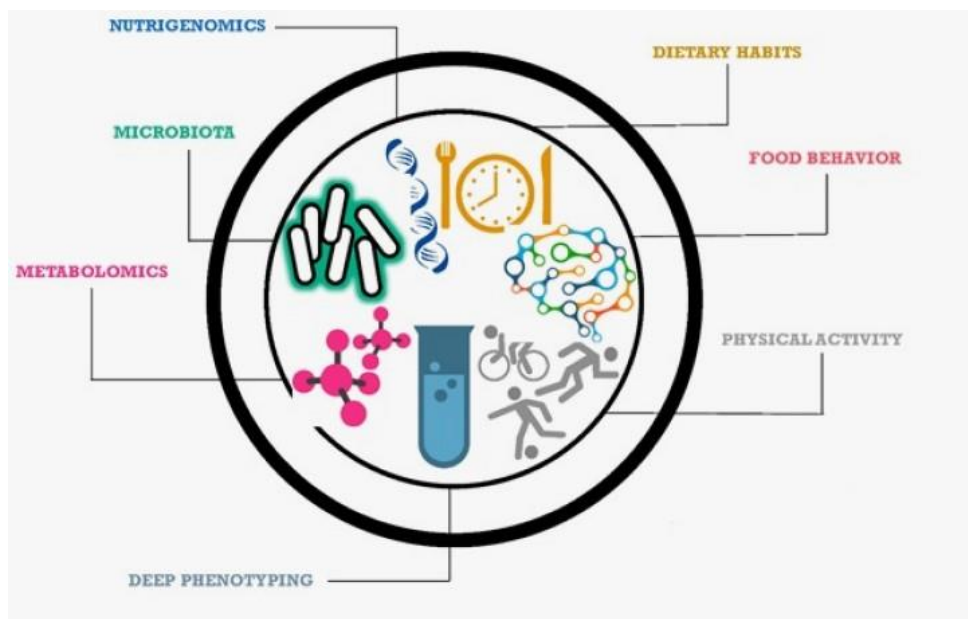


Tesis doctoral

Relación entre la Dieta Mediterránea y el Síndrome Metabólico en pacientes con obesidad mórbida. Asociación con niveles séricos de miRNAs.

Maria Isabel Fontalba Romero



Directores: Dra. María Teresa Labajos Manzanares, Dr. Eduardo García Fuentes y
Dra. Sara García Serrano

Programa de doctorado de Ciencias de la Salud


Facultad de Ciencias de la Salud

Málaga, 2021



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

AUTOR: María Isabel Fontalba Romero

 <https://orcid.org/0000-0002-4868-0127>

EDITA: Publicaciones y Divulgación Científica. Universidad de Málaga



Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional:

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/legalcode>

Cualquier parte de esta obra se puede reproducir sin autorización pero con el reconocimiento y atribución de los autores.

No se puede hacer uso comercial de la obra y no se puede alterar, transformar o hacer obras derivadas.

Esta Tesis Doctoral está depositada en el Repositorio Institucional de la Universidad de Málaga (RIUMA): riuma.uma.es





UNIVERSIDAD DE MÁLAGA

Programa de doctorado de Ciencias de la Salud

Facultad de Ciencias de la Salud

Tesis doctoral

Relación entre la Dieta Mediterránea y el Síndrome
Metabólico en pacientes con obesidad mórbida.
Asociación con niveles séricos de miRNAs.

María Isabel Fontalba Romero

Tutora: Dra. María Teresa Labajos Manzanares.

Directores: Dra. María Teresa Labajos Manzanares, Dr. Eduardo García Fuentes, Dra. Sara García Serrano.

Málaga, 2021



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA



DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD DE LA TESIS PRESENTADA PARA OBTENER EL TÍTULO DE DOCTOR

D./Dña María Isabel Fontalba Romero

Estudiante del programa de doctorado de Ciencias de la Salud de la Universidad de Málaga, autor/a de la tesis, presentada para la obtención del título de doctor por la Universidad de Málaga, titulada: Relación entre la Dieta Mediterránea y el Síndrome Metabólico en pacientes con obesidad mórbida. Asociación con niveles séricos de miRNAs.

Realizada bajo la tutorización de María Teresa Labajos Manzanares y dirección de María Teresa Labajos Manzanares, Eduardo García Fuentes y Sara García Serrano (si tuviera varios directores deberá hacer constar el nombre de todos)

DECLARO QUE:

La tesis presentada es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, conforme al ordenamiento jurídico vigente (Real Decreto Legislativo 1/1996, de 12 de abril, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Propiedad Intelectual, regularizando, aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), modificado por la Ley 2/2019, de 1 de marzo.

Igualmente asumo, ante a la Universidad de Málaga y ante cualquier otra instancia, la responsabilidad que pudiera derivarse en caso de plagio de contenidos en la tesis presentada, conforme al ordenamiento jurídico vigente.

En Málaga, a 16 de Abril de 2021

Fdo.: María Isabel Fontalba Romero (doctoranda).

Fdo.: María Teresa Labajos Manzanares (Tutora).

Fdo.: María Teresa Labajos Manzanares, Eduardo García Fuentes y Sara García Serrano (directores).





UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

Facultad de Ciencias de la Salud

Dña. M. Teresa Labajos Manzanares, Catedrática E.U. del
Departamento de Fisioterapia de la Universidad de Málaga

CERTIFICA:

Que el trabajo presentado como tesis doctoral por Dña. María Isabel Fontalba Romero titulado ***Relación entre la Dieta Mediterránea y el Síndrome Metabólico en pacientes con obesidad mórbida. Asociación con niveles séricos de miRNAs***, ha sido realizado bajo mi dirección y considero que reúne las condiciones apropiadas en cuanto a contenido y rigor científico para ser presentado a trámite de lectura y defensa.

Y para que conste a los efectos oportunos, en cumplimiento de las disposiciones vigentes, expido el presente certificado en Málaga a diez de mayo de dos mil veintiuno.

FDO.: Profa. Dra. M. T. Labajos Manzanares.



Dr. Eduardo García Fuentes, investigador Nicolás Monardes de la UGC de Aparato Digestivo del Hospital Universitario Virgen de la Victoria de Málaga,

CERTIFICA:

Que el trabajo presentado como tesis doctoral por Dña. María Isabel Fontalba Romero titulado *Relación entre la Dieta Mediterránea y el Síndrome Metabólico en pacientes con obesidad mórbida. Asociación con niveles séricos de miRNAs*, ha sido realizado bajo mi dirección y considero que reúne las condiciones apropiadas en cuanto a contenido y rigor científico para ser presentado a trámite de lectura y defensa.

Y para que conste a los efectos oportunos, en cumplimiento de las disposiciones vigentes, expido el presente certificado en Málaga a diez de mayo de dos mil veintiuno.

FDO.: Dr. Eduardo García Fuentes

Dra. Sara García Serrano, investigadora contratada del Centro de Investigación Biomédica en Red de Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociadas del Instituto Carlos III y miembro del grupo de investigación Endocrinología y Nutrición, Diabetes y Obesidad del IBIMA,

CERTIFICA:

Que el trabajo presentado como tesis doctoral por Dña. María Isabel Fontalba Romero titulado *Relación entre la Dieta Mediterránea y el Síndrome Metabólico en pacientes con obesidad mórbida. Asociación con niveles séricos de miRNAs*, ha sido realizado bajo mi dirección y considero que reúne las condiciones apropiadas en cuanto a contenido y rigor científico para ser presentado a trámite de lectura y defensa.

Y para que conste a los efectos oportunos, en cumplimiento de las disposiciones vigentes, expido el presente certificado en Málaga a diez de Mayo de dos mil veintiuno.

FDO.: Dra. Sara García Serrano



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

Agradecimientos

Lo que surgió como una conversación entre amigas, ha resultado ser la elaboración de esta tesis que me ha permitido un desarrollo profesional y personal a lo largo de estos años, en los que ha habido “altibajos” e incluso he pensado en “tirar la toalla”. Quiero agradecer con estas líneas a todas esas personas que han hecho que siga adelante.

En primer lugar, quiero agradecer a mi tutora y directora de tesis, Dra. María Teresa Labajos Manzanares, catedrática del departamento de fisioterapia de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad de Málaga, que me ha guiado en este proceso. Gracias por tu generosidad y constancia por el trabajo.

A mis otros directores de tesis, el Dr. Eduardo García Fuentes y la Dra. Sara García Serrano. Gracias por no dejar que abandone. Gracias por compartir vuestro conocimiento conmigo, y por la humildad, sencillez y generosidad con la que lo hacéis. Gracias por vuestra paciencia y por vuestros ánimos. Gracias por estar ahí.

Gracias a todos los compañeros de la UGC de Endocrinología y Nutrición del Hospital Regional de Málaga, médicos, enfermeras, auxiliares, administrativos, etc. A todos los que están y han estado en este servicio, donde empezó todo cuando llegué por casualidad porque una compañera dejaba de trabajar en la consulta H. Poco a poco me fui contagiando del entusiasmo de todo este servicio por la investigación y el trabajo bien hecho. Gracias Dr. Soriguer, Marisol, Merche, Curra, Gemma, Rosario, Estela, María José, Gabriel, Sergio, Susana, Lola, Ana..., me faltarían páginas para nombrarlos a todos. A los que en su momento fueron “mis residentes” y hoy en día son grandes médicos y mejores amigos, Cristina, Antonio y Victoria. Gracias.

Gracias también a los pacientes que sin ellos nada de esto habría sido posible.

A mis padres, Conchi y Antonio, por su apoyo incondicional, por su confianza. Gracias por enseñarme tanto y pedirme tan poco.

Gracias a mis abuelos, María, Manolo y Diego, que siempre me acompañan desde donde estén, y a mi abuela Isabel. Ellos son mi mayor ejemplo de trabajo y generosidad.

Quiero agradecer también a mi hermana Inma, a mis sobrinos, Pablo y Alejandra, a mi cuñado José Pablo y a mi tío Miguel. Y también a vosotros, Miguel y Raquel, que siempre estaréis en nuestros corazones. A todos mis primos y tíos, por ser la gran familia que somos.

Me gustaría dedicar unas palabras también a todos mis amigos, en especial a Sara, que también es mi directora. Gracias compartir conmigo tu espíritu aventurero, por tu confianza y por hacer que esto siga adelante. Gracias también a Lola, por tus consejos, tu arte, y por saber escuchar. Gracias a todos mis amigos de Teba, que desde pequeños compartimos tantas cosas.

Gracias a cada una de las personas con las que he trabajado y sigo trabajando durante todos estos años, tanto en hospitales como en atención primaria. La mayoría se convierten en amigos y eso hace que crezca profesional y personalmente.

Gracias a todos.



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

ÍNDICES



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

1. INTRODUCCIÓN.....	27
1.1. Obesidad	29
1.1.1. La evolución del hombre hacia la obesidad	29
1.1.2. Epidemiología de la obesidad	30
1.1.3. Concepto y clasificación de obesidad	33
1.1.4. Causas de la obesidad.....	35
1.1.5. Tratamiento de la obesidad.....	43
1.2. Síndrome metabólico	45
1.2.1. Desarrollo histórico	45
1.2.2. Definición.	47
1.2.3. Epidemiología.....	50
1.2.4. Componentes del síndrome metabólico.....	52
1.2.5. Prevención y tratamiento	54
1.3. Dieta mediterránea	55
1.3.1. Importancia de la dieta en la salud y desarrollo de enfermedades.....	55
1.3.2. Salud y dieta mediterránea	57
1.3.3. Estudios sobre dieta mediterránea, obesidad y síndrome metabólico	63

1.3.4. Adherencia a la dieta mediterránea	66
1.4. microRNAs.....	67
1.4.1. Definición de los miRNAs.....	67
1.4.2. Biogénesis.	69
1.4.3. Función de los miRNAs	71
1.4.4. miRNAs y su modulación y relación con dieta mediterránea....	75
2. JUSTIFICACIÓN.....	79
3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	83
3.1. Hipótesis.....	85
3.2. Objetivos	85
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	87
4.1. Diseño y sujetos del estudio	89
4.1.1. Diseño del estudio	89
4.1.2. Sujetos del estudio	89
4.2. Cuestionario de adherencia a la dieta mediterránea (MEDAS)	90
4.3. Variables de estudio	91
4.3.1. Variables clínicas y antropométricas	91
4.3.2. Variables bioquímicas.....	93
4.4. Clasificación del síndrome metabólico	93

4.5. Evaluación de actividad física	94
4.6. Evaluación nivel de estudios.....	95
4.7. Determinación de los niveles de miRNAs	96
4.7.1. Criterios de selección de los miRNAs analizados.....	96
4.7.2. Extracción de los miRNAs	97
4.7.3. Reversotranscripción a cDNA	98
4.7.4. Expresión de miRNAs.....	99
4.7.5. Análisis miRNAs	100
4.8. Análisis estadísticos	101
4.9. Limitaciones del estudio	101
5. RESULTADOS.....	103
5.1. Adherencia a la dieta mediterránea	105
5.1.1. Estudio de cada uno de los ítems que definen la dieta mediterránea	106
5.2. Asociación entre adherencia a la dieta mediterránea y el síndrome metabólico en la obesidad mórbida	125
5.2.1. Asociación entre la adherencia a la dieta mediterránea y los criterios del síndrome metabólico.....	125
5.2.2. Asociación entre los ítems del cuestionario de adherencia a la dieta mediterránea y los criterios del síndrome metabólico	126

5.3. Asociación entre adherencia a la dieta mediterránea y el nivel de estudios en la obesidad mórbida.....	130
5.4. Asociación entre adherencia a la dieta mediterránea y el ejercicio en la obesidad mórbida	131
5.5. Asociación entre el síndrome metabólico y nivel de estudios en la obesidad mórbida	133
5.6. Asociación entre el síndrome metabólico y el ejercicio físico en la obesidad mórbida	134
5.7. Asociación entre el ejercicio físico y el nivel de estudios en la obesidad mórbida.....	135
5.8. Asociación de la dieta mediterránea y el síndrome metabólico con los niveles séricos de miRNAs	136
5.8.1. Características antropométricas y bioquímicas	136
5.8.2. Correlación entre los niveles de los miRNAs estudiados.....	138
5.8.3. Asociación de los niveles de miRNAs y adherencia a la dieta mediterránea	139
5.8.4. Niveles de miRNAs en suero con respecto a cada uno de los ítems del MEDAS.....	140
5.8.5. Niveles de miRNAs en suero con respecto al síndrome metabólico.....	144
6. DISCUSIÓN.....	149

6.1. Adherencia a la dieta mediterránea	151
6.2. Adherencia a la dieta mediterránea y síndrome metabólico	155
6.2.1. Asociación del ejercicio con la adherencia a la dieta mediterránea y el síndrome metabólico	158
6.2.2. Asociación del nivel de educación con la adherencia a la dieta mediterránea y el síndrome metabólico	159
6.3. Asociación de los niveles de distintos miRNAs con la adherencia a la dieta mediterránea y el síndrome metabólico	161
7. CONCLUSIONES.....	167
8. PRODUCCIÓN CIENTÍFICA.....	171
9. BIBLIOGRAFÍA.....	175
10. ANEXOS.....	211

Tablas

Tabla 1. Clasificación de obesidad según la OMS	34
Tabla 2. Criterios SEEDO para definir la obesidad.....	35
Tabla 3. Criterios de la OMS para definir la obesidad en grados.....	90
Tabla 4. Criterios considerados para la definición de la presencia de síndrome metabólico propuesta por la IDF.....	94
Tabla 5. Relación de miRNAs analizados en el estudio.....	97
Tabla 6. Reactivos y volúmenes para realizar la mezcla de reacción para la reversotranscripción a cDNA.....	99
Tabla 7. Reactivos y volúmenes de la mezcla para la realización de la PCR a tiempo real.	100
Tabla 8. Programa para la realización de la PCR a tiempo real.....	100
Tabla 9. Características bioquímicas y antropométricas de los sujetos incluidos en el estudio en función de la adherencia/no adherencia a la dieta mediterránea	106
Tabla 10. Variables bioquímicas y antropométricas significativas de los sujetos del estudio en función de si usa principalmente aceite de oliva para cocinar	107
Tabla 11. Variables antropométricas y bioquímicas significativas de los sujetos del estudio en función de cuánto aceite de oliva consumen en total al día.....	109
Tabla 12. Variables bioquímicas y antropométricas significativas de los sujetos del estudio en función de cuantas raciones de verduras u hortalizas consumen al día....	110
Tabla 13. Variables bioquímicas y antropométricas significativas de los sujetos del estudio en función de cuántas piezas de fruta consumen al día	111

Tabla 14. Variables bioquímicas y antropométricas significativas de los sujetos del estudio en función de cuantas raciones de carnes rojas consumen al día.....	113
Tabla 15. Variables bioquímicas y antropométricas significativas de los sujetos del estudio en función de cuantas raciones de mantequilla, margarina o nata consumen al día	114
Tabla 16. Variables antropométricas y bioquímicas de los sujetos del estudio en función de si bebe vino y cuánto consumen a la semana	116
Tabla 17. Variables antropométricas y bioquímicas significativas de los sujetos del estudio en función de cuantas raciones de legumbres consumen a la semana.....	118
Tabla 18. Variables bioquímicas y antropométricas significativas de los sujetos de estudio en función de cuántas raciones de pescado o marisco consumen a la semana	119
Tabla 19. Variables bioquímicas y antropométricas significativas de los sujetos del estudio en función de cuantas veces consumen repostería comercial a la semana ...	120
Tabla 20. Variables bioquímicas y antropométricas significativas de los sujetos del estudio en función de cuantas veces consumen frutos secos a la semana	122
Tabla 21. Variables bioquímicas y antropométricas significativas de los sujetos del estudio en función de si consumen preferentemente carne de pollo, pavo o conejo en vez de ternera, cerdo, hamburguesas o salchichas.....	123
Tabla 22. Variables bioquímicas y antropométricas significativas de los sujetos del estudio en función de cuantas veces a la semana consumen vegetales cocinados....	124
Tabla 23. Variables bioquímicas y antropométricas de los sujetos con obesidad mórbida relacionadas con cada uno de los criterios de síndrome metabólico en función de su adherencia a la dieta mediterránea	125

Tabla 24. Porcentaje de sujetos con obesidad mórbida Adh-DMed y No Adh-DMed clasificados en función del cumplimiento del criterio de síndrome metabólico	126
Tabla 25. Porcentaje de consumo de fruta/día en sujetos con obesidad mórbida en función del cumplimiento del criterio de colesterol HDL del síndrome metabólico ...	127
Tabla 26. Porcentaje de consumo de carbonatadas y/o azucaradas/día en sujetos con obesidad mórbida en función del cumplimiento del criterio de hipertensión arterial del síndrome metabólico.....	127
Tabla 27. Porcentaje de consumo de legumbres/semana en sujetos con obesidad mórbida en función del cumplimiento del criterio de triglicéridos del síndrome metabólico.....	128
Tabla 28. Porcentaje de consumo de pescado o marisco/semana en sujetos con obesidad mórbida en función del cumplimiento del criterio de hipertensión arterial del síndrome metabólico.....	128
Tabla 29. Porcentaje de consumo de repostería comercial/semana en sujetos con obesidad mórbida en función del cumplimiento del criterio de triglicéridos del síndrome metabólico.....	129
Tabla 30. Porcentaje de consumo de carne de pollo, pavo o conejo en vez de ternera, cerdo, hamburguesas o salchichas en sujetos con obesidad mórbida en función del cumplimiento del criterio de colesterol HDL del síndrome metabólico	129
Tabla 31. Porcentaje de sujetos con obesidad mórbida con nivel de estudios básico o superior en función de la adherencia a la dieta mediterránea.....	130
Tabla 32. Porcentaje de sujetos con obesidad mórbida con nivel de estudios (básicos o superior) en función del consumo de verduras u hortalizas al día	131
Tabla 33. Porcentaje de sujetos con obesidad mórbida con distinto grado de actividad física (caminar <30 o ≥30 min/día) en función de la adherencia a la dieta mediterránea	132

Tabla 34. Porcentaje de sujetos con obesidad mórbida con distinto grado de actividad física (caminar <30 o ≥ 30 min/día) en función del consumo de pescado.....	132
Tabla 35. Porcentaje de sujetos con obesidad mórbida con distinto grado de actividad física (caminar <30 o ≥ 30 min/día) en función del consumo de repostería comercial.....	132
Tabla 36. Porcentaje de sujetos con obesidad mórbida con distinto grado de estudios (básico o superior) en función de la presencia o ausencia del síndrome metabólico .	133
Tabla 37. Porcentaje de sujetos con obesidad mórbida con distinto grado de estudios (básico o superior) en función de la presencia o ausencia de hipertensión arterial	133
Tabla 38. Porcentaje de sujetos con obesidad mórbida con distinto grado de estudios (básico o superior) en función de la presencia o ausencia de DM2.....	134
Tabla 39. Porcentaje de sujetos con obesidad mórbida con distinto grado de ejercicio físico (caminar <30 o ≥ 30 min/día) en función de la presencia o ausencia de síndrome metabólico.....	134
Tabla 40. Porcentaje de sujetos con obesidad mórbida con distinto grado de ejercicio físico (caminar <30 o ≥30 min/día) clasificados en función del cumplimiento del criterio de DM2 de síndrome metabólico.....	135
Tabla 41. Porcentaje de sujetos con obesidad mórbida con nivel de estudios en función del grado de ejercicio físico (caminar <30 o ≥ 30 min/día) que realizan	135
Tabla 42. Variables antropométricas y bioquímicas en pacientes con obesidad mórbida clasificados según su adherencia a la dieta mediterránea.....	137

Figuras

Figura 1. Distribución de la prevalencia de obesidad (%) por áreas geográficas y sexo. Estudio DORICA	32
Figura 2. Propuesta de pirámide de actividad física en adultos	42
Figura 3. Primera versión de pirámide de la dieta mediterránea	60
Figura 4. Pirámide de la dieta mediterránea	61
Figura 5. Modelo de integración de alimentos funcionales en la prevención y el manejo de la DM2.....	65
Figura 6. Fase nuclear de la biogénesis de miRNAs	69
Figura 7. Fase citoplasmática de la Biogénesis de miRNAs.....	70
Figura 8. miRNAs circulantes potenciales biomarcadores de diagnóstico y pronóstico de enfermedades además de dianas terapéuticas.	71
Figura 9. Cuestionario de adherencia a la dieta mediterránea (MEDAS)	92
Figura 10. Cartucho de extracción	98
Figura 11. Porcentaje de sujetos no obesos y con obesidad mórbida en función de la adherencia a la dieta mediterránea	105
Figura 12. Porcentaje de sujetos no obesos y con obesidad mórbida en función de si usan el aceite de oliva principalmente para cocinar.	107
Figura 13. Porcentaje de sujetos no obesos y con obesidad mórbida en función de cuánto aceite de oliva consumen en total al día.....	108
Figura 14. Porcentaje de sujetos no obesos y con obesidad mórbida en función de cuántas raciones de verduras u hortalizas consumen al día.....	109

Figura 15. Porcentaje de sujetos no obesos y con obesidad mórbida en función de cuántas piezas de fruta consumen al día	111
Figura 16. Porcentaje de sujetos no obesos y con obesidad mórbida en función de cuántas raciones de carnes rojas consumen al día	112
Figura 17. Porcentaje de sujetos no obesos y con obesidad mórbida en función de cuántas raciones de mantequilla, margarina o nata consumen al día.....	114
Figura 18. Porcentaje de sujetos no obesos y con obesidad mórbida en función de cuántas bebidas carbonatadas consumen al día.....	115
Figura 19. Porcentaje de sujetos no obesos y con obesidad mórbida en función de cuánto vino bebe a la semana	116
Figura 20. Porcentaje de sujetos no obesos y sujetos con obesidad mórbida en función de cuantas raciones de legumbres consumen a la semana	117
Figura 21. Porcentaje de sujetos no obesos y con obesidad mórbida en función de cuántas raciones de pescado o marisco consumen a la semana	118
Figura 22. Porcentaje de sujetos no obesos y con obesidad mórbida en función de cuántas veces consumen repostería comercial a la semana	120
Figura 23. Porcentaje de sujetos no obesos y con obesidad mórbida en función de cuantas veces consumen frutos secos a la semana	121
Figura 24. Porcentaje de sujetos no obesos y con obesidad mórbida en función de si consumen preferentemente carne de pollo, pavo o conejo en vez de ternera, cerdo, hamburguesas o salchichas	122
Figura 25. Porcentaje de sujetos no obesos y con obesidad mórbida en función de cuantas veces a la semana consumen vegetales cocinados	124
Figura 26. Correlación entre niveles en suero de mir-590 y mir-let7a expresados como fold change medidos en sujetos con obesidad mórbida.....	138

Figura 27. Correlación entre niveles en suero de mi-192 y mir-107 expresados como fold change medidos en sujetos con obesidad mórbida	139
Figura 28. Niveles en suero de mir-590 expresados como fold change en pacientes con obesidad mórbida en función de su adherencia o no a la dieta mediterránea	140
Figura 29. Niveles en suero de mir-590 expresados como fold change en pacientes con obesidad mórbida en función del consumo de bollería industrial a la semana	141
Figura 32. Niveles en suero de mir-let7a expresados como fold change en pacientes con obesidad mórbida en función del consumo de bebidas azucaradas a la semana	143
Figura 30. Niveles en suero de mir-let7a expresados como fold change en pacientes con obesidad mórbida en función del consumo de las piezas de fruta a la semana.....	142
Figura 31. Niveles en suero de mir-let7a expresados como fold change en pacientes con obesidad mórbida en función del mayor o menor consumo de carnes rojas frente al consumo de carnes blancas.....	143
Figura 33. Niveles en suero de mir-590 expresados como fold change en pacientes con obesidad mórbida clasificados según el criterio HDL para síndrome metabólico	145
Figura 34. Niveles en suero de mir-let7a expresados como fold change en pacientes con obesidad mórbida clasificados según el criterio HDL para síndrome metabólico	145
Figura 35. Niveles en suero de mir-192 expresados como fold change en pacientes con obesidad mórbida clasificados según el criterio HDL para síndrome metabólico	146
Figura 36. Niveles en suero de mir-192 expresados como fold change en pacientes con obesidad mórbida clasificados según el criterio de triglicéridos para síndrome metabólico.....	146
Figura 37. Niveles en suero de mir-192 expresados en fold change en pacientes con obesidad mórbida en función de tener o no DM2	147

1. INTRODUCCIÓN



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

1.1. Obesidad

1.1.1. La evolución del hombre hacia la obesidad

Las grasas son utilizadas por los seres vivos como fuente de energía almacenable, como elementos estructurales y como moléculas reguladoras. El elemento estructural más importante del sistema nervioso de los animales es la grasa, siendo también el segundo en importancia en el resto de los tejidos blandos.

Como consecuencia, el hombre es un animal con una alta concentración en grasa. En un recién nacido, el 15% de su masa es grasa. En un adulto, el tejido adiposo compone entre el 15-25% en varones, mientras que en las mujeres la proporción de grasa aumenta de un 20-30%. Desde el punto de vista zoológico, si el hombre tiene esta facilidad para acumular grasa es porque en su origen natural tuvo la necesidad de almacenar reservas.

El diseño del organismo humano, codificado por sus genes, es el resultado de millones de años de evolución biológica. Durante la evolución preagrícola se formó casi la totalidad del genoma humano, lo que nos permitió adaptarnos a las modificaciones del medio en cada etapa de nuestra evolución. La selección natural, apoyada en una serie de mutaciones genéticas ventajosas, desarrolló una peculiaridad metabólica que se ha denominado el “genotipo ahorrador” que formuló Neel en 1962 (Neel,1962) y cuya finalidad, entre otras, era acumular rápidamente grasa durante las épocas de abundancia de alimento. Los que desarrollaban estas características se reproducían más y transmitían a sus descendientes, a través del genotipo, estas capacidades. Esto quiere decir que el ser humano posee el equipamiento genético que le dota de gran eficacia para almacenar grasa en periodos de bonanza energética. Esto último es lo que habría permitido a nuestra especie sobrevivir, en unas condiciones, donde convivían los periodos de escasez de alimentos junto con los periodos de abundancia en los que era necesario un enorme esfuerzo físico para conseguirlos.

Sin embargo, con la revolución industrial, hace unos 100 años, nuestras condiciones de vida cambiaron drásticamente y nos fuimos alejando de este diseño evolutivo. Con la modernización y reestructuración socioeconómica de los países industrializados y en vías de desarrollo, cambiaron tanto los modelos nutricionales como de actividad física (Kleinman et al. 2009). El ingreso de calorías es cada vez más alto y constante, y el gasto energético es menor, debido a la disponibilidad de alimentos de alta densidad energética y al estilo de vida sedentario cada vez más extendido (Beer-Borst et al. 2000), (Williamson, 1996).

Desde un punto de vista evolucionista, nuestros genes y nuestras formas de vida ya no están en armonía, y como consecuencia de esta discrepancia, aparece la obesidad, entre otras enfermedades.

1.1.2. Epidemiología de la obesidad

La obesidad es considerada por el grupo internacional de trabajo en obesidad (IOTF) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) como la epidemia del siglo XXI debido al impacto sobre la morbilidad, la calidad de vida y el gasto sanitario adquiridos a lo largo de las últimas décadas. Igualmente, contribuye de forma importante a la aparición de enfermedades crónicas, no sólo en relación con las cardiovasculares como la hipertensión arterial, sino también con otros problemas como la artrosis, los problemas psicológicos e incluso algunos tipos de cáncer, como el de colon, mama y de endometrio (Aranceta-Bartrina et al. 2005).

El proceso rápido de urbanización, los cambios en infraestructuras de comunicación y transporte que han acontecido en los últimos años junto con el avance en el bienestar socioeconómico en los países desarrollados, se han visto reflejados en los estilos de vida de sus ciudadanos (Martorell, 2002). La globalización del sistema alimentario, hace que se consuman más alimentos refinados y elaborados, con menos aporte de legumbres, frutas y verduras, que junto con la falta de actividad física y el estilo de vida sedentario,

constituyen los tres elementos principales que se identifican como conductores de la epidemia de la obesidad (Chooi et al., 2018).

La obesidad puede tener lugar a cualquier edad. En 2016, más de 1900 millones de adultos mayores de 18 años tenían sobrepeso, de los cuales, más de 650 millones eran obesos. En España, 24 millones de personas tienen exceso de peso, lo que supone el 70% de la población adulta española. En el mundo occidental, el gasto sanitario en obesidad oscila entre el 2-8% del presupuesto sanitario total, estimándose que el coste anual medio en un individuo con un Índice de Masa Corporal (IMC) mayor de 35 kg/m² es un 44% mayor que para un sujeto con IMC menor de 25 kg/m² (Rodríguez et al., 2009).

En un estudio publicado en 2018 (Chooi et al, 2018) se utilizaron datos de Global Burden of Disease Study (Institute for Health Metrics and Evaluation, Seattle, WA), y tomando como referencia las personas con obesidad (IMC ≥ 30 kg/m²) y con sobrepeso (IMC ≥ 25 kg/m²), clasificaron el mundo en seis regiones según la OMS: Africana (Nigeria, Etiopía, Congo, Tanzania y Sudáfrica), Americana (EEUU, Brasil, México, Colombia y Argentina), Mediterránea del Este (Pakistán, Egipto, Irán, Iraq y Afganistán), Europea (Rusia, Alemania, Turquía, Reino Unido y Francia), Sudeste asiático (India, Indonesia, Bangladesh, Tailandia y Myanmar), y la región del Oeste del Pacífico (China, Japón, Filipinas, Vietnam y el sur de Corea); representando así el 78% de la población mundial. Las regiones Europea y Americana resultaron como las de mayor prevalencia en sobrepeso y obesidad. En la Americana, la prevalencia de sobrepeso aumentó de un 45.3% en 1980 a un 62.4% en 2015, y la prevalencia de obesidad aumentó del 12.9% en 1980 al 28.3% en 2015, siendo EEUU y México los países con más altos ratios de prevalencia tanto en sobrepeso como en obesidad. Y en la región Europea, la prevalencia en sobrepeso aumentó del 48% en 1980 al 59.6% en 2015, mientras que la prevalencia de obesidad aumentó del 14.5% en 1980 al 22.9% en 2015. En este estudio, también se observó que la prevalencia de obesidad es mayor en mujeres que en hombres y en cualquier grupo de edad.

En España, el documento de consenso SEEDO (Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad) 2007 recoge la prevalencia de sobrepeso y obesidad en adultos en base al estudio DORICA (**Figura 1**). Se trata de un estudio epidemiológico transversal con muestras aleatorias representativas de la población de 9 comunidades autónomas (Andalucía, Baleares, Canarias, Cataluña, Galicia, Madrid, Región de Murcia, País Vasco y Comunidad Valenciana) entre 1990 y 2000, con edades comprendidas entre 25 y 64 años. En este estudio, la prevalencia de la obesidad en adultos en España fue un 15.5%, mayor en mujeres (17.5%) que en hombres (13.2%). La obesidad aumenta conforme avanza la edad, siendo máxima entre los 55 y los 60 años (Rubio et al, 2007).

La prevalencia de la obesidad mórbida en España ($IMC \geq 40 \text{ kg/m}^2$) en la población adulta entre 25 y 64 años se estima en un 0.63%, siendo de un 0.92% en mujeres frente a un 0.3% en hombres (Rubio Herrera et al, 2005).

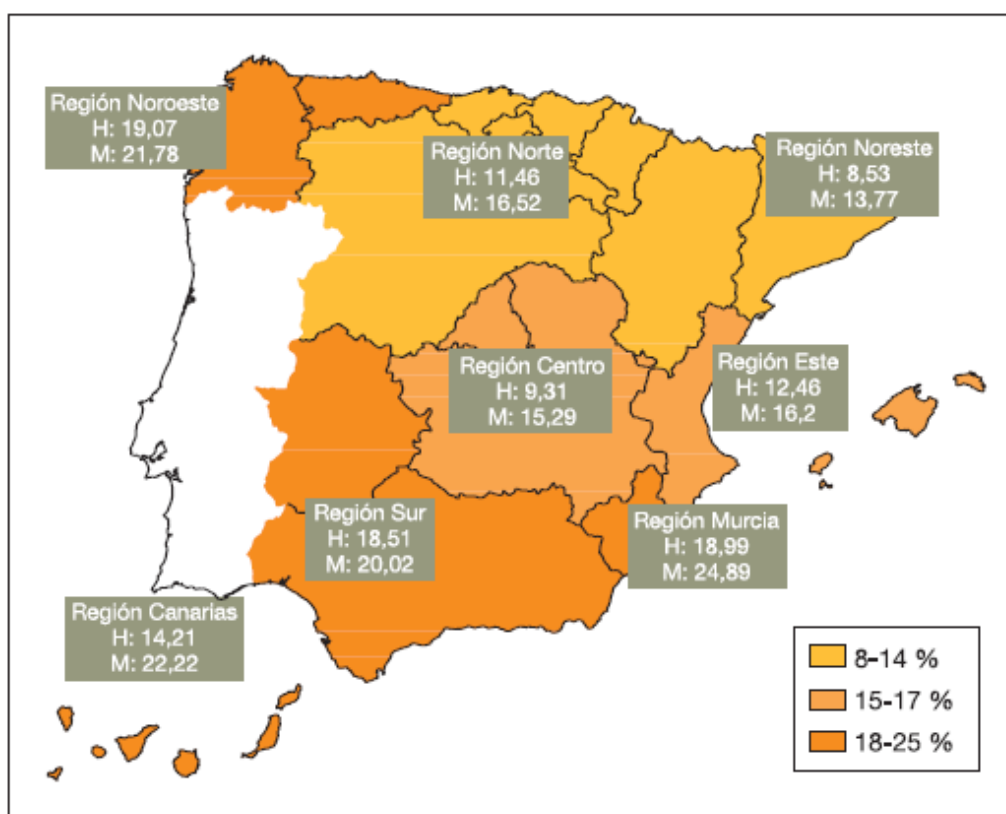


Figura 1. Distribución de la prevalencia de obesidad (%) por áreas geográficas y sexo. Estudio DORICA (Rubio et al., 2007)

El análisis de los datos de la Encuesta Nacional de Salud refleja un aumento en la prevalencia de obesidad más acusado en las personas con menor nivel educativo. El incremento es mayor en individuos con nivel de estudios bajo, en los que la obesidad pasa del 8.9% y el 10.7% en 1987 al 18.1% y el 20.5% en 2001 en hombres y mujeres, respectivamente. En las personas con nivel alto de estudios, la prevalencia de la obesidad pasa del 4.4% y el 3.7% en 1987 al 9.2% y al 6.1% en 2001 en hombres y mujeres, respectivamente (Rubio et al, 2007).

