pérez-Martínez P, García-Quintana JM, Yubero-Serrano EM, et al. Postprandial oxidative stress is modified by dietary fat: evidence from a human intervention study. *Clin. Sci. (Lond)*. 2010;119:251-261.
238. Jiménez-Gómez Y, López-Miranda J, Blanco-Colio LM, 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;204(2):e70-6.
239. Delgado-lista J, López-Miranda J, Pérez-martínez P, et al. Chronic dietary fat intake modifies the postprandial response of hemostatic markers to a single fatty test meal 1 - 3. *Am J Clin Nutr*. 2008;87(2):317-322.
240. Shimabukuro M, Chinen I, Higa N, et al. Effects of dietary composition on postprandial endothelial function and adiponectin concentrations in healthy humans: a crossover controlled study. *Am J Clin Nutr*. 2007;86(4):923-928.
241. Yamauchi J, Osawa H, Takasuka T, et al. Serum resistin is reduced by glucose and meal loading in healthy human subjects. *Metabolism*. 2008;57(2):149-156.
242. Gil-Campos M, Ramirez Tortosa MC, Aguilera CM, et al. Fasting and postprandial adiponectin alterations anticipate NEFA and TNF-alpha changes in prepubertal obese children. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2011; 21(1):62-68.
243. Caixas A, Gimenez-Palop O, Gimenez-Perez G, et al. Postprandial adiponectin levels are unlikely to contribute to the pathogenesis of obesity in Prader-Willi syndrome. *Horm Res*. 2006;65(1):39-45.

## Referencias

244. Esposito K, Nappo F, Giugliano F, et al. Meal modulation of circulating interleukin 18 and adiponectin concentrations in healthy subjects and in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr.* 2003;78(6):1135–1140.
245. Hotta K, Funahashi T, Arita Y, et al. Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arter. Thromb Vasc Biol.* 2000;20(6):1595–1599.
246. Imbeault P, Pomerleau M, Harper ME, et al. Unchanged fasting and postprandial adiponectin levels following a 4-day caloric restriction in young healthy men. *Clin Endocrinol.* 2004;60(4):429–433.
247. English PJ, Coughlin SR, Hayden K, et al. Plasma adiponectin increases postprandially in obese, but not in lean, subjects. *Obes Res.* 2003;11(7):839–844.
248. Karlsson FA, Ede B. No Postprandial Increase of Plasma Adiponectin in Obese Subjects Response: Postprandial Adiponectin Revisited. *Obes Res.* 2004;12(6):1031–1032.
249. Paniagua JA, Gallego de la Sacristana A, Romero I, et al. Monounsaturated fat-rich diet prevents central body fat distribution and decreases postprandial adiponectin expression induced by a carbohydrate-rich diet in insulin-resistant subjects. *Diabetes Care.* 2007;30(7):1717–1723.
250. Poppitt SD, Keogh GF, Lithander FE, et al. Postprandial response of adiponectin, interleukin-6, tumor necrosis factor- $\alpha$ , and C-reactive protein to a high-fat dietary load. *Nutrition.* 2008;24(4):322–329.
251. Musso G, Gambino R, Durazzo M, et al. Adipokines in NASH: postprandial lipid metabolism as a link between adiponectin and liver disease. *Hepatology.* 2005;42(5):1175–1183.
252. Rubin D, Helwig U, Nothnagel M, et al. Postprandial plasma adiponectin decreases after glucose and high fat meal and is independently associated with postprandial triacylglycerols but not with -- 11388 promoter polymorphism. *Br J Nutr.* 2008;99(1):76–82.
253. Peake PW, Kriketos AD, Denyer GS, et al. The postprandial response of adiponectin to a high-fat meal in normal and insulin-resistant subjects. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2003;27(6):657–662.
254. Ozeki N, Hara K, Yatsuka C, et al. Serum high-molecular weight adiponectin decreases abruptly after an oral glucose load in subjects with normal glucose tolerance or impaired fasting glucose, but not those with impaired glucose tolerance or diabetes mellitus. *Metabolism.* 2009;58(10):1470–1476.
255. Mohlig M, Wegewitz U, Osterhoff M, et al. Insulin decreases human adiponectin plasma levels. *Horm Metab Res.* 2002;34(11-12):655–658.
256. Von Eynatten M, Schneider JG, Humpert PM, et al. Decreased plasma lipoprotein lipase in hypoadiponectinemia: an association independent of systemic inflammation and insulin resistance. *Diabetes Care.* 2004;27(12):2925–2929.

## Referencias

257. Ng TW, Watts GF, Farvid MS, et al. Adipocytokines and VLDL metabolism: independent regulatory effects of adiponectin, insulin resistance, and fat compartments on VLDL apolipoprotein B-100 kinetics? *Diabetes*. 2005;54(3):795-802.
258. Gruendel S, Weickert MO, Garcia AL, et al. Serum resistin increases in a postprandial state during liquid meal challenge test in healthy human subjects. *J Endocrinol Invest*. 2006;29(10):RC27-30.
259. Wellen KE, Hotamisligil GS. Inflammation, stress, and diabetes. *J Clin Invest*. 2005;115(5):1111-1119.
260. Romon M, Lebel P, Velly C, et al. Leptin response to carbohydrate or fat meal and association with subsequent satiety and energy intake. *Am J Physiol*. 1999;277(5 Pt 1):E855-61.
261. Guerci B, Hadjadj S, Quilliot D, et al. No acute response of leptin to an oral fat load in obese patients and during circadian rhythm in healthy controls. *Eur J Endocrinol*. 2000;143(5):649-655.
262. Monteleone P, Bencivenga R, Longobardi N, et al. Differential responses of circulating ghrelin to high-fat or high-carbohydrate meal in healthy women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88(11):5510-5514.
263. Tentolouris N, Tsigos C, Perea D, et al. Differential effects of high-fat and high-carbohydrate isoenergetic meals on cardiac autonomic nervous system activity in lean and obese women. *Metabolism*. 2003;52(11):1426-1432.
264. Imbeault P, Doucet E, Mauriege P, et al. Difference in leptin response to a high-fat meal between lean and obese men. *Clin Sci*. 2001;101(4):359-365.
265. Poppitt SD, Leahy FE, Keogh GF, et al. Effect of high-fat meals and fatty acid saturation on postprandial levels of the hormones ghrelin and leptin in healthy men. *Eur J Clin Nutr*. 2006;60(1):77-84.
266. Giacco R, Clemente G, Busiello L, et al. Insulin sensitivity is increased and fat oxidation after a high-fat meal is reduced in normal-weight healthy men with strong familial predisposition to overweight. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2004;28(2):342-348.
267. Romon M, Lebel P, Fruchart JC, et al. Postprandial leptin response to carbohydrate and fat meals in obese women. *J Am Coll Nutr*. 2003;22(3):247-251.
268. Joannic JL, Oppert JM, Lahlou N, et al. Plasma leptin and hunger ratings in healthy humans. *Appetite*. 1998;30(2):129-138.
269. Dallongeville J, Hecquet B, Lebel P, et al. Short term response of circulating leptin to feeding and fasting in man: influence of circadian cycle. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1998;22(8):728-733.
270. Lopes IM, Forga L, Martinez JA. Effects of leptin resistance on acute fuel metabolism after a high carbohydrate load in lean and overweight young men. *J Am Coll Nutr*. 2001;20(6):643-648.
271. Clapham JC, Smith SA, Moore GB, et al. Plasma leptin concentrations and OB gene expression in subcutaneous adipose tissue are not

## Referencias

- regulated acutely by physiological hyperinsulinaemia in lean and obese humans. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1997;21(3):179–183.
272. Considine R V, Sinha MK, Heiman ML, et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med*. 1996;334(5):292–295.
273. Panarotto D, Maheux P. Reduction of plasma leptin during a short-term fast, an oral glucose tolerance or a meal test can be a misleading bias in clinical studies. *Diabetologia*. 1999;42(5):634.
274. Havel PJ, Townsend R, Chaump L, et al. High-fat meals reduce 24-h circulating leptin concentrations in women. *Diabetes*. 1999;48(2):334–341.
275. Rubin D, Claas S, Pfeuffer M, et al. s-ICAM-1 and s-VCAM-1 in healthy men are strongly associated with traits of the metabolic syndrome, becoming evident in the postprandial response to a lipid-rich meal. *Lipids Heal. Dis*. 2008;7:32.
276. Dekker MJ, Wright AJ, Mazurak VC, et al. Fasting triacylglycerol status, but not polyunsaturated/saturated fatty acid ratio, influences the postprandial response to a series of oral fat tolerance tests. *J Nutr Biochem*. 2009;20(9):694–704.
277. Nappo F, Esposito K, Cioffi M, et al. Postprandial endothelial activation in healthy subjects and in type 2 diabetic patients: role of fat and carbohydrate meals. *J Am Coll Cardiol*. 2002;39(7):1145–1150.
278. Peairs AD, Rankin JW, Lee YW. Effects of acute ingestion of different fats on oxidative stress and inflammation in overweight and obese adults. *Nutr J*. 2011;10:122.
279. Ceriello A, Quagliaro L, Piconi L, et al. Effect of postprandial hypertriglyceridemia and hyperglycemia on circulating adhesion molecules and oxidative stress generation and the possible role of simvastatin treatment. *Diabetes*. 2004;53(3):701–710.
280. Aljada A, Mohanty P, Ghanim H, et al. Increase in intranuclear nuclear factor kappaB and decrease in inhibitor kappaB in mononuclear cells after a mixed meal: evidence for a proinflammatory effect. *Am J Clin Nutr*. 2004;79(4):682–690.
281. Marchesi S, Lupattelli G, Lombardini R, et al. Effects of fenofibrate on endothelial function and cell adhesion molecules during post-prandial lipemia in hypertriglyceridemia. *J Clin Pharm Ther*. 2003;28(5):419–424.
282. Pacheco YM, Lopez S, Bermudez B, et al. A meal rich in oleic acid beneficially modulates postprandial sICAM-1 and sVCAM-1 in normotensive and hypertensive hypertriglyceridemic subjects. *J Nutr Biochem*. 2008;19(3):200–205.
283. Bellido C, Lopez-Miranda J, Blanco-Colio LM, 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;80(6):1487–1491.

## Referencias

284. Davis NJ, Crandall JP, Gajavelli S, et al. Differential effects of low-carbohydrate and low-fat diets on inflammation and endothelial function in diabetes. *J Diabetes Complicat.* 2011;25(6):371–376.
285. Lundman P, Boquist S, Samnegard A, et al. A high-fat meal is accompanied by increased plasma interleukin-6 concentrations. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2007;17(3):195–202.
286. Twickler TB, Cramer MJ, Dallinga-Thie GM, et al. Adult-onset growth hormone deficiency: Relation of postprandial dyslipidemia to premature atherosclerosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(6):2479–2488.
287. Lopez-Miranda J, Ordovas JM, Ostos MA, et al. Dietary fat clearance in normal subjects is modulated by genetic variation at the apolipoprotein B gene locus. *Arter. Thromb Vasc Biol.* 1997;17(9):1765–1773.
288. Allain CC, Poon LS, Chan CS, et al. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin Chem.* 1974;20(4):470–475.
289. Bucolo G, David H. Quantitative determination of serum triglycerides by the use of enzymes. *Clin Chem.* 1973;19(5):476–482.
290. Riepponen P, Marniemi J, Rautaoja T. Immunoturbidimetric determination of apolipoproteins A-1 and B in serum. *Scand J Clin Lab Invest.* 1987;47(7):739–744.
291. Warnick GR, Benderson J, Albers JJ. Dextran sulfate-Mg<sup>2+</sup> precipitation procedure for quantitation of high-density-lipoprotein cholesterol. *Clin Chem.* 1982;28(6):1379–1388.
292. Ruotolo G, Zhang H, Bentsianov V, et al. Protocol for the study of the metabolism of retinyl esters in plasma lipoproteins during postprandial lipemia. *J Lipid Res.* 1992;33(10):1541–1549.
293. Karpe F, Hamsten A. Determination of apolipoproteins B-48 and B-100 in triglyceride-rich lipoproteins by analytical SDS-PAGE. *J Lipid Res.* 1994;35(7):1311–1317.
294. Dallongeville J, Gruson E, Dallinga-Thie G, et al. Effect of weight loss on the postprandial response to high-fat and high-carbohydrate meals in obese women. *Eur J Clin Nutr.* 2007;61(6):711–718.
295. Van Wijk JP, Halkes CJ, Erkelens DW, et al. Fasting and daylong triglycerides in obesity with and without type 2 diabetes. *Metabolism.* 2003;52(8):1043–1049.
296. Oliveira MR, Maranhao RC. Relationships in women between body mass index and the intravascular metabolism of chylomicron-like emulsions. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2004;28(11):1471–1478.
297. Blackburn P, Lamarche B, Couillard C, et al. Postprandial hyperlipidemia: another correlate of the “hypertriglyceridemic waist” phenotype in men. *Atherosclerosis.* 2003;171(2):327–336.
298. Janssen I, Heymsfield SB, Allison DB, et al. Body mass index and waist circumference independently contribute to the prediction of nonabdominal, abdominal subcutaneous, and visceral fat. *Am J Clin Nutr.* 2002;75(4):683–688.