A nivel europeo, la International Obesity Task Force (IOTF) junto con la International Association for the Study of Obesity (IASO) informaron sobre el incremento de la obesidad entre los años 1980 y 2008, en los que aproximadamente el 60% de la población adulta presenta exceso de peso, es decir, alrededor de 260 millones de personas tienen sobrepeso y obesidad. Globalmente, la prevalencia de la obesidad ha aumentado y continúa incrementándose de forma alarmante. Según la OMS, la obesidad se ha casi triplicado en todo el mundo desde el año 1975. Hablamos de la segunda causa de mortalidad prevenible y evitable, después del tabaco (Salas-Salvadó et al. 2007). Esto nos indica, la gran magnitud que está adquiriendo este problema constituyendo un asunto de primer orden en la salud pública sobre el que es necesario actuar con urgencia.

1.1.3. Concepto y clasificación de obesidad

La obesidad es una enfermedad metabólica de origen multifactorial en la que se produce un aumento de grasa corporal que origina un exceso de peso (Aranceta-Bartrina et al., 2005). El tejido adiposo se considera un reservorio de energía, pero en realidad se trata de un verdadero órgano que almacena moléculas de grasa, y, además, sintetiza y libera diversas hormonas relacionadas con el metabolismo y regulación de la ingesta (Weisberg et al., 2003).

En adultos, el porcentaje de grasa normal es del 12 al 20% en varones y del 20 al 30% en mujeres, considerando sujetos obesos a los que presentan porcentajes superiores (Salas-Salvado et al., 2007). Para evaluar la grasa corporal, podemos utilizar varios métodos, pero en la mayoría de los estudios epidemiológicos y el recomendado por diferentes sociedades médicas y organizaciones de salud internacionales es el IMC. Es el método de referencia para uso clínico debido a su reproductibilidad, facilidad de utilización y capacidad de reflejar la adiposidad en la mayoría de la población, aunque no es un buen indicador de adiposidad en individuos musculados como deportistas, y tampoco en ancianos (Rubio et al., 2007). El IMC se calcula a partir del peso y la altura (peso en kilogramos dividido por la talla en metros cuadrados). Se acepta como punto de corte para definir la obesidad un $IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$. La SEEDO ha expandido su clasificación introduciendo algunas modificaciones a la propuesta por la OMS (Tabla 1): se rebajó el límite inferior del peso normal a 18.5, se subdividió la gama de sobrepeso en dos categorías y se introdujo un grado adicional de obesidad para aquellos pacientes con $IMC \geq 50 \text{ kg/m}^2$ (Tabla 2).

En la población infantil y juvenil se utilizan como criterios para definir el sobrepeso y la obesidad, los valores específicos por edad y sexo del percentil 85 y 97 del IMC, respectivamente, siguiendo las tablas de Cole y cols (Cole et al., 2000). Esto permite hacer comparaciones con estudios internacionales (Serra-Majem et al., 2003). En los sujetos de más de 60 años, se usa el IMC siguiendo los mismos criterios que en adultos.

Tabla 1. Clasificación de obesidad según la OMS siguiendo los valores del IMC

Categoría	Valores límite del IMC (kg/m^2)
Infrapeso	<18.5
Normopeso	18.5 – 24.9
Sobrepeso	25.0 – 29.9
Obesidad grado 1	30.0 – 34.9
Obesidad grado 2	35.0 – 39.9
Obesidad mórbida	≥ 50

Tabla 2. Criterios SEEDO para definir la obesidad en grados según el IMC en adultos

Categoría	Valores límite del IMC (kg/m ²)
Peso insuficiente	<18.5
Normopeso	18.5 – 24.9
Sobrepeso grado I	25.0 – 26.9
Sobrepeso grado II (preobesidad)	27.0 – 29.9
Obesidad tipo I	30.0 – 34.9
Obesidad tipo II	35.0 – 39.9
Obesidad tipo III (mórbida)	40.0 – 49.9
Obesidad tipo IV (extrema)	≥50

1.1.4. Causas de la obesidad

En una persona adulta, el peso y la composición corporal permanecen relativamente constantes por largos periodos de tiempo, a pesar del gasto energético y de las fluctuaciones cotidianas (Jequier and Tappy, 1999). Por ello, existen mecanismos de regulación que ajustan el aporte de nutrientes y la demanda de energía para mantener una masa corporal estable (Martinez, 2000; Schwartz et al., 1999). Sin embargo, esta constancia en el peso corporal, según algunas hipótesis, es debida a diferentes causas como por ejemplo la existencia de un nivel fisiológico determinado para cada individuo, la regulación de los niveles glucostáticos o glucogenostáticos (Flatt, 1995; Stubbs, 1996), la utilización homeostática de sustratos energéticos (Bray, 1991; Flatt, 1996) y la implicación del sistema nervioso (Van Baak, 2001).

Esta constancia en el peso corporal puede verse alterada por el desequilibrio continuo entre la ingesta y el gasto energético, contribuyendo así a la aparición de la obesidad (Flatt, 1996; Stubbs, 1996). También es cierto, que influyen otros factores como la distribución de los macronutrientes en la dieta, los componentes del gasto energético tales como metabolismo basal, efecto termogénico de los alimentos y actividad física, y el metabolismo de nutrientes específicos (Whitley et al., 1997;

Schiffelers et al. 2001). Por lo tanto, en la regulación del peso corporal están implicados la interacción de factores genéticos y ambientales.

El nivel más elevado de obesidad es la obesidad mórbida. Van Itallie describió por primera vez el término de obesidad mórbida en la literatura científica en los años ochenta para referirse al grado de obesidad que compromete la esperanza de vida del individuo, un tipo de obesidad rebelde a cualquier tipo de tratamiento médico y que predispone a graves enfermedades y trastornos psicosociales. El término obesidad mórbida enfatiza la repercusión que esta patología genera en el campo de los desequilibrios de salud física y bienestar social. Lleva asociada una serie de comorbilidades, enfermedades que mejoran o se curan únicamente con la pérdida sustancial de peso, entre las que destacan la enfermedad coronaria, la hiperlipidemia, la insulinresistencia y la diabetes mellitus tipo 2 (DM2), la hipertensión arterial, los trastornos del sueño y la osteoartropatía de extremidades de carga entre otros (Van Itallie, 1980). Muchas de ellas pueden mejorar o curarse si se consigue disminuir o eliminar el exceso de peso. Las causas de esta obesidad son complejas, donde participan factores ambientales, metabólicos, hormonales y genéticos.

1.1.4.1. Papel de la herencia de la obesidad

Múltiples estudios han demostrado que el componente ambiental es la principal causa de la obesidad, aunque se considera que puede estar causada por la interacción ambiental en individuos con halotipos de genes susceptibles o candidatos a la obesidad (Gil et al., 2007).

Existen numerosos estudios que observan una asociación entre la obesidad de los padres y la de los hijos, al igual que el componente genético de la obesidad podría explicar entre un 40% y un 70% de su varianza, intentando así demostrar la importancia de la herencia en la obesidad (Stunkard et al., 1990; Bouchard and Perusse, 1993). No obstante, esta predisposición genética para la obesidad estaría relacionada tanto con la

ingesta como con el gasto energético (Bray, 1997; Perusse et al., 1999). Se ha observado que la oxidación de la grasa en los obesos es más lenta que en los delgados. Además, en sujetos genéticamente predispuestos podrían presentar una oxidación lipídica alterada en situaciones de postobesidad (Gil et al., 2007).

En Dinamarca se realizaron una serie de estudios con los registros de adopciones que han contribuido a conocer mejor la transmisión genética de la obesidad. En dichos estudios se recopiló información de los hijos y de los padres tanto biológicos como adoptivos. Gracias a esto, se obtuvo información importante acerca de los factores que dependen de la herencia biológica, y de los que dependen del medio ambiente o de la herencia social. Con esta información, Stunkard y Sorensen (Stunkard et al., 1986) demostraron que el IMC de los niños adoptados estaba significativamente más relacionado con el IMC de los padres biológicos que de los padres adoptivos. Aunque existen algunos síndromes, como, por ejemplo, el síndrome de Prader-Willi, Wilson-Turner y Bordet-Biet, en los que la obesidad es tan sólo una manifestación clínica.

Los genes o marcadores implicados en la obesidad pueden llegar a ser más de 200 (Perusse et al., 2001). La leptina, por ejemplo, está implicada específicamente en el control de la ingesta. Las proteínas desacoplantes o los receptores adrenérgicos, están implicados en la regulación de la termogénesis. La expresión de otros genes o marcadores pueden influir en diferentes vías de señalización y/o adipogénesis, pudiendo afectar a la ecuación energética. Gracias al amplio escaneo del genoma humano se han obtenido resultados que hacen pensar que la obesidad es, en la mayoría de los casos una enfermedad poligénica en la que varios polimorfismos genéticos, a través de la interacción con el medio ambiente, dan lugar al depósito excesivo de grasa (Gil et al., 2007). Pero las causas de la obesidad no se pueden atribuir tan sólo a cambios genéticos. Éstos estarían en interacción con otros elementos de control implicados en la regulación del peso corporal, como son los factores dietéticos, socioeconómicos, culturales y de comportamiento, y la actividad física (Martínez et al., 2002).

1.1.4.2. Factores dietéticos y metabólicos

El balance energético viene determinado por la ingesta de macronutrientes, el gasto energético y la oxidación específica de los sustratos energéticos (Martínez et al., 1999; Saris et al., 2000). La mayor parte de los individuos alcanzan un peso en el cual la composición media de los sustratos energéticos que se oxidan se ajustan con la distribución de macronutrientes en su dieta (Hirsch et al., 1998; Scharauwen et al., 1997; Burstein et al., 1996). Estos sustratos energéticos de los que consta la dieta influyen en la ganancia de peso, lo que puede tener impacto sobre el metabolismo, el apetito y el sistema nervios simpático (SNS).

Se han realizado estudios donde se ha comprobado que los sujetos suelen tener un alto cociente respiratorio cuando tienden a quemar más glucosa y menos grasa, lo que parece estar implicado con un mayor riesgo de ganar peso a lo largo del tiempo (Schutz et al. 1989). Por otra parte, los individuos que tienen la capacidad para oxidar casi la totalidad de la grasa que consumen tienen un factor de protección contra la obesidad. En los sujetos obesos parece que el proceso de oxidación de la grasa ingerida es más lento que en los sujetos delgados (Horton et al., 1995). Por consiguiente, el ajuste individual entre la distribución de macronutrientes de la dieta en función de la capacidad oxidativa puede tener un importante papel que permita la estabilidad del peso a corto y largo plazo (Prosperpi et al., 1997; Jensen, 1998). Existen estudios en los que grupos de voluntarios sanos tomaron dos fórmulas de dieta de diferente composición, una rica en hidratos de carbono y otra rica en grasa. Se obtuvieron unas tasas más elevadas de oxidación de glucosa, un mayor efecto termogénico y un incremento de la frecuencia cardíaca en los sujetos con la dieta rica en glucosa frente a la rica en grasa. Una intervención dietética parecida llevada a cabo en un grupo de obesos demostró que éstos eran menos eficientes en la oxidación de las grasas y tenían una tasa de lipogénesis superior (Marques-Lopes et al., 2001). Sin embargo, hay autores (Beer-Borst et al., 2000; Schutz, 1995) que publicaron que un cociente respiratorio alto podría reflejar una oxidación de lípidos inferior, lo que podría ser un indicador de tendencia a la ganancia

de peso. Mientras, otros (Flatt JP, 1999) llegaron a la conclusión que la eficiencia metabólica juega un papel menor en el desarrollo de la obesidad.

Las dietas bajas en grasas pueden ayudar a reducir la grasa corporal o prevenir la ganancia de peso (Kendall et al., 1991) debido a que conseguimos una disminución de la densidad energética (Blundell et al., 1997; Blundell et al., 1995). El consumo excesivo de grasa es frecuente en personas con dietas con un alto contenido energético (Blundell et al., 1997). Existen meta-análisis de estudios de intervención que demuestran una pérdida de peso cuando se reduce el consumo de lípidos (Bray et al., 1998). Las poblaciones con niveles más bajos de prevalencia en obesidad son aquellas en las que se consumen dietas con bajos niveles en grasa (Paeratakul et al., 1998). Sin embargo, en la comunidad científica existe una gran controversia con respecto a cuál es el tipo de dieta más adecuada para perder peso.

La dieta mediterránea promueve una disminución de energía manteniendo la proporción de grasa en la dieta, y engloba diferentes patrones de alimentación debido al consumo preferente de alimentos locales (Rodríguez-Artalejo et al., 2002). Se caracteriza por un elevado consumo de verduras, frutas, cereales y frutos secos y el empleo del aceite de oliva como principal fuente de grasa. La alta adherencia a esta dieta con un estilo de vida saludable se asocia a una disminución del 50% del riesgo de mortalidad (Delgado et al., 2009). En el estudio PREDIMED (Prevención con Dieta Mediterránea) realizado en España (Salas-Salvado et al., 2010) se observó que la dieta mediterránea disminuye el riesgo cardiovascular, existiendo una relación inversa entre la ingesta de frutos secos, cereales y aceite de oliva, con marcadores inflamatorios. Una alta adherencia a este tipo de dieta ayuda a predecir la prevalencia de DM2, hipertensión arterial y obesidad. En el mismo estudio, después de un año de seguimiento se observó una reducción de la prevalencia de DM2 y síndrome metabólico (Estruch et al., 2013).

1.1.4.3. Factores socioeconómicos

Existen estudios en los que se ha comprobado que, en países desarrollados como España, se produce una asociación inversa en la que los individuos con menor nivel socioeconómico poseen mayor prevalencia de la obesidad (Goldblatt et al., 1965; Sobal and Stunkard, 1989). En los países desarrollados se llevan a cabo numerosas investigaciones para conocer la influencia del nivel socioeconómico sobre la obesidad y viceversa. Los resultados relacionan a los individuos con menor nivel socioeconómico con los que sufren más frecuentemente obesidad. Esta asociación se verifica tanto en estudios transversales (Noppa and Bengtsson, 1980), como en longitudinales (Rissanen et al., 1991), en grupos restringidos de edad y en amplias muestras de población en general, en sujetos con nivel de estudios como indicador socioeconómico (Noppa and Bengtsson, 1980), con diversos índices socioeconómicos, e incluso con la raza (Burke et al., 1990). La relación también se observa con el IMC como indicador de la obesidad, así como con diversos índices relacionados con la acumulación o distribución de la grasa corporal. Esta asociación también se ha comprobado en países del norte, del sur de Europa, y en EEUU, donde los estilos de vida son diferentes.

1.1.4.4. Factores socioculturales y de comportamiento

En las sociedades desarrolladas, la obesidad es un estigma asumido. Existe una correlación negativa entre peso y satisfacción, es decir, que a mayor peso relativo el individuo está más insatisfecho con su cuerpo.

Los individuos con mayor nivel socioeconómico son los que creen que su peso está por encima del ideal, aunque su peso esté dentro de los rangos de normalidad. En España, al utilizar el nivel de estudios como variable del nivel socioeconómico, se ha comprobado que los sujetos con IMC normal (18.5-24.9 kg/m²), son los universitarios y sobre todo mujeres los que con mayor frecuencia piensan que su peso es mayor o

mucho mayor de lo normal. Al igual, se ha puesto de manifiesto que el seguimiento de dietas de adelgazamiento y la utilización de medios para reducir el peso corporal, como es el ejercicio físico o los tratamientos farmacológicos, son más frecuentes en niveles socioeconómicos más altos donde la prevalencia de la obesidad es menor (Levy and Heaton, 1993).

Todo esto nos lleva a la idea de que la existencia de presiones familiares y sociales para mantener una buena imagen corporal, dentro de los valores que dictamina la sociedad, es la responsable, en parte, de la distribución social de la obesidad.

1.1.4.5. Actividad física

El sedentarismo es un importante factor de incremento de la prevalencia de la obesidad. La actividad física es el componente más variable del gasto energético (Ravussin and Swinburn, 1992). Este último, influye en el peso y la composición corporal (Westerterp and Goran, 1997) a través de cambios en la tasa de metabolismo basal, en el efecto termogénico de los alimentos y en la demanda energética propia de la actividad física.

Se ha demostrado que la actividad física está relacionada con la variación del peso corporal junto a un plan de alimentación estructurado (Rubio et al., 2007) (**Figura 2**). Diferentes sociedades científicas recomiendan que cada adulto debe realizar 30 o más minutos al día de una actividad física de intensidad moderada, preferentemente todos los días de la semana (Pate et al, 1995). Esto último le ayudará a mejorar la salud y prevenir enfermedades cardiovasculares. Sin embargo, estas recomendaciones no se ajustan a las necesidades de un paciente obeso que quiera perder peso y mantenerlo a largo plazo.

Una baja participación en actividades deportivas y un alto número de horas sentados está relacionado con la mortalidad general y hospitalaria, y constituye un importante predictor de obesidad. Aporta beneficios como la disminución de la HTA,

DM2, ictus, osteoporosis, depresión, ansiedad y determinados tipos de cáncer como el de colon y el de mama. Además, mejora el perfil lipídico aumentando el colesterol HDL y disminuyendo los niveles de triglicéridos (OMS, Estrategia mundial sobre régimen alimentario, actividad física y salud).



Figura 2. Propuesta de pirámide de actividad física en adultos (Consenso SEEDO) (Rubio et al., 2007)

A pesar de todo esto, existen diferencias en la actividad física según el nivel socioeconómico. Las personas con mayor nivel socioeconómico son las que realizan o dicen realizar más ejercicio físico. Aunque debemos diferenciar que existen dos tipos de actividad física medida en los estudios epidemiológicos: la actividad física en el tiempo libre y la actividad física en el trabajo. En este caso, con relación a lo anteriormente expuesto, hay que añadir que los individuos con menor nivel socioeconómico son los que realizan una mayor actividad física en el trabajo (Ford et al., 1991).

En las últimas décadas, ha disminuido el esfuerzo físico en el trabajo lo que ha repercutido en el aumento de la prevalencia de la obesidad (Kleinman et al., 2009) (Summary of the Surgeon General's report addressing physical activity and health, 1996).

1.1.5. Tratamiento de la obesidad

1.1.5.1. Tratamiento farmacológico

El tratamiento farmacológico de la obesidad debe utilizarse de manera complementaria a la alimentación, actividad física y cambios en el estilo de vida. Está indicado en pacientes con $IMC > 30 \text{ kg/m}^2$ ó 27 kg/m^2 si se asocian comorbilidades y no se han alcanzado los objetivos de pérdida de peso (Arrizabalaga et al., 2004).

Sin embargo, en el caso de la obesidad mórbida ($IMC > 40 \text{ kg/m}^2$ o un $IMC > 35 \text{ kg/m}^2$ en presencia de comorbilidades importantes), esta visión terapéutica conlleva en general la aplicación de la cirugía bariátrica (Alastrue et al., 1993; Kleinman et al., 2009).

En los años sesenta se popularizaron los tratamientos a corto plazo con fármacos como las anfetaminas, principalmente con la idea de que los pacientes perdieran peso y este se mantuviera indefinidamente. Pero este planteamiento a corto plazo iba seguido frecuentemente de fracasos. Posteriormente, gracias a los trabajos de Weintraub en los años noventa, se demostró que con tratamientos farmacológicos con sustancias como la fenfluramina y fentermina, la pérdida de peso podía mantenerse más allá de los tres años. Con esto, se inició el concepto del tratamiento farmacológico a largo plazo (Weintraub, 1992) que casaba con la idea de que la obesidad había de tratarse como lo que es, una enfermedad crónica.

Los fármacos antiobesidad pueden ser clasificados en:

- Fármacos que actúan sobre el apetito y la saciedad:

- Sibutramina: Retirado recientemente. La Agencia Europea del Medicamento (EMA) ordenó la suspensión de la comercialización de cualquier preparado que contenga sibutramina (Reductil[®]) con fecha 1 de febrero de 2010. Tras evaluar los resultados preliminares del estudio SCOUT se consideró que el balance beneficio-riesgo del medicamento es desfavorable.
- Fármacos que actúan a nivel gastrointestinal.
 - Orlistat: Actúa bloqueando la enzima lipasa pancreática a nivel intestinal. El bloqueo de esta enzima hace que un tercio de las grasas pasen por el intestino hacia las heces sin que sean absorbidas.
- Fármacos antagonistas de los receptores de cannabinoides.
 - Rimonabant: Su principal función es inhibir el apetito debido a un bloqueo a nivel hipotalámico. Además de actuar sobre el peso corporal, reduce también los factores de riesgo metabólicos asociados al exceso de peso.

Dados los escasos o insuficientes resultados que se obtienen con las diversas alternativas de tratamiento médico en los obesos mórbidos, desde hace algunas décadas se consideró el tratamiento quirúrgico en estos pacientes. En la práctica, todos los pacientes llegan o son referidos a cirugía después de un largo y variado historial de tratamiento médico, de éxito parcial y fugaz que les produce frecuentemente una desilusión mayor y un acentuado pesimismo (www.seco.org).

1.1.5.2. Cirugía bariátrica

La cirugía bariátrica es un conjunto de técnicas y procedimientos quirúrgicos que buscan cambios en la fisiología del sistema digestivo para conseguir pérdidas de peso mantenidas en el tiempo. Son procedimientos técnicamente complejos que no están

exentos de complicaciones ni a corto ni medio plazo, y que también pueden presentar mortalidad. Se ha observado que, tras la cirugía, los pacientes mejoran las comorbilidades o patologías asociadas y alargan su supervivencia porque reduce el riesgo y la mortalidad de los eventos cardiovasculares y cerebrovasculares, entre otros. Los pacientes a medio y largo plazo mejoran su calidad de vida, y su autoestima (www.seco.org). La cirugía bariátrica puede tener un componente restrictivo que consiste en reducir la capacidad del estómago y/o un componente malabsortivo en el que se reduce la superficie absorptiva a través de una modificación del intestino o una combinación de ambos. Esto hace que haya técnicas restrictivas, malabsortivas, o mixtas si combinan los dos tipos de procedimientos (Rubio et al., 2004; Gargallo Fernández et al., 2012).

Por tanto, se pueden clasificar en tres grandes grupos:

- De procesos malabsortivos puros (bypass yeyunoileal/yeyunocólico).
- De procesos restrictivos puros (gastroplastias/banding gástrico).
- De procesos mixtos: malabsortivos/restrictivos (derivación biliopancreática/bypass gástrico).

1.2. Síndrome metabólico

1.2.1. Desarrollo histórico

Las enfermedades no transmisibles (ENT) se han convertido en la principal causa de morbilidad y mortalidad a nivel mundial. También conocidas como enfermedades crónicas, tienden a ser de larga duración y resultan de la combinación de varios factores. Los principales tipos de ENT son las enfermedades cardiovasculares, el cáncer, las enfermedades respiratorias crónicas y la diabetes (www.who.es). Entre éstas, el

síndrome metabólico es un importante problema de salud pública, ya que está relacionado con las enfermedades cardiovasculares y la DM2. No se trata de una única enfermedad, sino de una asociación de problemas de salud que pueden aparecer de manera simultánea o secuencial en un mismo individuo, y que puede estar causado por una combinación de factores genéticos y ambientales, asociados a un determinado estilo de vida (Mirmiran et al., 2008).

Nicolaes Tulp (1593-1674) fue un médico holandés cuyo manuscrito "Observationes" fue traducido y publicado a principios de los años 90 (Beijer et al., 1991). En él se describe por primera vez un caso de hipertrigliceridemia. Tulp describió la relación entre hipertrigliceridemia y la ingestión de ácidos grasos saturados como "leche pura en sangre". Además, describió la asociación con la arteriosclerosis y la muerte súbita, y propuso un tratamiento mediante la reducción de ingesta de ácidos grasos saturados. En 1923 se describió la asociación entre hipertensión, hiperglucemia e hiperuricemia (Kylin, 1923), mientras que unos años después, Gregorio Marañón resumió las evidencias sobre la asociación entre la hipertensión, las alteraciones del metabolismo glucídico y la obesidad, proponiendo que el tratamiento para este estado prediabético debe estar basado en la dieta y el ejercicio físico (Marañón, 1927). Años más tarde, fue Vague el primero en emplear el término obesidad androide para definir el patrón de distribución de la grasa corporal caracterizada por un acúmulo de tejido adiposo en tronco, mientras que el acúmulo de grasa en caderas y muslos, lo denominó obesidad ginoide, patrón desarrollado comúnmente en mujeres. Este tipo de obesidad está a menudo asociada con la DM2, arteriosclerosis e hiperuricemia (Vague, 1947). Pero no fue hasta 1965, cuando Avogaro y Crepaldi hablaron sobre la aparición simultánea de obesidad, hiperinsulinemia, hipertrigliceridemia e hipertensión (Avogaro et al., 1965).

Entre final de los años 70 y principios de los 80, continuaron apareciendo trabajos relacionando todas estas enfermedades, pero fue a finales de los 80 cuando Gerald Reaven propuso que el concepto de alteraciones metabólicas estaba ligada a una resistencia a la insulina como componente principal (Reaven, 1988). Introdujo la idea de

que una alteración de la acción de la insulina se podía considerar como el principal elemento que desarrollaría un conjunto de alteraciones metabólicas, tales como concentraciones elevadas de triglicéridos, bajos niveles de colesterol HDL, aumento de insulina en ayunas e hipertensión arterial. A todo eso le llamó “Síndrome X”. Entre estas alteraciones no incluyó la obesidad, puesto que encontró sujetos no obesos con resistencia a la insulina (RI). Fue en 1991 cuando se explicó que el nexo de unión entre la DM2 y la hipertensión arterial es la hiperinsulinemia. Por tanto, la RI constituye un síndrome asociado a un conjunto de trastornos metabólicos como la DM2, la obesidad, la hipertensión arterial, hiperlipidemia, etc., llamándole “Síndrome de Resistencia a la Insulina” (Ferrannini et al., 1991). Todo esto nos indica, que a medida que ha ido avanzando el conocimiento sobre el “Síndrome X”, “Síndrome de RI” o “Síndrome Metabólico”, también se han ido empleando diferentes denominaciones. Para intentar unificar estos términos y criterios, la Organización Mundial de la Salud propuso usar el término “Síndrome Metabólico” como entidad diagnóstica con unos criterios bien definidos.

1.2.2. Definición.

El síndrome metabólico se caracteriza por una asociación de anomalías metabólicas, y más específicamente, hiperlipidemia, obesidad y DM2. Asociadas a estas anomalías se encuentran la presencia de hipertensión arterial y el alto riesgo de arteriopatía coronaria. Por tanto, el síndrome metabólico no es una enfermedad por sí sola, sino que son un conjunto de factores de riesgo de enfermedades cardiovasculares, los cuales han sido definidos de diferente manera por varias organizaciones. Las tres definiciones más usadas según una revisión sistemática publicada en 2018 (Saklayen, 2018) son las siguientes:

- Definición de la OMS.

El término síndrome metabólico como entidad diagnóstica con criterios definidos fue introducido por la OMS en 1998 (Alberti et al., 1998). Los criterios de clasificación que proponen para hacer el diagnóstico del síndrome metabólico son:

1. Alteración de la glucemia en ayunas, intolerancia a la glucosa, o DM2 y/o resistencia a la insulina (RI). La alteración en la glucemia en ayunas se caracterizaría por una glucemia plasmática en ayunas ≥ 110 mg/dl, o > 140 mg/dl tras dos horas de sobrecarga oral de 75 gramos de glucosa.
2. Hipertensión arterial ≥ 140 mmHg de tensión sistólica y/o 90 mmHg de diastólica.
3. Hipertrigliceridemia ≥ 150 mg/dl y/o colesterol HDL < 35 mg/dl en hombres, o < 39 mg/dl en mujeres.
4. Obesidad central, definida como un índice cintura-cadera (relación que resulta de dividir el perímetro de la cintura de una persona por el perímetro de su cadera en centímetros) > 0.9 en hombre, o > 0.85 en mujeres, y/o un IMC > 30 kg/m².
5. Microalbuminuria ≥ 20 μ g/min, o relación albúmina/creatinina ≥ 30 mg/g.

Para poder hablar de síndrome metabólico debe coexistir al menos uno de los dos parámetros principales, hiperglucemia y/o RI, junto a dos o más de los criterios restantes.

- Definición por el Programa Nacional de Educación sobre el Colesterol.

En 2001, el “National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III” (NCEP-ATP III) define nuevos criterios del síndrome metabólico sintiendo la necesidad de mejorar la definición de la OMS a términos más manejables tanto para el estudio poblacional como de individuos aislados. La intención fue proponer una orientación más clínica para detectar los pacientes que pudieran desarrollar enfermedades cardiovasculares. Los criterios son los siguientes:

1. Glucosa plasmática en ayunas ≥ 110 mg/dL o tratamiento antidiabético.
2. Tensión arterial sistólica ≥ 130 mmHg y/o diastólica ≥ 85 mmHg o recibir tratamiento antihipertensivo.
3. Trigliceridemia ≥ 150 mg/dL o tratamiento hipotriglicéridémico.
4. Colesterol HDL < 40 mg/dL en hombres o < 50 mg/dL en mujeres.
5. Obesidad abdominal definida como medida de la circunferencia abdominal > 102 cm en hombres y > 88 en mujeres.

Se precisan al menos 3 de los 5 criterios propuestos para cumplir el diagnóstico de síndrome metabólico. No se le concede a ninguno de ellos la condición de indispensable, aunque se considera a la obesidad abdominal como el criterio más relevante. Esta definición ha alcanzado una gran popularidad debido a su sencillez ya que sus componentes se pueden determinar fácilmente y de manera sistemática en la mayor parte de los contextos clínicos y de investigación.

- Definición por la Federación Internacional de Diabetes.

La “International Diabetes Federation (IDF)” señaló la necesidad de racionalizar la gran variedad de definiciones sobre síndrome metabólico, para así hacerla válida tanto en la práctica clínica como en los ámbitos de investigación (Alberti et al., 2006). El objetivo era establecer nuevos criterios para identificar mejor a las personas que presentan síndrome metabólico, definir mejor la naturaleza del síndrome e insistir en estrategias para modificar estilos de vida y reducir el riesgo a largo plazo de enfermedades cardiovasculares y DM2:

1. Obesidad abdominal, definida como la medida del perímetro de la cintura >94 cm en hombres, y >80 cm en mujeres.
2. Trigliceridemia ≥ 150 mg/dl, o tratamiento hipotriglicéridémico.
3. Colesterol HDL < 40 mg/dl en hombres, < 50 mg/dl en mujeres, o tratamiento para aumentar el colesterol HDL.

4. Presión arterial $\geq 130/85$ mmHg, o tratamiento para la hipertensión correctamente diagnosticada.
5. Glucemia en ayunas ≥ 100 mg/dl, o diagnóstico de DM2.

En esta clasificación, la obesidad abdominal representa un requisito imprescindible para establecer el diagnóstico de síndrome metabólico, junto a dos de los criterios anteriormente establecidos (Zimmet et al., 2005).

Otras organizaciones como la “American Association of Clinical Endocrinologist (AACE) y el European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR)” usan otras definiciones que no suelen ser muy comunes (Saklayen, 2018). Los criterios más conocidos son los de la ATP III y la IDF, ya que facilitan la realización de estudios epidemiológicos sobre el síndrome metabólico utilizando criterios más asequibles para la práctica clínica. Sin embargo, se puede recurrir a cualquier grupo de criterios diagnósticos siempre que se conozca el desarrollo de dicha clasificación, ya que lo importante es identificar y prevenir el riesgo cardiovascular.

1.2.3. Epidemiología

Los factores culturales, socioeconómicos, medioambientales y de comportamiento tienen un gran impacto para la salud (Bloom, 2000). En los países desarrollados económicamente, y debido a la globalización, se ha fomentado la inactividad física y la obesidad (Zimmet, 2000). Son, por tanto, la obesidad, la inactividad física y el tipo de dieta, los principales factores de riesgo que pueden desencadenar en una enfermedad cardiovascular y otras ENT (Eyre et al., 2004), constituyendo un gran impacto sobre la salud pública. Según datos de la OMS, actualizados en 2018, las ENT matan a 41 millones de personas cada año, lo que equivale al 71% de las muertes que se producen en el mundo. Cada año mueren por ENT 15 millones de personas entre 30 y 69 años, siendo más del 85% de estas muertes “prematuras” en países de bajos y medianos ingresos. Las

enfermedades cardiovasculares constituyen la mayoría de estas muertes, unos 17.9 millones de personas cada año. En las enfermedades cardiovasculares, la hipertensión arterial, la obesidad, el aumento de la glucosa en sangre, etc., constituyen sus factores de riesgo más importantes. Debido a esto, la prevalencia de síndrome metabólico crece de forma paralela a la prevalencia de DM2 y obesidad (Saklayen, 2018).

Según la definición de la NCEP-ATP III, la prevalencia de síndrome metabólico en Europa, Asia, Australia y América oscila entre el 9.6% y el 55.7%. Si nos basamos en la definición de la OMS, la prevalencia varía entre el 13.4% y el 70%, y según la IDF, entre el 7.4% y el 50% (Day, 2007). En el estudio “National Health and Nutrition Examination Survey”, NHANES III, se reclutaron 8814 hombres y mujeres norteamericanos mayores de 20 años. Usaron los criterios NCEP-ATP III para el diagnóstico de síndrome metabólico encontrando diferencias interraciales significativas, y una mayor prevalencia del síndrome metabólico con la edad. Concluyeron que en la población norteamericana, ajustada por edad, la prevalencia de síndrome metabólico es del 24% en varones y del 23.4% en mujeres (Ford et al., 2002). En otros estudios, como el DECODE, analizaron 8 cohortes europeas donde se observó una amplia variación en la frecuencia de obesidad, hipertensión y alteraciones del metabolismo de la glucosa, lo que se reflejó en una oscilación de la prevalencia de síndrome metabólico, según la definición del NCEP-ATP III, del 5.3% hasta el 26.6% en hombres, y del 3.5% al 17.6% en mujeres (Gang et al. 2004).

En España, las enfermedades cardiovasculares siguen siendo la principal causa de mortalidad. En los últimos años ha habido un incremento en la incidencia de los factores del síndrome metabólico, tales como la DM2, la hipertensión arterial y la obesidad (Aranceta et al., 2003). En España hay diversos estudios sobre la prevalencia de síndrome metabólico, destacando el estudio sobre dislipemia, riesgo aterosclerótico, proteína-C reactiva incrementada y estado inflamatorio y oxidativo en la población española (Estudio DARIOS) (Fernández et al., 2012). En dicho estudio, la prevalencia de síndrome metabólico según criterios de la OMS fue del 32% en varones y del 29% en mujeres. Igualmente, en el estudio de Nutrición y Riesgo Cardiovascular en España

(ENRICA) (Guallar et al., 2014), llevado a cabo entre 2008 y 2010 con una muestra de 12883 individuos, se obtuvo una prevalencia del 22.7%. La frecuencia aumentó con la edad y resultó mayor en los varones hasta los 65 años, siendo a partir de esa edad mayor entre las mujeres.

Un aumento en la prevalencia de síndrome metabólico puede anunciar la aparición de una epidemia de enfermedad cardiovascular avanzada. Por lo tanto, la eficacia de las estrategias preventivas y terapéuticas para promover una dieta equilibrada y hábitos de vida saludables, son necesarias tanto en la población juvenil como en la adulta (Yusuf et al., 2001).

1.2.4. Componentes del síndrome metabólico

Cada componente del síndrome metabólico está asociado con un aumento del riesgo de enfermedad cardiovascular (Mente et al., 2010). Este riesgo va en aumento a medida que aumenta el número de componentes del síndrome metabólico (Reaven, 2002), que son:

- Dislipemia.

La dislipemia asociada al síndrome metabólico es altamente aterogénica, lo que contribuye a la aterosclerosis y a la enfermedad cardiovascular. Se caracteriza por:

1. Hipertrigliceridemia: TG \geq 150 mg/dL.
2. Colesterol HDL: colesterol HDL <40mg/dL en hombres, y colesterol HDL <50mg/dL en mujeres.
3. Incremento de las LDL pequeñas y densas.
4. Aumento de los ácidos grasos libres en plasma.
5. Aumento de la apolipoproteína B.

Todas estas alteraciones promueven el desarrollo de aterosclerosis.

- Hiperglucemia.

La presencia de diabetes mellitus tipo 1 o 2, aumenta el riesgo de enfermedad cardiovascular, al igual que la intolerancia a los carbohidratos y la alteración de la glucosa en ayunas. Teniendo en cuenta esto, la Asociación Americana de Diabetes, define la prediabetes como la presencia tanto de intolerancia a los carbohidratos como cualquier alteración de la glucosa en ayunas. Por esto mismo, el valor de glucosa en ayunas ≥ 100 mg/dL se considera un criterio de síndrome metabólico (De Vegt et al., 2001).

- Obesidad abdominal.