## Referencias

299. Mamo JC, Watts GF, Barrett PH, et al. Postprandial dyslipidemia in men with visceral obesity: an effect of reduced LDL receptor expression? *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2001;281(3):E626–32.
300. Martins IJ, Redgrave TG. Obesity and post-prandial lipid metabolism. Feast or famine? *J Nutr Biochem.* 2004;15(3):130–141.
301. Chan DC, Watts GF, Redgrave TG, et al. Apolipoprotein B-100 kinetics in visceral obesity: associations with plasma apolipoprotein C-III concentration. *Metabolism.* 2002;51(8):1041–1046.
302. Pedrini MT, Kranebitter M, Niederwanger A, et al. Human triglyceride-rich lipoproteins impair glucose metabolism and insulin signalling in L6 skeletal muscle cells independently of non-esterified fatty acid levels. *Diabetologia.* 2005;48(4):756–766.
303. Roehrich ME, Mooser V, Lenain V, et al. Insulin-secreting beta-cell dysfunction induced by human lipoproteins. *J Biol Chem.* 2003;278(20):18368–18375.
304. Lambert MS, Avella MA, Berhane Y, et al. The fatty acid composition of chylomicron remnants influences their binding and internalization by isolated hepatocytes. *Eur J Biochem.* 2001;268(14):3983–3992.
305. Laatsch A, Merkel M, Talmud PJ, et al. Insulin stimulates hepatic low density lipoprotein receptor-related protein 1 (LRP1) to increase postprandial lipoprotein clearance. *Atherosclerosis.* 2009;204(1):105–111.
306. Perez-Jimenez F, Lopez-Miranda J, Pinillos MD, et al. A Mediterranean and a high-carbohydrate diet improve glucose metabolism in healthy young persons. *Diabetologia.* 2001;44(11):2038–2043.
307. Zheng C, Khoo C, Furtado J, et al. Dietary monounsaturated fat activates metabolic pathways for triglyceride-rich lipoproteins that involve apolipoproteins E and C-III. *Am J Clin Nutr.* 2008;88(2):272–281.
308. Cabello-Moruno R, Perona JS, Ruiz-Gutierrez V. Influence of minor components of olive oils on the composition and size of TRLs and on macrophage receptors involved in foam cell formation. *Biochem Soc Trans.* 2007;35(3):470–471.
309. Pal S, Ho N, Santos C, et al. Red wine polyphenolics increase LDL receptor expression and activity and suppress the secretion of ApoB100 from human HepG2 cells. *J Nutr.* 2003;133(3):700–706.
310. Kaul D, Sikand K, Shukla AR. Effect of green tea polyphenols on the genes with atherosclerotic potential. *Phytother Res.* 2004;18(2):177–179.
311. Thomsen C, Storm H, Holst JJ, et al. Differential effects of saturated and monounsaturated fats on postprandial lipemia and glucagon-like peptide 1 responses in patients with type 2 diabetes. *Am J Clin Nutr.* 2003;77(3):605–611.
312. Thomsen C, Rasmussen O, Lousen T, et al. Differential effects of saturated and monounsaturated fatty acids on postprandial lipemia and incretin responses in healthy subjects. *Am J Clin Nutr.* 1999;69(6):1135–1143.

## Referencias

313. Jackson KG, Knapper-Francis JM, Morgan LM, et al. Exaggerated postprandial lipaemia and lower post-heparin lipoprotein lipase activity in middle-aged men. *Clin Sci*. 2003;105(4):457-466.
314. Nordoy A, Bonna KH, Sandset PM, et al. Effect of omega-3 fatty acids and simvastatin on hemostatic risk factors and postprandial hyperlipemia in patients with combined hyperlipemia. *Arter. Thromb Vasc Biol*. 2000;20(1):259-265.
315. Sanders TA, Oakley FR, Miller GJ, et al. Influence of n-6 versus n-3 polyunsaturated fatty acids in diets low in saturated fatty acids on plasma lipoproteins and hemostatic factors. *Arter. Thromb Vasc Biol*. 1997;17(12):3449-3460.
316. Yu KC, Cooper AD. Postprandial lipoproteins and atherosclerosis. *Front Biosci*. 2001;6:D332-54.
317. De Bruin TW, Brouwer CB, van Linde-Sibenius Trip M, et al. Different postprandial metabolism of olive oil and soybean oil: a possible mechanism of the high-density lipoprotein conserving effect of olive oil. *Am J Clin Nutr*. 1993;58(4):477-483.
318. De Lorgeril M, Salen P. Alpha-linolenic acid and coronary heart disease. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis*. 2004;14:162-169.
319. Geluk CA, Halkes CJ, De Jaegere PP, et al. Daytime triglyceridemia in normocholesterolemic patients with premature atherosclerosis and in their first-degree relatives. *Metabolism*. 2004;53(1):49-53.
320. Nakamura T, Obata J ei, Hirano M, et al. Predictive value of remnant lipoprotein for cardiovascular events in patients with coronary artery disease after achievement of LDL-cholesterol goals. *Atherosclerosis*. 2011;218:163-167.
321. Clemente G, Mancini M, Nazzaro F, et al. Effects of different dairy products on postprandial lipemia. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2003;13(6):377-383.
322. Nagao K, Inoue N, Wang YM, et al. Conjugated linoleic acid enhances plasma adiponectin level and alleviates hyperinsulinemia and hypertension in Zucker diabetic fatty (fa/fa) rats. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003;310(2):562-566.
323. Fernandez-Real JM, Vendrell J, Ricart W. Circulating adiponectin and plasma fatty acid profile. *Clin Chem*. 2005;51(3):603-609.
324. Sofi F, Giangrandi I, Cesari F, et al. Effects of a 1-year dietary intervention with n-3 polyunsaturated fatty acid-enriched olive oil on non-alcoholic fatty liver disease patients: a preliminary study. *Int J Food Sci Nutr*. 2010;61(8):792-802.
325. Mantzoros CS, Williams CJ, Manson JE, et al. Adherence to the Mediterranean dietary pattern is positively associated with plasma adiponectin concentrations in diabetic women. *Am J Clin Nutr*. 2006;84(2):328-335.
326. Aronis KN, Vamvini MT, Chamberland JP, et al. Short-term walnut consumption increases circulating total adiponectin and apolipoprotein A concentrations, but does not affect markers of inflammation or



## Referencias

- vascular injury in obese humans with the metabolic syndrome: data from a double-blinded, randomized, . *Metabolism*. 2012;61(4):577–582.
327. Perez-Martinez P, Lopez-Miranda J, Cruz-Teno C, et al. Adiponectin gene variants are associated with insulin sensitivity in response to dietary fat consumption in Caucasian men. *J Nutr*. 2008;138(9):1609–1614.
328. Jackson KG, Wolstencroft EJ, Bateman PA, et al. Acute effects of meal fatty acids on postprandial NEFA, glucose and apoE response: implications for insulin sensitivity and lipoprotein regulation? *Br J Nutr*. 2005;93(5):693–700.
329. Robertson MD, Jackson KG, Fielding BA, et al. Acute effects of meal fatty acid composition on insulin sensitivity in healthy post-menopausal women. *Br J Nutr*. 2002;88(6):635–640.
330. Roche HM, Zampelas A, Jackson KG, et al. The effect of test meal monounsaturated fatty acid: saturated fatty acid ratio on postprandial lipid metabolism. *Br J Nutr*. 1998;79(5):419–424.
331. Coiffier E, Paris R, Lecerf J. Effects of dietary saturated and polyunsaturated fat on lipoprotein lipase and hepatic triglyceride lipase activity. *Comp Biochem Physiol B*. 1987;88(1):187–192.
332. Fruebis J, Tsao TS, Javorschi S, et al. Proteolytic cleavage product of 30-kDa adipocyte complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98(4):2005–2010.

Del presente trabajo se ha derivado la publicación de los siguientes artículos



***Nutr Metab Cardiovasc Dis***  
***2012;22(4):355-61***



available at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)journal homepage: [www.elsevier.com/locate/nmcd](http://www.elsevier.com/locate/nmcd)

Nutrition,  
Metabolism &  
Cardiovascular Diseases

## Body mass interacts with fat quality to determine the postprandial lipoprotein response in healthy young adults

A. Lozano<sup>a</sup>, P. Perez-Martinez<sup>a</sup>, J. Delgado-Lista<sup>a</sup>, C. Marin<sup>a</sup>, B. Cortes<sup>a</sup>,  
F. Rodriguez-Cantalejo<sup>b</sup>, M.J. Gomez-Luna<sup>a</sup>, C. Cruz-Teno<sup>a</sup>,  
F. Perez-Jimenez<sup>a</sup>, J. Lopez-Miranda<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> *Lipids and Atherosclerosis Unit, Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba (IMIBIC), Hospital Universitario Reina Sofía, Universidad de Córdoba and CIBER Fisiopatología Obesidad y Nutrición (CIBEROBN), Instituto de Salud Carlos III, Córdoba, Spain*

<sup>b</sup> *Biochemical Laboratory, Reina Sofía University Hospital, Córdoba, Spain*

Received 14 November 2009; received in revised form 18 July 2010; accepted 22 July 2010

### KEYWORDS

Body mass index;  
Obesity;  
Postprandial lipoprotein;  
Olive oil;  
Monounsaturated fatty acids;  
Saturated fatty acids;  
*n*-3 fatty acids

**Abstract** *Background and aims:* Postprandial lipemia predicts the evolution of cardiovascular disease. Obesity is associated with an increase in the magnitude of postprandial lipemia. Our objective was to evaluate the influence of body mass index (BMI) on the effects of acute ingestion of different types of fat on the postprandial lipemic response.

*Methods and results:* Twenty-one healthy men followed a 4-week baseline diet and then consumed three fat-loaded meals that included 1 g fat/kg body wt (65%fat) according to a randomized crossover design. The compositions of the three meals were olive oil meal (22% saturated fatty acids (SFA), 38% monounsaturated fatty acids (MUFA), 4% polyunsaturated fatty acids (PUFA)); butter meal (35% SFA, 22% MUFA, 4% PUFA); walnuts meal (20% SFA, 24% MUFA, 16% PUFA, and 4%  $\alpha$ -linolenic acid). Higher-weight (HW) subjects (BMI greater than the median 26.18 kg/m<sup>2</sup>, *n* = 11) presented higher incremental area under the curve (iAUC) for triglycerides (TG), both in large- and small-TG rich lipoproteins (TRL) than lower-weight (LW) subjects (BMI < 26.18 kg/m<sup>2</sup>, *n* = 10) (*p* < 0.05), and a similar trend for plasma TG (*p* = 0.084). Moreover, HW subjects presented higher concentrations for small TRL-cholesterol and small TRL-TG in different timepoints of the postprandial lipemia after the intake of enriched walnuts or butter meals compared with the olive oil-enriched meal (*p* < 0.05) No

*Abbreviations:* BMI, body mass index; SFA, saturated fatty acids; MUFA, monounsaturated fatty acids; PUFA, polyunsaturated fatty acids; LW, lower-weight; HW, higher-weight; TG, triglycerides; TRL, TG rich lipoproteins; C, cholesterol; RP, retinyl palmitate; AUC, area under the curve; iAUC, incremental area under the curve; LRP, hepatic low density lipoprotein receptor-related protein.