La obesidad se puede definir como un aumento en el porcentaje de grasa corporal total, producto de un desequilibrio entre las calorías que se ingieren y las que se gastan. Aunque comprende una serie de mecanismos biológicos, psicológicos y sociales, en los últimos años se le ha dado mucha importancia a la distribución del tejido adiposo. Algunos estudios asocian la obesidad central o superior al riesgo cardiovascular y al síndrome metabólico por su alta relación con la grasa perivisceral. La grasa intraabdominal, medida por la circunferencia abdominal, se asocia a cada uno de los criterios del síndrome metabólico (Wagenknecht et al., 2003). Se recomienda usar el perímetro abdominal para evaluar la adiposidad central (McTigue et al., 2003).

- Hipertensión.

Existen evidencias científicas de la asociación entre el aumento de la presión arterial y el riesgo cardiovascular, donde se confirma que la hipertensión arterial está presente en más del 80% de los individuos con síndrome metabólico (Mancia et al.,

2007). Esta alta prevalencia de alteraciones de la presión arterial en el síndrome metabólico justifica que los sujetos hipertensos, que cumplen criterios de síndrome metabólico, presentan una elevada frecuencia de lesión asintomática en órganos diana, como la hipertrofia del ventrículo izquierdo, la rigidez arterial y la aparición de microalbuminuria (McLaughlin et al., 2007). Por tanto, el aumento de la presión arterial puede tener un papel fundamental entre los factores del síndrome metabólico, junto con la obesidad y la RI.

1.2.5. Prevención y tratamiento

Como en cualquier enfermedad, la mejor forma de enfrentar el síndrome metabólico y sus consecuencias es la prevención. El síndrome metabólico es el resultado de la actuación de factores causales sobre una base genética, donde el entorno y los hábitos de vida del individuo son importantes para su expresión. Por lo tanto, es fundamental seguir un estilo de vida saludable basado en una alimentación adecuada, una actividad física regular y evitar el sobrepeso (Nestel, 2004).

El tratamiento dietético del síndrome metabólico tiene como objetivos mejorar la sensibilidad a la insulina y prevenir o corregir las alteraciones metabólicas y cardiovasculares asociadas. Los principales beneficios se obtienen con la pérdida de peso (Nestel, 2004). Esta reducción debe resultar de una menor ingesta calórica (Potenza et al., 2009). Las dietas con bajo contenido en carbohidratos mejoran la sensibilidad a la insulina, controlan el peso, la presión arterial y reducen el riesgo cardiovascular (Feinman et al., 2008). Hay estudios que demuestran que la dieta mediterránea ha disminuido la incidencia de DM2 y el número de complicaciones asociadas al síndrome metabólico (Serra-Majem et al., 2006), como el realizado por Knoop, en el que la dieta mediterránea se asoció a una reducción del 50% de la mortalidad en adultos de 70-90 años (Knoop et al., 2004).

La actividad física es otra parte fundamental para entender el síndrome metabólico, ya que el sedentarismo se asocia con la ganancia de peso y aumento de la grasa visceral, favoreciendo la aparición de otros factores de riesgo como son la hipertensión arterial, la hiperglucemia y la dislipemia (Aguirre Urdaneta et al., 2012). Realizar actividad física de forma regular se ha asociado con un menor riesgo de DM2. En el American Diabetes Prevention Program (DPP) estudiaron a 3234 pacientes con prediabetes. Después de seguir una dieta baja en grasa y de realizar 150 minutos de ejercicio físico moderado a la semana durante tres años, disminuyeron en un 58% el riesgo de desarrollar DM2 (Knowler et al., 2002).

En definitiva, en el tratamiento y prevención de SM, las recomendaciones generales incluyen: el control de la obesidad, aumento de la actividad física, y una dieta adecuada que ha de caracterizarse por la disminución de ingesta de grasas saturadas, trans y colesterol, reducción en la ingesta de azúcares simples y un aumento en la ingesta de frutas y vegetales.

1.3. Dieta mediterránea

1.3.1. Importancia de la dieta en la salud y desarrollo de enfermedades

Tanto la calidad de los alimentos como los hábitos nutricionales influyen mucho en nuestro estado de salud. Son consistentes los estudios que muestran como las dietas ricas en alimentos con nutrientes biológicamente activos están inversamente relacionados con la aparición y desarrollo de diferentes procesos patológicos.

El papel de la nutrición para la prevención y el tratamiento de enfermedades ya fue descrito por el cirujano escocés de la Royal Navy James Lind en el año 1747, cuando demostró los efectos beneficiosos de los cítricos para el tratamiento del escorbuto.

Con posterioridad, el científico ruso Alexander Ingatowski en 1908 asoció una dieta alta en colesterol al desarrollo de aterosclerosis en un estudio realizado en conejos. A partir de entonces se desarrollaron otros estudios en los que se confirmaron como dietas ricas en grasas se asociaban con la aterosclerosis. El primer norteamericano en reconocer la validez e importancia de los estudios de estos estudios realizados por Anichkov, fue el patólogo John Gofman en un artículo publicado en Science en 1950.

De forma paralela, pero absolutamente independiente a los estudios de Gofman, Lawrence Kinsell, un médico californiano, descubrió en 1952, que la alimentación con vegetales, asociada a una disminución de la ingesta de productos animales, producía una disminución del colesterol plasmático, particularmente del colesterol LDL (Kinsell et al. 1952). Todas estas investigaciones desembocaron en la formulación de la hipótesis del colesterol (Keys, 1957).

El Comité de Nutrición de la American Heart Association (AHA) publicó las primeras recomendaciones dietéticas donde reconocieron que "la dieta puede desempeñar un papel importante en la patología de la aterosclerosis y el contenido de grasa y las calorías totales en la dieta son probablemente factores importantes" (Page et al. 1957).

El reconocimiento al trabajo pionero de Anichkov, e indirectamente de Gofman y Kinsell, llegó finalmente en 1958, a través de un artículo publicado en la revista Circulation por William Dock (Dock, 1958). A raíz de estas observaciones, comenzaron a desarrollarse los primeros estudios que proporcionaron más información sobre el impacto de la ingesta de diferentes lípidos en la enfermedad cardiovascular (Kromhout et al., 1995) (Keys, 1957). También se demostró que los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) n-3 ejercían efectos beneficiosos sobre las células progenitoras endoteliales.

Existe una creciente evidencia de que los nutrientes de manera individual, con algunas excepciones como el caso de los PUFA n-3, el sodio y los ácidos grasos saturados trans, por sí solos tienen efectos de menor magnitud sobre las enfermedades crónicas en comparación con los alimentos integrales o con intervenciones a base de dietas. Con todo ello, se ha ido produciendo un cambio respecto al enfoque sobre la importancia de

la nutrición ante un estado patológico, basada en los alimentos y patrones de dieta en lugar de en nutrientes individuales específicos. Estas intervenciones dietéticas aprovechan los efectos beneficiosos de cada uno de sus diferentes nutrientes, combinándolos en dietas saludables que logran mayores efectos netos en comparación con la mayoría de los suplementos de nutrientes individuales. Los nutrientes y los alimentos actúan de forma aditiva y sinérgica, pero maximizando la magnitud de sus efectos beneficiosos.

A pesar de las décadas sobre la investigación nutricional, estudios realizados en el 2013 mostraron que el riesgo asociado a la dieta seguía siendo responsable del 37% de las muertes y 24% de los años de vida ajustados por discapacidad (AVAD) para todas las edades y ambos sexos. Notablemente, 9 de los 25 principales factores de riesgo mundiales de AVAD en 2013 se relacionaron con hábitos alimentarios inapropiados, es decir, consumo de alcohol, baja ingesta de frutas, cereales integrales, verduras, frutos secos y semillas, ácidos grasos omega-3, fibra, ingesta de sodio y deficiencia de hierro. Intervenciones nutricionales adecuadas, junto la práctica regular de actividad física aeróbica, se consideran piezas básicas para la prevención y tratamiento de numerosas patologías de alta prevalencia en nuestra sociedad actual como lo son la obesidad, diabetes y enfermedad cardiovascular.

1.3.2. Salud y dieta mediterránea

Como ya hemos apuntado, la adherencia a una dieta compuesta por alimentos saludables podría ser una estrategia tanto de prevención como de tratamiento ante una enfermedad (Van Horn et al. 2008). Dentro de las dietas altamente saludables, la dieta mediterránea tiene una consideración destacada ya que existe numerosa evidencia científica que demuestra su efecto saludable y positivo sobre la salud. Está asociada a una menor incidencia de enfermedades cardiovasculares y metabólicas como lo son la obesidad, la diabetes y síndrome metabólico (Sciatti et al. 2016). Se sabe que nutrientes

abundantes en la dieta mediterránea como polifenoles, vitaminas, la fibra dietética, la coenzima Q10, los PUFA y los minerales, son los responsables de proporcionar los efectos beneficiosos sobre múltiples enfermedades (Sciatti et al. 2016).

La dieta mediterránea tradicional era el patrón dietético predominante entre los habitantes de las zonas olivareras de la cuenca mediterránea de regiones como Creta, otras regiones de Grecia y el sur de Italia (Willett et al., 1995). Históricamente hablando, estos países mediterráneos se encontraban entre los países más saludables del mundo registrando tasas más bajas de enfermedades cardiovasculares y cáncer, al igual que una mayor longevidad. Todo esto fue observado a mediados de la década de los 60, antes de que la globalización influyera en el estilo de vida donde también se incluye la dieta (Trichopoulou et al., 1997).

Esta dieta consiguió formar parte de la literatura médica gracias a la publicación de Ancel Keys y sus colegas de los resultados de su “Estudio de los siete países”, a finales de la década de los 50 (Keys et al., 1980). Observó que el bajo contenido de lípidos saturados en esta dieta podría explicar la baja incidencia de enfermedad coronaria, a través de la reducción de colesterol en sangre. Fue a principios de 1990 cuando surgió una explosión por el interés sobre los estudios de los efectos de la salud de la dieta mediterránea (Trichopoulou et al., 1997), por ejemplo, el “Estudio Lyon Diet Heart” (de Langeril et al., 1999) y el PREDIMED (Estruch et al., 2013). Estos estudios respaldan las funciones protectoras de la dieta mediterránea con las enfermedades no transmisibles (Romaguera et al., 2011). Gracias a todo esto, dicha dieta fue bien recibida por la población y por diferentes organizaciones, siendo clasificada como la tercera mejor dieta por el US News & World Report (<http://health.usnews.com/best-diet/best-overall-diets>) y recomendada como una opción de comida saludable por el Servicio Nacional de Salud del Reino Unido (<http://www.nhs.uk/Livewell/Goodfood/Pages/what-is-a-Mediterranean-diet.aspx>). A todo esto, se le añade que es reconocida por la UNESCO como patrimonio cultural inmaterial (<http://www.unesco.org/culture/ich/RL/00884>).

La dieta mediterránea se caracteriza por un alto consumo de verduras, hortalizas, legumbres, frutas, frutos secos y aceite de oliva como fuente principal de grasa; al igual que por un moderado consumo de pescado, marisco, aves de corral, productos lácteos (yogur, quesos), huevos, y un consumo de pequeñas cantidades de carnes rojas (Trichopoulou et al., 2003). El consumo de alcohol era muy común en la dieta mediterránea tradicional, por lo que se aconseja tomarlo con moderación, en forma de vino tinto y generalmente con las comidas (Tesserra-Rimbau et al., 2014).

La Fundación Dieta Mediterránea, presentó la “Pirámide de la Dieta Mediterránea: un estilo de vida actual” (Figura 4). Se trata de una actualización científica de la clásica pirámide (Figura 3) de alimentación saludable adaptada a los diferentes contextos nutricionales y socioculturales de la región mediterránea (Willett et al., 1995). Esta herramienta gráfica presenta nuevas estrategias para alcanzar un estilo de vida equilibrado, en el marco de la globalización cultural y alimentaria, incluyendo los aspectos nutricionales que inciden en la salud de la población y los aspectos culturales necesarios para alcanzarlos (Bach-Faig et al., 2011).

La dieta mediterránea es particularmente protectora contra la enfermedad cardiovascular (ECV). Grosso y col. (Grosso et al. 2017) realizaron un estudio en el que informaron que existía un 25% menos de riesgo de mortalidad por ECV en personas que seguían la dieta mediterránea. En un metaanálisis sobre siete estudios de cohortes, se mostró que la adherencia a la dieta mediterránea se asociaba con un bajo riesgo de enfermedad coronaria (Sofi et al. 2010). Keys y col. (Keys et al. 1986), y se planteó la hipótesis de que la dieta mediterránea exhibía protección contra enfermedades de carácter cardiovascular junto con otras muchas, principalmente como ya se venían apuntando, a su bajo contenido en grasas saturadas. Sus efectos protectores pueden atribuirse a su rico contenido en componentes bioactivos que contienen el aceite de oliva, las frutas, las verduras y legumbres.

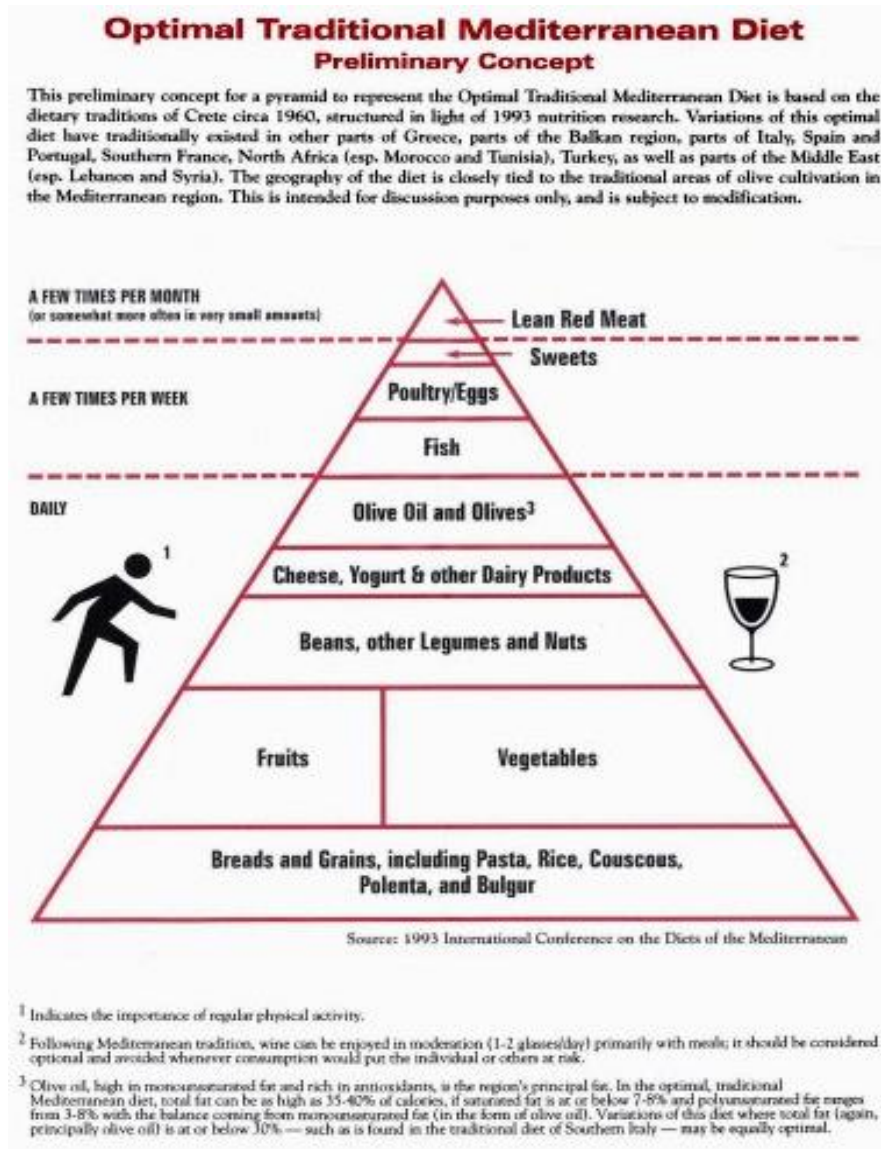


Figura 3. Primera versión de pirámide de la dieta mediterránea (Willet et al., 1995)

El aceite de oliva es la principal fuente de grasa vegetal en la dieta mediterránea. Se compone principalmente por el ácido oleico que es un ácido graso monoinsaturado (MUFA). El aceite de oliva además contiene altas cantidades de otros componentes bioactivos como son la vitamina E, los polifenoles (principalmente flavonoides) y otros fitoquímicos menores (Covas et al., 2009).

Mediterranean Diet Pyramid: a lifestyle for today
Guidelines for Adult population

Serving size based on frugality and local habits
Wine in moderation and respecting social beliefs

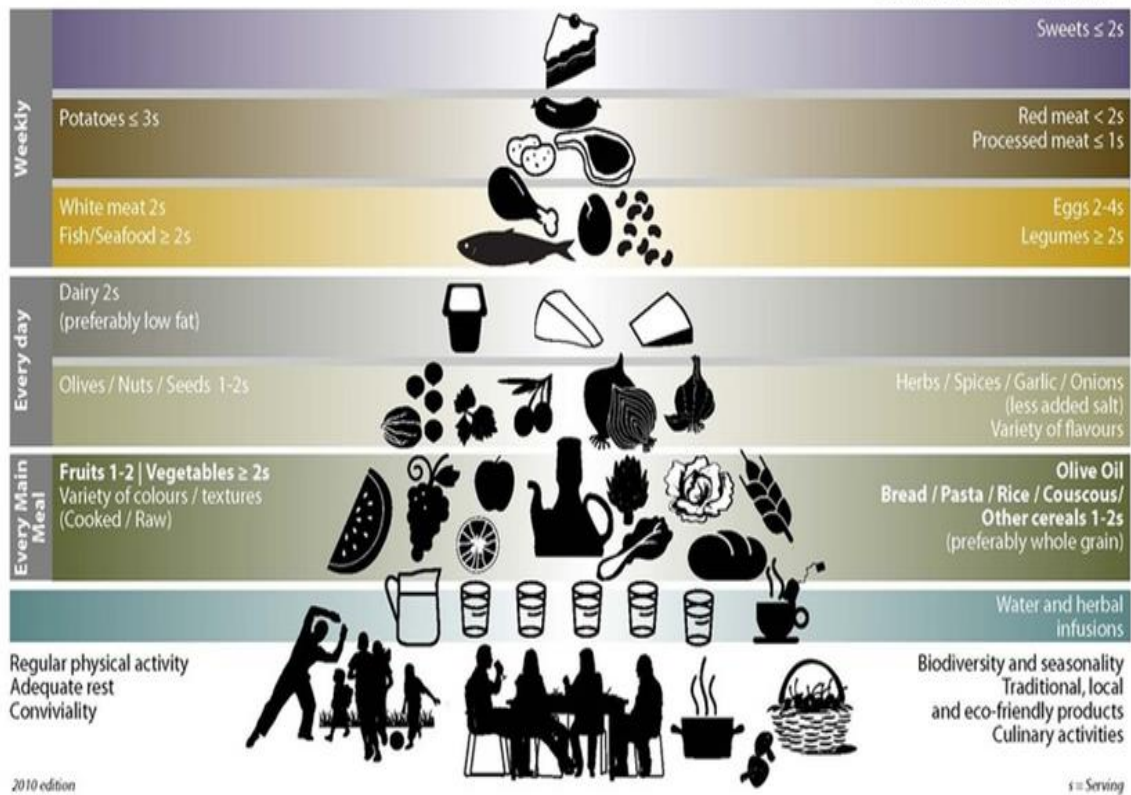


Figura 4. Pirámide de la dieta mediterránea (Bach-Faig et al., 2011)

Estos compuestos presentan una capacidad para atenuar el estrés oxidativo y mejorar la función endotelial. Gracias a sus propiedades antiinflamatorias, antioxidantes y antitrombóticas se asocian con una reducción del riesgo y progresión de la aterosclerosis (Summerhill et al. 2018).

Los principales compuestos fenólicos presentes en el aceite de oliva son hidroxitirosol y oleuropeína, los cuales poseen una potente capacidad antioxidante y pueden actuar también como moduladores enzimáticos (Khedir et al., 2018). Hay estudios observacionales tanto en la población general española (Covas et al., 2009) como en una cohorte de mujeres italianas (Bendielli et al., 2011), que demuestran que

la ingesta de aceite de oliva está inversamente asociada con la enfermedad cardiovascular.

Un ensayo controlado aleatorio mostró un efecto estadísticamente significativo del consumo de frutas y verduras tanto en las concentraciones plasmáticas de antioxidantes como en la presión arterial (John et al., 2002). Se supone que el efecto saludable de las verduras y frutas se puede atribuir a la fibra dietética que aportan estos alimentos, junto con las vitaminas, fitoquímicos y minerales (Van Horn et al., 2008). El licopeno, componente bioactivo de los tomates, alimento muy presente en la dieta mediterránea, posee efectos antioxidantes, hipolipidémicos y antiaterógenos significativos (Kumar et al., 2017).

También existe evidencia científica sustancial que demuestra que la ingesta de nueces y otros frutos secos, proporciona protección contra enfermedades cardiovasculares (Guasch-Ferré et al., 2017). El mecanismo principal por el cual los frutos secos protegen contra las enfermedades cardiovasculares se basa en la mejora de los lípidos y perfil de lipoproteínas a través de una reducción del estrés oxidativo, la inflamación y un favorecimiento en la función endotelial (Bitok et al., 2018).

Los ácidos grasos omega-3 procedentes de los PUFA y presentes en aceite de oliva, pescado, mariscos, nueces y semillas, pueden mejorar la función cardíaca por sus propiedades antiinflamatorias, antitrombóticas, antigliceridémicas y sus efectos antiaterogénicos y antiarrítmicos (Kromhout et al., 2012; Bacová et al., 2013).

También los cereales que se incluyen en la dieta mediterránea ejercen un efecto beneficioso sobre nuestra salud. Un metaanálisis sobre diferentes estudios de cohortes prospectivos evaluó el efecto de cereales integrales sobre diferentes variables bioquímicas y mostró además una reducción del 21% en la enfermedad cardiovascular. El consumo de cereales integrales redujo los niveles de colesterol total y de colesterol LDL (Mellen et al., 2008). Estos efectos se atribuyen principalmente al contenido de fibra dietética. La fibra dietética tiene un efecto positivo, probablemente debido a la reducción de la cantidad de colesterol sérico en la sangre al aumentar la excreción de

ácidos biliares en las heces (Lia et al., 1995). También puede reducir el peso corporal con la consecuente mejora de la presión arterial (Yang et al., 2015).

Por tanto, la dieta mediterránea reúne una serie de alimentos que en conjunto aportan a nuestro organismo una serie de componentes bioactivos que producen un efecto totalmente positivo y saludable sobre nuestro organismo. Dietas como la mediterránea, han sido el origen de un cambio de enfoque sobre la importancia de la nutrición ante un estado patológico, considerando el efecto de los alimentos en conjunto en lugar de considerar los efectos de los nutrientes de manera aislada (Lee et al., 1993).

1.3.3. Estudios sobre dieta mediterránea, obesidad y síndrome metabólico

La calidad de la dieta en general influye fuertemente en la salud, en particular en el riesgo de padecer enfermedades cardiometabólicas como la enfermedad coronaria, la diabetes y la obesidad. De hecho, la calidad de la dieta constituye una de las causas modificables de muerte en el mundo (Lim et al., 2010). Las dietas tradicionales mediterráneas son las que más beneficios aportan a la salud como ya hemos apuntado (Mozaffarian et al., 2011). El Lyon Diet Heart Study, fue el primer ensayo aleatorio que mostró una fuerte protección cardiovascular para una intervención dietética utilizando un patrón dietético general. Participaron 605 pacientes que habían tenido un infarto de miocardio previo. Se les asignó aleatoriamente una dieta mediterránea o una dieta siguiendo las pautas de la dieta Paso I de la American Heart Association. Tras 27 meses de seguimiento, el grupo que seguía la dieta mediterránea disminuyó hasta un 73% la tasa de eventos coronarios (de Lorgeril et al., 1994). En este ensayo clínico no se usó aceite de oliva como principal grasa. Sin embargo, en el estudio PREDIMED llevado a cabo en España desde 2002 a 2007, se hizo hincapié en el uso del aceite de oliva virgen extra y los frutos secos (Trichopoulou et al., 2014). En él participaron 7447 sujetos con alto riesgo de enfermedad cardiovascular que tras esos 5 años de seguimiento e

intervención con una dieta mediterránea, redujeron significativamente la incidencia de padecer enfermedades cardiovasculares como accidentes cerebrovasculares, enfermedades coronarias, etc. (Martínez-González et al., 2019).

Estos estudios indican que los beneficios para la salud de la dieta mediterránea son la reducción de enfermedades cardiovasculares, aunque también existen otros beneficios ampliamente investigados que incluyen la prevención de la DM2, el síndrome metabólico y la obesidad (Esposito et al., 2017).

En un metaanálisis de estudios epidemiológicos y ensayos clínicos que han evaluado el efecto de la dieta mediterránea sobre el síndrome metabólico, se mostró cómo la adherencia a la dieta mediterránea reduce el riesgo de enfermedades metabólicas. Del mismo modo, estos estudios revelaron el papel protector de dicha dieta sobre los componentes del síndrome metabólico como son el perímetro de la cintura, el colesterol HDL, los triglicéridos, la tensión arterial sistólica y diastólica y la glucosa. Tras este metaanálisis se consideró la importancia de la dieta mediterránea para la prevención primaria y secundaria del síndrome metabólico (Kastorini et al., 2011).

Otros estudios más recientes hablan sobre el impacto de la dieta en la obesidad. En marzo de 2020 se publicó un estudio longitudinal sobre la adherencia a la dieta mediterránea y los diferentes fenotipos de obesidad. Para ello, se utilizaron datos de 5801 hombres y mujeres adultos con alto riesgo cardiovascular que habían participado en el estudio PREDIMED. La adherencia a la dieta mediterránea se midió con el cuestionario validado de adherencia a la dieta mediterránea (MEDAS) (Papadaki et al., 2017), y los sujetos se clasificaron según la salud metabólica y el tamaño corporal. Entre los resultados, se llegó a la conclusión de que los pacientes más sanos metabólicamente hablando son los más adherentes a la dieta mediterránea (Konieczna et al., 2020).

Como ya hemos comentado, la dieta mediterránea mejora el control glucémico y reduce la incidencia de la DM2 (Salas-Salvadó et al., 2014). Del mismo modo, es beneficiosa para la pérdida de peso de las personas obesas, y por lo tanto, previene la obesidad y el aumento de peso en personas no obesas (Samaha et al., 2003). Todo esto

nos indica que la dieta mediterránea no se centra solo en la reducción de las calorías totales sino que hace énfasis en los tipos de alimentos consumidos para reducir la adiposidad, prevenir la DM2 y las enfermedades cardiovasculares. El estudio PREDIMED demuestra que se reduce el riesgo de eventos cardiovasculares en un 30%, cuando se aconseja a los pacientes que sigan una dieta mediterránea complementada con nueces y/o aceite de oliva virgen extra (Estruch et al., 2018). El aceite de oliva virgen extra ha reemplazado en gran medida al aceite de oliva no virgen, lo que sugiere que los beneficios del aceite de oliva pueden estar relacionados con los compuestos bioactivos de los aceites vírgenes extra. Estos compuestos bioactivos de algunos alimentos, los llamados alimentos funcionales, se asocian con beneficios fisiológicos para la salud que ayudan a prevenir y controlar enfermedades crónicas como la DM2 (Figura 5). Un consumo regular de alimentos funcionales como café, té verde, té negro y yerba mate, han demostrado beneficios clínicamente significativos sobre las actividades metabólicas y microvasculares, la reducción de colesterol, la glucosa en ayunas, la antiinflamación y la antioxidación en pacientes con DM2 (Alkhatib et al., 2017).

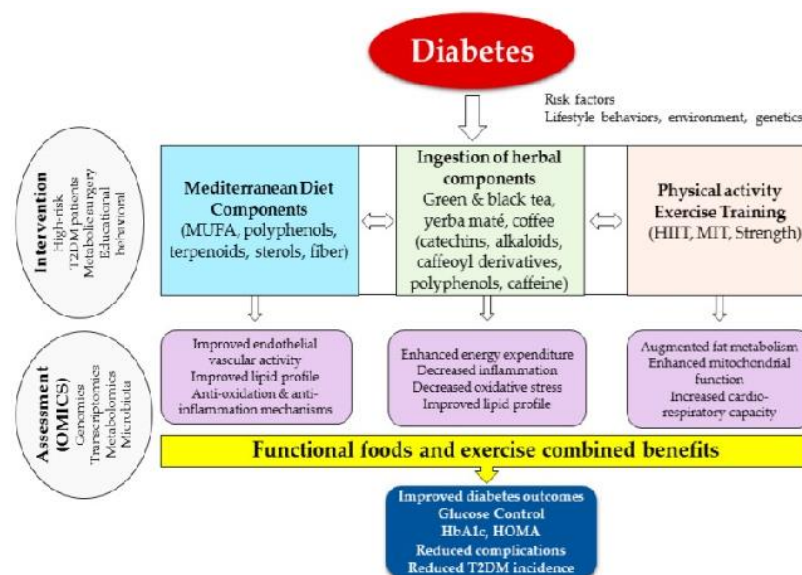


Figura 5. Modelo de integración de alimentos funcionales en la prevención y el manejo de la DM2 para comprender los procesos biológicos y mejorar los resultados clínicos (Alkhatib et al., 2017)

1.3.4. Adherencia a la dieta mediterránea

Más de 50 años después del “Estudio de los 7 países”, se han publicado un gran número de estudios epidemiológicos, observacionales, de casos y controles, longitudinales, e incluso algunos experimentales, que han hablado sobre la relación entre la dieta mediterránea y la salud (Serra-Majem et al., 2019). Para poder evaluar la adherencia a la dieta mediterránea y su papel en estos estudios, se utiliza el cuestionario MEDAS propuesto por Trichopoulou et al. en 1995, y actualizado posteriormente (Bach et al., 2006). Este cuestionario consta de 14 ítems o preguntas sobre el consumo de los distintos componentes de la dieta mediterránea. A cada una de estas preguntas se le da el valor de 0 o 1. La puntuación total de la adherencia a la dieta mediterránea varía de 0 (adherencia mínima) a 9 (adherencia máxima) (Trichopoulou et al., 2003).

La puntuación del cuestionario MEDAS depende en gran medida de las características específicas de la muestra, lo que puede representar una limitación para transferir los resultados a otras muestras (Shröder et al., 2011). Aun así, es un instrumento válido para la estimación de la adherencia a la dieta mediterránea y útil en la práctica clínica.

A pesar de todos estos beneficios, la adherencia a la dieta mediterránea es cada día menor, incluso en los países mediterráneos. Esto, añadido al estilo de vida cada vez más sedentario, ha derivado en un aumento de prevalencia de sobrepeso e incluso de obesidad mórbida, apareciendo también en niños y adolescentes (Bach-Faig A. et al., 2011). El mantener una adherencia a la dieta mediterránea junto con la realización de actividad física para mantener un equilibrio energético, no solo ayuda a la salud personal sino también a preocupaciones sociales más amplias en relación con el medio ambiente, la salud pública y la economía (Gerber et al., 2015).

1.4. microRNAs.

1.4.1. Definición de los miRNAs.

Los microRNAs (miRNAs) son pequeñas moléculas de entre 20-25 nucleótidos de RNAs no codificantes implicadas en la regulación de un gran número de genes en diferentes especies que van desde las plantas hasta los gusanos y humanos (DP 2004). También se han encontrado en arqueas y bacterias, lo que desvela su antiguo origen.

El descubrimiento del silenciamiento post-transcripcional del RNAm por parte de los miRNAs ha sido un paso revolucionario en la comprensión del control de la información genética. Estas moléculas están prácticamente implicadas en todos los procesos biológicos y forman parte de la regulación epigenética. Los miRNAs forman parte de los denominados small RNAs y pueden inducir silenciamiento al unirse a su RNAm diana y dependiendo de su grado de complementariedad con este, pueden o bien producir una represión en el proceso de su traducción a proteína o directamente degradar la molécula de RNAm.

Lin-4 fue el primer miRNA descubierto en *Caenorhabditis elegans* y descrito en 1993 en el laboratorio de Víctor Ambros por Lee y colaboradores (Lee et al., 1993) aunque no fue hasta 2001 cuando se acuñó el nombre de miRNA en la revista *Science* (Ruvkun, 2001). Tras un análisis *in silico* se ha estimado la existencia de unos 50.000 miRNAs diferentes en el genoma humano, cada uno con un destacado número de potenciales RNA mensajeros diana. Debido a que un solo miRNA puede regular a cientos de RNAs mensajeros, la expresión alterada de un único miRNA puede estar involucrada en el inicio de muchas enfermedades.

Los miRNAs representan un 2-3% del genoma humano, y se estima que pueden regular la expresión del 60% de los genes aproximadamente (Cho, 2012). Una particularidad de los miRNAs es que un único miRNA puede regular hasta 200 transcritos diferentes aproximadamente por lo que puede actuar en diferentes vías celulares. Así

mismo, un ARNm puede regularse por diferentes miRNAs (Cai et al., 2009; Krek et al., 2005).

Las características generales de los miRNAs podrían resumirse en los siguientes puntos:

- Son moléculas que se asocian a las regiones 3' UTR de sus ARNm diana.
- Son necesarios muchos sitios de unión para activar la respuesta de los miRNA, ya que la unión de uno solo no produce efectos significativos.
- Un RNAm puede estar regulado por diferentes miRNAs.
- Un miRNA puede estar implicado en la modulación de numerosos RNAm.

El potencial de diagnóstico y pronóstico de los miRNAs como biomarcadores se basa principalmente en su alta estabilidad y resistencia a la manipulación de almacenamiento (Chen et al., 2008; Wang et al., 2016). Esta estabilidad puede explicarse en parte por el descubrimiento de complejos de lipoproteínas, que incluyen pequeñas vesículas de membrana de origen endocítica llamadas exosomas o microvesículas (30- 100 nm) que contienen además de miRNAs, RNAm y proteínas. Hay pruebas de que los miRNAs circulan por los fluidos corporales en exosomas y que en los compartimentos extracelulares tienen efectos similares a las hormonas, por lo que los miRNAs secretados en un órgano pueden tener un efecto a distancia (Cortez et al., 2011; Valadi et al., 2007).

Su detección por primera vez en el 2008 en los fluidos corporales les ha otorgado un papel destacado en el campo de los biomarcadores (Mitchell et al., 2008). Numerosos estudios han destacado también su potencial como dianas terapéuticas (Ajit, 2012) . Basándose en la desregulación de miRNAs específica de tejido y en relación a un estado patológico, múltiples estudios, la mayoría de ellos en cáncer, aunque también están proliferando en otras muchas enfermedades como la diabetes, han explorado la utilidad potencial de los perfiles de expresión de miRNAs como biomarcadores de pronóstico, diagnóstico y respuesta a tratamiento (Ajit, 2012; Rabinowits et al., 2009).

1.4.2. Biogénesis.

La biogénesis de los miRNAs ha sido ampliamente estudiada y caracterizada por diferentes autores (DP, 2004; Gregory et al., 2004; Zhang et al., 2004). Los genes que codifican para miRNAs se transcriben en el núcleo en forma de precursores largos, dando lugar a los llamados miRNAs primarios o pri-RNAs (**Figura 6**), los cuales contienen una caperuza en posición 5' y una cola de poli-adeninas en posición 3'. Los pri-RNAs tienen una longitud que varía entre cientos de pares de nucleótidos. En el núcleo se procesan por las ribonucleasas Drosha y Pasha/DGCR8 hasta pre-miRNA como estructuras cortas en forma de horquilla o stem-loop de 60-70 nucleótidos.

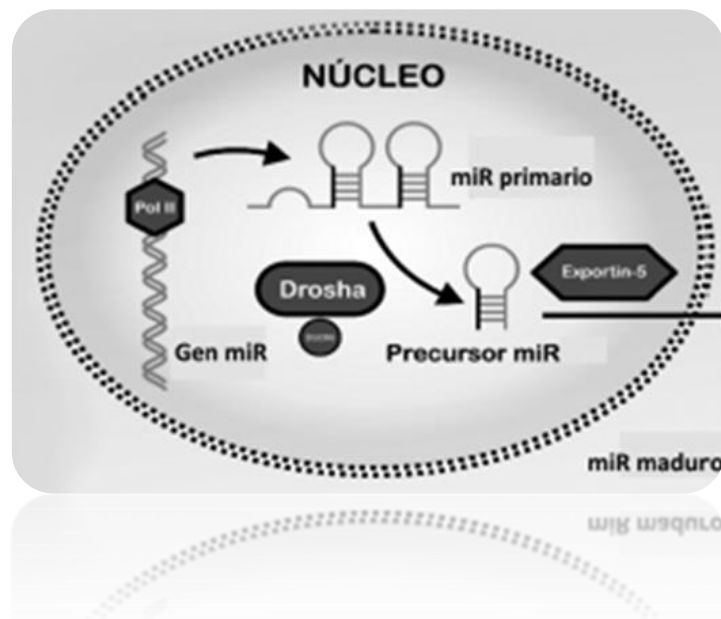


Figura 6. Fase nuclear de la biogénesis de miRNAs

Los pre-miRNAs salen del núcleo hacia el citoplasma por el complejo Exportin-5 / Ran-GTP (Han et al., 2004) y a continuación se unen a la ribonucleasa Dicer como parte del complejo de carga RISC (RNA-induced silencing complex) que también incluye Ago2 (**Figura 7**) (Chendrimada et al., 2005). Dicer escinde la horquilla del pre-miRNA para dar

origen al miRNA maduro. La cadena madura junto con Ago2 formarán el complejo RISC y la cadena complementaria será eliminada. El complejo RISC contiene el miRNA maduro y se une a las secuencias 3'UTR del RNAm diana (Hutvagner et al., 2001, Ketting et al., 2001). Los transcritos de ARNm unidos a RISC pueden ser suprimidos en la traducción de proteínas, desestabilizarse por desadenilación o degradarse por la actividad de la RNasa de Ago2 (Doench et al., 2003, Hutvagner et al., 2002, Liu et al., 2004, Meister et al., 2004, Petersen et al., 2006). Algunos miRNAs también sirven como guías para la metilación de secuencias complementarias lo cual también afecta al proceso de transcripción. Ago2 proporciona la actividad RNasa en el complejo RISC necesario para escindir los RNAm diana y es el único componente proteico requerido para la actividad RISC (Liu et al., 2004, Meister et al, 2004, Rivas et al., 2005).

La mejor comprensión de la biogénesis de los miRNAs y su papel en los procesos patogénicos nos ayudará a tener nuevas herramientas en el diagnóstico y pronóstico de la enfermedad, así como nuevas dianas terapéuticas.

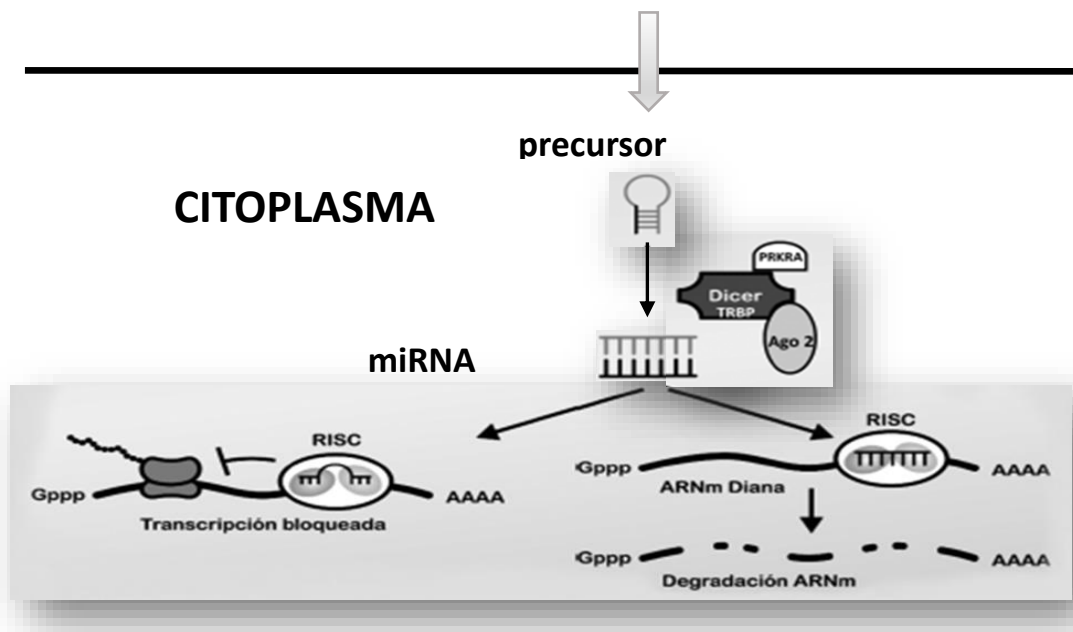


Figura 7. Fase citoplasmática de la Biogénesis de miRNAs

1.4.3. Función de los miRNAs

Los miRNAs juegan un papel fundamental en intrincados procesos celulares como el crecimiento celular (Joglekar et al., 2009; Reinhart et al., 2000), la diferenciación celular (Bonner-Weir, 1988), el neurodesarrollo (Joglekar et al., 2007), la secreción de insulina (Poy et al. 2004), la respuesta a estrés y el remodelado tisular. Es por ello y debido a su naturaleza que, en los últimos años están ganando no sólo un destacado papel en el campo de los biomarcadores, sino que también como potenciales dianas terapéuticas para el tratamiento de múltiples enfermedades. Los miRNAs también juegan un papel destacado en el campo de los biomarcadores (**Figura 8**) para muchas enfermedades, además de ser herramientas terapéuticas (Pescador et al., 2013).

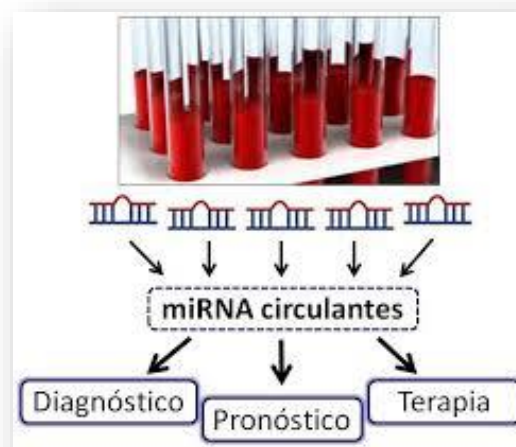


Figura 8. miRNAs circulares potenciales biomarcadores de diagnóstico y pronóstico de enfermedades además de dianas terapéuticas. Imagen de la Revista Eubacteria (Noviembre 2013)

Los mecanismos que los miRNAs llevan a cabo para regular la expresión génica son varios y actualmente permanecen bajo debate (Eulalio et al., 2008). Se ha sugerido que las diferencias observadas en diferentes estudios y/o poblaciones se deben a deficiencias en los experimentos realizados, originadas en algunos casos por la utilización de modelos erróneos en el caso de los estudios de regulación de la traducción (Kozak, 2008) . Según estos trabajos, la represión de expresión génica por parte de los miRNAs se daría por diferentes formas:

1. Por degradación de la molécula de RNAm.
2. Por degradación de la proteína durante la traducción.
3. Por inhibición de la elongación en la traducción.
4. Por finalización prematura de la traducción debido a la disgregación de los ribosomas.
5. Por inhibición en el proceso de iniciación de la traducción.

Los miRNA pueden inducir una degradación significativa de sus RNAm diana, a pesar de que el apareamiento ARNm-miRNA sea imperfecto. Sin embargo, el mecanismo de degradación suele ser diferente: los miRNA inducen la degradación de los ARNm diana mediante la eliminación de la caperuza en el extremo 5' y de la cola de poliadeninas en el extremo 3' (Eulalio et al., 2007). Finalmente, los miRNAs podrían también silenciar sus RNAm dianas secuestrándolos en sitios citoplásmicos discretos, los cuerpos de procesamiento de RNAm o en P bodies que carecen de maquinaria de traducción.

También en estudios recientes se ha podido observar que en determinadas condiciones, los miRNAs tienen también capacidad para activar la síntesis proteica (Vasudevan et al., 2007) y que un miRNA específico puede tener un efecto positivo y negativo en una misma célula dependiendo de su estado de diferenciación (Wang et al., 2013).

1.4.3.1. MicroRNAs circulantes como biomarcadores.

Los miRNAs también pueden considerarse como nuevos marcadores de diagnóstico. Han ganado este atributo por tres razones:

1. Su alta estabilidad después del aislamiento ya que tienen una considerable resistencia a temperatura ambiente y también durante múltiples ciclos de congelación-descongelación, probablemente debido a su unión con los complejos AGO2, las lipoproteínas y su enriquecimiento en vesículas circulantes.
2. Están presentes en la mayoría de los biofluidos humanos: plasma, suero, orina, saliva, leche materna, líquido seminal, etc....
3. Su expresión es significativamente diferente entre un estado normal con respecto a un estado patológico.

Los biomarcadores basados en miRNAs tienen la capacidad de identificar problemas metabólicos durante el estado latente de la enfermedad o fase preclínica, nos permiten evaluar la gravedad de la misma e identificar su predisposición (evaluar el riesgo), abordar la etiología, confirmar un diagnóstico o reducir la incidencia de un diagnóstico erróneo sobre la base de los marcadores clínicos actuales y, finalmente, controlar la respuesta biológica a cualquier intervención experimental o clínica. Sin embargo, el uso de miRNAs como biomarcadores de enfermedades requiere una estandarización cuidadosa de los métodos de manipulación del RNA como el aislamiento, la detección y la normalización del RNA, para obtener información fiable y reproducible (Schwazenbach et al., 2015).

En este sentido, los miRNAs pueden presentarse como nuevos biomarcadores de gran interés, ya que se ha demostrado que son resistentes a la actividad ARNasa en sangre periférica, lo que les confiere una elevada estabilidad tanto en suero como en plasma. Por otro lado, pueden ser bastantes reproducibles y tienen una elevada especificidad de tejido entre individuos (Gilad et al., 2008; Mitchell et al., 2008), aunque es cierto que no existe ningún consenso en el proceso de normalización.

Actualmente se han descrito distintas alteraciones en la expresión de los miRNAs fuertemente relacionadas con la aparición y desarrollo de enfermedades como el cáncer, DM2, obesidad, Alzheimer, osteoartritis, etc. (Borgonio Cuadra et al., 2014; Seeliger et al., 2014). También se ha visto cómo sus niveles varían con el envejecimiento (Wang et al., 2013). Todos estos datos les confieren un interesante papel dentro del campo de los biomarcadores para el diagnóstico y progresión de dichas enfermedades (Chien et al., 2015; Jingsheng et al., 2015; Kosaka et al., 2010).

1.4.3.2. MicroRNAs como dianas terapéuticas

Cómo ya se ha demostrado, los miRNAs juegan un papel fundamental en la regulación de múltiples procesos de modo que su modulación puede producir diferentes efectos allí donde puedan modularse sus niveles. Con ello, se abre una nueva ventana de posibilidades para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas para el tratamiento de diversas patologías. Actualmente, la industria farmacéutica está investigando dianas farmacológicas dirigidas a regular los niveles de diferentes miRNAs. Los miRNAs pueden ser bloqueados mediante los llamados anti-miRNAs o AMO (en inglés Anti-miRNA Oligonucleotides), los cuales son oligonucleótidos no codificantes sintéticos que inhiben por interacción competitiva la unión entre los miRNAs y su RNAm diana. Los utilizados más ampliamente son: 2'-O-methyl AMO, 2'-O-methoxyethyl AMO y el Locked Nucleic Acids (LNAs). La primera evidencia de un estudio *in vivo* con LNAs se realizó en el año 2000 en un estudio llevado a cabo en modelo animal de rata en el que se quería bloquear el receptor opiáceo delta para conseguir alterar la respuesta al dolor por un opiáceo (Wahlestedt et al., 2000). Por otro lado, puesto que muchos miRNAs trabajan en grupo para regular los procesos patológicos, se están desarrollando los llamados miRNAs "esponja", los cuales pueden transportar numerosos miRNAs a la vez y simular así este efecto de trabajo en colaboración. Pero en el caso de que se quieran restaurar los bajos niveles de un miRNA, la estrategia es diferente y para ello se usan los llamados miRNAs mimics o miRNAs miméticos. Éstos son moléculas de RNA de doble

cadena alterados químicamente que imitan a los miRNAs endógenos. Cuando se introducen en la célula son reconocidos por la maquinaria de la biogénesis de los miRNAs y son procesados como tal. El uso de miRNAs como agentes farmacológicos ya está siendo habitual en algunas patologías tumorales y víricas (Van Rooij et al., 2012). Existen distintas moléculas farmacológicas con acción inhibitoria de miRNAs que se han utilizado para el desarrollo de tratamiento de la hepatitis C, como por ejemplo el miR-1 (miravirsen) (Janssen et al. 2013) y RG-101.

1.4.4. miRNAs y su modulación y relación con dieta mediterránea.

Determinados nutrientes abundantes en la dieta mediterránea como los polifenoles, las vitaminas, la fibra dietética, la coenzima Q10, los PUFA (ácidos grasos poliinsaturados) y los minerales, son los responsables de los efectos beneficiosos sobre muchas enfermedades (Sciatti et al. 2016). Sus efectos protectores y beneficiosos para la salud se atribuyen a su rico contenido en componentes bioactivos presentes en el aceite de oliva, las frutas, las verduras y legumbres.

Sin embargo, hasta la fecha los mecanismos específicos por los cuales estos componentes bioactivos regulan el metabolismo y/o nuestra fisiología se desconocen en su totalidad. Estudios recientes han sugerido que la expresión génica puede modularse por miRNAs presentes en los alimentos (Cui et al., 2017). Por tanto, los componentes bioactivos de la dieta mediterránea tendrían la capacidad de cambiar la expresión de determinados miRNAs con el consecuente efecto sobre vías involucradas en el metabolismo.

Hay estudios que han demostrado como los ácidos grasos de la dieta, podrían regular la expresión de miRNAs en diferentes células y/o tejidos relacionados con la obesidad, la DM2 y enfermedades asociadas (Daimiel-Ruiz et al., 2015; Hernández-Alonso et al., 2017; Izzotti et al., 2012; Lorente-Cebrián et al., 2019; Quintanilha et al., 2017; Yang et al., 2019). Evidencia científica reciente indica como estos componentes

nutricionales, a través de los miRNAs podrían estar jugando un papel destacado en la regulación de estas vías por su papel en la modulación proteica. Entre estos componentes de la dieta mediterránea destacan los PUFA, las vitaminas como la E y la D, la fibra dietética o el selenio.

Entre los componentes nutricionales cardioprotectores que pueden afectar la expresión de miRNAs se encuentran PUFA omega-3 y omega-6 (Zheng et al., 2015). Se observó que los PUFA regulan negativamente el miRNA-146a en el endotelio células con inflamación inducida por lipopolisacáridos (Roessler et al., 2017). Este miRNA puede contribuir a la inducción de la inflamación vascular (Hulsmans et al., 2011). El estudio de Ma et al. (Ma et al., 2018) concluyó que los PUFA omega-3 pueden tener un efecto protector sobre los cardiomiocitos después de un infarto de miocardio a través de una regulación positiva de miRNAs antiapoptóticos y regulación negativa de miRNAs proapoptóticos.

Ortega y col. (Ortega et al., 2015) observaron una alteración en los niveles de 11 miRNAs cuando 30 personas sanas consumieron 30 g de frutos secos al día, alimento rico en PUFA, durante 8 semanas.

Algunos estudios recientes sugieren que las vitaminas pueden actuar a través de la regulación de los niveles de determinados miRNAs (Zeljic et al., 2017; Beckett et al., 2014). Karkeni y col. (Karkeni et al., 2018) mostraron que la vitamina D regulaba a la baja la expresión de miRNA-146a y mir-155 en adipocitos murinos mediante la inhibición de NF- κ B (factor nuclear kappa-beta), lo que finalmente conducía a una disminución de la inflamación. La deficiencia de la vitamina D también se ha relacionado con muchos trastornos patológicos como la hipertensión (Witham et al 2009), síndrome metabólico (Mitri et al., 2011) y enfermedad de las arterias coronarias (Kendrick et al., 2009) pero se desconocen en su totalidad los mecanismos involucrados y que parte de esta asociación estaría explicada por miRNAs.

Un estudio en modelo animal de rata con suplementación de tomate y licopeno experimentó una disminución de la fibrosis intersticial y una mejor disfunción diastólica

3 meses después de un infarto de miocardio. También observaron una expresión regulada a la baja de 8 miRNAs, mir-29, -mir-194, mir-503, mir-20a, mir-30a, mir-192, mir-30e y mir-126, después de la administración de licopeno. Con base a estos resultados, los autores sugirieron que la ingestión de licopeno podría tener un efecto beneficioso contra el infarto de miocardio a través de la modificación de la expresión del miRNA (Pereira et al., 2017).

El selenio es un mineral con gran poder antioxidante que puede encontrarse en muchos alimentos como hortalizas, vegetales, y cereales los cuales están presentes en la dieta mediterránea. En un estudio realizado en 443 pacientes sanos a los que se les administró selenio y coenzima Q10 durante 4 años, encontró al menos 70 miRNAs con diferencias significativas en su expresión en comparación con los pacientes con placebo (Alehagen et al., 2017).

Otro nutriente con un efecto beneficioso sobre la salud humana que puede actuar mediante una modulación de los miRNAs es la fibra dietética que aportan alimentos como frutas y verduras. El estudio de Hu et al. (Hu et al., 2011) informó de una asociación entre butirato, que es un metabolito de la fibra dietética y la expresión de varios miRNAs en el cáncer de colon humano células (HCT-116). Observaron niveles estadísticamente más bajos en 6 miRNAs en presencia de butirato, los cuales también se expresaron en el corazón y en relación con la enfermedad arterial (Schulte et al., 2017).

Los componentes dietéticos bioactivos como PUFA, vitaminas y minerales pueden ser efectivos en la prevención y tratamiento de la enfermedad cardiovascular debido a su capacidad para cambiar la expresión de miRNAs, modulando así vías importantes implicadas en el metabolismo de los lípidos, la función endotelial, la hipertrofia y/o la fibrosis. La capacidad de los nutrientes de los alimentos para modular los miRNAs involucrados en la función y el desarrollo del corazón (principalmente miRNA-1, -21, -133 y -155) da más razones para la necesidad de investigación adicional para determinar si estas interacciones entre los alimentos y los miRNAs pueden servir como objetivos para nuevos enfoques terapéuticos de la enfermedad cardiovascular.

Por ello, el estudio de la modulación de miRNAs asociada a una dieta, en este caso a la dieta mediterránea, representa un campo importante de investigación que permitiría la implantación de esta dieta como parte del tratamiento, así como el desarrollo de programas de prevención nutricional personalizada para enfermedades metabólicas y/o cardiovasculares.

2. JUSTIFICACIÓN



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

El presente trabajo surge en la Unidad de Gestión Clínica (UGC) de Endocrinología y Nutrición del Hospital Regional Universitario de Málaga en el año 2014, con la idea de realizar un estudio para valorar la adherencia a la dieta mediterránea en pacientes con obesidad mórbida y estudiar su asociación con el síndrome metabólico y estilo de vida. Además, planteamos estudiar esta asociación en función de ciertos niveles de miRNAs medidos en suero. Para ello, seleccionamos sujetos no obesos y pacientes con obesidad mórbida del estudio di@bet.es, junto con un grupo de pacientes con obesidad mórbida incluidos en la lista de espera quirúrgica para cirugía bariátrica y que son valorados en el servicio de Endocrinología y Nutrición para dicha intervención.

Se recopilaron datos antropométricos y bioquímicos sobre estos pacientes al mismo tiempo que se les realizó el cuestionario MEDAS y de ejercicio físico con el International Physical Activity Questionnaire (IPAQ). Queríamos evaluar si la adherencia a la dieta mediterránea junto con un estilo de vida saludable está asociado a una mejor calidad de vida y menor prevalencia de síndrome metabólico en los pacientes con obesidad mórbida. También nos planteamos estudiar si ciertos niveles de miRNAs en suero estaban relacionados con la dieta mediterránea y/o consumo de ciertos alimentos para conocer su posible efecto en el metabolismo.



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

3.1. Hipótesis

- La adherencia a la dieta mediterránea se asocia a un estilo de vida más saludable en los pacientes con obesidad mórbida.
- La adherencia a la dieta mediterránea se asocia a una menor prevalencia del síndrome metabólico en pacientes con obesidad mórbida.
- La adherencia a la dieta mediterránea y el síndrome metabólico podrían estar asociados con los niveles séricos de determinados miRNAs.

3.2. Objetivos

El objetivo principal de este estudio es conocer la asociación entre la adherencia a la dieta mediterránea y el síndrome metabólico en pacientes con obesidad mórbida, así como estudiar su relación con niveles séricos de determinados miRNAs. Como objetivos más específicos se establecen:

1. Comparar la adherencia a la dieta mediterránea mediante el cuestionario MEDAS en sujetos no obesos y en pacientes con obesidad mórbida.
2. Conocer la asociación entre la adherencia a la dieta mediterránea y de cada uno de los criterios que definen el síndrome metabólico en pacientes con obesidad mórbida.
3. Estudiar la asociación entre la adherencia a la dieta mediterránea con la actividad física, medida por el cuestionario IPAQ, y con el nivel de estudios de los pacientes con obesidad mórbida.
4. Analizar la asociación entre el síndrome metabólico con la actividad física y con el nivel de estudios de los pacientes con obesidad mórbida
5. Conocer los miRNAs séricos que se asocian con la adherencia a la dieta mediterránea y el síndrome metabólico en los pacientes con obesidad mórbida.



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

4. MATERIALES Y MÉTODOS



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

4.1. Diseño y sujetos del estudio

4.1.1. Diseño del estudio

El presente trabajo es un estudio observacional y transversal de tipo inferencial realizado en un grupo de sujetos con obesidad mórbida ($IMC \geq 40 \text{ kg/m}^2$) para estudiar la asociación entre la dieta mediterránea, el síndrome metabólico y el estilo de vida, y conocer además la posible asociación con los niveles de determinados miRNAs medidos en suero.

4.1.2. Sujetos del estudio

Para la realización del estudio se reclutaron por un lado, pacientes con obesidad mórbida que son evaluados en la consulta de la UGC de Endocrinología y Nutrición del Hospital Regional Universitario de Málaga antes de someterse a cirugía bariátrica y, por otro lado, un grupo de pacientes con obesidad mórbida incluidos en el estudio [Di@bet.es](#). Como grupo control se incluyeron sujetos sin obesidad del estudio [Di@bet.es](#). El estudio [Di@bet.es](#) (Soriguer et al., 2012) es un proyecto que se inició en 2006 a instancias del Ministerio de Salud y Consumo en colaboración con la SED (Sociedad Española de Diabetes) y la FED (Federación Española de Diabetes). El estudio recoge 5070 sujetos mayores de 18 años con datos basales procedentes de un muestreo aleatorio por conglomerados a partir de los registros de la tarjeta sanitaria de la población general española y fue diseñado para conocer los datos de prevalencia e incidencia de la DM2 y sus factores de riesgo en la población española. La investigación de este trabajo se llevó a cabo de acuerdo con la Declaración de Helsinki de la World Medical Association. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Investigación Provincial de Málaga (Málaga, España) (PI18/01165) y se obtuvo el consentimiento informado por escrito de todos los participantes.

Se consideraron sujetos con obesidad mórbida a aquellos individuos con un $IMC \geq 40$ kg/m^2 (n=181) y sujetos no obesos a aquellos con un $IMC \leq 30$ kg/m^2 (n=128) según la clasificación propuesta por la OMS (Tabla 3). Respecto a los sujetos control fueron seleccionados aquellos procedentes de la Comunidad Autónoma de Andalucía, con un criterio de normopeso o sobrepeso, con una edad (45-60 años) y género similar a la del grupo de obesos mórbidos. Se excluyeron aquellos sujetos con enfermedad grave o cirugía que impidiera la realización del estudio o el otorgamiento de consentimiento informado, embarazo o lactancia, y aquellos sujetos que rehusaron participar en el estudio.

Tabla 3. Criterios de la OMS para definir la obesidad en grados según el IMC

Tipificación	Valores límites de IMC (Kg/m ²)
Infrapeso	<18.5
Normopeso	18.5-24.9
Sobrepeso	25-29.9
Obesidad grado 1	30-34.9
Obesidad grado 2	35-39.9
Obesidad grado 3 (mórbida)	≥ 40

4.2. Cuestionario de adherencia a la dieta mediterránea (MEDAS)

La adherencia a la dieta mediterránea se determinó mediante un cuestionario de frecuencia alimentaria puntuado y validado previamente (Bottcher et al., 2017). Se trata de un breve cuestionario de 14 ítems que ha sido adaptado de un cuestionario más extenso para facilitar su uso (Schröder et al., 2011). Con dicho cuestionario se evalúa el consumo de alimentos, concretamente se evalúa la cantidad de 12 componentes principales consumidos y dos hábitos alimentarios relacionados con la dieta

mediterránea. Cada uno de los 14 ítems se puntúa con 1 punto o 0 puntos, dependiendo de si los participantes son adherentes a cada componente de la dieta mediterránea (1 punto) o no (0 puntos). Aquellos sujetos con una puntuación ≥ 9 se consideraron adherentes a la dieta mediterránea (Adh-DMed) y aquellos sujetos con una puntuación < 9 se consideraron no adherentes a la dieta mediterránea (No Adh-DMed) (Schröder et al., 2011). El cuestionario con las 14 preguntas se presenta en la figura 9.

Tanto los sujetos con obesidad mórbida como los controles se clasificaron en dos grupos en función de ser o no ser adherentes a la dieta mediterránea según los datos obtenidos tras la realización del cuestionario validado MEDAS (Figura 9).

4.3. Variables de estudio

Toda la información recabada para el estudio se obtuvo mediante una visita realizada por personal cualificado y formado adecuadamente para ello. A los participantes se les realizó una extracción de sangre junto con un examen físico general y a continuación procedieron a la realización del cuestionario de adherencia a la dieta mediterránea junto con las preguntas sobre su actividad física.

A continuación, se describen las variables recogidas en el estudio:

4.3.1. Variables clínicas y antropométricas

Las determinaciones de peso y talla y los perímetros de cintura y cadera se midieron con métodos estandarizados y escalas calibradas ("Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO Expert Committee.," 1995). La presión arterial se registró con un dispositivo de determinación de la presión arterial (Hem-703C, Omron, Barcelona, España) con el sujeto sentado y después de 5 minutos

de reposo. Se obtuvieron dos lecturas y su media se utilizó en los análisis (Soriguer et al., 2003).

CUESTIONARIO DE ADHERENCIA A LA DIETA MEDITERRÁNEA

Nos interesa conocer sus hábitos de alimentación, por ello necesitamos que responda a algunas cuestiones relacionadas con su dieta. Le informamos que este cuestionario es totalmente anónimo.

Muchas gracias por su colaboración			
Nº	Pregunta	Modo de valoración	Puntos
1	¿Usa usted el aceite de oliva principalmente para cocinar?	Si =1 punto	<input type="checkbox"/>
2	¿Cuánto aceite de oliva consume en total al día (incluyendo el usado para freír, el de las comidas fuera de casa, las ensaladas, etc.)?	Dos o más cucharadas =1 punto	<input type="checkbox"/>
3	¿Cuántas raciones de verdura u hortalizas consume al día (las guarniciones acompañamientos contabilizan como ½ ración)?	Dos o más al día (al menos una de ellas en ensaladas o crudas)= 1 punto	<input type="checkbox"/>
4	¿Cuántas piezas de fruta (incluyendo zumo natural) consume al día?	Tres o más al día= 1 punto	<input type="checkbox"/>
5	¿Cuántas raciones de carnes rojas, hamburguesas, salchichas o embutidos consume al día (una ración equivale a 100-150 gr.)?	Menos de una al día= 1 punto	<input type="checkbox"/>
6	¿Cuántas raciones de mantequilla, margarina o nata consume al día porción individual equivale a 12 gr)?	Menos de una al día= 1 punto	<input type="checkbox"/>
7	¿Cuántas bebidas carbonatadas y/o azucaradas (refrescos, colas, tónicas, bitter) consume al día?	Menos de una al día= 1 punto	<input type="checkbox"/>
8	¿Bebe vino? ¿Cuánto consume a la semana?	Tres o más vasos por semana= 1 punto	<input type="checkbox"/>
9	¿Cuántas raciones de legumbres consume a la semana (una ración o plato equivale a 150 gr)?	1 res o más por semana= 1 punto	<input type="checkbox"/>
10	¿Cuántas raciones de pescado o mariscos consume a la semana (un plato, pieza o ración equivale a 100-150 gr de pescado ó 4-5 piezas de marisco)?	Tres o más por semana= 1 punto	<input type="checkbox"/>
11	¿Cuántas veces consume repostería comercial (no casera) como galletas, flanes, dulces o pasteles a la semana?	Menos de tres por semana= 1 punto	<input type="checkbox"/>
12	¿Cuántas veces consume frutos secos a la semana (una ración equivale a 30 gr)?	Una o más por semana= 1 punto	<input type="checkbox"/>
13	¿Consume preferentemente carne de pollo, pavo o conejo en vez de ternera, cerdo, hamburguesas o salchichas (carne de pollo: una pieza o ración equivale a 100- 150 gr)?	Si= 1 punto	<input type="checkbox"/>
14	¿Cuántas veces a la semana consume los vegetales cocinados, la pasta, el arroz u otros platos aderezados con una salsa de tomate, ajo, cebolla o puerro elaborada a fuego lento con aceite de oliva (sofrito)?	Dos o más por semana= 1 punto	<input type="checkbox"/>
Resultado final, puntuación total			<input type="checkbox"/>

PUNTUACIÓN TOTAL:
 < 9 baja adherencia
 >= 9 buena adherencia

Figura 9. Cuestionario de adherencia a la dieta mediterránea (MEDAS).

4.3.2. Variables bioquímicas

En la misma visita a todos los pacientes se le extrajo una muestra de sangre venosa tras 10 horas de ayuno. Las muestras se centrifugaron inmediatamente y las muestras de suero se almacenaron a -80°C para su posterior análisis. La glucosa sérica, los triglicéridos y el colesterol se midieron enzimáticamente y el colesterol HDL por un método directo en un analizador Architect C8000 (Abbott Laboratories SA, Madrid, España). La insulina sérica se midió mediante inmunoquimioluminiscencia en un analizador Architect I8000 (Abbott Laboratories SA). El colesterol LDL se estimó mediante la fórmula de Friedewald. El índice de resistencia a la insulina se calculó mediante la fórmula: $\text{HOMA-IR} = (\text{glucosa sérica (mmol/L)} \times \text{insulina sérica } (\mu\text{UI/L}) / 22.5$.

4.4. Clasificación del síndrome metabólico

Para los análisis en relación a la presencia de síndrome metabólico se consideró la clasificación según los criterios de la Federación Internacional de Diabetes (IDF) (Alberti, Zimmet, & Shaw, 2006) (**Tabla 4**). Esta clasificación considera la adiposidad central o abdominal indispensable para establecer el diagnóstico de síndrome metabólico. La obesidad central es un requisito necesario, pero, además, el sujeto tiene que cumplir al menos dos requisitos o criterios más del resto de los cuatro que se incluyen en esta clasificación. A continuación, se recogen los criterios que se consideran para la definición de síndrome metabólico, así como los valores tenidos para cada uno de ellos (**Tabla 4**).

Tabla 4. Criterios considerados para la definición de la presencia de síndrome metabólico propuesta por la IDF

Criterios	Valores
Obesidad central	Perímetro de la cintura considerado en europeos: Varones ≥ 94 cm Mujeres ≥ 80 cm
Más dos de los factores siguientes:	
Aumento de los triglicéridos	≥ 1.7 mmol/L (150 mg/dl) o tratamiento específico para esta alteración lipídica.
Disminución del colesterol HDL	< 1.03 mmol/L (40 mg/dl) en los varones, < 1.29 mmol/L (50 mg/dl) en las mujeres, o tratamiento específico para esta alteración lipídica.
Aumento de la presión arterial	Sistólica ≥ 130 mmHg o bien diastólica: ≥ 85 mmHg, o bien tratamiento para la hipertensión.
Incremento de la glucosa basal en ayunas	≥ 5.6 mmol/L (100 mg/dl), o bien DM2 diagnosticada previamente.

4.5. Evaluación de actividad física

Para la evaluación de la actividad física de los pacientes analizados en el estudio, se realizó una clasificación de los mismos en 2 categorías: se consideraron con una actividad física saludable a todos aquellos que caminaron al menos 30 minutos al día al menos una vez por semana. Aquellos sujetos que tuvieron una actividad física menor fueron considerados como sujetos con actividad física no suficiente (Pate et al, 1995).

Los sujetos realizaron el cuestionario IPAQ y sólo se recogieron las preguntas 5 y 6 para obtener la información necesaria para nuestra clasificación, haciendo la conversión a minutos en cada caso. Se seleccionaron dichas preguntas teniendo en cuenta las limitaciones de movilidad y de realización de ejercicio físico intenso/moderado de pacientes con obesidad mórbida con respecto a la población general. A continuación, se recogen las preguntas 5 y 6 del cuestionario IPAQ:

“Piense en el tiempo que usted dedicó a caminar en los últimos 7 días. Esto incluye caminar en el trabajo o en la casa, para trasladarse de un lugar a otro, o cualquier otra caminata que usted podría hacer solamente para la recreación, el deporte, el ejercicio o el ocio.

Pregunta 5. Durante los últimos 7 días, ¿En cuántos caminó por lo menos 10 minutos seguidos?

_____ días por semana

Ninguna caminata. Vaya a la pregunta 7.

Pregunta 6. Habitualmente, ¿cuánto tiempo en total dedicó a caminar en uno de esos días?

_____ horas por día _____ minutos por día

No sabe/No está seguro”

4.6. Evaluación nivel de estudios

Para la evaluación de los sujetos en función de su nivel educacional se les clasificó en dos categorías, aquellos con nivel básico de estudios, por un lado, frente a los que tenían estudios superiores. En cada categoría se tuvieron en cuenta los siguientes estudios realizados:

- Nivel básico de estudios: sin estudios y hasta bachiller, que incluyen:
 - No sabe leer o escribir.
 - Sin estudios.
 - Primarios (hasta 12 años).
 - Secundarios (hasta 16 años).
 - Bachiller o FP (hasta 18 años).

- Nivel superior de estudios:
 - Universitarios primer ciclo.
 - Universitarios segundo o tercer ciclo.

4.7. Determinación de los niveles de miRNAs

4.7.1. Criterios de selección de los miRNAs analizados

Los miRNAs seleccionados para nuestro estudio se eligieron a partir de aquellos cuyos niveles de expresión en suero eran significativamente diferentes en función de la presencia o ausencia de DM2, obtenidos en un cribado previo realizado en sujetos con obesidad mórbida. El cribado se realizó en 32 muestras de suero de pacientes con obesidad mórbida, cuyas características bioquímicas y antropométricas eran similares a la población de nuestro estudio. En total se cribaron 742 miRNAs con LNA™ Universal miRCURY microARN RT PCR, 4x Human Panel I + II, en placas de 384 pocillos PCR (Exiqon A/S Vedbaek, Dinamarca). Finalmente se incluyeron cinco miRNAs según el criterio mencionado. De algunos de ellos existía previamente evidencia científica y, por tanto, trabajos publicados donde se les relacionaba con alteraciones metabólicas como la DM2, la enfermedad cardiovascular y la obesidad (hsa-miR-21-5p, hsa-miR-192-5p y hsa-miR-107). De otros, sin embargo, (hsa-let-7a-5p y hsa-miR-590-5p), por primera vez se evaluaban directamente con relación a estas patologías. A continuación, se presenta información más detallada de los miRNAs analizados en este estudio (**Tabla 5**):

Tabla 5. Relación de miRNAs analizados en el estudio

Nombre miRNAs	Número de acceso	Secuencia
Hsa-let-7a-5p	MIMAT0000062	5'UGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU 3'
Hsa-miR-21-5p	MIMAT0000076	5'UAGCUUAUCAGACUGAUGUUGA 3'
Hsa-miR-590-5p	MIMAT0003258	5'GAGCUUAUUCAUAAAAGUGCAG 3'
Hsa-miR-107	MIMAT0000104	5'AGCAGCAUUGUACAGGGCUAUC 3'
Hsa-miR-192-5p	MIMAT0000222	5'CUGACCUAUGAAUUGACAGCC 3'

4.7.2. Extracción de los miRNAs

La extracción de miRNAs se realizó mediante un método automatizado en el equipo Maxwell 16 de Promega con el Maxwell® 16 miRNA Tissue Kit (Promega Biotech Ibérica SL, Madrid, España). Se partieron de 200 µl de suero de cada sujeto, añadiéndose los siguientes reactivos:

- 200 ul de solución de homogenización.
- 200 ul de buffer de lisis.
- 25 ul de proteína K.

A continuación, se procedió a una incubación de 15 minutos a 37°C mientras se procedía al montaje del cartucho de extracción. Se cargaron 10 µl de la solución DNasa 1 (azul) en la posición 4ª del cartucho (amarillo), cuya mezcla hace que vire a color verde.



Figura 10. Esquema de la disposición del rack de extracción de 16 cartuchos de Maxwell.

Tras la incubación se cargó el total de la mezcla en la posición 1 del cartucho para pasar a cargarla en el aparato e iniciar el programa correspondiente. El producto de la extracción se recogió en tubos estériles de 200 μ l, quedando diluida en un volumen final de 30 μ l en agua libre de ARNas.