\* Corresponding author. Servicio de Medicina Interna, Unidad de Lípidos y Arteriosclerosis, 2<sup>a</sup> Planta de Edificio de Consultas Externas, Hospital Universitario Reina Sofía, Avenida Menéndez-Pidal s/n, 14004 Córdoba, Spain. Tel./fax: +34 957 218250.

*E-mail address:* [jlopezmir@uco.es](mailto:jlopezmir@uco.es) (J. Lopez-Miranda).

significant differences were observed between the three types of meals in the postprandial response of LW subjects.

**Conclusion:** HW subjects present a greater postprandial response than LW subjects, and they benefit from the consumption of monounsaturated fatty acids from olive oil, to lower their levels of TRL particles during the postprandial state.

© 2010 Elsevier B.V. All rights reserved.

## Introduction

The postprandial state is the period between the ingestion of food and the post-absorptive state, and is the habitual metabolic state of most people in western societies in the course of the day. The most characteristic elements of this phase include a rise in total triglycerides (TG) and TG-rich lipoproteins (TRL) of intestinal and hepatic origin. The relationship between these lipoproteins and atherosclerosis is a process that depends on the magnitude and duration of the postprandial state [1]. It has been shown that patients suffering from macrovascular disease present higher levels of postprandial TG [2] and remnant particles of intestinal origin that independently predict the development of cardiovascular disease [3]. There is wide variability in the postprandial lipemic response, and it is influenced by physiological, pathological, dietary and genetic factors [4–6]. Previous studies have shown that the postprandial response is greater in obese subjects [7,8] due to their lower clearance of chylomicron remnants [9], a difference that even attenuates those attributable to gender or race. Where diet is concerned, a diminished postprandial response has been observed with extremely low-fat diets and diets enriched in *n*-3 polyunsaturated fats [10], with an intermediate response in *n*-6 [11] and monounsaturated fats [12]. In addition, in spite of the benefit found in the consumption of *n*-3 fatty acids from vegetable origin, rich in  $\alpha$ -linolenic acid [13], its effect on the postprandial lipoprotein metabolism is not well known.

Given that we do not know much about the interaction between overweight and dietary fat on the postprandial lipemic response, we decided to determine the influence of different types of fat on postprandial lipemia, and the role played by the degree of overweight in the modulation of this response.

## Methods

### Subjects

Twenty-one men, aged  $23 \pm 1.5$  (range 18–30), were included in this study. All of them gave informed consent and underwent a comprehensive medical history, physical examination, and clinical chemistry analysis before enrolment. Subjects showed no signs of any chronic disease, and none had unusually high levels of physical activity. None of the subjects were taking medication or vitamins known to affect plasma lipids. One of the inclusion criteria was having BMI lower than  $30 \text{ kg/m}^2$ . The 21 subjects were divided into two groups on the basis of their position vis-à-vis the median BMI of the group (26.18): lower-weight (LW) subjects (BMI lower than the median) and higher-weight

(HW) subjects (BMI higher than the median). The study protocol was approved by the Human Investigation Review Committee of the Reina Sofia University Hospital.

### Study design

Each subject, after 4 week on a typical Western-style stabilization basal diet rich in saturated fat (38% fat: 16% SFA, 16% MUFA and 6% PUFA; 15% protein and 47% carbohydrates), underwent three postprandial lipemia trials, in which they consumed meals with the same fat content (1 g fat/kg body wt, 7 mg cholesterol/kg, and 40 retinol equivalents/kg body wt) but with different fatty acid compositions following a random administration order. After fasting for 12 h, at time 0, the subjects were provided a fat meal consisting of 50–66% of their daily normal intake of calories. The meals provided 60% fat, 15% protein, and 25% carbohydrates. The fat composition of the foods used in the postprandial lipemia studies was as follows: fat food based on extra virgin olive oil (olive oil meal: 22% saturated fatty acids (SFA), 38% monounsaturated fatty acids (MUFA), 4% polyunsaturated fatty acids (PUFA) and 0.7%  $\alpha$ -linolenic acid), fat food based on butter (butter meal: 35% SFA, 22% MUFA, 4% PUFA, and 0.7%  $\alpha$ -linolenic acid), and fat food based on walnuts (*Junglans regia* L.) (walnuts meal: 20% SFA, 24% MUFA, 16% PUFA, and 4%  $\alpha$ -linolenic acid). The meals were administered according to a Latin-square design, so that all subjects received in random sequence the three diets on three different occasions separated by one week. Throughout the 11-h duration of the study, the subjects neither performed physical activity nor consumed anything but water. Venous blood samples were collected in tubes containing 1 mg/mL EDTA 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8.5 and 11 h after fat food intake at each time point.

### Lipoprotein separations

Blood was collected in tubes containing EDTA to give a final concentration of 0.1% EDTA. Plasma was separated by centrifugation at 1500g for 15 min at 4 °C. The chylomicron fraction of TRL (large TRL) was isolated from 4 mL plasma overlain by 0.15 mol NaCl/L, 1 mmol EDTA/L (pH 7.4, density < 1.006 kg/L) by a single ultracentrifugal spin (36,200g for 30 min at 4 °C) in a type 50 rotor (Beckman Instruments, Fullerton, CA). Chylomicrons, contained in the top layer, were removed by aspiration after cutting the tubes, and the infranatant was centrifuged at a density of 1.019 kg/L for 24 h at 183,000×g in the same rotor. The non-chylomicron fraction of TRL (small TRL) was removed from the top of the tube. All operations were done in subdued light. Large- and small TRL fractions were stored at  $-70$  °C until assayed for retinyl palmitate (RP).

## Lipid analysis

Cholesterol (C) and TG in plasma and lipoprotein fractions were assayed by enzymatic procedures. Apo A-I and Apo B were determined by turbidimetry. HDL-C was measured by analyzing the supernatant fluid obtained after precipitation of a plasma aliquot with dextran sulphate and  $Mg^{2+}$ .

## RP assay

The RP content of large- and small TRL fractions was assayed using a method previously described [14]. Briefly, different volumes of the various fractions (100  $\mu$ l for chylomicrons and 100–500  $\mu$ l for remnants) were placed in  $13 \times 100$  mm glass tubes. The total volume in each tube was adjusted, as needed, to 500  $\mu$ l with use of isotonic sodium chloride solution. Retinyl acetate (40 ng in 200  $\mu$ l mobile phase buffer) was added to each tube as an internal standard. Five hundred milliliters of methanol were added, followed by 500  $\mu$ l of the mobile phase buffer, for a total vol of 1.7 ml. The mobile phase buffer was prepared fresh on a daily basis by combining 90 ml hexane, 15 ml n-butyl chloride, 5 ml acetonitrile, and 0.01 ml acetic acid (82:13:5 by volume with 0.01 ml of acetic acid). The tubes were thoroughly mixed after each step. The final mixture was centrifuged at  $350 \times g$  for 15 min at room temperature, and the upper layer was carefully removed by aspiration and placed into individual autosampler vials. The autoinjector was programmed to deliver 100  $\mu$ l/injection and a new sample every 10 min in a custom prepackaged silica column SupelcoSil LC-SI (5 mm, 25 cm  $\times$  4.6 mm inner diameter) provided by Supelco Inc. (Bellefonte, PA). The flow was maintained at a constant rate of 2 ml/min, and the peaks were detected at 330 nm. The peaks of RP and retinyl acetate were identified by comparing retention time with a purified standard (Sigma, St. Louis, MO). The RP concentration in each sample was expressed as the ratio of the area under the RP peak to the area under the retinyl acetate peak. All operations were performed in subdued light.

## Determination of Apo B 48 and Apo B 100

Apo B 48 and Apo B 100 were determined by sodium dodecyl sulfate–polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) as described by Karpe and Hamsten [15]. Electrophoretic separation was performed using a 3–20% gradient polyacrylamide gel with a vertical Hoeffer Mighty Small II electrophoresis apparatus (Hoeffer Pharmacia Biotech, San Francisco, CA). Gels were scanned with a video densitometer scanner (TDI, Madrid, Spain) connected to a personal computer to integrate signals. Background intensity was calculated after scanning an empty lane. The coefficient of variation for the SDS-PAGE was 7.3% for Apo B 48 and 5.1% for Apo B 100.

## Statistical analysis

Several variables were calculated in order to characterize the postprandial responses of plasma TG, large TRL and small TRL particles to the test meal. The area under the

curve (AUC) is defined as the area between the plasma concentration-versus time curve and a line drawn parallel to the horizontal axis. This area was calculated by a computer program using the trapezoidal rule. The incremental area under the curve (iAUC) was calculated as AUC subtracting baseline concentrations by maximal time of extraction (660 min). When using AUC or iAUC, data were tested for statistical significance by analysis of variance (ANOVA) for repeated measures test, with 1 within-subject factor: fat meal (3 levels: butter, olive oil, walnuts) and 1 between-subjects factor: BMI (HW/LW). When using absolute values, data were tested for statistical significance by ANOVA for repeated measures test, with 2 within-subject factor: time (9 levels corresponding with each time of blood sample during postprandial lipemia) and meal (3 levels: butter, olive oil, walnuts), and 1 between-subjects factor: BMI (HW/LW). When statistical significance was found, Bonferroni's post-hoc multiples comparisons test was used to identify group differences. *P* values  $<0.05$  were considered to be significant. All data presented in the text and tables are expressed as means  $\pm$  SE. SPSS 14.0 for Windows (SPSS Inc, Chicago, IL) was used for the statistical comparison.

## Results

We did not find any differences in the fasting values of the variables according to each meal consumed (Table 1). HW subjects showed higher plasma concentrations of TG, large and small TRL-TG, large and small TRL-C and Apo B, and lower concentrations of HDL-C and Apo A1 than the LW group in fasting status, irrespectively of the type of fat consumed. LW subjects presented a lower fasting plasma glucose concentrations and a lower homeostasis model assessment ratio (HOMA-R) as compared to the HW subjects (Table 2). Irrespective of the type of meal consumed, HW subjects presented higher iAUC for postprandial large TRL-TG, small TRL-TG, small TRL Apo B 100, and a similar trend for plasma TG ( $P = 0.084$ ). When analyzing the specific effects of BMI on the postprandial lipemia after each dietary fat model, iAUC was higher in HW group than LW group for large TRL-TG, small TRL-TG and Apo B 100 after the butter meal and for small TRL-C, small TRL-TG and small TRL Apo B 100 after the walnuts meal (Table 3). We observed an interaction between BMI and type of meal consumed in the iAUC of small TRL-C and a similar trend for small TRL-TG ( $P = 0.057$ ). In HW subjects, consumption of the butter or walnut-enriched meals produced higher iAUC for small TRL-TG compared with the intake of the olive oil-enriched meal. In contrast, no significant differences during the postprandial response were observed in LW subjects (Table 3). HW subjects presented higher postprandial concentrations of small TRL-C and small TRL-TG after they consumed the walnut or butter enriched meals than after an olive oil-enriched meal in different timepoints of the postprandial lipemia (Figs. 1 and 2). Statistical analysis for AUC showed similar results than iAUC, and additional significance was achieved for BMI effect on plasma TG and interaction between BMI and type of meal consumed effect on small TRL-TG (Data not shown).



**Table 1** Baseline lipid, lipoprotein and apolipoprotein concentrations according to each meal consumed<sup>a</sup>.

	Butter ( <i>n</i> = 21)	Olive oil ( <i>n</i> = 21)	Walnuts ( <i>n</i> = 21)	<i>p</i> <sup>b</sup>
C (mmol/L)	3.76 ± 0.13	3.83 ± 0.15	3.78 ± 0.14	0.938
TG (mmol/L)	0.85 ± 0.11	0.83 ± 0.09	0.88 ± 0.10	0.944
HDL-C (mmol/L)	1.22 ± 0.05	1.24 ± 0.04	1.24 ± 0.04	0.953
APO A-I (g/L)	1.16 ± 0.03	1.17 ± 0.03	1.18 ± 0.03	0.907
APO B (g/L)	0.66 ± 0.03	0.67 ± 0.03	0.65 ± 0.03	0.886
Large TRL-C (mmol/L)	0.12 ± 0.01	0.12 ± 0.01	0.12 ± 0.01	0.866
Large TRL-TG (mmol/L)	0.12 ± 0.04	0.11 ± 0.03	0.11 ± 0.02	0.829
Small TRL-C (mmol/L)	0.19 ± 0.03	0.16 ± 0.02	0.19 ± 0.03	0.724
Small TRL-TG (mmol/L)	0.34 ± 0.08	0.30 ± 0.05	0.33 ± 0.06	0.943
Glucose (mmol/L)	4.84 ± 0.10	4.70 ± 0.17	4.94 ± 0.11	0.485
Insulin (pmol/L)	57.78 ± 12.29	55.14 ± 15.07	56.45 ± 9.30	0.990
HOMA-R	1.82 ± 0.48	1.84 ± 0.47	2.12 ± 1.28	0.902

<sup>a</sup> Mean ± SE. C, cholesterol, TG, triglycerides, TRL, triglycerides-rich lipoproteins. Homa-R, homeostasis model assessment ratio.