4.7.3. Reversotranscripción a cDNA

A continuación, se realizó la reversotranscripción a cDNA por transcripción inversa con el kit de síntesis de cDNA universal (Exiqon A/S Vedbaek, Dinamarca) siguiendo las recomendaciones del fabricante. Se preparó la mezcla de reacción con los siguientes reactivos y correspondientes volúmenes (**Tabla 6**):

Tabla 6. Reactivos y volúmenes para realizar la mezcla de reacción para la reversotranscripción a cDNA

Reactivos	Volumen (μ l)
Buffer reacción 5X	2
Agua libre de ARNsas	5
Enzima	1
miRNAs	2
Volumen total	10

Las mezclas de cada muestra, colocadas en tubos de 200 μ l, se introdujeron en el termociclador con el siguiente programa:

- 60 minutos a 42°C.
- 5 minutos a 95°C para inactivación de la enzima.
- Mantenimiento a 4°C hasta su almacenamiento a -20°C.

4.7.4. Expresión de miRNAs

Las mediciones de los niveles de expresión de miRNAs se realizaron mediante qPCR en tiempo real en 384 placas en un Light Cycler 480 (Roche Diagnostics, S.L, Barcelona, España) en la plataforma de Genómica del Instituto de Investigación Biomédica de Málaga (IBIMA). La mezcla maestra se preparó siguiendo las pautas de Exiqon con GoTaq (R) qPCR Master Mix (Promega Biotech Ibérica S.L., Madrid, España), y los conjuntos de cebadores específicos LNATM PCR (Exiqon A/S Vedbaek, Dinamarca) (Tabla 7). Se añadieron 220 μ l de agua libre de nucleasas en cada uno de los viales de los diferentes miRNAs LNATM PCR primer set, correspondientes a los miRNAs a determinar. Antes de su uso se les dio un spin y se dejaron reposar 20 minutos para asegurar su correcta

deslíoifilización. Seguidamente se preparó la mix para cada muestra de la siguiente manera:

Tabla 7. Reactivos y volúmenes de la mezcla para la realización de la PCR a tiempo real.

Reactivos	Volumen (µl)
GoTaq (R) qPCR Master Mix, 2X	5
LNA™ PCR primers	1
cDNA	4
Volumen total	10

Las muestras se cargaron en placas de 384, tras lo cual se realizó un spin para su correcta mezcla y homogenización. Una vez introducida la placa en el termociclador, se cargó el siguiente programa para la realización de la PCR a tiempo real (**Tabla 8**):

Tabla 8. Programa para la realización de la PCR a tiempo real

	Ciclos	Temperatura/tiempo
Activación	1	95°C/2 minutos
Desnaturalización	40/45	95°C/15 segundos
Elongación		60°C/60 segundos
Disociación	1	60-95°C

4.7.5. Análisis miRNAs

El análisis de miRNAs se realizó mediante el método delta-Ct. El miR-484 fue seleccionado como el miRNAs normalizador después de un análisis con RefFinder (<https://www.heartcure.com.au/reffinder/?type=reference>), con el que se determinó cual era el miRNAs más estable de entre todos los miRNAs analizados en el cribado

previo realizado en sujetos con obesidad mórbida (datos no mostrados). Para la normalización, estandarización y análisis de los datos, se incluyeron controles negativos y un calibrador específico en todas las placas para la normalización interplaca. Aquellas determinaciones de miRNAs con $Cts > 38$ se consideraron por debajo del límite de detección y se retiraron del análisis.

4.8. Análisis estadísticos

Los análisis estadísticos se realizaron con SPSS v20 (IBM., Chicago, IL, EE.UU.). La comparación entre variables de los diferentes grupos se realizó con la prueba de Mann-Whitney y regresiones logísticas. Los análisis por regresión logística para las variables dependientes adherencia a la dieta mediterránea y síndrome metabólico se realizaron con la edad, sexo e IMC como covariables. Se utilizó la prueba de chi-cuadrado para evaluar el grado de asociación entre variables categóricas. Los valores se consideraron estadísticamente significativos cuando $p \leq 0.05$.

4.9. Limitaciones del estudio

Este trabajo tiene varias limitaciones. Sabemos que los pacientes con obesidad mórbida poseen comportamientos nutricionales peculiares en cuanto al tipo y cantidad ingerida de alimentos. Esto podría estar condicionando los resultados de este estudio referentes a la adherencia a la dieta mediterránea. Por ello nuestros datos no pueden extrapolarse a pacientes no obesos. Además, en este estudio solo analizamos algunas variables dietéticas y exclusivamente los alimentos recogidos según el cuestionario MEDAS, pero en ningún caso nutrientes bioactivos individuales ni mecanismos de acción directos de los posibles responsables de las asociaciones encontradas. Esos aspectos se están estudiando en otros estudios que se están realizando dentro de nuestro grupo de investigación.

Por otro lado, los miRNAs aquí estudiados fueron seleccionados de un cribado previo realizado en el grupo en el que se propusieron por ser candidatos potenciales para la regulación diferencial respecto a los criterios metabólicos. Actualmente, hay otros muchos miRNAs con evidencia científica de estar modulados por componentes de la dieta y que no se han incluido en este estudio. No descartamos medirlos en trabajos próximos. Además, debido al pequeño tamaño de los grupos en los que se midieron los niveles de miRNAs, estos resultados pueden considerarse preliminares. Estos resultados aquí presentados pueden servir de guía inicial para el desarrollo de futuros trabajos con grupos de sujetos mayores y combinados con estudios funcionales *in vitro* que puedan darnos más luz acerca de la modulación de los niveles de miRNAs por los compuestos bioactivos de la dieta.

5. RESULTADOS



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

5.1. Adherencia a la dieta mediterránea

En la **Figura 11** mostramos el porcentaje de sujetos con adherencia (Adh-DMed) o sin adherencia a la dieta mediterránea (No Adh-DMed) dentro de los grupos de sujetos no obesos y sujetos con obesidad mórbida.

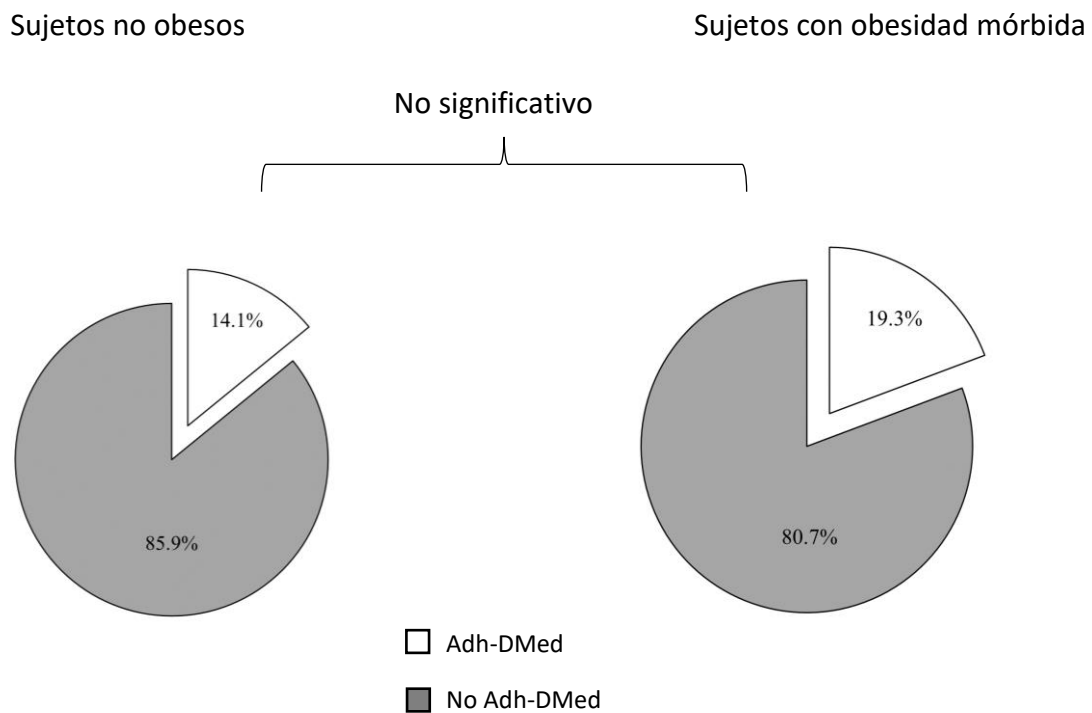


Figura 11. Porcentaje de sujetos no obesos y con obesidad mórbida en función de la adherencia (Adh-DMed)/no adherencia a la dieta mediterránea (No Adh-DMed)

En la **Tabla 9** se muestran las características bioquímicas y antropométricas de los sujetos incluidos en el estudio en función de si son Adh-DMed o No Adh-DMed. Podemos observar que existen diferencias estadísticamente significativas en los sujetos no obesos en distintos parámetros bioquímicos, como el colesterol y el colesterol HDL. Entre los sujetos con obesidad mórbida, existen diferencias significativas sólo en la TAD.

Tabla 9. Características bioquímicas y antropométricas de los sujetos incluidos en el estudio en función de la adherencia/no adherencia a la dieta mediterránea

	Sujetos no obesos		P	Sujetos con obesidad mórbida		P
	Adh-DMed	No Adh-DMed		Adh-DMed	No Adh-DMed	
N (hombre/mujer)	32 (7/25) (21.9%/78.1%)	96 (31/65) (32.3%/67.7%)	Ns	35 (14/21) (40%/60%)	146 (48/98) (32.9%/67.1%)	Ns
Edad (años)	52.2 ± 4.1	52.0 ± 3.5	Ns	55.6 ± 15.5	50.5 ± 13.5	Ns
Peso (Kg)	69.2 ± 9.7	69.0 ± 9.1	Ns	121.0 ± 24.9	118.5 ± 23.1	Ns
IMC (Kg/m²)	26.7 ± 2.2	26.3 ± 2.4	Ns	45.6 ± 6.41	45.7 ± 6.2	Ns
Cintura (cm)	90.4 ± 9.3	90.3 ± 8.8	Ns	130.2 ± 17.7	128.8 ± 14.6	Ns
Cadera (cm)	102.2 ± 5.8	102.0 ± 6.3	Ns	135.0 ± 18.6	135.6 ± 14.1	Ns
TAS (mmHg)	131.0 ± 18.3	126.4 ± 17.1	Ns	141.4 ± 17.5	142.9 ± 22.7	Ns
TAD (mmHg)	81.5 ± 23.5	76.8 ± 8.8	Ns	79.3 ± 10.5	83.5 ± 10.7	0.042
Glucosa (mg/dl)	94.8 ± 13.8	103.8 ± 42.5	Ns	113.5 ± 45.8	113.3 ± 40.3	Ns
TG (mg/dl)	123.3 ± 72.9	121.2 ± 79.5	Ns	165.9 ± 89.3	140.1 ± 62.8	Ns
Colesterol (mg/dl)	217.0 ± 40.3	212.1 ± 38.3	0.021	191.4 ± 35.9	191.8 ± 34.3	Ns
Col-LDL (mg/dl)	118.3 ± 31.5	117.4 ± 30.5	Ns	107.5 ± 25.4	108.2 ± 26.4	Ns
Col-HDL (mg/dl)	57.3 ± 13.7	55.3 ± 13.2	0.021	43.3 ± 10.6	45.8 ± 10.2	Ns
Insulina (μUI/ml)	7.4 ± 3.3	6.9 ± 3.3	Ns	19.2 ± 13.3	19.1 ± 15.4	Ns
HOMA	1.7 ± 0.8	1.8 ± 1.3	Ns	5.8 ± 5.7	5.6 ± 6.2	Ns

Datos expresados como media ± Desviación estándar. IMC (índice masa corporal); TAS: tensión arterial sistólica; TAD: tensión arterial diastólica; TG: triglicéridos; Col-LDL: colesterol LDL; Col-HDL: colesterol HDL. Diferencias estadísticamente significativas cuando $p \leq 0.05$. Ns: no significativo.

5.1.1. Estudio de cada uno de los ítems que definen la dieta mediterránea

Una vez vista la adherencia a la dieta mediterránea en sujetos no obesos y con obesidad mórbida, procedimos a analizar cada uno de los ítems del cuestionario MEDAS, los cuales están relacionados con el patrón de alimentación que siguen los sujetos.

Ítem 1: ¿Usa usted el aceite de oliva principalmente para cocinar?

En la **Tabla 10** se muestran aquellas variables antropométricas y bioquímicas que eran significativamente diferentes entre los sujetos que cumplían o no cumplían el ítem

1 del cuestionario MEDAS dentro del grupo de no obesos y de sujetos con obesidad mórbida. Podemos observar que sólo hay diferencias significativas entre las variables de peso e IMC en los sujetos con obesidad mórbida.

Tabla 10. Variables bioquímicas y antropométricas significativas de los sujetos del estudio en función de si usa principalmente aceite de oliva para cocinar

	Sujetos no obesos		P	Sujetos con obesidad mórbida		P
	SI	NO		SI	NO	
Peso (Kg)	70.4 ± 9.1	68.6 ± 9.5	Ns	121.3 ± 25.5	114.1 ± 17.3	0.029
IMC (Kg/m²)	26.2 ± 2.1	26.5 ± 2.4	Ns	46.2 ± 6.8	44.4 ± 4.5	0.037

Datos expresados como media ± desviación estándar. IMC: índice de masa corporal. Resultados estadísticamente significativos cuando $P \leq 0.05$. Ns: no significativo.

En la **Figura 12** se muestra el porcentaje de sujetos no obesos y con obesidad mórbida que cumplen el ítem nº1 del cuestionario MEDAS (*¿Usa usted el aceite de oliva principalmente para cocinar?*).

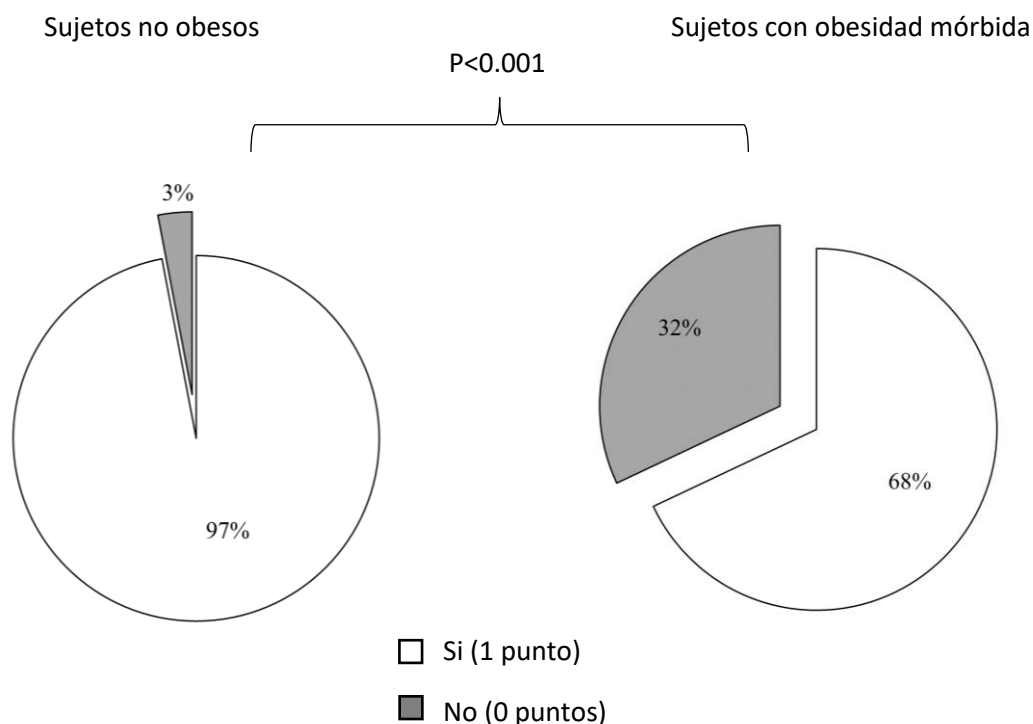


Figura 12. Porcentaje de sujetos no obesos y con obesidad mórbida en función de si usan el aceite de oliva principalmente para cocinar. Si cumple este ítem=1 punto. Si no cumple este ítem=0 puntos. $P < 0.001$: diferencia estadísticamente significativa entre las proporciones de ambos grupos de sujetos.

Ítem 2: ¿Cuánto aceite de oliva consume en total al día (incluyendo el usado para freír, el de las comidas fuera de casa, las ensaladas, etc.)?

En la **Figura 13** se muestra el porcentaje de sujetos no obesos y con obesidad mórbida que cumplen el ítem nº2 del cuestionario MEDAS (*¿Cuánto aceite de oliva consume en total al día?*).

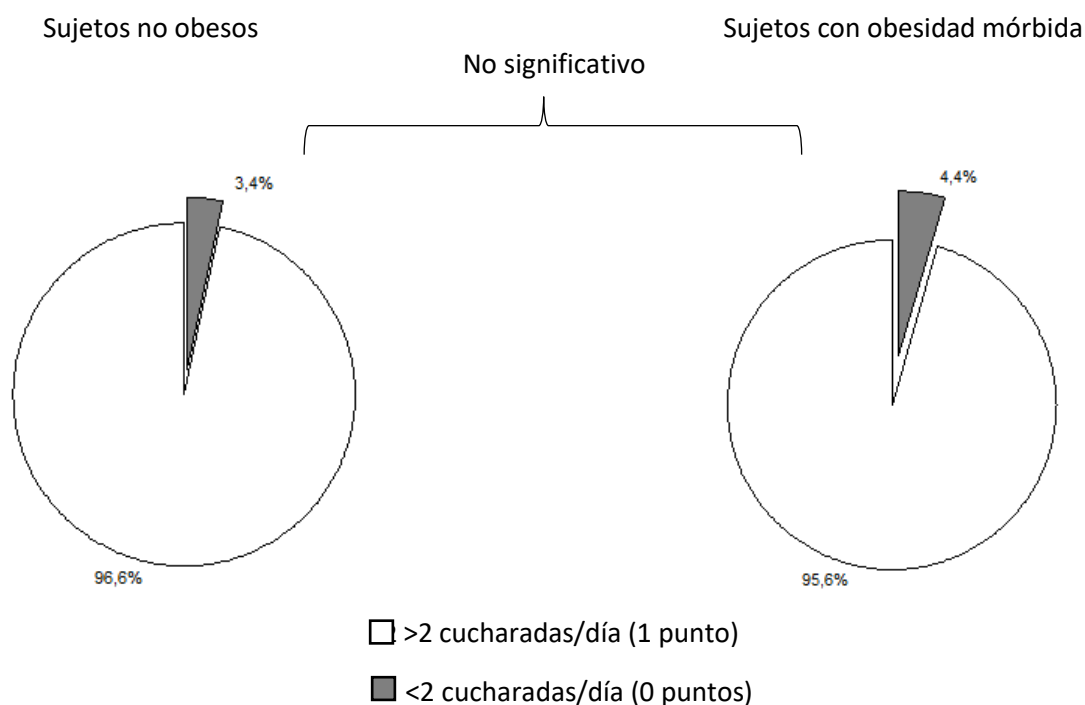


Figura 13. Porcentaje de sujetos no obesos y con obesidad mórbida en función de cuánto aceite de oliva consumen en total al día. Se muestra la puntuación en función del nº de cucharadas de aceite de oliva/día

En la **Tabla 11** se muestran aquellas variables antropométricas y bioquímicas que eran significativamente diferentes entre los sujetos que cumplían o no cumplían el ítem 2 del cuestionario MEDAS dentro del grupo de no obesos y de sujetos con obesidad mórbida. Podemos observar que hay diferencias significativas en las variables de tensión arterial sistólica y diastólica, así como de colesterol HDL en los sujetos no obesos. Hay diferencias significativas en las variables de tensión arterial diastólica y triglicéridos en los sujetos con obesidad mórbida. En el resto de las variables antropométricas y bioquímicas no se han encontrado diferencias significativas.

Tabla 11. Variables antropométricas y bioquímicas significativas de los sujetos del estudio en función de cuánto aceite de oliva consumen en total al día

	Sujetos no obesos		P	Sujetos con obesidad mórbida		P
	≥2 cucharadas por día	<2 cucharadas por día		≥2 cucharadas por día	<2 cucharadas por día	
TAS (mmHg)	129.8 ± 18.7	148.6 ± 16.5	0.015	141.7 ± 18.4	141.6 ± 24.4	Ns
TAD (mmHg)	78.3 ± 10.9	88.7 ± 11.9	0.043	83.1 ± 10.7	73.6 ± 7.3	0.024
Col-HDL (mg/dl)	56.4 ± 13.4	46.9 ± 7.1	0.011	45.1 ± 10.3	49.7 ± 10.1	Ns
TG (mg/dl)	121.7 ± 77.8	131.1 ± 35.4	Ns	147.1 ± 69.7	102 ± 36.5	0.016

Datos expresados como media ± desviación estándar. TAS: tensión arterial sistólica. TAD: tensión arterial diastólica. Col-HDL: colesterol HDL. TG: triglicéridos. Diferencias estadísticamente significativas cuando $P \leq 0.05$. Ns: no significativo.

Ítem 3. ¿Cuántas raciones de verduras u hortalizas consume al día (las guarniciones acompañamientos contabilizan como ½ ración)?

En la **Figura 14** se muestra el porcentaje de sujetos no obesos y con obesidad mórbida que cumplen el ítem nº3 del cuestionario MEDAS (¿Cuántas raciones de verduras u hortalizas consume al día?).

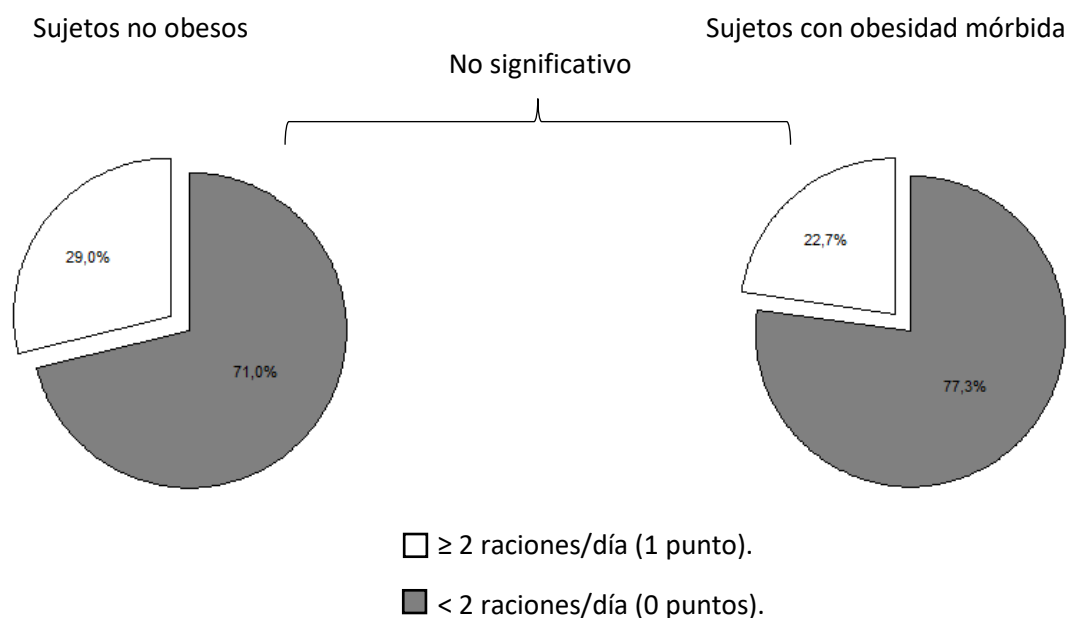


Figura 14. Porcentaje de sujetos no obesos y con obesidad mórbida en función de cuántas raciones de verduras u hortalizas consumen al día (se muestra la puntuación en función del nº de raciones)

En la **Tabla 12** se muestran aquellas variables antropométricas y bioquímicas que eran significativamente diferentes entre los sujetos que cumplían o no cumplían el ítem 3 del cuestionario MEDAS dentro del grupo de no obesos y de sujetos con obesidad mórbida. Podemos observar que hay diferencias significativas en las variables cintura y glucosa en los sujetos no obesos. También hay diferencias significativas en la variable tensión arterial diastólica en los sujetos con obesidad mórbida. En el resto de las variables antropométricas y bioquímicas no se han encontrado diferencias significativas.

Tabla 12. Variables bioquímicas y antropométricas significativas de los sujetos del estudio en función de cuantas raciones de verduras u hortalizas consumen al día

	Sujetos no obesos		P	Sujetos con obesidad mórbida		P
	≥ 2 raciones al día	< 2 raciones al día		≥ 2 raciones al día	< 2 raciones al día	
Cintura (cm)	88.4 ± 8.8	91.2 ± 8.9	0.033	129.9 ± 15.8	128.8 ± 15.1	Ns
Glucosa (mg/dl)	94.7 ± 14.4	102.4 ± 39.3	0.032	112.7 ± 41.4	113.5 ± 41.4	Ns
TAD (mmHg)	76.8 ± 9.9	79.4 ± 11.4	Ns	79.2 ± 10.3	83.7 ± 10.7	0.023

Datos expresados como media ± desviación estándar. TAD: tensión arterial diastólica. Datos estadísticamente significativos cuando $P \leq 0.05$. Ns: no significativo.

Ítem 4. ¿Cuántas piezas de fruta (incluyendo zumo natural) consume al día?

En la **Figura 15** se muestra el porcentaje de sujetos no obesos y con obesidad mórbida que cumplen el ítem nº4 del cuestionario MEDAS (*¿Cuántas piezas de fruta (incluyendo zumo natural) consume al día?*)

En la **Tabla 13** se muestran aquellas variables antropométricas y bioquímicas que eran significativamente diferentes entre los sujetos que cumplían o no cumplían el ítem 4 del cuestionario MEDAS dentro del grupo de no obesos y de sujetos con obesidad mórbida. Podemos observar diferencias significativas en los sujetos no obesos en las variables cadera, IMC, glucosa y colesterol HDL. En cambio, en los sujetos con obesidad mórbida, solo hay diferencias significativas con la variable colesterol HDL. En el resto de

las variables antropométricas y bioquímicas no se han encontrado diferencias significativas.

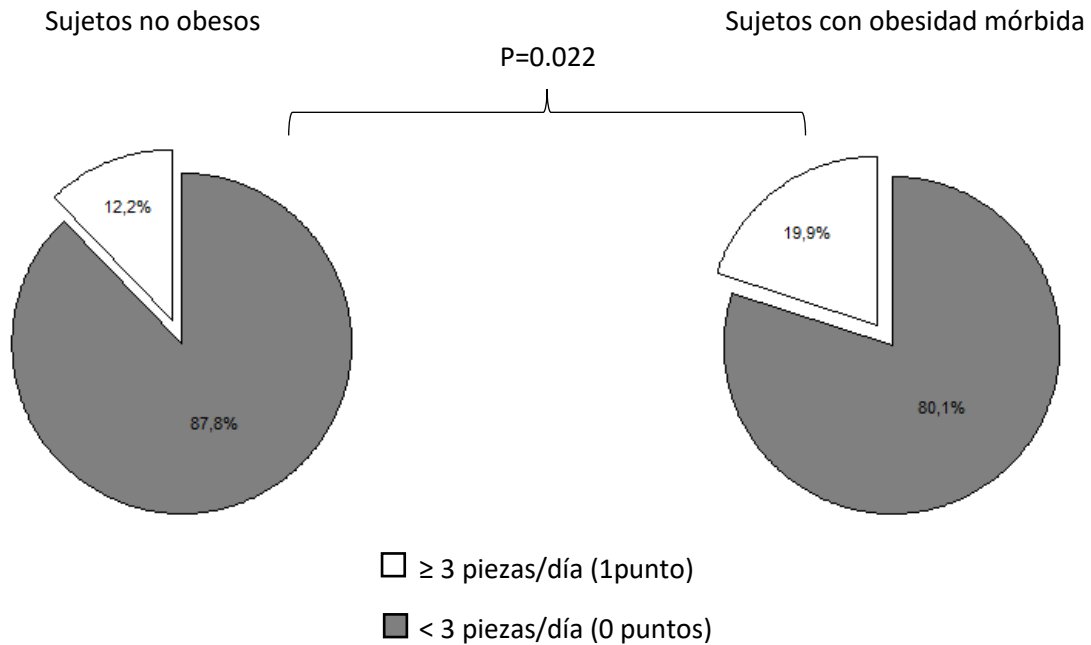


Figura 15. Porcentaje de sujetos no obesos y con obesidad mórbida en función de cuántas piezas de fruta consumen al día (se muestra la puntuación en función del nº de piezas). P=0.022: diferencia estadísticamente significativa entre las proporciones de ambos grupos de sujetos

Tabla 13. Variables bioquímicas y antropométricas significativas de los sujetos del estudio en función de cuántas piezas de fruta (incluyendo zumo natural) consumen al día

	Sujetos no obesos		P	Sujetos con obesidad mórbida		P
	≥3 piezas al día	<3 piezas al día		≥3 piezas al día	<3 piezas al día	
Cadera (cm)	104.6 ± 6.2	101.6 ± 6.1	0.019	131.8 ± 14.8	136.3 ± 14.9	Ns
IMC (Kg/m²)	27.3 ± 1.9	26.3 ± 2.4	0.025	44.6 ± 5.3	45.9 ± 6.4	Ns
Glucosa (mg/dl)	94.1 ± 8.6	101.1 ± 36.3	0.026	115.7 ± 30.3	112.8 ± 43.4	Ns
C-HDL (mg/dl)	60.9 ± 12.6	55.4 ± 13.3	0.042	42.6 ± 7.1	45.9 ± 10.8	0.047

Datos expresados como media ± desviación estándar. IMC: índice de masa corporal. C-HDL: colesterol HDL. Diferencias estadísticamente significativas cuando P≤0.05. Ns: No significativo.

Ítem 5. ¿Cuántas raciones de carnes rojas, hamburguesas, salchichas o embutidos consume al día (una ración equivale a 100-150 gr.)?

En la **Figura 16** se muestra el porcentaje de sujetos no obesos y con obesidad mórbida que cumplen el ítem nº5 del cuestionario MEDAS (¿Cuántas raciones de carnes rojas, hamburguesas, salchichas o embutidos consume al día?).

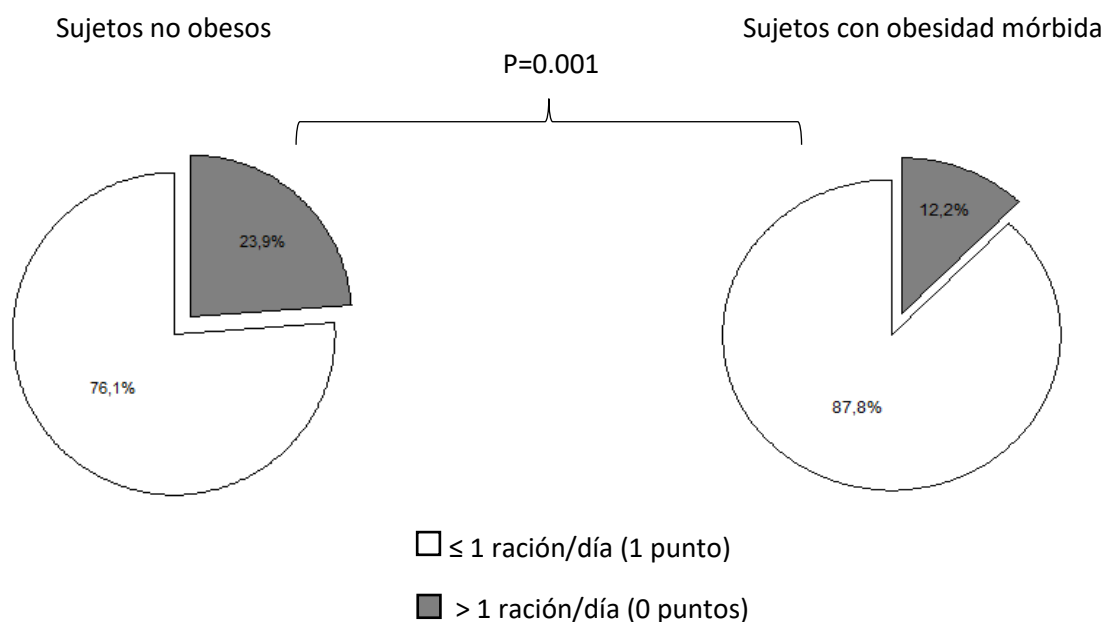


Figura 16. Porcentaje de sujetos no obesos y con obesidad mórbida en función de cuántas raciones de carnes rojas, hamburguesas, salchichas o embutidos consumen al día (se muestra la puntuación en función del nº de raciones). P=0.001: diferencia estadísticamente significativa entre las proporciones de ambos grupos de sujetos

En la **Tabla 14** se muestran aquellas variables antropométricas y bioquímicas que eran significativamente diferentes entre los sujetos que cumplían o no cumplían el ítem 5 del cuestionario MEDAS dentro del grupo de no obesos y de sujetos con obesidad mórbida. Observamos diferencias significativas en los sujetos no obesos en las variables colesterol y colesterol LDL. Sin embargo, en los sujetos con obesidad mórbida, vemos diferencias significativas en la variable cadera. En el resto de las variables antropométricas y bioquímicas no se han encontrado diferencias significativas.

Tabla 14. Variables bioquímicas y antropométricas significativas de los sujetos del estudio en función de cuantas raciones de carnes rojas, hamburguesas, salchichas o embutidos consumen al día (una ración equivale a 100-150 gr.)

	Sujetos no obesos		P	Sujetos con obesidad mórbida		P
	≤ 1 ración al día	> 1 ración al día		≤ 1 ración al día	> 1 ración al día	
Cadera (cm)	102.1 ± 6.2	101.8 ± 6.1	Ns	134.6 ± 14.4	142.1 ± 17.9	0.037
Colesterol (mg/dl)	216.4 ± 40.9	205.7 ± 32.4	0.049	192.1 ± 33.7	188.9 ± 40.8	Ns
C-LDL (mg/dl)	119.2 ± 32.6	110.1 ± 24.5	0.029	108.6 ± 26.1	104.1 ± 27.3	Ns

Datos expresados en media ± desviación estándar. C-LDL: colesterol LDL. Diferencias estadísticamente significativas cuando $P \leq 0.05$. Ns: no significativo.

Ítem 6. ¿Cuántas raciones de mantequilla, margarina o nata consume al día (porción individual equivale a 12 gr)?

En la **Figura 17** se muestra el porcentaje de sujetos no obesos y con obesidad mórbida que cumplen el ítem nº6 del cuestionario MEDAS (*¿Cuántas raciones de mantequilla, margarina o nata consume al día?*).

En la **Tabla 15** se muestran aquellas variables antropométricas y bioquímicas que eran significativamente diferentes entre los sujetos que cumplían o no cumplían el ítem 6 del cuestionario MEDAS dentro del grupo de no obesos y de sujetos con obesidad mórbida. Podemos observar que sólo hay diferencias significativas en los sujetos con obesidad mórbida en las variables IMC y cadera. En el resto de las variables antropométricas y bioquímicas no se han encontrado diferencias significativas.

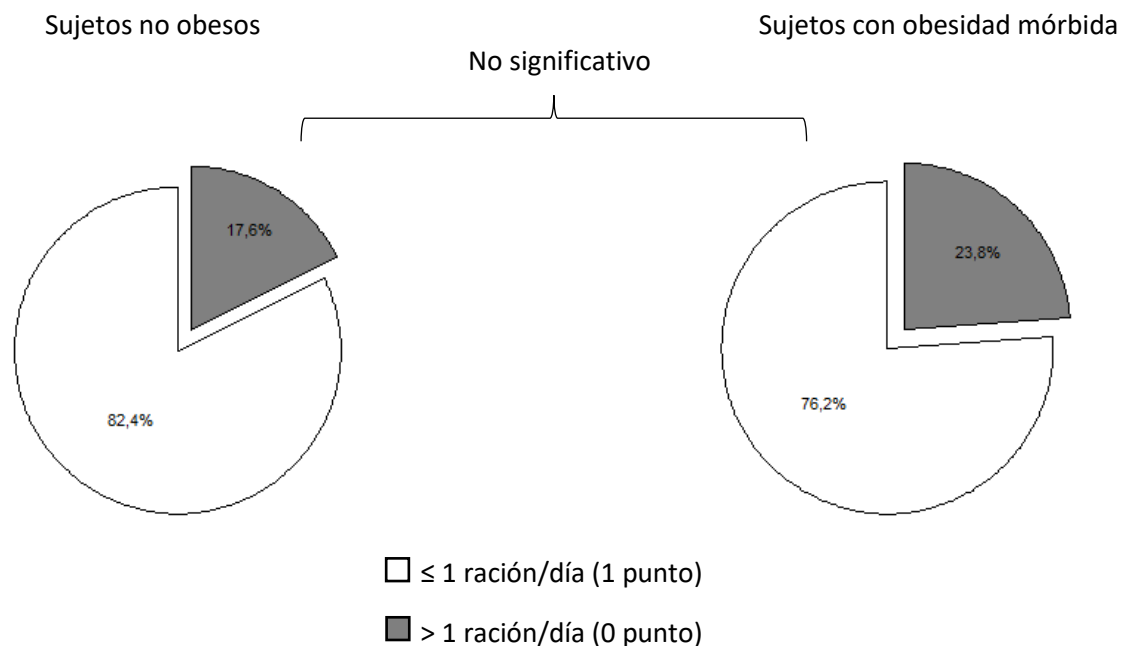


Figura 17. Porcentaje de sujetos no obesos y con obesidad mórbida en función de cuántas raciones de mantequilla, margarina o nata consumen al día (se muestra la puntuación del nº de raciones)

Tabla 15. Variables bioquímicas y antropométricas significativas de los sujetos del estudio en función de cuantas raciones de mantequilla, margarina o nata consumen al día (porción individual equivale a 12 gr.)

	Sujetos no obesos		P	Sujetos con obesidad mórbida		P
	≤1 ración al día	>1 ración al día		≤1 ración al día	>1 ración al día	
IMC (Kg/m²)	26.5 ± 2.3	26.3 ± 2.6	Ns	45.1 ± 5.6	47.7 ± 7.5	0.037
Cadera (cm)	101.9 ± 6.2	102.4 ± 5.9	Ns	133.9 ± 13.9	140.6 ± 17.5	0.030

Datos expresados en media ± desviación estándar. IMC: índice de masa corporal. Diferencias estadísticamente significativas cuando P≤0.05. Ns: no significativo.

Ítem 7. ¿Cuántas bebidas carbonatadas y/o azúcares (refrescos, colas, tónicas, bitter) consume al día?

En la **Figura 18** se muestra el porcentaje de sujetos no obesos y con obesidad mórbida que cumplen el ítem nº7 del cuestionario MEDAS (¿Cuántas bebidas carbonatadas y/o azúcares consume al día?).

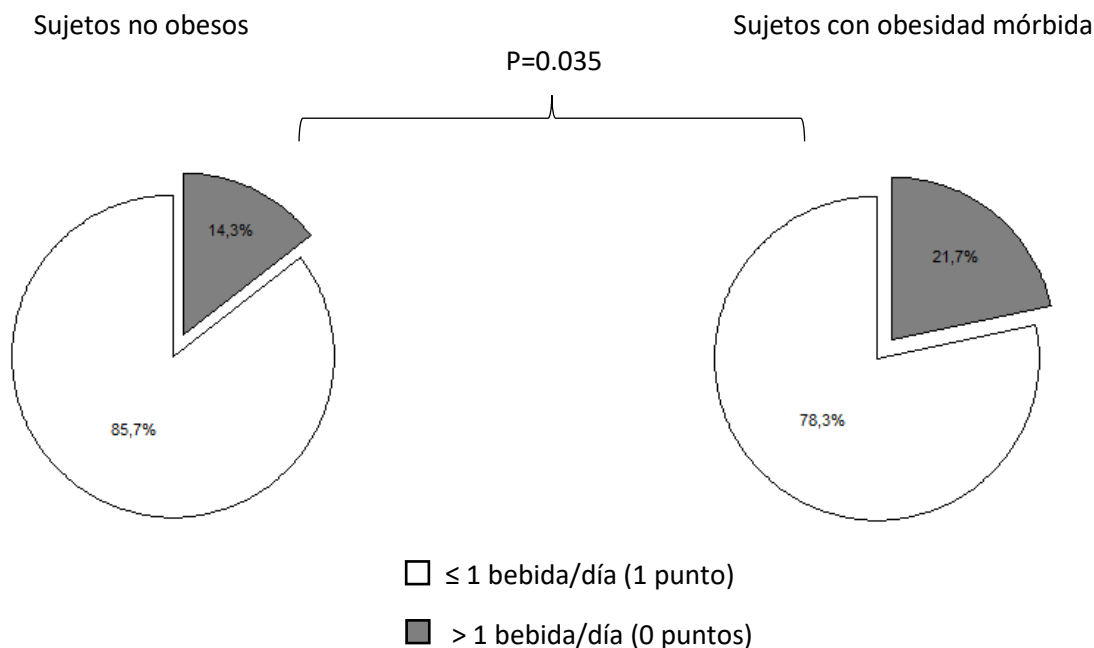


Figura 18. Porcentaje de sujetos no obesos y con obesidad mórbida en función de cuántas bebidas carbonatadas consumen al día (se muestra la puntuación en función del nº de bebidas). P=0.035: diferencias estadísticamente significativas entre las proporciones de ambos grupos de sujetos

No existen diferencias significativas entre las variables bioquímicas y antropométricas de los sujetos del estudio en función de cuántas bebidas carbonatadas y/o azucaradas consumen al día.

Ítem 8. ¿Bebe vino? ¿Cuánto consume a la semana?

En la **Figura 19** se muestra el porcentaje de sujetos no obesos y con obesidad mórbida que cumplen el ítem nº8 del cuestionario MEDAS (*¿Bebe vino? ¿Cuánto consume a la semana?*).

En la **Tabla 16** se muestran aquellas variables antropométricas y bioquímicas que eran significativamente diferentes entre los sujetos que cumplían o no cumplían el ítem 8 del cuestionario MEDAS dentro del grupo de no obesos y de sujetos con obesidad mórbida. Únicamente observamos diferencias significativas en las variables peso y

glucosa de los sujetos no obesos. En el resto de las variables antropométricas y bioquímicas no se han encontrado diferencias significativas.

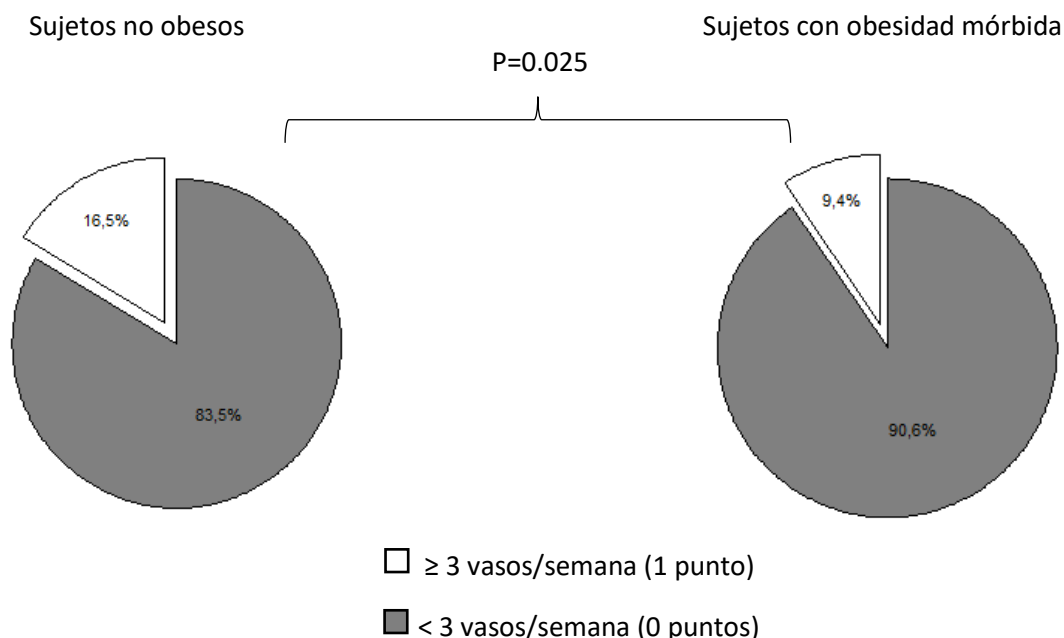


Figura 19. Porcentaje de sujetos no obesos y con obesidad mórbida en función de cuánto vino bebe a la semana (se muestra la puntuación en función del nº de vasos). P=0.035: diferencia estadísticamente significativa entre las proporciones de ambos grupos de sujeto

Tabla 16. Variables antropométricas y bioquímicas de los sujetos del estudio en función de si bebe vino y cuánto consumen a la semana

	Sujetos no obesos		P	Sujetos con obesidad mórbida		P
	≥ 3 vasos a la semana	< 3 vasos a la semana		≥ 3 vasos a la semana	< 3 vasos a la semana	
Peso (Kg)	72.8 ± 9.3	68.4 ± 9.2	0.009	121.5 ± 21.8	118.9 ± 23.5	Ns
Glucosa (mg/dl)	94.2 ± 12.2	101.4 ± 37.1	0.037	114.8 ± 35.6	113.2 ± 41.9	Ns

Datos expresados en media ± desviación estándar. Diferencias estadísticamente significativas cuando P≤0.05. Ns: no significativo.

Ítem 9. ¿Cuántas raciones de legumbres consume a la semana (una ración o plato equivale a 150 gr)?

En la **Figura 20** se muestra el porcentaje de sujetos no obesos y con obesidad mórbida que cumplen el ítem nº9 del cuestionario MEDAS (¿Cuántas raciones de legumbres consume a la semana?).

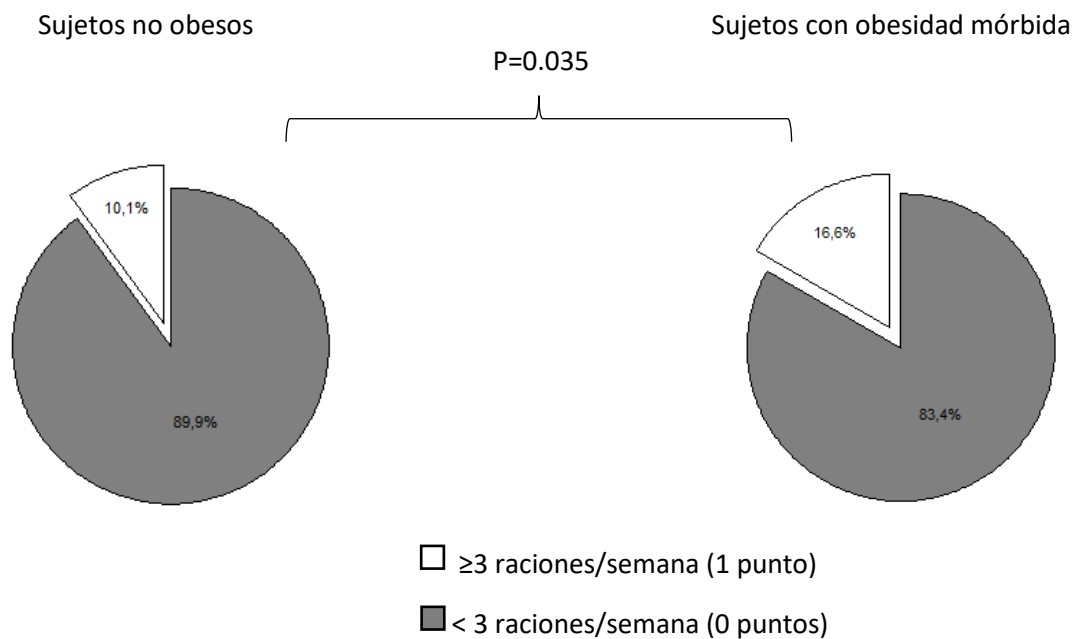


Figura 20. Porcentaje de sujetos no obesos y sujetos con obesidad mórbida en función de cuantas raciones de legumbres consumen a la semana (se muestra la puntuación en función del nº de raciones). P=0.035: diferencias estadísticamente significativas entre las proporciones de ambos grupos de sujetos

En la **Tabla 17** se muestran aquellas variables antropométricas y bioquímicas que eran significativamente diferentes entre los sujetos que cumplían o no cumplían el ítem 9 del cuestionario MEDAS dentro del grupo de no obesos y de sujetos con obesidad mórbida. Únicamente observamos diferencias significativas en las variables peso, IMC, cintura, cadera y tensión arterial diastólica en los sujetos con obesidad mórbida. En el resto de las variables antropométricas y bioquímicas no se han encontrado diferencias significativas.

Tabla 17. Variables antropométricas y bioquímicas significativas de los sujetos del estudio en función de cuantas raciones de legumbres consumen a la semana (una ración o plato equivale a 150 gr)

	Sujetos no obesos		P	Sujetos con obesidad mórbida		P
	≥ 3 raciones por semana	< 3 raciones por semana		≥ 3 raciones por semana	< 3 raciones por semana	
Peso (Kg)	68.1 ± 8.7	69.3 ± 9.4	Ns	134.0 ± 35.4	116.0 ± 18.9	0.011
IMC (Kg/m²)	25.6 ± 2.8	26.5 ± 2.3	Ns	50.9 ± 9.3	44.6 ± 4.7	0.001
Cintura (cm)	89.1 ± 9.7	90.5 ± 8.9	Ns	138.6 ± 21.4	127.2 ± 12.9	0.008
Cadera (cm)	101.5 ± 8.8	102.1 ± 5.8	Ns	150.5 ± 20.8	132.7 ± 11.9	<0.001
TAD (mmHg)	80.0 ± 12.6	78.5 ± 10.9	Ns	78.9 ± 9.4	83.4 ± 10.9	0.037

Datos expresados en media ± desviación estándar. IMC: índice de masa corporal. TAD: tensión arterial diastólica. Diferencias estadísticamente significativas cuando P≤0.05. Ns: no significativo.

Ítem 10. ¿Cuántas raciones de pescado o marisco consume a la semana (un plato, pieza o ración equivale a 100-150 gr de pescado o 4-5 piezas de marisco)?

En la **Figura 21** se muestra el porcentaje de sujetos no obesos y con obesidad mórbida que cumplen el ítem nº10 del cuestionario MEDAS (¿Cuántas raciones de pescado o marisco consume a la semana?).

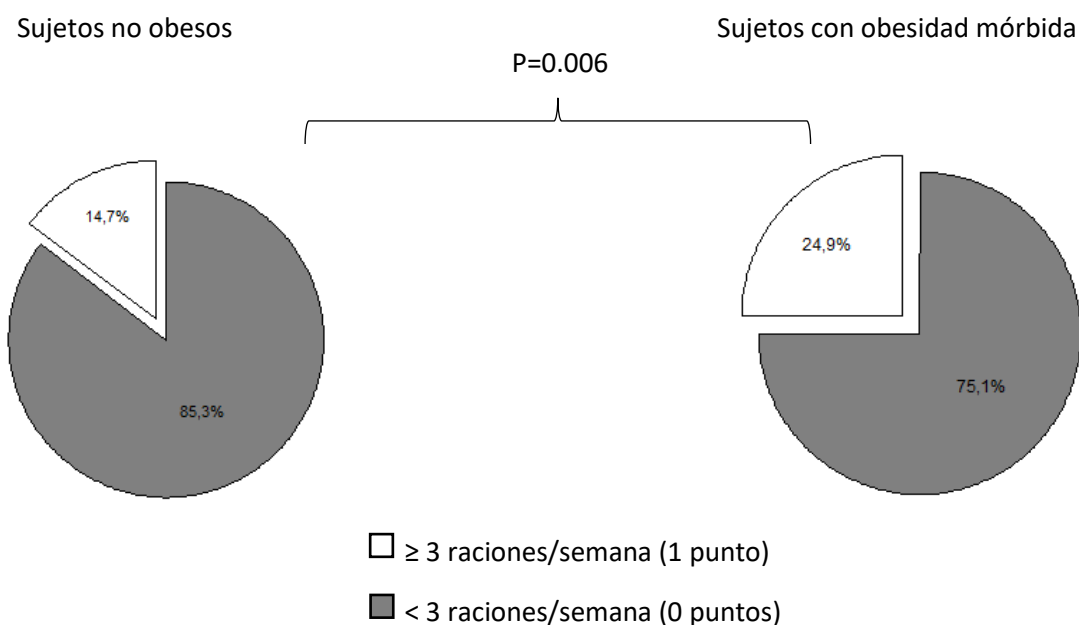


Figura 21. Porcentaje de sujetos no obesos y con obesidad mórbida en función de cuántas raciones de pescado o marisco consumen a la semana (se muestra la puntuación en función del nº de raciones). P=0.006: diferencias estadísticamente significativas entre las proporciones de ambos grupos de sujetos.

En la **Tabla 18** se muestran aquellas variables antropométricas y bioquímicas que eran significativamente diferentes entre los sujetos que cumplían o no cumplían el ítem 10 del cuestionario MEDAS dentro del grupo de no obesos y de sujetos con obesidad mórbida. Podemos observar diferencias significativas en las variables tensión arterial sistólica y triglicéridos en los sujetos no obesos. Y diferencias significativas entre las variables peso, IMC y cadera, en los sujetos con obesidad mórbida. En el resto de las variables antropométricas y bioquímicas no se han encontrado diferencias significativas.

Tabla 18. Variables bioquímicas y antropométricas significativas de los sujetos de estudio en función de cuántas raciones de pescado o marisco consumen a la semana (un plato, pieza o ración equivale a 100-150 gr de pescado o 4-5 piezas de marisco)

	Sujetos no obesos		p	Sujetos con obesidad mórbida		p
	≥ 3 raciones por semana	< 3 raciones por semana		≥ 3 raciones por semana	< 3 raciones por semana	
TAS (mmHg)	123.9 ± 20.5	131.5 ± 18.4	0.049	142.8 ± 22.2	141.4 ± 17.2	Ns
Triglicéridos (mg/dl)	98.9 ± 40.2	125.6 ± 80.6	0.005	150.8 ± 87.1	143.2 ± 62.4	Ns
Peso (Kg)	66.6 ± 11.0	69.6 ± 9.02	Ns	128.5 ± 25.5	115.8 ± 21.8	0.004
IMC (kg/m²)	25.9 ± 2.2	26.5 ± 2.3	Ns	47.9 ± 8.2	44.9 ± 5.2	0.027
Cadera (cm)	101.1 ± 5.7	102.2 ± 6.2	Ns	140.3 ± 19.8	133.8 ± 12.7	0.047

Datos expresados en media ± desviación estándar. TAS: tensión arterial sistólica. IMC: índice de masa corporal. Diferencias estadísticamente significativas cuando P≤0.05. Ns: no significativo.

Ítem 11. ¿Cuántas veces consume repostería comercial (no casera) como galletas, flanes, dulces o pasteles a la semana?

En la **Figura 22** se muestra el porcentaje de sujetos no obesos y con obesidad mórbida que cumplen el ítem nº11 del cuestionario MEDAS (*¿Cuántas veces consume repostería comercial (no casera) como galletas, flanes, dulces o pasteles a la semana?*).

En la **Tabla 19** se muestran aquellas variables antropométricas y bioquímicas que eran significativamente diferentes entre los sujetos que cumplían o no cumplían el ítem 11 del cuestionario MEDAS dentro del grupo de no obesos y de sujetos con obesidad

Resultados

mórbida. Únicamente se observan diferencias significativas en la variable tensión arterial diastólica en los sujetos con obesidad mórbida. En el resto de las variables antropométricas y bioquímicas no se han encontrado diferencias significativas.

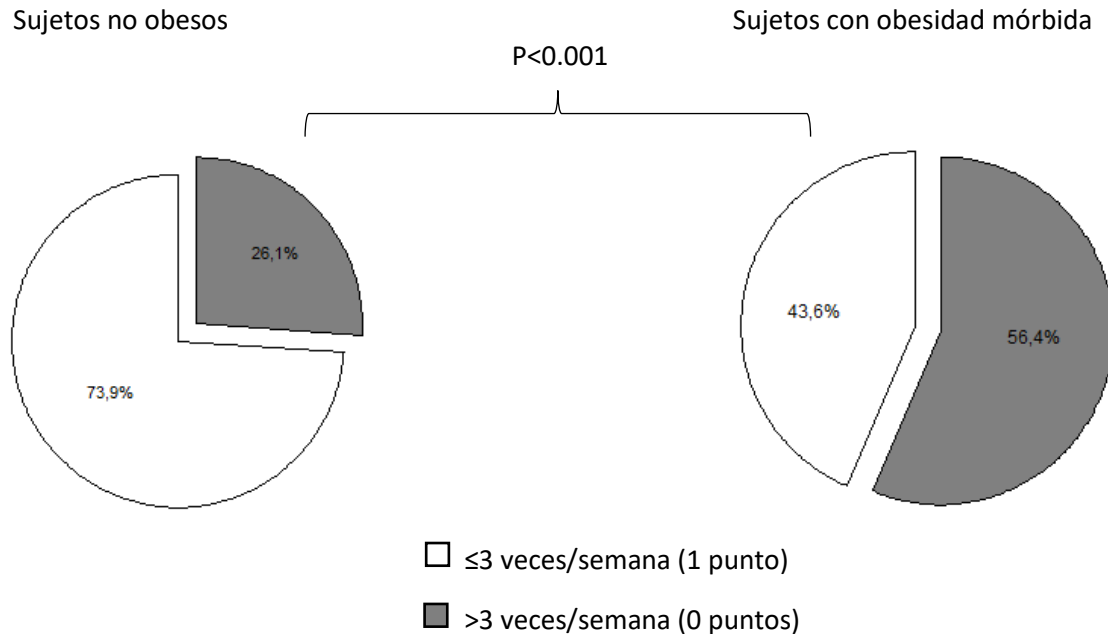


Figura 22. Porcentaje de sujetos no obesos y con obesidad mórbida en función de cuántas veces consumen repostería comercial como galletas, flanes, dulces o pasteles a la semana (se muestra la puntuación en función del nº de veces). P<0.001: diferencias estadísticamente significativas entre las proporciones de ambos grupos de sujetos

Tabla 19. Variables bioquímicas y antropométricas significativas de los sujetos del estudio en función de cuántas veces consumen repostería comercial (no casera) como galletas, flanes, dulces o pasteles a la semana

	Sujetos no obesos		P	Sujetos con obesidad mórbida		P
	≤3 a la semana	>3 a la semana		≤3 a la semana	>3 a la semana	
TAD (mmHg)	78.7 ± 11.2	78.5 ± 10.6	Ns	80.8 ± 10.4	84.2 ± 10.8	0.037

Datos expresados en media ± desviación estándar. TAD: tensión arterial diastólica. Diferencias estadísticamente significativas cuando P≤0.05. Ns: no significativo.

Ítem 12. ¿Cuántas veces consume frutos secos a la semana (una ración equivale a 30 gr)?

En la **Figura 23** se muestra el porcentaje de sujetos no obesos y con obesidad mórbida que cumplen el ítem nº12 del cuestionario MEDAS (*¿Cuántas veces consume frutos secos a la semana?*).

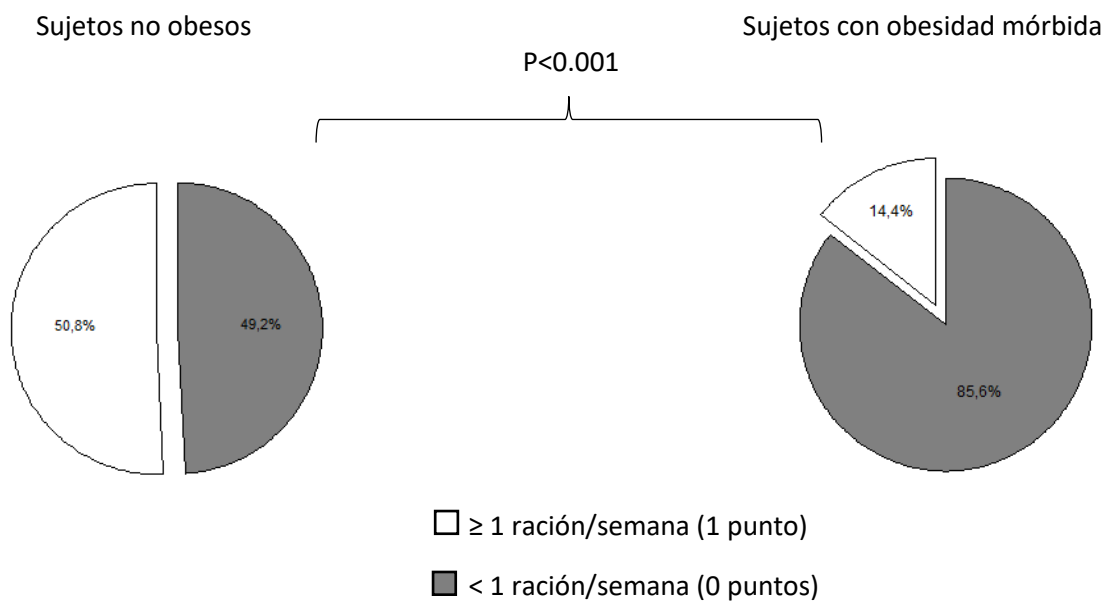


Figura 23. Porcentaje de sujetos no obesos y con obesidad mórbida en función de cuantas veces consumen frutos secos a la semana (se muestra la puntuación en función del nº de raciones). P<0.001: diferencias estadísticamente significativas entre las proporciones de ambos grupos de sujetos

En la **Tabla 20** se muestran aquellas variables antropométricas y bioquímicas que eran significativamente diferentes entre los sujetos que cumplían o no cumplían el ítem 12 del cuestionario MEDAS dentro del grupo de no obesos y de sujetos con obesidad mórbida. Podemos observar diferencias significativas en la variable triglicéridos solo en los sujetos con obesidad mórbida. En el resto de las variables antropométricas y bioquímicas no se han encontrado diferencias significativas.

Tabla 20. Variables bioquímicas y antropométricas significativas de los sujetos del estudio en función de cuantas veces consumen frutos secos a la semana (una ración equivale a 30 gr.)

	Sujetos no obesos		P	Sujetos con obesidad mórbida		P
	≥1 ración a la semana	<1 ración a la semana		≥1 ración a la semana	<1 ración a la semana	
Triglicéridos (mg/dl)	123.6 ± 84.4	120.03 ± 68.4	Ns	112.6 ± 34.4	150.5 ± 72.1	<0.001

Datos expresados en media ± desviación estándar. Diferencias estadísticamente significativas cuando P≤0.05. Ns: no significativo.

Ítem 13. ¿Consume preferentemente carne de pollo, pavo o conejo en vez de ternera, cerdo, hamburguesas o salchichas (carne de pollo: una pieza o ración equivale a 100-150 gr)?

En la **Figura 24** se muestra el porcentaje de sujetos no obesos y con obesidad mórbida que cumplen el ítem nº13 del cuestionario MEDAS (*¿Consume preferentemente carne de pollo, pavo o conejo en vez de ternera, cerdo, hamburguesas o salchichas?*).

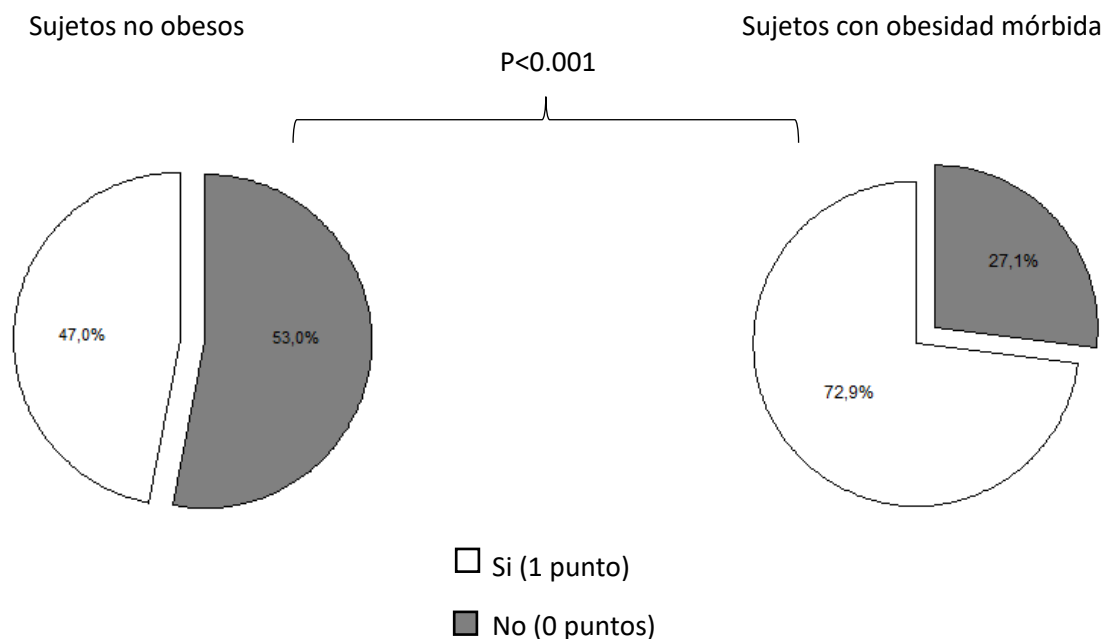


Figura 24. Porcentaje de sujetos no obesos y con obesidad mórbida en función de si consumen preferentemente carne de pollo, pavo o conejo en vez de ternera, cerdo, hamburguesas o salchichas (se muestra la puntuación). P<0.001: diferencias estadísticamente significativas entre las proporciones de ambos sujetos.

En la **Tabla 21** se muestran aquellas variables antropométricas y bioquímicas que eran significativamente diferentes entre los sujetos que cumplían o no cumplían el ítem 13 del cuestionario MEDAS dentro del grupo de no obesos y de sujetos con obesidad mórbida. Podemos observar que hay diferencias significativas en las variables peso, IMC, cintura, cadera y colesterol en los sujetos con obesidad mórbida. En los sujetos no obesos, solo existen diferencias significativas en la variable peso. En el resto de las variables antropométricas y bioquímicas no se han encontrado diferencias significativas.

Tabla 21. Variables bioquímicas y antropométricas significativas de los sujetos del estudio en función de si consumen preferentemente carne de pollo, pavo o conejo en vez de ternera, cerdo, hamburguesas o salchichas (carne de pollo: una pieza o ración equivale a 100-150 gr.)

	Sujetos no obesos		P	Sujetos con obesidad mórbida		P
	SI	NO		SI	NO	
Peso (Kg)	67.5 ± 8.5	71.1 ± 8.3	0.017	114.0 ± 17.9	132.3 ± 30.4	<0.001
IMC (Kg/m²)	26.4 ± 2.3	26.8 ± 2.1	Ns	44.6 ± 4.9	48.5 ± 8.1	0.003
Cintura (cm)	89.8 ± 8.9	92.1 ± 8.4	Ns	126.3 ± 12.3	136.5 ± 19.3	0.001
Cadera (cm)	102.2 ± 5.6	102.8 ± 6.0	Ns	133.1 ± 12.6	142.0 ± 18.8	0.004
Colesterol (mg/dl)	210.4 ± 34.2	212.4 ± 43.8	Ns	196.0 ± 34.6	181.7 ± 32.3	0.014

Datos expresados en media ± desviación estándar. IMC: índice de masa corporal. Diferencias estadísticamente significativas cuando $P \leq 0.05$. Ns: no significativo.

Ítem 14. ¿Cuántas veces a la semana consume vegetales cocinados, la pasta, el arroz u otros platos aderezados con una salsa de tomate, ajo, cebolla o puerro elaborada a fuego lento con aceite de oliva (sofrito)?

En la **Figura 25** se muestra el porcentaje de sujetos no obesos y con obesidad mórbida que cumplen el ítem nº14 del cuestionario MEDAS (*¿Cuántas veces a la semana consume vegetales cocinados, la pasta, el arroz u otros platos aderezados con una salsa de tomate, ajo, cebolla o puerro elaborada a fuego lento con aceite de oliva (sofrito)?*).

En la **Tabla 22** se muestran aquellas variables antropométricas y bioquímicas que eran significativamente diferentes entre los sujetos que cumplían o no cumplían el ítem

14 del cuestionario MEDAS dentro del grupo de no obesos y de sujetos con obesidad mórbida. Observamos diferencias significativas en la variable tensión arterial sistólica solamente entre los sujetos no obesos. En el resto de las variables antropométricas y bioquímicas no se han encontrado diferencias significativas.

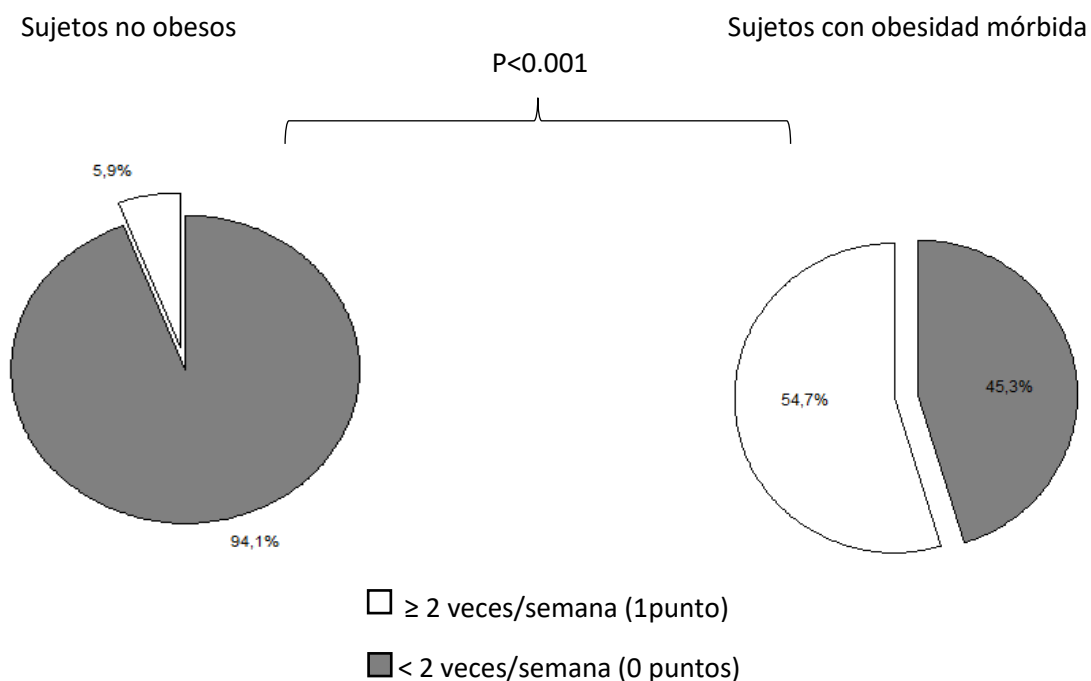


Figura 25. Porcentaje de sujetos no obesos y con obesidad mórbida en función de cuantas veces a la semana consumen vegetales cocinados, la pasta, el arroz u otros platos aderezados con una salsa de tomate, ajo, cebolla o puerro elaborada a fuego lento con aceite de oliva (sofrito) (se muestra la puntuación en función del nº de veces). P < 0.001: diferencias significativas entre las proporciones de ambos grupos de sujetos

Tabla 22. Variables bioquímicas y antropométricas significativas de los sujetos del estudio en función de cuantas veces a la semana consumen vegetales cocinados, la pasta, el arroz u otros platos aderezados con salsa de tomate, ajo, cebolla o puerro elaborada a fuego lento con aceite de oliva (sofrito)

	Sujetos no obesos		P	Sujetos con obesidad mórbida		P
	≥ 2 veces a la semana	< 2 veces a la semana		≥ 2 veces a la semana	< 2 veces a la semana	
TAS (mmHg)	120.2 \pm 15.5	131.1 \pm 18.9	0.023	140.4 \pm 18.0	143.3 \pm 19.1	Ns

Datos expresados en media \pm desviación estándar. TAS: tensión arterial sistólica. Diferencias estadísticamente significativas cuando $P \leq 0.05$. Ns: no significativo.

5.2. Asociación entre adherencia a la dieta mediterránea y el síndrome metabólico en la obesidad mórbida

En primer lugar, no hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de sujetos con obesidad mórbida con o sin síndrome metabólico en función de si son Adh-DMed o No Adh-DMed.

5.2.1. Asociación entre la adherencia a la dieta mediterránea y los criterios del síndrome metabólico

A continuación, hemos analizado la asociación entre la adherencia a la dieta mediterránea y cada uno de los criterios que definen al síndrome metabólico. En la **Tabla 23** se encuentran los datos bioquímicos y antropométricos relacionados con cada uno de los criterios de síndrome metabólico en función de la adherencia a la dieta mediterránea en los sujetos con obesidad mórbida. Sólo hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas en los niveles de tensión arterial diastólica.