<sup>b</sup> One-way ANOVA.

## Discussion

Our data demonstrate that in HW subjects, the consumption of the olive oil-enriched meal induced a lower postprandial response compared with butter or walnuts-enriched meals, while no significant differences were observed between the three types of meals in the postprandial response of LW subjects. Moreover, HW subjects present a greater postprandial lipemic response than LW subjects, in that they presented higher iAUC for large TRL-TG and small TRL-TG, and a similar trend for plasma TG, irrespective of the quality of fat consumed. Interestingly this effect is associated with an increase in the number of particles containing Apo B 100 of hepatic origin.

It has been published that in overweight persons, the AUC of TG in the course of the day rises more than in the normal subjects and weight loss decreases the magnitude of the postprandial response [16], and that BMI is an independent predictor of this response [17]. Our findings are consistent with this effect, due to the lower level of

activity of lipoprotein lipase (LPL) and the diminished ability to remove remnant particles as BMI increases [18]. The effects of BMI on postprandial TG may be modulated by fasting lipids. When we performed the iAUC (which sets out the fasting lipids), we observed a trend to significance ( $P = 0.084$ ), which was achieved for AUC (which includes fasting lipids). Previous evidences indicate that overweight patients present an increase of insulin resistance which might lead to an increase in the production of TRL of hepatic origin and a lower rate of clearance in plasma [19]. In concordance with this, we observed that HW subjects presented a higher HOMA-R than LW subjects, with higher levels of TRL particles from hepatic origin containing Apo B 100 during the later postprandial period after the fat overload consumption. Moreover, there is evidence supporting that this increase in postprandial TRL can lead to dysfunction of pancreatic beta cells, suggesting that changes in plasma lipoproteins observed in metabolic syndrome associated with obesity are not merely a consequence but also a cause of this illness [20]. Furthermore,

**Table 2** Baseline lipid, lipoprotein and apolipoprotein concentrations according to each group of weight before the fatty test meal<sup>a</sup>.

	LW group ( <i>n</i> = 10)	HW group ( <i>n</i> = 11)	<i>p</i> <sup>b</sup>
C (mmol/L)	3.70 ± 0.08	3.88 ± 0.13	0.261
TG (mmol/L)	0.66 ± 0.04	1.17 ± 0.12	0.001
HDL-C (mmol/L)	1.34 ± 0.03	1.13 ± 0.03	0.001
APO A-I (g/L)	1.21 ± 0.02	1.14 ± 0.02	0.025
APO B (g/L)	0.62 ± 0.02	0.70 ± 0.02	0.005
Large TRL-C (mmol/L)	0.11 ± 0.01	0.13 ± 0.01	0.050
Large TRL-TG (mmol/L)	0.08 ± 0.02	0.14 ± 0.03	0.043
Small TRL-C (mmol/L)	0.13 ± 0.01	0.22 ± 0.03	0.021
Small TRL-TG (mmol/L)	0.21 ± 0.02	0.42 ± 0.06	0.005
Glucose (mmol/L)	4.63 ± 0.11	5.02 ± 0.09	0.013
Insulin (pmol/L)	40.90 ± 6.11	65.14 ± 9.79	0.090
HOMA-R	1.30 ± 0.20	2.43 ± 0.45	0.048

<sup>a</sup> Mean ± SE. C, cholesterol, TG, triglycerides, TRL, triglycerides-rich lipoproteins. Homa-R, homeostasis model assessment ratio. LW, lower-weight weight group. HW, higher-weight group.

<sup>b</sup> One-way ANOVA.

**Table 3** Incremental area under the postprandial curve (iAUC) for lipids and lipoproteins according to fat consumed and body mass index group<sup>a</sup>.

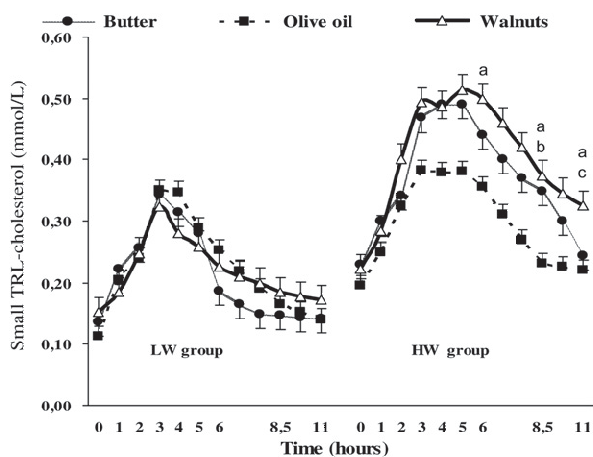
	LW group (n = 10)			HW group (n = 11)			P <sup>b</sup>		
	Butter	Olive Oil	Walnuts	Butter	Olive Oil	Walnuts	P1	P2	P3
C	-463 ± 133	-468 ± 159	-343 ± 139	-706 ± 133	-730 ± 159	-752 ± 139	0.549	0.288	0.850
TG	213 ± 109	188 ± 60	192 ± 105	486 ± 104	347 ± 57	337 ± 68	0.084	0.220	0.309
Large TRL-C	62 ± 14	51 ± 11	47 ± 10	75 ± 14	62 ± 11	36 ± 10	0.690	0.068	0.502
Small TRL-C	52 ± 17	76 ± 22	46 ± 22 <sup>c</sup>	102 ± 17	69 ± 21	124 ± 21	0.106	0.662	0.016
Large TRL-TG	174 ± 48 <sup>c</sup>	180 ± 54	166 ± 38	340 ± 48	313 ± 54	259 ± 38	0.007	0.590	0.725
Small TRL-TG	89 ± 39 <sup>1,c</sup>	90 ± 32 <sup>1</sup>	124 ± 52 <sup>1,c</sup>	225 ± 37 <sup>1</sup>	131 ± 31 <sup>2</sup>	287 ± 50 <sup>1</sup>	0.035	0.003	0.058
Large TRL-RP	1000 ± 381	991 ± 281	616 ± 217	1694 ± 363	1482 ± 268	884 ± 207	0.156	0.024	0.633
Small TRL-RP	330 ± 157	423 ± 121	325 ± 117	605 ± 157	429 ± 121	486 ± 117	0.367	0.766	0.305
Large TRL-Apo B 48	411 ± 95	253 ± 71	302 ± 78	369 ± 91	284 ± 68	315 ± 74	0.991	0.263	0.878
Small TRL-Apo B 48	239 ± 67	111 ± 42	227 ± 129	225 ± 64	159 ± 40	447 ± 123	0.303	0.046	0.315
Large TRL-Apo B 100	6895 ± 1 242	4603 ± 933	3816 ± 1 202	5698 ± 1 184	4414 ± 890	5807 ± 1 146	0.841	0.205	0.313
Small TRL-Apo B 100	1874 ± 1 392 <sup>c</sup>	1458 ± 1 261	2502 ± 1 197 <sup>c</sup>	6488 ± 1 327	4653 ± 1 202	6766 ± 1 141	0.004	0.347	0.800

<sup>a</sup> TG, triglycerides. C, cholesterol; TRL, triglycerides-rich lipoproteins; RP, retinyl palmitate; LW, lower-weight; HW, higher-weight; BMI, Body mass index. Data expressed by mean ± SE C and TG (mmol/L min); Apo B 48 and Apo B 100 (mg/L min); RP (ng/ml s).  
<sup>b</sup> Global analysis: data tested by repeated measures ANOVA with 1 within-subject factor (diet) and 1 between-subjects factor: BMI, with interaction. P1: BMI effect. P2: diet effect. P3: BMI × diet interaction effect. Means within a row with different superscript numbers are significantly different, P < 0.05 (multiple-comparisons Bonferroni post-hoc test).  
<sup>c</sup> Significantly different from the intervention with the same meal in HW group.

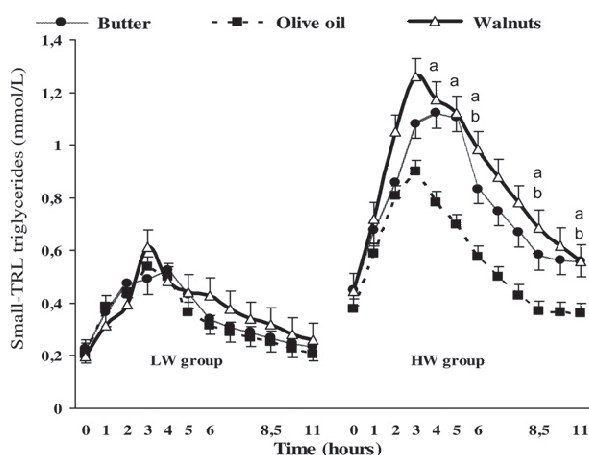
the degree of obesity may also produce a different postprandial lipemic response to different types of dietary fat. In our study, in the HW subjects group, the acute intake of an olive oil-enriched meal produced lower postprandial concentrations in different timepoints of the postprandial lipemia of small TRL-C and small TRL-TG than the butter or walnut-enriched meals. It is possible that the consumption

of virgin olive oil and monounsaturated fats produces TRL particles that have greater affinity for the hepatic receptor (LRP) that is involved in their metabolism, inducing a more rapid and efficient clearance of these TRL than do the other types of fat studied here. Recently, it has been shown that insulin induces the chylomicron remnants uptake to the liver by LRP1 [21], while we have previously described that the consumption of a MUFA-rich diet improved the insulin sensitivity [22]. In addition, Rivellese demonstrated that the consumption of a MUFA-rich diet modifies lipolytic enzymes in adipose tissue in type 2 diabetic patients, by increasing LPL and hormone-sensitive lipase activities [23]. Furthermore, Zheng et al. observed that the MUFA intake activates synthetic and rapid catabolic pathways for TRL metabolism that involve Apo E and Apo C-III and suppresses the metabolism of more slowly metabolized VLDLs and IDLs, which do not contain these apolipoproteins [24].

Only a few studies have measured the impact of different types of fat on the postprandial response, with particular attention to remnant TG-rich particles. Thomsen et al. performed two studies in which they measure TG found in the chylomicron-poor fraction, comparable to the small TRL measured in our study, observing that there was no difference between the fat overload provided by butter or olive oil in overweight diabetic subjects [25], while consuming olive oil was beneficial in slim, healthy subjects [26]. The most frequent measure employed in studies that have compared the postprandial impact of fat consumption has been the response of postprandial TG. Most of these studies have shown that meals enriched with SFA, MUFA or n-6 PUFA have failed to find markedly different postprandial lipid responses. However, some studies did observe increased [26] or diminished [27] responses following the consumption of fat in the form of butter as compared with olive oil. Nevertheless, some studies that compared the effects of oils enriched with n-6 PUFA with olive oils rich in



**Figure 1** Postprandial cholesterol response in small triglycerides-rich lipoproteins (TRL) in lower-weight (LW) group (n = 10) and higher-weight (HW) group (n = 11) according to each test meal consumed. Data are presented as mean ± SE (mmol/L). ANOVA for repeated measures: Time effect: P = 0.0001. Diet effect: P = 0.118. BMI effect: P = 0.135. Time by BMI interaction: P = 0.02. (a) Significant statistical difference between olive oil and walnuts meals, p < 0.05. (b) Significant statistical difference between olive oil and butter meals, p < 0.05. (c) Significant statistical difference between walnuts and butter meals, p < 0.05.



**Figure 2** Postprandial triglycerides response in small triglycerides-rich lipoproteins (TRL) in lower-weight (LW) group ( $n = 10$ ) and higher-weight (HW) group ( $n = 11$ ) according to each test meal consumed. Data are presented as mean  $\pm$  SE (mmol/L). ANOVA for repeated measures: Time effect:  $P = 0.0001$ . Diet effect:  $P = 0.016$ . BMI effect:  $P = 0.081$ . Time by diet interaction:  $P = 0.003$ . (a) Significant statistical difference between olive oil and walnuts meals,  $p < 0.05$ . (b) Significant statistical difference between olive oil and butter meals,  $p < 0.05$ . (c) Significant statistical difference between walnuts and butter meals,  $p < 0.05$ .

MUFA, observed equivalent [1,28] or reduced [29] postprandial lipemic responses with PUFA fat. Where long-chain  $n-3$  PUFA are concerned, it has been shown that these are capable of reducing the postprandial TG response if they are present in sufficient quantity in the meal [30], although levels consumed were much higher than those usually consumed in the regular diet. The comparative postprandial effects between the acute ingestion of MUFA and  $n-3$  PUFA of vegetable origin have yet to be studied; all published studies to date being based on the interaction between the acute and chronic ingestion of these fats [31,32]. In these studies, the beneficial effects of olive oil may have been reduced as a result of the low proportion of the total contribution of energy made in the form of MUFA (less than 2%), which was not sufficient to allow enable it to be categorized as a Mediterranean diet [33]. Moreover, long-chain  $n-3$  fatty acids were administered in the form of capsules of oil of marine origin, rich in docohexanoic acid (DHA) and/or eicosapentanoic acid (EPA), in quantities well above 4 g per day, a figure that is much higher than normal consumption and would involve the daily consumption of two servings of fatty fish (salmon, sardines, herring, etc.), which is above the usual level of consumption for the general population [34].

In conclusion, HW subjects presented a greater postprandial response, and they benefited by the consumption of MUFA derived from olive oil as a way of improving their postprandial lipoprotein metabolism, in that this type of fat reduced the postprandial levels of TRL to a greater extent than the other types of fat. This finding may be related to the lower risk of cardiovascular disease that is associated with the consumption of a Mediterranean dietary model enriched in virgin olive oil.

## Acknowledgments

This study was supported in part by research grants from the Ministerio de Ciencia e Innovación (AGL 2004/07907, AGL2006-01979/ALI, AGL-2009-12270/ALI to JL-M and SAF2003-05770, SAF2007-62005 to FP-J); the Spanish Ministry of Health (FIS PI041619 to CM); Consejería de Innovación, Ciencia y Empresa, Proyectos de Investigación de Excelencia Junta de Andalucía (AGR 05/00922 to FP-J and P06-CTS-01425 to JL-M); Consejería de Salud, Junta de Andalucía (06/128, 07/43, 09/0193 to JL-M, 06/129 to FP-J, 06/127 to CM, 09/0252 to JD-L); the Diputación Provincial de Córdoba to FP-J and Centro de Excelencia en Investigación sobre aceite de oliva y salud (CEAS) to JL-M. CIBER Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición (CIBEROBN) is an initiative of ISCIII, Government of Spain.

## References

- [1] Yu KC, Cooper AD. Postprandial lipoproteins and atherosclerosis. *Front Biosci* 2001 Mar 1;6:D332–54.
- [2] Geluk CA, Halkes CJ, De Jaegere PP, Plokker TW, Cabezas MC. Daytime triglyceridemia in normocholesterolemic patients with premature atherosclerosis and in their first-degree relatives. *Metabolism* 2004 Jan;53(1):49–53.
- [3] Kugiyama K, Doi H, Takazoe K, Kawano H, Soejima H, Mizuno Y, et al. Remnant lipoprotein levels in fasting serum predict coronary events in patients with coronary artery disease. *Circulation* 1999 Jun 8;99(22):2858–60.
- [4] Lopez-Miranda J, Perez-Martinez P, Marin C, Moreno JA, Gomez P, Perez-Jimenez F. Postprandial lipoprotein metabolism, genes and risk of cardiovascular disease. *Curr Opin Lipidol* 2006 Apr;17(2):132–8.
- [5] 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.
- [6] Perez-Martinez P, Ordoñas 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.
- [7] Couillard C, Bergeron N, Prud'homme D, Bergeron J, Tremblay A, Bouchard C, et al. Postprandial triglyceride response in visceral obesity in men. *Diabetes* 1998 Jun;47(6):953–60.
- [8] Dallongeville J, Harbis A, Lebel P, Defoort C, Lairon D, Fruchart JC, et al. The plasma and lipoprotein triglyceride postprandial response to a carbohydrate tolerance test differs in lean and massively obese normolipidemic women. *J Nutr* 2002 Aug;132(8):2161–6.
- [9] Oliveira MR, Maranhao RC. Plasma kinetics of a chylomicron-like emulsion in normolipidemic obese women after a short-period weight loss by energy-restricted diet. *Metabolism* 2002 Sep;51(9):1097–103.
- [10] Nordoy A, Bonna KH, Sandset PM, Hansen JB, Nilsen H. Effect of omega-3 fatty acids and simvastatin on hemostatic risk factors and postprandial hyperlipemia in patients with combined hyperlipemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000 Jan;20(1):259–65.
- [11] Weintraub MS, Zechner R, Brown A, Eisenberg S, Breslow JL. Dietary polyunsaturated fats of the W-6 and W-3 series reduce postprandial lipoprotein levels. Chronic and acute effects of fat saturation on postprandial lipoprotein metabolism. *J Clin Invest* 1988 Dec;82(6):1884–93.

- [12] Sanders TA, Oakley FR, Miller GJ, Mitropoulos KA, Crook D, Oliver MF. Influence of *n*-6 versus *n*-3 polyunsaturated fatty acids in diets low in saturated fatty acids on plasma lipoproteins and hemostatic factors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997 Dec;17(12):3449–60.
- [13] de Lorgeril M, Renaud S, Mamelle N, Salen P, Martin JL, Monjaud I, et al. Mediterranean alpha-linolenic acid-rich diet in secondary prevention of coronary heart disease. *Lancet* 1994 Jun 11;343(8911):1454–9.
- [14] Ruotolo G, Zhang H, Bentsianov V, Le NA. Protocol for the study of the metabolism of retinyl esters in plasma lipoproteins during postprandial lipemia. *J Lipid Res.* 1992 Oct;33(10):1541–9.
- [15] Karpe F, Hamsten A. Determination of apolipoproteins B-48 and B-100 in triglyceride-rich lipoproteins by analytical SDS-PAGE. *J Lipid Res.* 1994 Jul;35(7):1311–7.
- [16] Dallongeville J, Gruson E, Dallinga-Thie G, Pigeyre M, Gomila S, Romon M. Effect of weight loss on the postprandial response to high-fat and high-carbohydrate meals in obese women. *Eur J Clin Nutr* 2007 Jun;61(6):711–8.
- [17] van Wijk JP, Halkes CJ, Erkelens DW, Castro Cabezas M. Fasting and daylong triglycerides in obesity with and without type 2 diabetes. *Metabolism* 2003 Aug;52(8):1043–9.
- [18] Oliveira MR, Maranhao RC. Relationships in women between body mass index and the intravascular metabolism of chylomicron-like emulsions. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2004 Nov;28(11):1471–8.
- [19] Chan DC, Watts GF, Redgrave TG, Mori TA, Barrett PH. Apolipoprotein B-100 kinetics in visceral obesity: associations with plasma apolipoprotein C-III concentration. *Metabolism* 2002 Aug;51(8):1041–6.
- [20] Pedrini MT, Kranebitter M, Niederwanger A, Kaser S, Engl J, Debbage P, et al. Human triglyceride-rich lipoproteins impair glucose metabolism and insulin signalling in L6 skeletal muscle cells independently of non-esterified fatty acid levels. *Diabetologia* 2005 Apr;48(4):756–66.
- [21] Laatsch A, Merkel M, Talmud PJ, Grewal T, Beisiegel U, Heeren J. Insulin stimulates hepatic low density lipoprotein receptor-related protein 1 (LRP1) to increase postprandial lipoprotein clearance. *Atherosclerosis* 2009 May;204(1):105–11.
- [22] Perez-Jimenez F, Lopez-Miranda J, Pinillos MD, Gomez P, Paz-Rojas E, Montilla P, et al. A Mediterranean and a high-carbohydrate diet improve glucose metabolism in healthy young persons. *Diabetologia* 2001 Nov;44(11):2038–43.
- [23] Rivellese AA, Giacco R, Annuzzi G, De Natale C, Patti L, Di Marino L, et al. Effects of monounsaturated vs. saturated fat on postprandial lipemia and adipose tissue lipases in type 2 diabetes. *Clin Nutr* 2008 Feb;27(1):133–41.
- [24] Zheng C, Khoo C, Furtado J, Ikewaki K, Sacks FM. Dietary monounsaturated fat activates metabolic pathways for triglyceride-rich lipoproteins that involve apolipoproteins E and C-III. *Am J Clin Nutr* 2008 Aug;88(2):272–81.
- [25] Thomsen C, Storm H, Holst JJ, Hermansen K. Differential effects of saturated and monounsaturated fats on postprandial lipemia and glucagon-like peptide 1 responses in patients with type 2 diabetes. *Am J Clin Nutr* 2003 Mar;77(3):605–11.
- [26] Thomsen C, Rasmussen O, Lousen T, Holst JJ, Fenselau S, Schrezenmeir J, et al. Differential effects of saturated and monounsaturated fatty acids on postprandial lipemia and incretin responses in healthy subjects. *Am J Clin Nutr* 1999 Jun;69(6):1135–43.
- [27] Mekki N, Charbonnier M, Borel P, Leonardi J, Juhel C, Portugal H, et al. Butter differs from olive oil and sunflower oil in its effects on postprandial lipemia and triacylglycerol-rich lipoproteins after single mixed meals in healthy young men. *J Nutr* 2002 Dec;132(12):3642–9.
- [28] Lichtenstein AH, Ausman LM, Carrasco W, Jenner JL, Gualtieri LJ, Goldin BR, et al. Effects of canola, corn, and olive oils on fasting and postprandial plasma lipoproteins in humans as part of a National Cholesterol Education Program Step 2 diet. *Arterioscler Thromb* 1993 Oct;13(10):1533–42.
- [29] de Bruin TW, Brouwer CB, van Linde-Sibenius Trip M, Jansen H, Erkelens DW. Different postprandial metabolism of olive oil and soybean oil: a possible mechanism of the high-density lipoprotein conserving effect of olive oil. *Am J Clin Nutr* 1993 Oct;58(4):477–83.
- [30] Zampelas A, Peel AS, Gould BJ, Wright J, Williams CM. Polyunsaturated fatty acids of the *n*-6 and *n*-3 series: effects on postprandial lipid and apolipoprotein levels in healthy men. *Eur J Clin Nutr* 1994 Dec;48(12):842–8.
- [31] Park Y, Harris WS. Omega-3 fatty acid supplementation accelerates chylomicron triglyceride clearance. *J Lipid Res.* 2003 Mar;44(3):455–63.
- [32] Rivellese AA, Maffettone A, Vessby B, Uusitupa M, Hermansen K, Berglund L, et al. Effects of dietary saturated, monounsaturated and *n*-3 fatty acids on fasting lipoproteins, LDL size and post-prandial lipid metabolism in healthy subjects. *Atherosclerosis* 2003 Mar;167(1):149–58.
- [33] Nicolaiew N, Lemort N, Adorni L, Berra B, Montorfano G, Rapelli S, et al. Comparison between extra virgin olive oil and oleic acid rich sunflower oil: effects on postprandial lipemia and LDL susceptibility to oxidation. *Ann Nutr Metab* 1998;42(5):251–60.
- [34] Brown AJ, Roberts DC. Moderate fish oil intake improves lipemic response to a standard fat meal. A study in 25 healthy men. *Arterioscler Thromb* 1991 May–Jun;11(3):457–66.