Tabla 23. Variables bioquímicas y antropométricas de los sujetos con obesidad mórbida relacionadas con cada uno de los criterios de síndrome metabólico en función de su adherencia a la dieta mediterránea

	Adh-DMed	No Adh-DMed	P
Cintura (cm)	130.2 ± 17.7	135.6 ± 14.1	Ns
TAS (mmHg)	142.9 ± 22.7	141.4 ± 17.5	Ns
TAD (mmHg)	79.3 ± 10.5	83.5 ± 10.7	0.042
Glucosa (mg/dl)	113.5 ± 45.8	113.3 ± 40.3	Ns
Triglicéridos (mg/dl)	165.9 ± 89.3	140.1 ± 62.8	Ns
C-HDL (mg/dl)	43.3 ± 10.6	45.8 ± 10.2	Ns

Datos expresados en media ± desviación estándar. TAS: tensión arterial sistólica. TAD: tensión arterial diastólica. C-HDL: colesterol HDL. Diferencias estadísticamente significativas cuando $P \leq 0.05$. Ns: no significativo.

5.2.2. Asociación entre los ítems del cuestionario de adherencia a la dieta mediterránea y los criterios del síndrome metabólico

En relación con la asociación entre la adherencia a la dieta mediterránea y cada uno de los criterios que definen al síndrome metabólico, sólo encontramos diferencias estadísticamente significativas ($P=0.038$) en el porcentaje de sujetos con obesidad mórbida Adh-DMed y No Adh-DMed en función del cumplimiento del criterio de triglicéridos de síndrome metabólico (Tabla 24).

Tabla 24. Porcentaje de sujetos con obesidad mórbida Adh-DMed y No Adh-DMed clasificados en función del cumplimiento del criterio triglicéridos del síndrome metabólico

		Adherencia a la Dieta Mediterránea		Total
		Si	No	
Cumple criterios TG	Si	45.5%	54.5%	100%
	No	17.3%	82.7%	100%

Datos expresados en porcentajes. TG: triglicéridos.

Una vez vista la asociación entre la adherencia a la dieta mediterránea y los criterios del síndrome metabólico en sujetos con obesidad mórbida, procedimos a analizar cada uno de los ítems del cuestionario que define la adherencia a la dieta mediterránea.

Ítem 4. ¿Cuántas piezas de fruta (incluyendo zumo natural) consume al día?

Hemos encontrado una asociación significativa entre el ítem 4 y el criterio de colesterol HDL del síndrome metabólico ($P=0.015$) (Tabla 25).

Tabla 25. Porcentaje de consumo de fruta/día en sujetos con obesidad mórbida en función del cumplimiento del criterio de colesterol HDL del síndrome metabólico

		Consumo de fruta al día		Total
		≥ 3 piezas de fruta al día	< 3 piezas de fruta al día	
Cumple criterios C-HDL	Si	23.1%	76.9%	100%
	No	8%	92%	100%

Datos expresados en porcentajes. C-HDL: colesterol HDL.

Ítem 7 ¿Cuántas bebidas carbonatadas y/o azucaradas (refrescos, colas, tónicas, bitter) consume al día?

Hemos encontrado una asociación significativa entre el ítem 7 y el criterio de HTA del síndrome metabólico (P=0.049) (Tabla 26).

Tabla 26. Porcentaje de consumo de carbonatadas y/o azucaradas/día en sujetos con obesidad mórbida en función del cumplimiento del criterio de hipertensión arterial del síndrome metabólico

		Consumo de bebidas carbonatadas por día		Total
		<1 al día	>1 al día	
Cumple criterios HTA	Si	80.8%	19.2%	100%
	No	64.3%	35.7%	100%

Datos expresados en porcentajes. HTA: hipertensión arterial.

Ítem 9 ¿Cuántas raciones de legumbres consume a la semana (una ración o plato equivale a 150gr)?

Hemos encontrado una asociación significativa entre el ítem 9 y el criterio de triglicéridos del síndrome metabólico (P<0.001) (Tabla 27).

Tabla 27. Porcentaje de consumo de legumbres/semana en sujetos con obesidad mórbida en función del cumplimiento del criterio de triglicéridos del síndrome metabólico

		Consumo de legumbres a la semana		Total
		≥3 raciones por semana	<3 raciones por semana	
Cumple criterios TG	Si	63.3%	36.4%	100%
	No	14%	86%	100%

Datos expresados en porcentajes. TG: triglicéridos.

Ítem 10 ¿Cuántas raciones de pescado o mariscos consume a la semana (un plato, pieza o ración equivale a 100-150gr de pescado ó 4-5 piezas de marisco)?

Hemos encontrado una asociación significativa entre el ítem 10 y el criterio de hipertensión arterial del síndrome metabólico (P=0.049) (Tabla 28).

Tabla 28. Porcentaje de consumo de pescado o marisco/semana en sujetos con obesidad mórbida en función del cumplimiento del criterio de hipertensión arterial del síndrome metabólico

		Consumo de raciones pescado a la semana		Total
		≥3 raciones por semana	<3 raciones por semana	
Cumple criterios HTA	Si	22.4%	77.6%	100%
	No	39.3%	60.7%	100%

Datos expresados en porcentajes. HTA: hipertensión arterial.

Ítem 11 ¿Cuántas veces consume repostería comercial (no casera) como galletas, flanes, dulces o pasteles a la semana?

Hemos encontrado una asociación significativa entre el ítem 11 y el criterio de triglicéridos del síndrome metabólico (P=0.049) (Tabla 29).

Tabla 29. Porcentaje de consumo de repostería comercial/semana en sujetos con obesidad mórbida en función del cumplimiento del criterio de triglicéridos del síndrome metabólico

		Consumo de repostería comercial por semana		Total
		<3 raciones por semana	≥3 raciones por semana	
Cumple criterios TG	Si	72.7%	27.3%	100%
	No	43.3%	56.7%	100%

Datos expresados en porcentajes. TG: triglicéridos.

Ítem 13 ¿Consume preferentemente carne de pollo, pavo o conejo en vez de ternera, cerdo, hamburguesas o salchichas (carne de pollo: una pieza o ración equivale a 100-150gr)?

Hemos encontrado una asociación significativa entre el ítem 13 y el criterio de colesterol HDL del síndrome metabólico (P=0.049) (Tabla 30).

Tabla 30. Porcentaje de consumo de carne de pollo, pavo o conejo en vez de ternera, cerdo, hamburguesas o salchichas en sujetos con obesidad mórbida en función del cumplimiento del criterio de colesterol HDL del síndrome metabólico

		Consumo preferente carne blanca o roja		Total
		Si	No	
Cumple criterios C-HDL	Si	66.7%	33.3%	100%
	No	80%	20%	100%

Datos expresados en porcentajes. C-HDL: colesterol HDL.

No existen otras asociaciones estadísticamente significativas entre el resto de los ítems del cuestionario MEDAS y los distintos criterios del síndrome metabólico.

5.3. Asociación entre adherencia a la dieta mediterránea y el nivel de estudios en la obesidad mórbida

A continuación, hemos analizado la asociación entre la adherencia a la dieta mediterránea y el nivel de estudios (básicos o superiores) en sujetos con obesidad mórbida. No existen diferencias estadísticamente significativas entre la adherencia a la dieta mediterránea y el nivel de estudios (**Tabla 31**).

Tabla 31. Porcentaje de sujetos con obesidad mórbida con nivel de estudios básico o superior en función de la adherencia a la dieta mediterránea

		Nivel de estudios		Total
		Básico	Superior	
Adherencia a la Dieta Mediterránea	Si	68%	32%	100%
	No	67.9%	32.1%	100%

Datos expresados en porcentajes.

Una vez vista la asociación entre el nivel de estudios y la adherencia a la dieta mediterránea en sujetos con obesidad mórbida, procedimos a analizar cada uno de los ítems del cuestionario que define la adherencia a la dieta mediterránea. Hemos encontrado una asociación significativa entre el nivel de estudios (básico o superior) y el ítem 3 (*¿Cuántas raciones de verdura u hortalizas consume al día?*) ($P=0.049$) (**Tabla 32**).

Tabla 32. Porcentaje de sujetos con obesidad mórbida con nivel de estudios básicos o superior en función del consumo de verduras u hortalizas al día

		Nivel de estudios		Total
		Básico	Superior	
Raciones de verdura u hortalizas al día	<2 al día	71,6%	28.4%	100%
	≥2 al día	53.6%	46.4%	100%

Datos expresados en porcentajes.

No existen otras asociaciones estadísticamente significativas entre el resto de los ítems del cuestionario MEDAS y el nivel de estudios.

5.4. Asociación entre adherencia a la dieta mediterránea y el ejercicio en la obesidad mórbida

Estudiando la asociación entre la adherencia a la dieta mediterránea y el ejercicio físico en la obesidad mórbida, no hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas según el ejercicio físico que realizan al día (caminar menos o más de 30 minutos al día) (**Tabla 33**).

Una vez vista la asociación entre la actividad física y la adherencia a la dieta mediterránea en sujetos con obesidad mórbida, procedimos a analizar cada uno de los ítems del cuestionario que define la adherencia a la dieta mediterránea. Hemos encontrado una asociación significativa entre el nivel de actividad física (caminar menos o más de 30 minutos al día) y el ítem 10 (¿Cuántas raciones de pescado o mariscos consume a la semana?) ($P=0.043$) (**Tabla 34**) y el ítem 11 (¿Cuántas veces consume repostería comercial (no casera) como galletas, flanes, dulces o pasteles a la semana?) ($P=0.006$) (**Tabla 35**).

Tabla 33. Porcentaje de sujetos con obesidad mórbida con distinto grado de actividad física (caminar <30 o \geq 30 min/día) en función de la adherencia a la dieta mediterránea

		Actividad Física		Total
		<30 min al día	\geq 30 min al día	
Adherencia Dieta Mediterránea	Si	38.7%	61.3%	100%
	No	51.9%	48.1%	100%

Datos expresados en porcentajes.

Tabla 34. Porcentaje de sujetos con obesidad mórbida con distinto grado de actividad física (caminar <30 o \geq 30 min/día) en función del consumo de pescado

		Actividad Física		Total
		<30 min al día	\geq 30 min al día	
Consumo de Pescado o Marisco	<3 por semana	53.6%	46.4%	100%
	\geq3 por semana	36.6%	63.4%	100%

Datos expresados en porcentajes.

Tabla 35. Porcentaje de sujetos con obesidad mórbida con distinto grado de actividad física (caminar <30 o \geq 30 min/día) en función del consumo de repostería comercial

		Actividad Física		Total
		<30 min al día	\geq 30 min al día	
Consumo de repostería comercial	<3 por semana	37.5%	62.5%	100%
	\geq3 por semana	58.5%	41.5%	100%

Datos expresados en porcentajes.

No existen diferencias estadísticamente significativas entre el nivel de ejercicio físico y el resto de los ítems del cuestionario MEDAS.

5.5. Asociación entre el síndrome metabólico y nivel de estudios en la obesidad mórbida

Hemos encontrado una asociación estadísticamente significativa entre la presencia de síndrome metabólico y el nivel de estudios (básicos o superior) en la obesidad mórbida ($P=0.014$) (Tabla 36).

Tabla 36. Porcentaje de sujetos con obesidad mórbida con distinto grado de estudios (básico o superior) en función de la presencia o ausencia del síndrome metabólico

		Nivel de estudios		Total
		Básicos	Superior	
Sujetos con síndrome metabólico	Si	73.3%	26.7%	100%
	No	48.1%	51.9%	100%

Datos expresados en porcentajes.

A continuación, analizamos la asociación entre el nivel de estudios y cada uno de los criterios que definen el síndrome metabólico. Encontramos una asociación significativa entre el nivel de estudios y la presencia de hipertensión arterial ($P=0.036$) (Tabla 37), y entre el nivel de estudios y la presencia de DM2 ($P=0.036$) (Tabla 38). Con los demás criterios de síndrome metabólico, como son los triglicéridos y el colesterol HDL, no existen diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 37. Porcentaje de sujetos con obesidad mórbida con distinto grado de estudios (básico o superior) en función de la presencia o ausencia de hipertensión arterial

		Nivel de estudios		Total
		Básicos	Superior	
Sujetos con HTA	Si	71.7%	28.3%	100%
	No	50.0%	50.0%	100%

Datos expresados en porcentajes. HTA: hipertensión arterial.

Tabla 38. Porcentaje de sujetos con obesidad mórbida con distinto grado de estudios (básico o superior) en función de la presencia o ausencia de DM2

		Nivel de estudios		Total
		Básicos	Superior	
Sujetos con DM2	Si	74.1%	25.9%	100%
	No	57.7%	42.3%	100%

Datos expresados en porcentajes. DM2: diabetes mellitus tipo 2.

5.6. Asociación entre el síndrome metabólico y el ejercicio físico en la obesidad mórbida

Estudiando la asociación entre el síndrome metabólico y el ejercicio físico en la obesidad mórbida, no hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas según el ejercicio físico que realizan al día (si caminan menos o más de 30 minutos al día) (Tabla 39).

Cuando analizamos los distintos criterios del síndrome metabólico, encontramos diferencias estadísticamente significativas en función de tener o no tener DM2 ($P=0.039$) (Tabla 40). No hemos encontrado asociación significativa entre el ejercicio físico con el resto de criterios del síndrome metabólico.

Tabla 39. Porcentaje de sujetos con obesidad mórbida con distinto grado de ejercicio físico (caminar <30 o ≥ 30 min/día) en función de la presencia o ausencia de síndrome metabólico

		Ejercicio físico		Total
		<30 minutos al día	≥ 30 minutos al día	
Sujetos con síndrome metabólico	Si	52.1%	47.9%	100%
	No	43.2%	56.8%	100%

Datos expresados en porcentajes.

Tabla 40. Porcentaje de sujetos con obesidad mórbida con distinto grado de ejercicio físico (caminar <30 o ≥30 min/día) clasificados en función del cumplimiento del criterio de DM2 de síndrome metabólico

		Ejercicio físico		Total
		<30 minutos al día	≥30 minutos al día	
Sujetos con DM2	Si	55.7%	44.3%	100%
	No	40.6%	59.4%	100%

Datos expresados en porcentajes. DM2: diabetes mellitus tipo 2.

5.7. Asociación entre el ejercicio físico y el nivel de estudios en la obesidad mórbida

Estudiando la asociación entre el ejercicio físico y nivel de estudios en la obesidad mórbida, hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas según el ejercicio físico que realizan al día (caminar menos o más de 30 minutos al día) y el nivel de estudios que tienen (básico o superior) ($P=0.006$) (Tabla 41).

Tabla 41. Porcentaje de sujetos con obesidad mórbida con nivel de estudios (básico y superior) en función del grado de ejercicio físico que realizan (caminar <30 o ≥30 min/día)

		Nivel de estudios		Total
		Básico	Superior	
Ejercicio físico	<30 min al día	78.6%	21.4%	100%
	≥30 min al día	56.5%	43.5%	100%

Datos expresados en porcentajes.

5.8. Asociación de la dieta mediterránea y el síndrome metabólico con los niveles séricos de miRNAs

De los sujetos del estudio, 58 pacientes con obesidad mórbida de los reclutados en la consulta de la UGC de Endocrinología y Nutrición del Hospital Regional Universitario de Málaga fueron seleccionados para estudiar los niveles de los miRNAs seleccionados en sus muestras de suero.

5.8.1. Características antropométricas y bioquímicas

En la **Tabla 42** se resumen las características de los pacientes obesos mórbidos clasificados como Adh-DMed (n = 8) y No Adh-DMed (n = 50). No se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos en la mayoría de las variables. Sólo los valores tensión arterial diastólica fueron significativamente mayores en el grupo No Adh-DMed.

Tabla 42. Variables antropométricas y bioquímicas en pacientes con obesidad mórbida clasificados según su adherencia a la dieta mediterránea

Variables	Población total	No Adh-DMed	Adh-DMed	P
N (hombre/mujer)	58 (17/41)	50 (15/35)	8 (2/6)	Ns
Edad (años)	54.1 ± 14.4	53.7 ± 14.3	57.1 ± 15.2	Ns
Peso (kg)	111.2 ± 17.4	110.9 ± 17.9	113.2 ± 16.2	Ns
IMC (kg/m²)	44.1 ± 4.6	44.0 ± 4.7	44.4 ± 4.0	Ns
Cintura (cm)	126.8 ± 13.7	127.3 ± 13.5	124.1 ± 15.6	Ns
Cadera (cm)	132.5 ± 11.1	131.4 ± 10.2	137.2 ± 14.7	Ns
TAS (mmHg)	135.1 ± 14.7	136.6 ± 16.1	133.8 ± 10.0	Ns
TAD (mmHg)	81.4 ± 9.3	82.1 ± 9.2	73.6 ± 9.6	0.04
Glucosa (mg/dL)	122.0 ± 40.2	124.1 ± 42.5	109.3 ± 17.5	Ns
Colesterol (mg/dL)	195.9 ± 36.7	194.9 ± 36.8	202.0 ± 39.7	Ns
C-HDL (mg/dL)	47.6 ± 11.6	47.1 ± 11.9	50.1 ± 9.8	Ns
C-LDL (mg/dL)	107.0 ± 28.4	106.0 ± 28.1	112.8 ± 31.0	Ns
Triglicéridos (mg/dL)	143.4 ± 65.9	145.5 ± 69.4	130.4 ± 40.0	Ns
Insulina (mIU/L)	19.1 ± 17.5	20.2 ± 18.6	12.2 ± 5.0	Ns
HOMA-IR	5.9 ± 8.2	6.9 ± 8.8	3.3 ± 1.6	Ns
%Pacientes que cumplen criterio de cintura del síndrome metabólico	100	100	100	Ns
% Pacientes que cumplen criterio de triglicéridos del síndrome metabólico	37.5	38.1	25.0	Ns
% Pacientes que cumplen criterio de C-HDL del síndrome metabólico	60.7	63.8	50.0	Ns
% Pacientes que cumplen criterio de hipertensión del síndrome metabólico	72.4	73.5	75.0	Ns
% Pacientes que cumplen criterio de glucosa o DM2 del síndrome metabólico	71.9	72.9	62.5	Ns

Datos expresados como media ± desviación estándar, o como porcentajes. IMC: índice de masa corporal. TAS: tensión arterial sistólica. TAD: tensión arterial diastólica. C-HDL: colesterol HDL. C-LDL: colesterol LDL. Diferencias estadísticamente significativas cuando $P \leq 0.05$. Ns: no significativo.

5.8.2. Correlación entre los niveles de los miRNAs estudiados.

Realizamos un análisis para conocer la correlación de los miRNAs analizados entre ellos mismos. Encontramos que los niveles del mir-590 correlacionaron significativamente con los niveles circulantes del mir-let7a ($r = 0.361$, $p = 0.006$) (Figura 26). Mir-192 correlacionó significativamente con mir-107 ($r = 0.364$, $p = 0.005$) (Figura 27).

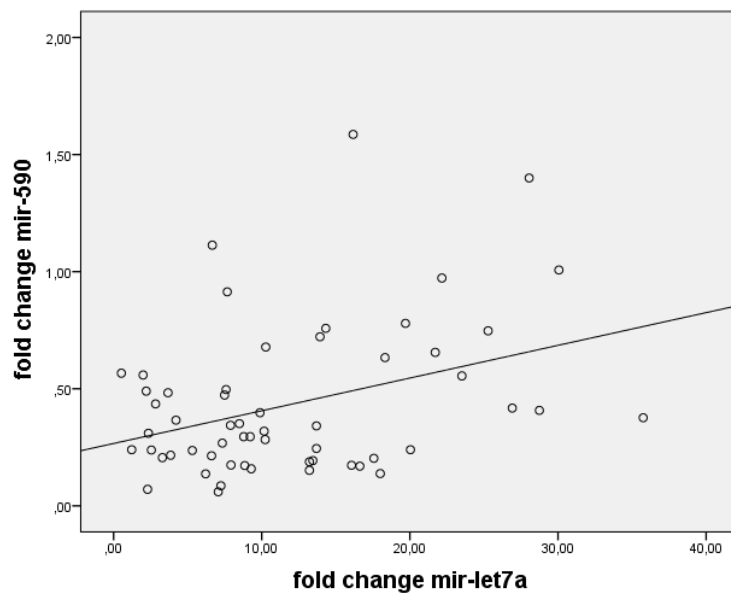


Figura 26. Correlación entre niveles en suero de mir-590 y mir-let7a expresados como fold change medidos en sujetos con obesidad mórbida

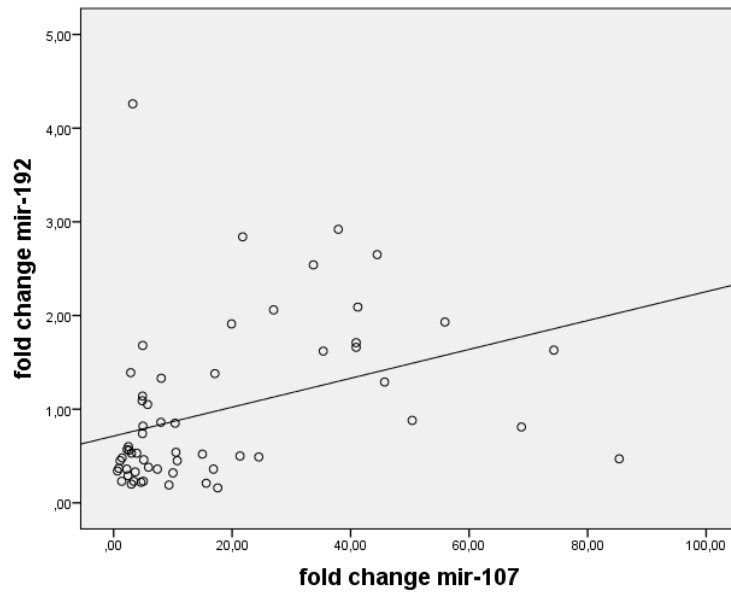


Figura 27. Correlación entre niveles en suero de mi-192 y mi-107 expresados como fold change medidos en sujetos con obesidad mórbida

5.8.3. Asociación de los niveles de miRNAs y adherencia a la dieta mediterránea

Se planteó la hipótesis de que podría haber diferencias significativas en los niveles de los miRNAs séricos seleccionados en nuestro estudio (mir-590, mir-107, mir-let7a, mir-21 y mir-192) con respecto a la adherencia o no adherencia a la dieta mediterránea en sujetos con obesidad mórbida. Tras un análisis por regresión logística donde la variable dependiente fue la adherencia o no adherencia a la dieta mediterránea, observamos niveles séricos de mir-590 ($p = 0,042$) más altos en los pacientes adherentes (**Figura 28**). También realizamos un análisis de regresión lineal considerando estos miRNAs como la variable dependiente, ajustando el modelo por la adherencia a la dieta mediterránea, sexo, edad e índice de masa corporal y observamos de nuevo una asociación estadísticamente significativa entre mir-590 y adherencia a la dieta mediterránea ($p = 0.040$, $B = 0.275$).

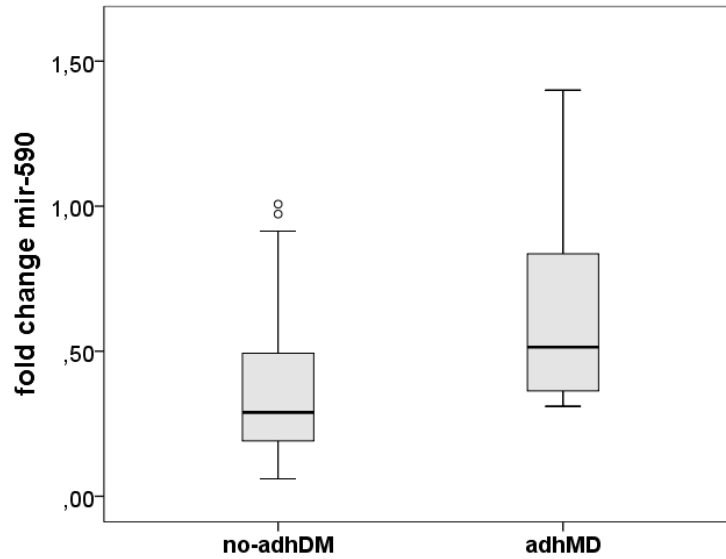


Figura 28. Niveles de mir-590 en suero expresados como fold change en pacientes con obesidad mórbida en función de su adherencia o no adherencia a la dieta mediterránea

5.8.4. Niveles de miRNAs en suero con respecto a cada uno de los ítems del MEDAS

A continuación, quisimos estudiar las posibles diferencias en los niveles de esos miRNAs séricos con respecto a cada uno de los 14 ítems que se recogen en el MEDAS. Los resultados de dichos análisis son:

5.8.4.1. Análisis niveles mir-590

Encontramos niveles significativamente más bajos en suero de mir-590 en aquellos pacientes que consumían más de 2 pasteles comerciales o bollería industrial por semana (ítem 11) ($p = 0.040$) (Figura 29). Por análisis de regresión lineal ajustando por las variables adherencia a la dieta mediterránea, sexo, edad e índice de masa corporal, solo

observamos una asociación estadísticamente significativa entre el mir-590 y el ítem 11 (consumo de bollería industrial por semana) ($p = 0.032$, $B = 0.286$).

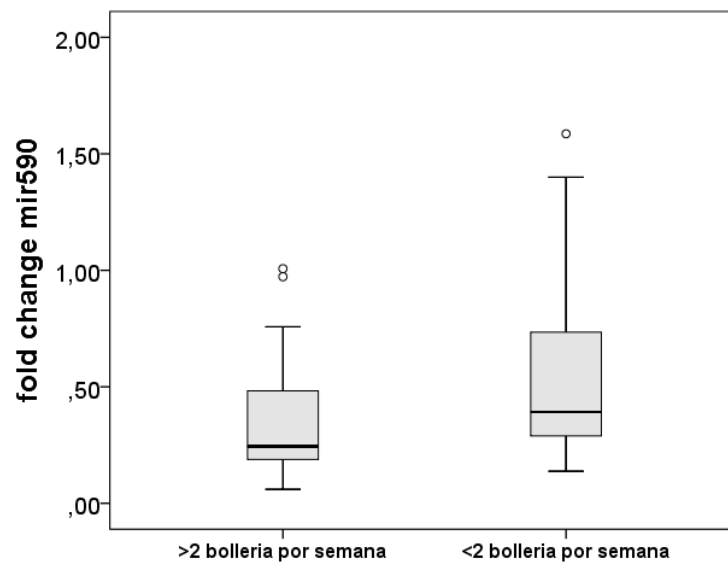


Figura 29. Niveles de mir-590 en suero expresados como fold change en pacientes con obesidad mórbida en función del consumo de bollería industrial a la semana

5.8.4.2. Análisis niveles mir-let7a

Respecto a los niveles en suero de mir-let7a, encontramos niveles estadísticamente más bajos de este miRNA en aquellos que consumieron ≥ 3 piezas de fruta al día ($p = 0.045$) (ítem 4) (Figura 30), en aquellos que consumieron menos carnes rojas que blancas ($p = 0.048$) (ítem 13) (Figura 31), y en aquellos pacientes que consumieron ≥ 1 bebida azucarada al día ($p = 0.043$) (ítem 7) (Figura 32). Mediante análisis de regresión lineal ajustando por los ítems del cuestionario, sexo, edad e índice de masa corporal, observamos asociaciones estadísticamente significativas entre el mir-let7a y el ítem 7

(consumo de bebidas azucaradas al día) ($p = 0.022$, $B = 0.322$), mir-let7a y el ítem 4 (consumo de piezas de fruta al día) ($p = 0.027$, $B = -0.293$) y mir-let7a y el ítem 13 (consumo menor de carnes rojas que blancas) ($p = 0.049$, $B = -0.255$).

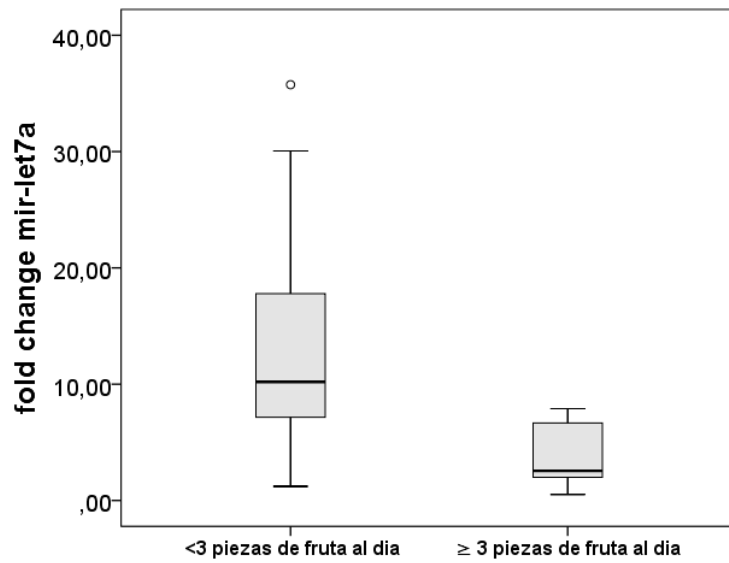


Figura 30. Niveles de mir-let7a en suero expresados como fold change en pacientes con obesidad mórbida en función del consumo de las piezas de fruta a la semana

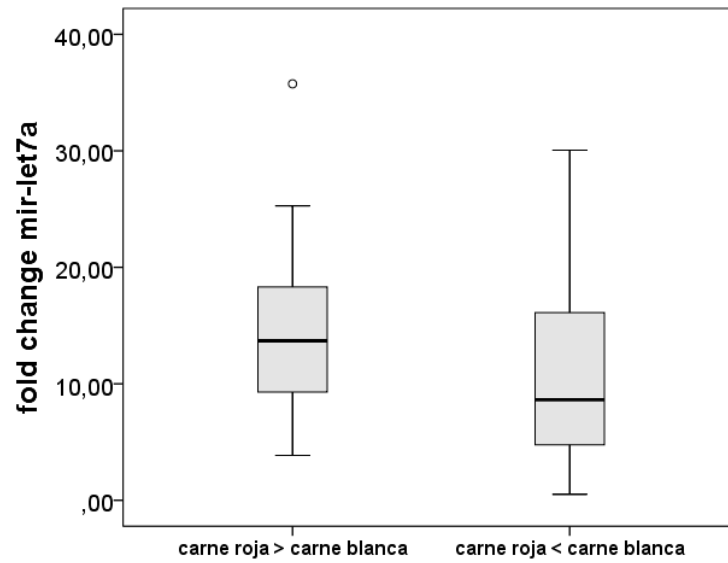


Figura 31. Niveles de mir-let7a en suero expresados como fold change en pacientes con obesidad mórbida en función del mayor o menor consumo de carnes rojas frente al consumo de carnes blancas

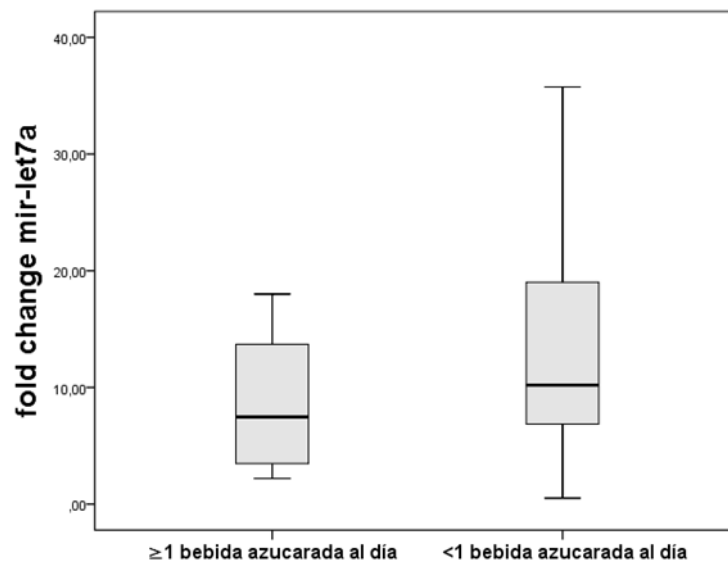


Figura 32. Niveles de mir-let7a en suero expresados como fold change en pacientes con obesidad mórbida en función del consumo de bebidas azucaradas a la semana

5.8.5. Niveles de miRNAs en suero con respecto al síndrome metabólico

Tras analizar la relación entre adherencia a la dieta mediterránea y síndrome metabólico, quisimos ver si existían diferencias significativas en los niveles de miRNAs en suero en función de la presencia de síndrome metabólico y/o sus criterios.

Cuando analizamos la relación entre los diferentes miRNAs y la presencia o ausencia de síndrome metabólico no observamos diferencias significativas con ninguno de los miRNAs estudiados.

Al realizar el análisis para cada uno de los criterios del síndrome metabólico encontramos diferentes asociaciones con los niveles de miRNAs. Realizamos análisis de regresión logística con los criterios de síndrome metabólico como variables dependientes, ajustados por los diferentes miRNAs, el sexo, la edad e IMC y encontramos diferencias estadísticamente significativas en los siguientes casos:

En los pacientes que cumplían el criterio de colesterol HDL para el síndrome metabólico encontramos niveles estadísticamente más bajos de mir-590 ($p = 0.032$, OR = 0.112, 95 % CI = 0.015–0.829) (**Figura 33**) y mir-let7a ($p = 0.003$, OR = 0.867, 95% CI = 0.789–0.953) (**Figura 34**). Sin embargo, los niveles de mir-192 fueron significativamente más altos ($p = 0.048$, OR = 2.649, 95% CI = 1.010–6.950) (**Figura 35**). En los pacientes que cumplieron con el criterio de triglicéridos del síndrome metabólico también encontramos un nivel estadísticamente más alto de mir-192 ($p = 0.017$, OR = 2.742, IC del 95% = 1.194–6.297) (**Figura 36**). No encontramos diferencias estadísticamente significativas en los niveles séricos de los miRNAs analizados con respecto a los criterios de hipertensión y glucosa.