***Nutr Res***  
**2013;33(12):1012-8**





Available online at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)

ScienceDirect

[www.nrjournal.com](http://www.nrjournal.com)

## An acute intake of a walnut-enriched meal improves postprandial adiponectin response in healthy young adults

Aquiles Lozano<sup>a</sup>, Pablo Perez-Martinez<sup>a</sup>, Carmen Marin<sup>a</sup>, Francisco J. Tinahones<sup>b</sup>, Javier Delgado-Lista<sup>a</sup>, Cristina Cruz-Teno<sup>a</sup>, Purificacion Gomez-Luna<sup>a</sup>, Fernando Rodriguez-Cantalejo<sup>c</sup>, Francisco Perez-Jimenez<sup>a</sup>, Jose Lopez-Miranda<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Lipids and Atherosclerosis Unit, Hospital Universitario Reina Sofia/IMIBIC, Universidad de Córdoba and CIBER Fisiopatología Obesidad y Nutrición Instituto de Salud Carlos III, 14004, Córdoba, Spain

<sup>b</sup> Hospital Virgen de la Victoria, 29010, Malaga, CIBER Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición Instituto de Salud Carlos III, 14004, Córdoba, Spain

<sup>c</sup> Biochemical Laboratory, Reina Sofia University Hospital, 14004, Cordoba, Spain

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 12 November 2012

Revised 26 August 2013

Accepted 28 August 2013

#### Keywords:

Human

Adiponectin

Free fatty acids

N-3 fatty acids

PUFA

Walnuts

Postprandial state

### ABSTRACT

A deficit in adiponectin plays an important causal role in insulin resistance and metabolic syndrome. We hypothesized that as seen during the fasting state, the intake of a walnut-enriched meal increased postprandial adiponectin. Twenty-one healthy white men followed a 4-week baseline diet and then consumed 3 fat-loaded meals that included 1 g fat/kg body weight (65% fat) according to a randomized crossover design: olive oil-enriched meal (22% saturated fatty acids [SFA], 38% monounsaturated fatty acids [MUFA], 4% polyunsaturated fatty acids [PUFA]), butter-enriched meal (35% SFA, 22% MUFA, 4% PUFA), and walnut-enriched meal (20% SFA, 24% MUFA, 16% PUFA, and 4%  $\alpha$ -linolenic acid). Leptin, resistin, adiponectin, and free fatty acids were determined at 0, 3, 6, and 8.5 hours after the fat load. After the walnut-enriched meal, plasma adiponectin concentrations were higher at 3 and 6 hours ( $P = .011$ ,  $P = .046$ , respectively) compared with the butter-enriched meal and higher at 6 hours compared with the olive oil-enriched meal ( $P = .036$ ). Free fatty acid levels decreased from baseline at 3 hours after the walnut-enriched meal ( $P = .001$ ). No differences were observed between the 3 meals for leptin and resistin responses. Our data confirmed a beneficial profile in the postprandial response to walnuts, source of omega-3 PUFA with an increased postprandial adiponectin and lower postprandial free fatty acid responses. These findings suggest that the postprandial state is important for understanding the possible cardioprotective effects associated with omega-3 PUFA dietary fat.

© 2013 Elsevier Inc. All rights reserved.

## 1. Introduction

Adipose tissue produces a multitude of bioactive peptides, known as “adipokines” that not only affect the adipocyte

function in an autocrine and paracrine manner but also participate in more than one pathway through the circulatory system of the blood. The concept of adipose tissue as an endocrine organ originated in 1995 with the discovery of leptin

**Abbreviations:** ALA,  $\alpha$ -linolenic acid; ANOVA, Analysis of variance; AUC, Area under the curve; C, Cholesterol; ELISA, Enzyme-linked immunosorbent assay; FFA, Free fatty acids; HOMA-R, Homeostasis model assessment ratio; IL-6, Interleukin 6; MUFA, Monounsaturated fatty acids; n-3, Omega-3; PUFA, Polyunsaturated fatty acids; SFA, Saturated fatty acids; TG, Triglycerides; TNF- $\alpha$ , Tumor necrosis factor  $\alpha$ ; TRL, Triglyceride-rich lipoproteins.

\* Corresponding author. Servicio de Medicina Interna, Unidad de Lípidos y Arteriosclerosis, Hospital Universitario Reina Sofia, Avenida Menéndez-Pidal s/n, 14004 Córdoba, Spain. Tel./fax: +34 957 218250.

E-mail addresses: [jlopezmir@uco.es](mailto:jlopezmir@uco.es), [jlopezmir@gmail.com](mailto:jlopezmir@gmail.com) (J. Lopez-Miranda).

0271-5317/\$ – see front matter © 2013 Elsevier Inc. All rights reserved.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.nutres.2013.08.010>



and the extent of their biological functions [1]. For instance, high levels of adiponectin have been associated with less likelihood of developing insulin resistance, type 2 diabetes mellitus [2], and coronary heart disease [3]. In addition, plasma levels of resistin have been predictive of coronary atherosclerosis in asymptomatic patients with family history of coronary heart disease [4].

Several candidate genes may affect primary insulin action, and particularly, the interaction with dietary fat is an important modulator of glucose metabolism and insulin resistance [5,6]. In this context, previous data indicate that after a fatty meal, a rise has been noted in inflammatory cytokines such as tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) or interleukin 6 (IL-6), which are involved in the regulation of adiponectin, by decreasing its concentrations. Moreover, chronic consumption of saturated fatty acids (SFAs) has been inversely correlated with fasting adiponectin [7,8]. Interestingly, 1 study showed an improvement in plasma adiponectin concentrations after the daily consumption of 6.5 mL of olive oil for 1 year, but this was enriched with omega-3 (n-3) polyunsaturated fatty acids (PUFA) [9]. Furthermore, an increase in circulating concentrations of adiponectin can be observed with chronic consumption of walnuts [10,11], a source of n-3 PUFA of vegetable origin, being associated with a lower risk of developing cardiovascular disease [12,13]. However, the postprandial response to an overload with high fat content has not been well established, with highly variable results, and no evidence exists about the effect of different quality of fats on it.

Postprandial metabolism is the physiological state of humans in modern society and has become more important because it has been demonstrated that the postprandial phase is associated with increased inflammation and oxidation, which influences vascular function through a continuous aggression to the endothelium by atherogenic lipoprotein. In this context, adipokines play a main role in the inflammatory processes. On the other hand, dietary fat is probably the most important environmental factor that modulates postprandial lipemia and changes in postprandial metabolism take place every time we eat a meal. Based on that, we hypothesized that the acute intake of a walnut-enriched meal improves the postprandial adipokines response as previously observed during the fasting state. On this basis, we conducted a very well-controlled study including healthy white volunteers who were given 3 meals based on natural foods (butter, olive oil, and walnuts) with the same fat content, but with different fatty acid composition, to evaluate differences in the response of several postprandial adipokines levels.

## 2. Methods and materials

### 2.1. Subjects

Twenty-one males, aged  $23 \pm 1.5$  (range, 18-30) years, were included in this study. All of them gave informed consent and underwent a comprehensive medical history, physical examination, and clinical chemistry analysis before enrollment. Subjects showed no signs of any chronic disease, and none had unusually high levels of physical activity. None of the

subjects were taking medication or vitamins known to affect plasma lipids. One of the inclusion criteria was having a body mass index lower than  $30 \text{ kg/m}^2$ . The study protocol was approved by the Human Investigation Review Committee of the Reina Sofia University Hospital.

### 2.2. Study design

Each subject, after 4 weeks on a typical Western-style stabilization basal diet rich in saturated fat (38% fat: 16% SFAs, 16% monounsaturated fatty acids [MUFA], and 6% PUFA; 15% protein and 47% carbohydrates), underwent 3 postprandial lipemia trials, in which they consumed meals with the same fat content (1 g fat/kg body weight, 7 mg cholesterol/kg, and 40 retinol equivalents/kg body weight) but with different fatty acid compositions, following a random administration order. After fasting for 12 hours, at time 0, the subjects were provided with a fatty meal consisting of 50% to 66% of their normal daily intake of calories. The meals provided 60% fat, 15% protein, and 25% carbohydrates. The fat composition of the foods used in the postprandial lipemia studies was as follows: fatty food based on extra virgin olive oil (olive oil-enriched meal: 22% SFA, 38% MUFA, 4% PUFA, and 0.7%  $\alpha$ -linolenic acid), fatty food based on butter (butter-enriched meal: 35% SFA, 22% MUFA, 4% PUFA, and 0.7%  $\alpha$ -linolenic acid), and fatty food based on walnuts (*Junglans regia* L.) (walnut-enriched meal: 20% SFA, 24% MUFA, 16% PUFA, and 4%  $\alpha$ -linolenic acid). The meals were administered according to a Latin-square design, so that all subjects received in random sequence the 3 diets on 3 different occasions separated by 1 week. Throughout the 8.5-hour duration of the study, the subjects neither performed physical activity nor consumed anything but water. Venous blood samples were collected in tubes containing 1 mg/mL EDTA 0, 3, 6, and 8.5 hours after fat food intake at each time point.

### 2.3. Lipoprotein separations

Blood was collected in tubes containing EDTA to give a final concentration of 0.1% EDTA. Plasma was separated by centrifugation at  $1500g$  for 15 minutes at  $4^\circ\text{C}$ . The chylomicron fraction of triglyceride (TG)-rich lipoproteins (TRL) (large TRL) was isolated from 4-mL plasma overlain by 0.15 mol NaCl/L, 1 mmol EDTA/L (pH 7.4, density  $<1.006 \text{ kg/L}$ ) by a single ultracentrifugal spin ( $36200g$  for 30 minutes at  $4^\circ\text{C}$ ) in a type 50 rotor (Beckman Instruments, Fullerton, CA). Chylomicrons, contained in the top layer, were removed by aspiration after cutting the tubes, and the infranatant was centrifuged at a density of  $1.019 \text{ kg/L}$  for 24 hours at  $183000g$  in the same rotor. The nonchylomicron fraction of TRL (small TRL) was removed from the top of the tube. All operations were done in subdued light. Large and small TRL fractions were stored at  $-70^\circ\text{C}$ .

### 2.4. Lipid and insulin analysis

Cholesterol (C) and TG in plasma and lipoprotein fractions were assayed by enzymatic procedures [14,15]. Apolipoprotein A-I and Apolipoprotein B were determined by turbidimetry [16]. High-density lipoprotein C was measured by analyzing the supernatant fluid obtained after precipitation of a plasma

aliquot with dextran sulfate and Mg<sup>2+</sup> [17]. Assays for insulin were performed in the hospital's biochemical laboratory by a chemiluminescent microparticle immunoassay (Architect Insulin Assay; Abbott, Wiesbaden, Germany).

### 2.5. Determination of adipokines

Leptin was determined by a commercial enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (Leptin ELISA; DRG Instruments GmbH, Marburg, Germany). Adiponectin was quantified by a commercial ELISA (Human adiponectin/Acrp30 immunoassay; R&D Systems, Inc, Minneapolis, MN, USA). Resistin was assessed by a commercial ELISA (Human resistin ELISA kit; Linco Research, Inc, St. Charles, MO, USA). Free fatty acids (FFAs) were determined with a commercial kit for chromogenic assay (Free Fatty Acids, Half-Micro Test; Roche Diagnostic GmbH, Penzberg, Germany).

### 2.6. Statistical analyses

Power calculations were done to estimate sample size requirements. These calculations were based on the literature for total adiponectin in healthy subjects [18]. A sample size of 8 subjects was estimated to give 80% power to detect a 13% postprandial change at 6 hours in total adiponectin ( $7.0 \pm 1.8 \mu\text{g/mL}$  to  $6.1 \pm 1.8 \mu\text{g/mL}$ ). Twenty-one subjects were recruited.

All data presented in the text and tables are expressed as means  $\pm$  SE. SPSS 18.0 for Windows (SPSS, Inc, Chicago, IL) was used for the statistical comparison. The area under the curve (AUC) is defined as the area between the plasma concentration-vs-time curve and a line drawn. When using AUC, data were tested for statistical significance by analysis of variance (ANOVA) for a repeated measures test, with 1 within-subject factor: fatty meal (3 levels: butter, olive oil, walnuts). When using absolute values, data were tested for statistical significance by ANOVA for a repeated measures test, with 2 within-subject factor: time (9 levels corresponding with each time of blood sample during postprandial lipemia) and meal (3 levels: butter, olive oil, walnuts). When statistical significance was found, Bonferroni's post hoc multiples comparisons test was used to identify group differences. The significance of the

correlations was examined by using the Pearson correlation coefficient test ( $r$ ).  $P < .05$  was considered to be significant.

## 3. Results

We did not find any differences in the fasting values of the variables according to each meal consumed (Table 1). The intake of the walnut-enriched meal induced a higher postprandial AUC of adiponectin compared with the olive oil- or butter-enriched ( $P = .015$  and  $P = .013$ , respectively) meals. No differences were observed in the postprandial AUC of leptin, resistin, and FFA (Table 2). When we analyzed the time points during the postprandial period, the consumption of a walnut-enriched meal induced higher plasma adiponectin concentrations at 3 and 6 hours ( $P = .011$ ,  $P = .046$ , respectively) compared with the butter-enriched meal and higher at 6 hours ( $P = .036$ ) than did the olive oil-enriched meal, a similar trend at 3 hours ( $P = .056$ ) (Fig. A). There was a decrease in FFA levels at 3 hours from baseline after the walnut- and butter-enriched meals ( $P = .001$  and  $P = .013$ , respectively). Subsequently, a significant increase in FFA levels from baseline was found at 6 and 8.5 hours after the butter-enriched meal ( $P = .008$  and  $P = .004$ , respectively) (Fig. B). No changes from baseline and no differences between the different fatty test meals in any of the different time points were observed in leptin and resistin postprandial responses (Fig. C and D). Postprandial insulin concentrations were not correlated with postprandial adiponectin ( $r = -0.006$ ,  $P = .957$ ), leptin ( $r = -0.075$ ,  $P = .483$ ), or resistin ( $r = 0.122$ ,  $P = .275$ ) concentrations, but with FFA concentrations ( $r = -0.355$ ,  $P = .001$ ). Postprandial FFA concentrations were not correlated with postprandial adiponectin concentrations ( $r = 0.004$ ,  $P = .957$ ). Body mass index was not significantly correlated with the AUC of adiponectin either after the different fat loads (butter-enriched [ $r = -0.215$ ,  $P = .362$ ], olive oil-enriched [ $r = -0.171$ ,  $P = .471$ ], or walnut-enriched meals [ $r = -0.220$ ,  $P = .352$ ]).

## 4. Discussion

Our study shows that the consumption of a walnut-enriched meal resulted in a higher postprandial adiponectin response

**Table 1 – Baseline lipid, lipoprotein, and apolipoprotein concentrations according to each meal consumed**

	Butter	Olive oil	Walnuts	P
Cholesterol (mmol/L)	3.76 $\pm$ 0.13	3.83 $\pm$ 0.15	3.78 $\pm$ 0.14	.938
TG (mmol/L)	0.85 $\pm$ 0.11	0.83 $\pm$ 0.09	0.88 $\pm$ 0.10	.944
HDL-C (mmol/L)	1.22 $\pm$ 0.05	1.24 $\pm$ 0.04	1.24 $\pm$ 0.04	.953
APO A-I (g/L)	0.12 $\pm$ 0.003	0.12 $\pm$ 0.003	0.12 $\pm$ 0.003	.907
APO B (g/L)	0.07 $\pm$ 0.003	0.07 $\pm$ 0.003	0.07 $\pm$ 0.003	.886
Large-TRL C (mmol/L)	0.06 $\pm$ 0.005	0.06 $\pm$ 0.004	0.06 $\pm$ 0.004	.866
Large-TRL TG (mmol/L)	0.06 $\pm$ 0.02	0.06 $\pm$ 0.01	0.06 $\pm$ 0.01	.829
Small-TRL C (mmol/L)	0.09 $\pm$ 0.02	0.08 $\pm$ 0.01	0.09 $\pm$ 0.02	.724
Small-TRL TG (mmol/L)	0.17 $\pm$ 0.04	0.15 $\pm$ 0.02	0.16 $\pm$ 0.03	.943
Glucose (mmol/L)	4.84 $\pm$ 0.10	4.70 $\pm$ 0.17	4.94 $\pm$ 0.11	.485
Insulin (pmol/L)	57.78 $\pm$ 12.29	55.14 $\pm$ 15.07	56.45 $\pm$ 9.30	.990
HOMA-R	1.82 $\pm$ 0.48	1.84 $\pm$ 0.47	2.12 $\pm$ 1.28	.902

Values are expressed as means  $\pm$  SE.  $n = 21$  per each meal. Data are tested by 1-way ANOVA. Abbreviations: HOMA-R, Homeostasis model assessment ratio; HDL-C, high-density lipoprotein cholesterol.

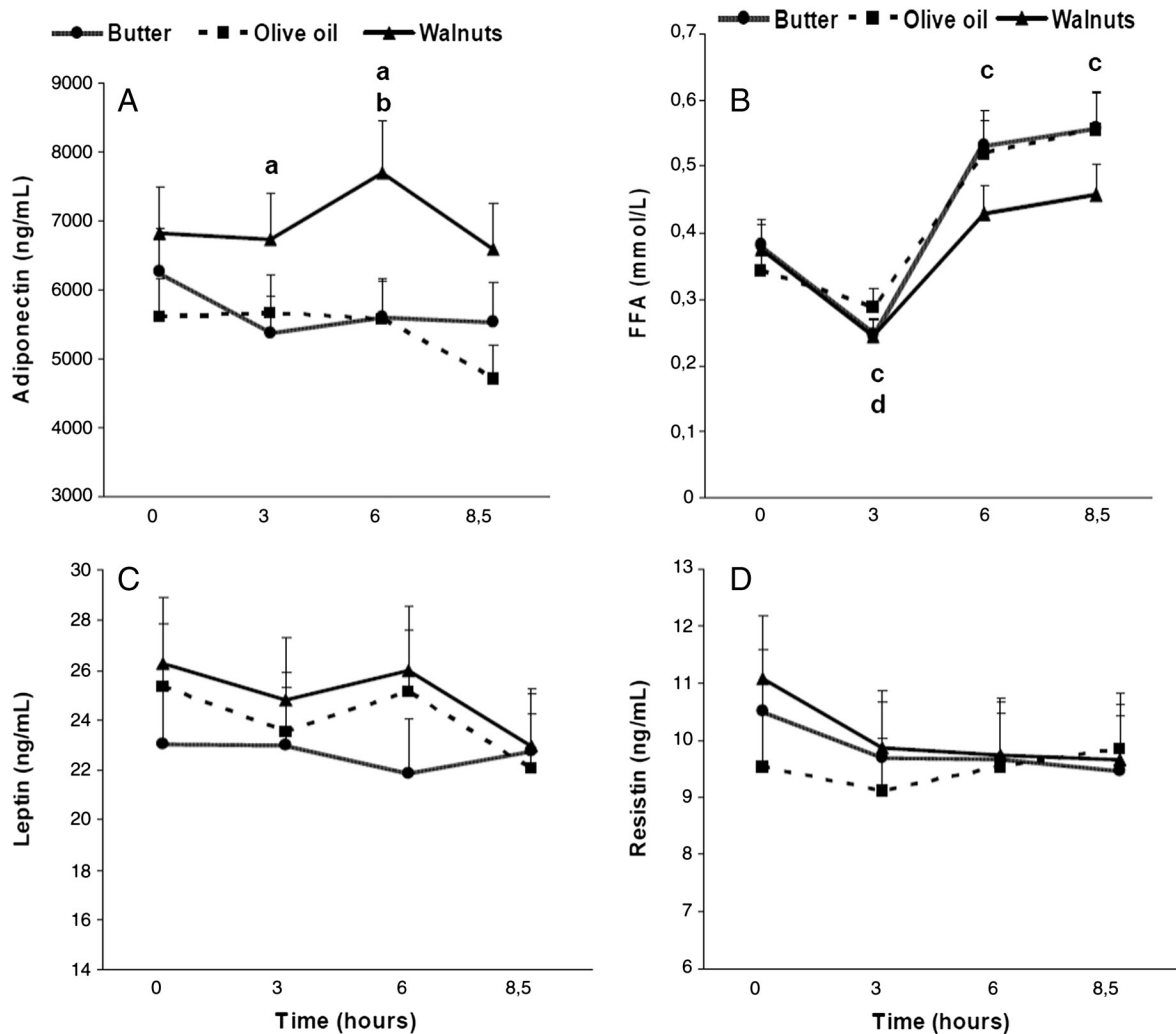
**Table 2 – Area under the postprandial curve according to each meal consumed**

	Butter	Olive oil	Walnuts	P
Adiponectin (ng/mL · h)	47896 ± 7568 <sup>a</sup>	46592 ± 6719 <sup>a</sup>	59845 ± 8696 <sup>b</sup>	.001
Resistin (ng/mL · min)	5002 ± 333	4809 ± 281	5106 ± 349	.220
Leptin (ng/mL · min)	11537 ± 958	12365 ± 891	12900 ± 1253	.286
FFA (mmol/L · min)	208 ± 11	210 ± 15	183 ± 14	.112

Data are expressed as means ± SE. n = 21 per each meal. Data are tested by repeated-measures ANOVA with 1 within-subject factor (meal). Means within a row with different superscript letters are significantly different; P < .05 (multiple-comparisons Bonferroni post hoc test).

compared with the intake of butter- and olive oil-enriched meals. We found that the intake of a walnut-enriched meal induced higher plasma adiponectin concentrations at 180 and 360 minutes compared with the butter-enriched meal and

higher at 360 minutes than did the olive oil-enriched meal. During the fasting state, the intake of walnuts showed a direct correlation with fasting levels of adiponectin in diabetic women [11]. In another recent study, an increase in circulating



**Fig. – Postprandial adiponectin (1A), FFA (B), leptin (C), and resistin (D) responses according to each test meal consumed. n = 21 per each meal. Data are presented as means ± SE, adiponectin, leptin, resistin (ng/mL), and free fatty acids (mmol/L). Analysis of variance for repeated measures: adiponectin: time effect: P = .084, meal effect: P = .002, time-by-meal interaction effect: P = .269; FFA: time effect: P = .001, meal effect: P = .115, time-by-meal interaction effect: P = .287; leptin: time effect: P = .210, meal effect: P = .224, time-by-meal interaction effect: P = .824; resistin: time effect: P = .045, meal effect: P = .267, time-by-meal interaction effect: P = .257. (a) Statistically significant difference between walnut- and butter-enriched meals, P < .05. (b) Statistically significant difference between walnut- and olive oil-enriched meals, P < .05. (c) Statistically significant change from baseline after butter-enriched meal, P < .05. (d) Statistically significant change from baseline after walnut-enriched meal, P < .05.**

levels was observed within a few days of intake in obese patients with metabolic syndrome [10]. This association had not been previously studied postprandially.

The PUFA content may be the mechanism involved in this response. The relationship between the different types of dietary fatty acids and the expression of adiponectin levels has been well documented in the fasting but not in the postprandial state. In healthy humans, SFA intake was correlated negatively with circulating adiponectin levels, whereas n-3 PUFA was positively associated [7]. The walnut-enriched meal had 12% more PUFA and 3.3% more  $\alpha$ -linolenic acid (ALA) as fat content than the butter- or olive oil-enriched meals, which means a range from 3.5 to 4.7 g of ALA and 17.5 to 23.7 g of PUFA per meal according to volunteer's weight.

Two previous studies compared the effect of different amount of fat composition on the adiponectin postprandial response. In one of them, after a high-fat meal (71% of energy), no difference between a high-SFA meal (71% saturated vs 29% unsaturated) and a low-SFA meal (55% vs 45%) was found [19]. In the same context, in a previous study, the intake of 3 breakfasts with different fat content (rich in SFA, MUFA, and carbohydrates, respectively) showed no differences in postprandial adiponectin levels at 180 minutes after the overload [20], although in this study, n-3 PUFA supplementation was not studied.

In our study, we did not find significant correlation between adiponectin and insulin concentrations during the postprandial state. This postprandial association has neither been found after an overload of fat in healthy or diabetic volunteers [18] or in overweight volunteers before and after an energy restriction [21]. However, Rubin et al [22] observed a negative correlation between adiponectin and insulin concentrations in patients with abdominal obesity with and without metabolic syndrome. Specifically, the degree of insulin resistance and basal adiponectinemia [homeostasis model assessment ratio, (HOMA-R), 4.6; insulin, 16.2 mU/L; adiponectin, 4071 ng/mL] in this study was higher than in our study (HOMA-R, 1.9; insulin, 8.1 mU/L; adiponectin, 6231 ng/mL). The degree of insulin resistance and chronic hyperinsulinemia are the most important predictors of fasting adiponectin levels [23,24], but this is not clear during the postprandial state. The daily profile of plasma adiponectin levels revealed, in a study performed by Hotta et al [25], that it was not affected by food intake, in contrast with increased plasma insulin levels, suggesting that insulin does not have an acute effect on the plasma adiponectin level. This finding suggests that a prolonged hyperinsulinemic state, not only an acute change of insulin, is required to lower circulating adiponectin levels.

It has been suggested that adiponectin plays a significant role in modulating circulating levels of FFA [26]. Besides, postprandial adiponectin response has been inversely correlated with the magnitude of postprandial FFA increase [27]. Insulin may be involved in this relationship, as it is correlated with FFA like we have seen in our study, mediated by different pathways, as previously described in literature [28,29]. However, in our study, we did not find correlation between adiponectin and FFA, and the lack of correlation between plasma adiponectin and insulin could explain this result.

Although statistically significant differences have been observed in neither AUC nor different time points of the postprandial curve, the postprandial FFA response differed

between the fatty meals used, being lower after the walnuts meal. This has been already reflected in previous studies where postprandial responses have been higher with SFA- and lower with PUFA-rich foods [30,31]. We have seen, in our work, a similar curve to the rising part of the FFA response with olive oil- and butter-enriched meals, as seen previously in the work of Robertson et al [32] during the sixth postprandial hour or in the work by our group at the third hour [20]. Furthermore, in this study, there was a significant decrease at 3 hours after butter- and walnut-enriched meals, but not with the olive oil-enriched meal. This is consistent with previous results of Roche et al [33], where a MUFA-rich meal showed a lower suppression of the FFA response during the first few hours after meals. This suggests that the type of fatty acids in the diet influences the FFA postprandial response.

Finally, no differences among the 3 test meals in the postprandial response of leptin and resistin were observed. Previously, in a study comparing 2 high-fat meals with different saturated/unsaturated fat ratios (70:30 vs 55:45) in healthy subjects, there was no difference in response between meals, with a significant decrease in leptin after both meals [34]. In addition, no differences between different types of fat were observed in the postprandial response of resistin [20].

Our study includes a very carefully characterized population. Moreover, our design has the strength of reproducing real-life conditions with home-prepared foods, reflecting usual practice. On the other hand, our present study does have some limitations. We could not measure the percentage of PUFA content of each meal (%docosahexaenoic, eicosapentaenoic, docosapentaenoic acids...). For this reason, we could not accurately determine whether the benefit found in the adiponectin response is due to higher ALA content or the rest of PUFA content in the walnut-enriched meal. Consequently, we should be very cautious when interpreting our results. Walnuts contain a wide array of nutrients such as dietary fiber, arginine-rich protein, and other compounds with biological activity such as flavonoids, other polyphenols, and sterols, which may also be responsible for this effect. We did not find this response to be associated to insulin or FFA concentrations. Other determinations, which may be missing, plasma TNF- $\alpha$  and IL-6, TNF- $\alpha$  and IL-6 messenger RNA in peripheral blood mononuclear cells, adiponectin gene, and receptor variants, would help to clarify these results.

In conclusion, our data confirm the research hypothesis as we found a beneficial profile in the postprandial response after a walnut-enriched meal with a higher adiponectin response compared with the butter- or olive oil-enriched meals. The PUFA and specifically ALA content may be the mechanism involved in this response. These findings would suggest that the postprandial state is important for understanding the possible cardioprotective effects associated with n-3 PUFA dietary fat. Future studies will provide further insight into the mechanisms through which dietary walnuts exert their beneficial actions.

---

## Acknowledgment

This study was supported partly by research grants from the Spanish Ministry of Science and Innovation (AGL 2004-07907,



AGL2006-01979, and AGL2009-12270 to J L-M; SAF07-62005 to F P-J and FIS PI10/01041 to P P-M; PI10/02412 to F P-J); Consejería de Economía, Innovación y Ciencia, Proyectos de Investigación de Excelencia, Junta de Andalucía (P06-CTS-01425 to J L-M; CTS5015 and AGR922 to F P-J); Instituto de Salud Carlos III (04/1619 to CM); Consejería de Salud, Junta de Andalucía (06/128, 07/43, and PI0193/09 to J L-M; 06/129 to F P-J; 06/127 to C M-H; 0118/08 to F F-J; PI-0252/09 to J D-L; and PI-0058/10 to P P-M); Fondo Europeo de Desarrollo Regional. The CIBEROBN is an initiative of the Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain.

## REFERENCES

- [1] Barinaga M. "Obese" protein slims mice. *Science* 1995;269:475–6.
- [2] Goto M, Goto A, Morita A, Deura K, Sasaki S, Aiba N, et al. Low-molecular-weight adiponectin and high-molecular-weight adiponectin levels in relation to diabetes. *Obesity* (Silver Spring) 2013. <http://dx.doi.org/10.1002/oby.20553>.
- [3] Schulze MB, Shai I, Rimm EB, Li T, Rifai N, Hu FB. Adiponectin and future coronary heart disease events among men with type 2 diabetes. *Diabetes* 2005;54:534–9.
- [4] Pinkney JH, Stehouwer CD, Coppack SW, Yudkin JS. Endothelial dysfunction: cause of the insulin resistance syndrome. *Diabetes* 1997;46(Suppl 2):S9–13.
- [5] 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;138:1609–14.
- [6] 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;91:794–801.
- [7] Fernandez-Real JM, Vendrell J, Ricart W. Circulating adiponectin and plasma fatty acid profile. *Clin Chem* 2005;51:603–9.
- [8] Reis CE, Bressan J, Alfenas RC. Effect of the diet components on adiponectin levels. *Nutr Hosp* 2010;25:881–8.
- [9] Sofi F, Giangrandi I, Cesari F, Corsani I, Abbate R, Gensini GF, et al. Effects of a 1-year dietary intervention with n-3 polyunsaturated fatty acid-enriched olive oil on non-alcoholic fatty liver disease patients: a preliminary study. *Int J Food Sci Nutr* 2010;61:792–802.
- [10] Aronis KN, Vamvini MT, Chamberland JP, Sweeney LL, Brennan AM, Magkos F, et al. Short-term walnut consumption increases circulating total adiponectin and apolipoprotein A concentrations, but does not affect markers of inflammation or vascular injury in obese humans with the metabolic syndrome: data from a double-blinded, randomized, placebo-controlled study. *Metabolism* 2012;61:577–82.
- [11] Mantzoros CS, Williams CJ, Manson JE, Meigs JB, Hu FB. Adherence to the Mediterranean dietary pattern is positively associated with plasma adiponectin concentrations in diabetic women. *Am J Clin Nutr* 2006;84:328–35.
- [12] Delgado-Lista J, Perez-Martinez P, Lopez-Miranda J, Perez-Jimenez F. Long chain omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: a systematic review. *Br J Nutr* 2012;107(Suppl 2):S201–13.
- [13] Li TY, Brennan AM, Wedick NM, Mantzoros C, Rifai N, Hu FB. Regular consumption of nuts is associated with a lower risk of cardiovascular disease in women with type 2 diabetes. *J Nutr* 2009;139:1333–8.
- [14] Allain CC, Poon LS, Chan CS, Richmond W, Fu PC. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin Chem* 1974;20:470–5.
- [15] Bucolo G, David H. Quantitative determination of serum triglycerides by the use of enzymes. *Clin Chem* 1973;19:476–82.
- [16] Riepponen P, Marniemi J, Rautaoja T. Immunoturbidimetric determination of apolipoproteins A-1 and B in serum. *Scand J Clin Lab Invest* 1987;47:739–44.
- [17] Warnick GR, Benderson J, Albers JJ. Dextran sulfate–Mg<sup>2+</sup> precipitation procedure for quantitation of high-density-lipoprotein cholesterol. *Clin Chem* 1982;28:1379–88.
- [18] Esposito K, Nappo F, Giugliano F, Di Palo C, Ciotola M, Barbieri M, et al. Meal modulation of circulating interleukin 18 and adiponectin concentrations in healthy subjects and in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr* 2003;78:1135–40.
- [19] Poppitt SD, Keogh GF, Lithander FE, Wang Y, Mulvey TB, Chan YK, et al. Postprandial response of adiponectin, interleukin-6, tumor necrosis factor- $\alpha$ , and C-reactive protein to a high-fat dietary load. *Nutrition* 2008;24:322–9.
- [20] Paniagua JA, Gallego de la Sacristana A, Romero I, Vidal-Puig A, Latre JM, Sanchez E, et al. Monounsaturated fat-rich diet prevents central body fat distribution and decreases postprandial adiponectin expression induced by a carbohydrate-rich diet in insulin-resistant subjects. *Diabetes Care* 2007;30:1717–23.
- [21] Imbeault P, Doucet E, Mauriege P, St-Pierre S, Couillard C, Almeras N, et al. Difference in leptin response to a high-fat meal between lean and obese men. *Clin Sci (Lond)* 2001;101:359–65.
- [22] Rubin D, Helwig U, Nothnagel M, Lemke N, Schreiber S, Folsch UR, et al. Postprandial plasma adiponectin decreases after glucose and high fat meal and is independently associated with postprandial triacylglycerols but not with –11388 promoter polymorphism. *Br J Nutr* 2008;99:76–82.
- [23] Weyer C, Funahashi T, Tanaka S, Hotta K, Matsuzawa Y, Pratley RE, et al. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:1930–5.
- [24] Mente A, Meyre D, Lanktree MB, Heydarpour M, Davis AD, Miller R, et al. Causal relationship between adiponectin and metabolic traits: a Mendelian randomization study in a multiethnic population. *PLoS One* 2013;8:e66808.
- [25] Hotta K, Funahashi T, Arita Y, Takahashi M, Matsuda M, Okamoto Y, et al. Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:1595–9.
- [26] Fruebis J, Tsao TS, Javorschi S, Ebbets-Reed D, Erickson MR, Yen FT, et al. Proteolytic cleavage product of 30-kDa adipocyte complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:2005–10.
- [27] Musso G, Gambino R, Durazzo M, Biroli G, Carello M, Faga E, et al. Adipokines in NASH: postprandial lipid metabolism as a link between adiponectin and liver disease. *Hepatology* 2005;42:1175–83.
- [28] Beysen C, Karpe F, Fielding BA, Clark A, Levy JC, Frayn KN. Interaction between specific fatty acids, GLP-1 and insulin secretion in humans. *Diabetologia* 2002;45:1533–41.
- [29] Hansen PA, Han DH, Marshall BA, Nolte LA, Chen MM, Mueckler M, et al. A high fat diet impairs stimulation of glucose transport in muscle. Functional evaluation of potential mechanisms. *J Biol Chem* 1998;273:26157–63.
- [30] Tholstrup T, Sandstrom B, Bysted A, Holmer G. Effect of 6 dietary fatty acids on the postprandial lipid profile, plasma fatty acids, lipoprotein lipase, and cholesterol ester transfer activities in healthy young men. *Am J Clin Nutr* 2001;73:198–208.

- 
- [31] Jackson KG, Wolstencroft EJ, Bateman PA, Yaqoob P, Williams CM. Acute effects of meal fatty acids on postprandial NEFA, glucose and apo E response: implications for insulin sensitivity and lipoprotein regulation? *Br J Nutr* 2005;93:693–700.
- [32] Robertson MD, Jackson KG, Fielding BA, Williams CM, Frayn KN. Acute effects of meal fatty acid composition on insulin sensitivity in healthy post-menopausal women. *Br J Nutr* 2002;88:635–40.
- [33] Roche HM, Zampelas A, Jackson KG, Williams CM, Gibney MJ. The effect of test meal monounsaturated fatty acid: saturated fatty acid ratio on postprandial lipid metabolism. *Br J Nutr* 1998;79:419–24.
- [34] Poppitt SD, Leahy FE, Keogh GF, Wang Y, Mulvey TB, Stojkovic M, et al. Effect of high-fat meals and fatty acid saturation on postprandial levels of the hormones ghrelin and leptin in healthy men. *Eur J Clin Nutr* 2006;60:77–84.