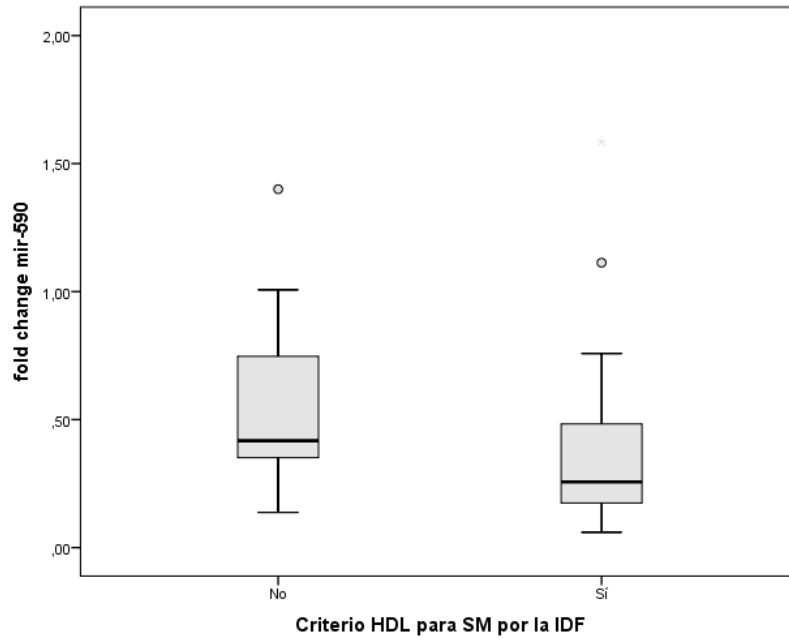


Figura 33. Niveles en suero de mir-590 expresados como fold change en pacientes con obesidad mórbida clasificados según el criterio colesterol HDL para el síndrome metabólico

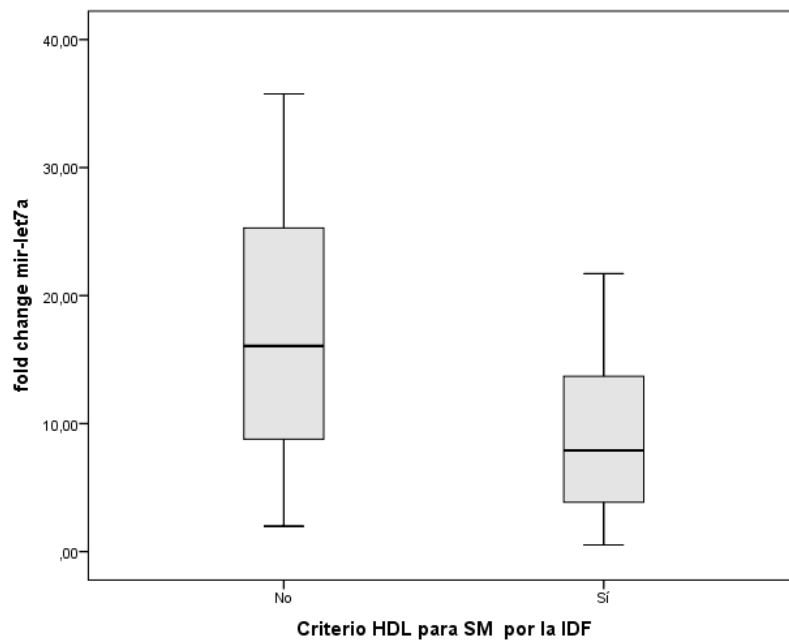


Figura 34. Niveles en suero de mir-let7a expresados como fold change en pacientes con obesidad mórbida clasificados según el criterio colesterol HDL para el síndrome metabólico

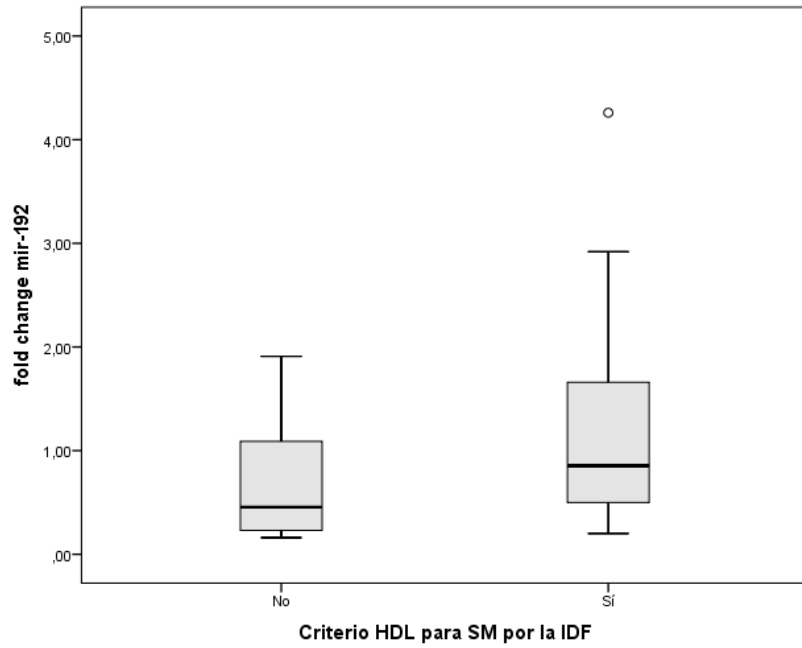


Figura 35. Niveles en suero de mir-192 expresados como fold change en pacientes con obesidad mórbida clasificados según el criterio colesterol HDL para el síndrome metabólico

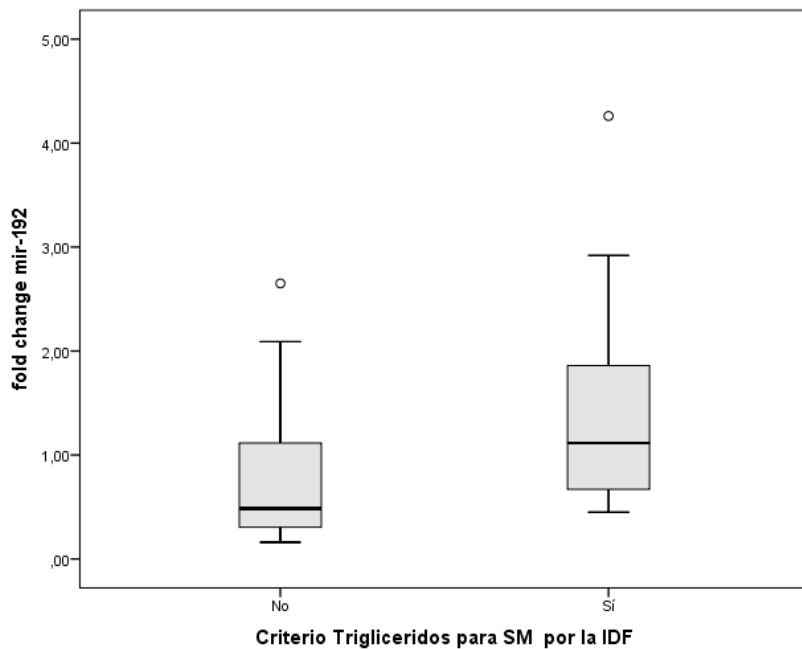


Figura 36. Niveles en suero de mir-192 expresados como fold change en pacientes con obesidad mórbida clasificados según el criterio de triglicéridos para el síndrome metabólico

También analizamos la asociación entre los miRNAs y la presencia de DM2 como variable dependiente en un análisis de regresión logística, ajustado por sexo, edad e IMC. Encontramos niveles estadísticamente más altos de mir-192 en sujetos con obesidad mórbida con DM2 ($p = 0.013$, OR = 2.643, 95% CI = 1.223-5.709) (Figura 37).

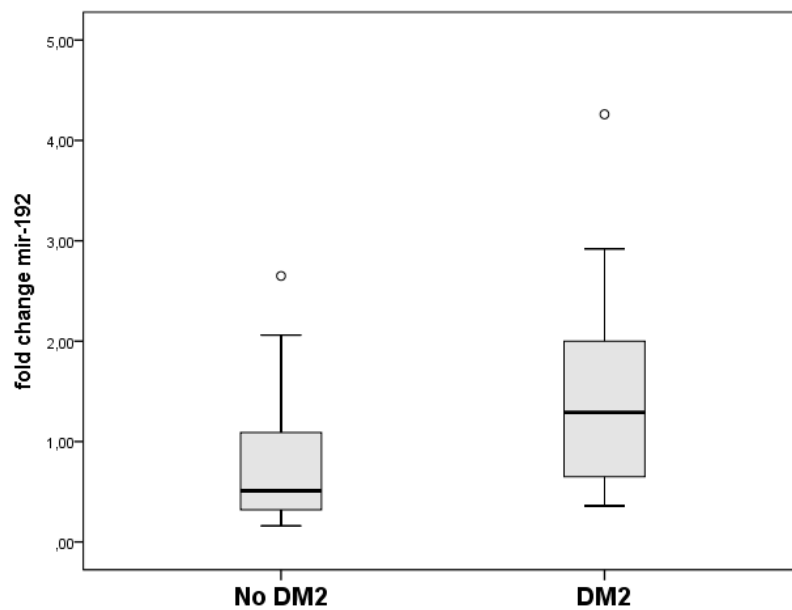


Figura 37. Niveles en suero de mir-192 expresados en fold change en pacientes con obesidad mórbida en función de tener o no DM2



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

6. DISCUSIÓN



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

6.1. Adherencia a la dieta mediterránea

La dieta constituye uno de los factores ambientales más relevantes que influyen en el desarrollo de distintas enfermedades crónicas. El análisis del patrón dietético es una herramienta práctica para evaluar la asociación entre la dieta y el riesgo de desarrollar enfermedades crónicas. Esto es de especial importancia en la promoción de la salud. Hasta la fecha, la dieta mediterránea se ha establecido como un patrón dietético saludable, existiendo muchas evidencias que la señalan como una herramienta útil en el control de los factores de riesgo cardiovascular, como la hipercolesterolemia, la DM2 y la hipertensión (Fitó et al., 2016). Se ha visto que la dieta mediterránea presenta una asociación inversa con la incidencia de enfermedad de las arterias coronarias en el sur de Europa en comparación con el norte de Europa y los Estados Unidos (Keys et al., 1966; Menotti et al., 1989). Además, existen numerosos estudios epidemiológicos que muestran una relación entre dieta mediterránea y obesidad, DM2 y enfermedad cardiovascular.

La dieta mediterránea hace referencia a un patrón de alimentación de las zonas de cultivo de olivos que rodean el mar Mediterráneo. Este tipo de dieta se centra en el consumo de frutas, tubérculos, granos (en su mayoría enteros), legumbres, nueces, semillas y aceite de oliva, que representa uno de sus constituyentes principales y característico, proporcionando un alto contenido de ácidos grasos monoinsaturados y una ingesta reducida de ácidos grasos saturados. Además, se considera como saludable una ingesta moderada de vino tinto con las comidas, una ingesta moderada de mariscos, aves, productos lácteos y un bajo consumo de carnes rojas y dulces. Todas estas características son tenidas en cuenta en el cuestionario de adherencia a la dieta mediterránea considerado en nuestro estudio.

Sin embargo, los mecanismos de esta asociación no son del todo conocidos. Dentro de la dieta mediterránea, desde hace años se ha considerado como componente fundamental al aceite de oliva. Se conoce que este aceite, rico en ácido oleico, mejora

el perfil lipídico (Mayneris-Perxachs et al., 2014), previene la disfunción mitocondrial y la resistencia a la insulina en el músculo esquelético (Salvadó et al., 2013). Se ha asociado, además, con una disminución del riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular (Moon et al., 2014) y con una prevención del desarrollo de la resistencia a la insulina en los miotubos mediante la activación de PI3K (Gao et al., 2009). Uno de sus constituyentes principales, el ácido oleico, reduce la apoptosis celular, mecanismo implicado en la inestabilidad y rotura de las placas ateroscleróticas y en sus complicaciones (Iwaki et al., 2012). Sin embargo, no todos los mecanismos moleculares por los que el aceite de oliva tiene un efecto protector son conocidos. Además del ácido oleico, otros compuestos minoritarios del aceite de oliva, como son los compuestos fenólicos, tienen también propiedades cardiosaludables. El ácido oleanólico es capaz de inducir la liberación de prostaglandina I₂ (PGI₂) y no incrementa la liberación del tromboxano TXA₂, un eicosanoide vasoconstrictor (Martínez-González et al., 2008). Otros polifenoles, como el resveratrol y la oleuropeína, inhiben la proliferación del músculo liso vascular, mecanismo relevante en la aterogénesis (Abe et al., 2012; Abe et al., 2011), e inducen una vasodilación del endotelio vascular (D'Agostino et al., 2020). En conjunto, el aceite de oliva parece tener un efecto cardiosaludable directo sobre las células de músculo liso vascular. Por esta y otras razones, varias de las preguntas del cuestionario sobre adherencia a la dieta mediterránea se centran en el consumo del aceite de oliva.

En nuestro estudio hemos comprobado cómo solo el 19.3% de los sujetos con obesidad mórbida muestran una buena adherencia a la dieta mediterránea, un porcentaje intermedio a lo visto en otros estudios, en los cuales, por ejemplo, se encuentra un 40.8% (Gils et al., 2020) de los sujetos con obesidad mórbida con una adherencia moderada o alta a la dieta mediterránea, o sólo un 6% de sujetos con obesidad mórbida con una buena adherencia (Ruiz-Tovar et al., 2014). Sin embargo, este último estudio se realizó con otro tipo de cuestionario, el test KIDMED, el cual es ligeramente distinto al cuestionario MEDAS. A pesar de esta baja adherencia a la dieta mediterránea en los sujetos con obesidad mórbida, en nuestro estudio hemos

encontrado un porcentaje similar entre los sujetos control, los cuales eran normopeso. Esto es llamativo, puesto que se supone que los sujetos normopeso deberían tener una dieta más saludable al mantener el peso en un rango adecuado. Sin embargo, un estudio previo ha mostrado que los hábitos dietéticos de la población normal española no se encuadran dentro de lo que se supone que es la dieta mediterránea. Habría una ingesta total de lípidos superior al 40% del total de calorías ingeridas, siendo las dos terceras partes grasas saturadas. Mientras, el porcentaje de lípidos monoinsaturados, como el ácido oleico, estaba muy por debajo de lo recomendable (Morales-Falo et al., 2013). En este sentido, los hábitos alimentarios típicos de las poblaciones mediterráneas, donde se supone que debería existir una alta adherencia a la dieta mediterránea, se han ido alterando progresivamente con alimentos ricos en proteínas, grasas saturadas y azúcares hasta el punto de que su ingesta supera ya los niveles necesarios y saludables. Esto deriva del estado de “aparente bienestar” en el que vivimos, donde el aumento de la esperanza de vida corre paralelo al aumento del riesgo de enfermedades como la obesidad, el síndrome metabólico, las enfermedades cardiovasculares y el cáncer. Este cambio en los hábitos alimenticios ha provocado que la adherencia a la dieta mediterránea haya disminuido bastante desde hace ya algunas décadas (Hu, 2002), y podría estar detrás de la baja adherencia a la dieta mediterránea encontrada en los sujetos control normopeso y del incremento continuado de la incidencia de sobrepeso y obesidad en la población española. En nuestro estudio hemos comprobado como el porcentaje de sujetos con obesidad mórbida que consume preferentemente aceite de oliva para cocinar era similar a la de los sujetos control, y similar a un estudio previo en el que se vio que alrededor del 90% de la población española utilizaba preferentemente aceite de oliva como aceite en la cocina (Soriguer et al., 2013). Por otro lado, nuestros hallazgos de que la adherencia a la dieta mediterránea era mayor en individuos con obesidad mórbida que en sujetos con normopeso podría estar explicado por los consejos dietéticos que suelen darse a los sujetos con obesidad mórbida. Estos sujetos suelen estar incluidos en distintos programas para perder peso, tanto programas dietéticos como en aquellos que realizan antes de ser sometidos a cirugía bariátrica. En éstos, se espera que los consejos nutricionales y dietéticos sean adquiridos con la idea de que

disminuyan algo de su peso para minimizar el riesgo en la intervención quirúrgica. La instauración de una dieta a estos pacientes, que por lo general es muy similar a lo que es la dieta mediterránea, tiene como objetivo la de perder peso de forma significativa y mantenerla en el tiempo. No obstante, la adherencia a la dieta que se consigue puede ser muy diferente en cada persona, con lo cual tampoco se esperaría un incremento muy alto en dicha adherencia.

Además de ser ligeramente más adherentes a la dieta mediterránea en líneas generales, los sujetos con obesidad mórbida respondieron de forma adherente a un mayor número de preguntas del cuestionario: mayor consumo de frutas, carnes rojas, legumbres, pescado, frutos secos, vegetales cocinados y carnes blancas frente a rojas. A pesar de esto, hemos observado en general que en los sujetos normopeso, las características antropométricas y los niveles de las variables bioquímicas analizadas estarían de acuerdo con lo esperado para cada una de las preguntas. Por ejemplo, un consumo de 2 o más cucharadas de aceite de oliva al día estaría asociado a una menor tensión y mayores niveles de colesterol HDL en sujetos normopeso. Sin embargo, en los sujetos con obesidad mórbida este consumo de 2 o más cucharadas de aceite de oliva al día se asociaría a una mayor tensión arterial diastólica y niveles de triglicéridos. Estas y otras posibles discrepancias podrían venir explicadas por el hecho de que los sujetos con obesidad mórbida pueden estar ingiriendo una cantidad más elevada de la recomendada de cada uno de los alimentos de los que se incluyen en el cuestionario MEDAS. Esto también podría explicar el hecho de que el grupo de obesos mórbidos que consume preferentemente aceite de oliva para cocinar tenga un peso y un IMC superior a los que no consumen preferentemente aceite de oliva para cocinar. Estos resultados vendrían avalados por otros estudios en los que se ha analizado la influencia de la adherencia a la dieta mediterránea en la pérdida de peso (Esposito et al., 2011). Sin embargo, la mayoría de ellos se realizaron en sujetos con un $IMC < 40 \text{ kg/m}^2$. Uno de los más importantes evaluaba el efecto de un programa de intervención en el estilo de vida con una dieta mediterránea con y sin restricción energética sobre la pérdida de peso y el riesgo cardiovascular (Salas-Salvadó et al., 2019). En el estudio PREDIMED-PLUS se ha

visto que los sujetos con sobrepeso y obesidad con síndrome metabólico que se adherían a una dieta mediterránea junto con una restricción energética perdían más peso que el grupo de control, el cual sólo seguía las recomendaciones de adherirse a una dieta mediterránea sin restricción energética. Independientemente de esto, varios estudios clínicos aleatorizados han demostrado que la dieta mediterránea reduce significativamente el peso corporal, a diferencia de las dietas con alimentos con un alto índice glucémico, típicos de la dieta occidental (Elhayani et al., 2010).

6.2. Adherencia a la dieta mediterránea y síndrome metabólico

La dieta mediterránea también puede estar implicada en la regulación de otros aspectos del metabolismo relacionado con el desarrollo del síndrome metabólico. Aunque en nuestro estudio no hemos encontrado diferencias significativas en el porcentaje de sujetos con obesidad mórbida con o sin síndrome metabólico en función de si son adherentes o no a la dieta mediterránea, si hemos observado algunas asociaciones entre los distintos criterios que definen la presencia del síndrome metabólico y el consumo de algunos de los alimentos que se incluyen en el cuestionario de adherencia a la dieta mediterránea. En primer lugar, hemos observado que aquellos sujetos con obesidad mórbida adherentes a la dieta mediterránea muestran unos niveles inferiores de tensión arterial diastólica. Esta asociación ha sido confirmada en estudios previos, y favorecería una disminución del riesgo de enfermedades cardiovasculares e insuficiencia renal al ser la hipertensión uno de los principales factores implicados (Storniolo et al., 2017, Nissensohn et al., 2016). En este sentido, uno de los patrones dietéticos óptimos para el control de la hipertensión es aquel que incluye un alto consumo de verduras, legumbres, frutas, productos lácteos bajos en grasa, cereales, pescado y aceite de oliva, asociado esto con un bajo consumo de carnes rojas y alimentos que contienen ácidos grasos saturados. Este patrón es el típico de la

dieta mediterránea. En distintas revisiones recientes se han mostrado los beneficios de la dieta mediterránea sobre la presión arterial sistólica y diastólica en sujetos con presión arterial normal o hipertensión leve, después del consumo de una dieta mediterránea (Nissensohn et al., 2016; Tuttolomondo et al., 2019). En ellas, además se muestran distintos mecanismos de acción por los cuales la dieta mediterránea puede estar ejerciendo sus efectos sobre tensión arterial, los cuales caen fuera del objetivo de este estudio.

Estudiando más en profundidad, hemos comprobado, como era de esperar en función de los consejos dietéticos, que el porcentaje de sujetos con obesidad mórbida que consume menos de 1 bebida carbonatada al día es mayor en el grupo que presenta hipertensión arterial. Las bebidas endulzadas con azúcar son las principales fuentes de azúcar añadida a los alimentos, e incluyen tanto bebidas carbonatadas (no alcohólicas) como bebidas de frutas con azúcares añadidos. La mayor parte de los estudios se han centrado en analizar su influencia sobre el aumento de peso y la obesidad (Malik et al., 2013). Sin embargo, estas bebidas también pueden tener un impacto directo sobre el aumento de la presión arterial, independientemente del aumento de peso, tal y como se ha descrito en distintos estudios de cohortes prospectivos (Kim et al., 2016; Sayon-Orea et al., 2015). Además, hemos visto como el porcentaje de sujetos con obesidad mórbida que consume 3 o más raciones de pescado a la semana es mayor en el grupo que no presenta hipertensión arterial. Dietas con un alto contenido en pescado, entre otros alimentos, pero con una reducción en el consumo de sal, son utilizadas para el control de la hipertensión arterial (Erkkila et al., 2008; Ramel et al., 2010; Petsini et al., 2019).

Numerosos estudios han mostrado cómo la adherencia a la dieta mediterránea se relacionada estrechamente con una mejora del perfil lipídico (Ambring et al., 2004). En lo referente a esta relación entre la dieta mediterránea y los niveles de lípidos, hemos podido comprobar como existe una asociación entre la adherencia a dicha dieta y los niveles de triglicéridos séricos. Sin embargo, la asociación parece estar en contra de lo que se esperaba. Es decir, el porcentaje de sujetos con obesidad mórbida adherente a

la dieta mediterránea es mayor en el grupo de pacientes que presenta hipertrigliceridemia. Lo lógico sería encontrar un mayor porcentaje de adherencia en el grupo que tiene unos niveles normales de triglicéridos. Pero algo similar ocurre cuando analizamos la asociación entre el cumplimiento del criterio de hipertrigliceridemia y el consumo de legumbres. Hemos podido comprobar como el porcentaje de sujetos con obesidad mórbida que consume 3 o más raciones de legumbres por semana es mayor en el grupo de pacientes que presenta hipertrigliceridemia. Este resultado podría estar en línea con lo comentado previamente en relación con una ingesta posiblemente más elevada de la aconsejable, la cual podría venir acompañada de otro tipo de alimentos con un alto contenido graso. Sin embargo, también hemos visto como el porcentaje de sujetos con obesidad mórbida que consume menos de 3 raciones de repostería comercial por semana es mayor en el grupo de pacientes que presenta hipertrigliceridemia. Al igual que en otros casos, esta relación no sería la esperada, pero podría venir explicada por los supuestos consejos dietéticos que se le dan a este tipo de pacientes. Los pacientes con niveles elevados de triglicéridos deberían de reducir el consumo de bebidas azucaradas, repostería comercial, carnes rojas, grasas, etc.

Por otro lado, los niveles de colesterol HDL también se han asociado con la adherencia a la dieta mediterránea, estando en parte debido a las distintas funciones que presentan dichas lipoproteínas: reflujo y metabolismo de colesterol, efecto antioxidante, antiinflamatorio y vasodilatador. Se conoce que un aumento de los niveles de colesterol HDL se relaciona con una disminución del riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares (El Harchaoui et al., 2009). Hemos podido comprobar como el porcentaje de sujetos con obesidad mórbida que consume 3 o más piezas de fruta al día es mayor entre en el grupo de pacientes que presenta niveles disminuidos de colesterol HDL. Esto, y al igual que con otras relaciones encontradas, parece estar en desacuerdo con lo esperado. Pero podría venir explicado por los consejos dietéticos y nutricionales que se les dan a estos pacientes, no solo para perder peso sino especialmente cuando muestran niveles alterados de lípidos. Por otro lado, como esperábamos, y de acuerdo con las recomendaciones dietéticas que se dan a estos

pacientes, el porcentaje de sujetos con obesidad mórbida que consume preferentemente carne blanca frente a roja es mayor en el grupo de pacientes que presenta niveles adecuados de colesterol HDL.

6.2.1. Asociación del ejercicio con la adherencia a la dieta mediterránea y el síndrome metabólico

Además de las conocidas acciones beneficiosas para la salud de la dieta mediterránea, dentro de un estilo de vida saludable nos encontramos con el ejercicio. Es bien conocido que en estos dos factores se encuentran muy interrelacionados. Incluso se ha propuesto una nueva pirámide alimenticia para la dieta mediterránea moderna, en la cual se enfatiza la importancia de un nivel diario adecuado de actividad física. En líneas generales, el consumo de una dieta saludable viene acompañada de la realización de más ejercicio. Pero como era de esperar, y dada las limitaciones físicas de los pacientes con obesidad mórbida, no hemos encontrado una asociación significativa entre el ejercicio físico que realizan al día y la adherencia a la dieta mediterránea. Sin embargo, si hemos podido observar una asociación significativa entre el nivel de actividad física (si caminan menos o más de 30 minutos al día) y el consumo de pescado y el consumo de repostería comercial. Un consumo de pescado mayor o igual a 3 raciones por semana y un consumo de repostería comercial menor de 3 veces por semana se encuentran asociados a un mayor nivel de ejercicio (caminar al menos 30 min/día). Estos resultados nos están confirmando la asociación entre el consumo de una dieta saludable y la realización de más ejercicio, aunque éste no sea de un carácter intenso/moderado.

Al igual que con la dieta mediterránea, no hemos encontrado una asociación entre el nivel de ejercicio físico y el síndrome metabólico. Sin embargo, cuando analizamos cada uno de los criterios que definen al síndrome metabólico por separado, observamos que un mayor nivel de ejercicio (caminar al menos 30 min/día) se asocia a una menor proporción de sujetos con DM2. Este hallazgo se encuentra en la línea de otros estudios

en los que se muestra que un ejercicio físico regular de una intensidad media a vigorosa puede prevenir la DM2 gracias a una mejora de la sensibilidad a la insulina, un mejor control glucémico (Bohn et al., 2015) y a un aumento de la captación de glucosa muscular (Colberg et al., 2016).

6.2.2. Asociación del nivel de educación con la adherencia a la dieta mediterránea y el síndrome metabólico

Otras de las características que pueden condicionar la adherencia a la dieta mediterránea es el nivel de estudios. Desde hace ya unos años, se ha considerado que el nivel de educación es uno de los predictores más sólidos del estado global de salud y de mortalidad (Lutz et al., 2018). En estudios previos ya se ha mostrado una asociación entre el nivel de educación recibida y la presencia de síndrome metabólico y obesidad. En población general existe un mayor riesgo de ser obeso cuando los sujetos no tenían estudios respecto a si tenían estudios universitarios (Soriguer et al., 2004). También se ha comprobado como las mujeres con un nivel educativo más bajo tenían más probabilidades de tener síndrome metabólico en comparación con aquellas que tenían un nivel educativo más alto (Marcuello et al., 2013). Nuestro estudio en sujetos con obesidad mórbida también muestra una asociación significativa entre la presencia de síndrome metabólico y el nivel de estudios (básicos o superiores). Encontramos que el porcentaje de obesos mórbidos con estudios superiores es mayor en el grupo de sujetos que no presentaban síndrome metabólico. Cuando hemos estudiado la asociación con cada uno de los criterios del síndrome metabólico, hemos hallado una asociación entre el nivel de estudios y la presencia de hipertensión arterial y la presencia de DM2. Al igual que antes, el porcentaje de obesos mórbidos con estudios superiores es mayor tanto en el grupo de sujetos que no tenían hipertensión como en aquel que no tenía DM2. Precisamente, la combinación de un perímetro abdominal elevado, la presencia de hipertensión y una alteración del metabolismo de los carbohidratos era el patrón más

común que definía la presencia de síndrome metabólico en población general en España (Marcuello et al., 2013).

En nuestro estudio no hemos encontrado asociación entre la adherencia a la dieta mediterránea y el nivel de estudios en sujetos con obesidad mórbida. Sin embargo, si encontramos una asociación significativa entre el nivel de estudios (básico o superior) y el consumo de verduras. El porcentaje de obesos mórbidos con un consumo de 2 o más raciones de verduras al día era mayor si tenían estudios superiores frente a aquellos que solo tenían estudios básicos. Algo parecido se ha encontrado en el estudio PASOS (*Physical Activity, Sedentarism, lifestyles and Obesity in Spanish youth*), donde se ha observado que un menor nivel educativo de los padres se asociaba a una peor adherencia a la dieta mediterránea por parte de los hijos (Warnberg et al., 2021).

Cuando hemos estudiado la asociación entre el ejercicio físico y nivel de estudios hemos encontrado también una asociación significativa. El porcentaje de obesos mórbidos que caminan al menos 30 minutos al día era superior en el grupo que tenía estudios superiores frente a aquel que tenía solo estudios básicos.

La conclusión más importante que sacamos de este de punto sería que un mayor nivel educacional en sujetos con obesidad mórbida estaría asociado a la presencia de factores relacionados con un estilo de vida más saludable (alimentación y ejercicio), y una menor prevalencia de síndrome metabólico, hipertensión y DM2. Estas patologías y factores asociados al estilo de vida podrían ser potencialmente controlables y prevenibles puesto que el nivel educacional es un factor que puede ser modificado.

6.3. Asociación de los niveles de distintos miRNAs con la adherencia a la dieta mediterránea y el síndrome metabólico

Tras el estudio de los niveles de los miRNAs seleccionados para nuestro estudio, hemos encontrado una asociación significativa entre los sujetos con obesidad mórbida adherentes a la dieta mediterránea y mayores niveles de mir-590 en suero. Observamos que tanto este miRNAs, junto con el resto de los aquí estudiados, estaban asociados a la cantidad y tipo de ingesta de alimentos y esta asociación la encontramos principalmente con el consumo de frutas, bollería comercial, bebidas azucaradas y carnes rojas o blancas. Por otro lado, el perfil lipídico relacionado con el síndrome metabólico también se asoció con algunos de los miRNAs estudiados. Encontramos que la presencia del criterio de colesterol HDL se asoció con niveles más bajos de mir-590 y mir-let7a, y con niveles séricos más altos de mir-192. También observamos que el criterio de triglicéridos se asoció con niveles séricos más altos de mir-192. Los niveles séricos elevados de mir-192 también se asociaron con la presencia de DM2.

Diferentes estudios han revelado que los nutrientes bioactivos individuales son responsables de los efectos cardioprotectores de algunas dietas como por ejemplo, la dieta mediterránea. Sin embargo, los mecanismos de acción directos aún no se comprenden completamente. Los componentes bioactivos de la dieta podrían tener la capacidad de cambiar la expresión de los miRNAs, modulando así vías importantes involucradas en el metabolismo (Quintanilha et al., 2017) (Izzotti et al., 2012) (Ross et al., 2014) (Cui et al., 2017). Los miRNAs participan en la modulación de la expresión de un sustancial número de proteínas y ello tiene un efecto sobre las funciones metabólicas y el control del estrés oxidativo (Cannataro et al., 2019). Por tanto, parece razonable suponer que algunos compuestos bioactivos presentes en diferentes alimentos pueden modular el desarrollo y progresión de determinadas enfermedades a través de miRNAs. En este escenario, hemos encontrado cómo diferentes miRNAs se asocian con la

adherencia a la dieta mediterránea y/o con algunos de los alimentos que se consideran en el cuestionario de adherencia a la dieta mediterránea realizado en los sujetos con obesidad mórbida evaluados en nuestro estudio.

El principal miRNAs que hemos encontramos asociado a la adherencia a la dieta mediterránea y al síndrome metabólico ha sido el mir-590. Encontramos una asociación entre niveles más altos de mir-590 y adherencia a la dieta mediterránea. También encontramos altos niveles de este miRNA en aquellos sujetos con un menor consumo de pastelería. Con respecto a los criterios del síndrome metabólico, los niveles más altos de mir-590 en suero los encontramos en los sujetos con colesterol HDL en el rango normal. Estos resultados sugieren que niveles más altos de este miRNAs están asociados con hábitos alimenticios y/o dietéticos saludables y con un mejor perfil metabólico.

Hasta la fecha, no hemos encontrado ningún estudio que ponga de manifiesto la posible relación entre el mir-590 y la modulación / asociación con los niveles de colesterol HDL. Sin embargo, hay estudios que han demostrado que la sobreexpresión de mir-590 inhibe la lesión aterosclerótica en ratones apoE -/- inducida por una dieta alta en grasas, preserva la proliferación celular e inhibe la apoptosis de células endoteliales tratadas con lipoproteínas de baja densidad oxidadas (Yang et al., 2019). Este efecto se produciría mediante la inhibición por parte del mir-590 de la vía toll-like receptor 4 (TLR4) /factor de transcripción nuclear kappa (NF-κB). Otro estudio ha proporcionado pruebas de que el mir-590 podría estar relacionado con la DM2 en pacientes con síndrome de estasis sanguínea, que se ha asociado con muchas enfermedades cardiovasculares como la hipertensión y la DM2 (Chen et al., 2018). Otro estudio también demostró cómo el mir-590 suprimió la actividad de la lactato deshidrogenasa A (LDHA), una enzima cuya regulación positiva se encuentra en modelos de DM2 en humanos y roedores (Chen et al., 2015) . En cuanto a la modulación del mir-590 por los alimentos, solo encontramos un estudio en el que la curcumina protege el endotelio mediante la inhibición de la expresión de CD40 y el estrés oxidativo en una vía dependiente de mir-590-3p (Wu et al., 2017). En general, nuestros resultados, junto con otros estudios, indican que el mir-590 podría estar involucrado en el metabolismo de los

lípidos y la glucosa, trabajando como intermediario en respuesta al consumo de determinados alimentos o al seguimiento de patrones dietéticos específicos.

Con respecto al mir-192, nuestro estudio muestra un patrón consistente: un nivel sérico más bajo de mir-192 en nuestros sujetos con obesidad mórbida se ha asociado con niveles más altos de colesterol HDL y triglicéridos en el rango normal. Sin embargo, nuestros resultados parecen estar en desacuerdo con otros estudios con respecto a este miRNAs, en los que el mir-192-5p estaba reducido tanto en hígados con esteatosis como en células con acumulación de lípidos (Lin et al., 2017). Otro estudio indicó que los triglicéridos celulares aumentaron después de la inhibición del mir-192-5p, y este efecto podría ser bloqueado por la transfección de la stearyl-CoA desaturase (SCD-1) (Liu et al., 2017). La SCD-1 es una enzima que cataliza la desaturación de sustratos grasos de acil-CoA y parece estar asociada negativamente con el estado de resistencia a la insulina en el tejido adiposo visceral (García-Serrano et al., 2011) .

Hay que tener en cuenta que esos estudios se realizaron en diferentes tejidos y no en suero, por lo que nuestros resultados podrían tener una explicación diferente. El mir-192 muestra un efecto represivo sobre la expresión de genes implicados en el metabolismo de los lípidos, como el receptor de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDLR) (Gil-Zamorano et al., 2014). Por tanto, niveles bajos de mir-192 producirían un aumento de VLDLR y los niveles de triglicéridos en suero permanecerían en niveles normales, con un posible aumento en otros tejidos. Por otro lado, también encontramos un nivel sérico más bajo de mir-192 en aquellos pacientes que no cumplían los criterios de DM2. Esto significa que los niveles bajos de mir-192 están asociados con niveles bajos de glucosa. En línea con esto, un estudio realizado en sujetos prediabéticos identificó altos niveles de mir-192-5p circulante en estos sujetos, con lo que se propuso a este miRNA como un potencial biomarcador de prediabetes (Párrizas et al., 2015) involucrado en la modulación de diferentes vías relacionadas con el desarrollo de DM2 (Logan et al., 2004). Nuestros resultados parecen sugerir que niveles bajos de este miRNAs podrían tener efectos saludables sobre el metabolismo. Con respecto a su modulación por la dieta, un estudio apuntó una modulación del mir-192 por ácidos

grasos poliinsaturados de la dieta. El ácido docosahexaenoico reguló al alza los niveles de mir-192 en las células Caco-2 (Gil-Zamorano et al., 2014).

Respecto al mir-let-7a, encontraríamos una situación opuesta a mir-192. Encontramos niveles bajos de este miRNAs en aquellos pacientes con obesidad mórbida con peor situación metabólica (consumo de una o más bebidas azucaradas al día), y en aquellos pacientes que cumplían los criterios de colesterol HDL para la clasificación de síndrome metabólico. Sin embargo, también encontramos niveles más bajos de mir-let-7a en sujetos con un mayor consumo de carne blanca en comparación con el consumo de carnes rojas, y en aquellos con un mayor consumo de fruta. Respecto a la asociación con el consumo de frutas, algunos estudios muestran una regulación positiva del mir-let-7a en el conducto pancreático por la quercetina. Esta molécula es un tipo de polifenol utilizado como complemento nutricional, que se encuentra principalmente en la fruta (Ranka et al., 2008) (Formica et al., 1995). La regulación positiva de la función de la familia mir-let-7 se asocia principalmente con el pronóstico y la terapia de precisión en el tratamiento del cáncer. Se sabe que el cáncer está asociado con la obesidad, aunque esta asociación se ha encontrado principalmente con el cáncer colorrectal (Moghaddam et al., 2007) .

Este trabajo tiene varias limitaciones. Los miRNAs aquí estudiados fueron seleccionados de un cribado previo realizado en el grupo en el que se propusieron por ser candidatos potenciales para la regulación diferencial respecto a los criterios metabólicos. Actualmente, hay otros muchos miRNAs con evidencia científica de estar modulados por componentes de la dieta y que no se han incluido en este estudio. No descartamos medirlos en trabajos próximos. Por otro lado, solo analizamos algunas variables dietéticas y exclusivamente los alimentos recogidos según el cuestionario MEDAS. Sabemos que los pacientes con obesidad mórbida tienen características nutricionales peculiares en cuanto al tipo y cantidad de ingesta de alimentos. Por ello, nuestros datos no pueden extrapolarse a pacientes no obesos o población general. Además, debido al pequeño tamaño de los grupos en los que se midieron los niveles de miRNAs, estos resultados pueden considerarse preliminares. Estos resultados pueden

servir de guía inicial para el desarrollo de futuros trabajos con grupos de sujetos mayores y combinados con estudios funcionales *in vitro* que puedan darnos más luz acerca de la modulación de los niveles de miRNAs por los compuestos bioactivos de la dieta.



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

7. CONCLUSIONES



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

Como resultado del estudio elaborado a lo largo de estos años, se enumeran a continuación una serie de conclusiones.

Con respecto al objetivo **número uno**: “Comparar la adherencia a la dieta mediterránea mediante el cuestionario MEDAS en sujetos no obesos y en pacientes con obesidad mórbida”.

Hemos encontrado un porcentaje similar de adherencia a la dieta mediterránea en los pacientes con obesidad mórbida y en los sujetos no obesos.

Las discrepancias halladas con relación a las asociaciones de las distintas preguntas del cuestionario MEDAS podrían venir explicadas por las características nutricionales en cuanto al tipo y a la cantidad de alimentos ingeridos en los pacientes con obesidad mórbida.

Objetivo **número dos**: “Conocer la asociación entre la adherencia a la dieta mediterránea y de cada uno de los criterios que definen el síndrome metabólico en pacientes con obesidad mórbida”.

No hemos encontrado una asociación significativa entre el porcentaje de sujetos con obesidad mórbida, con o sin síndrome metabólico, y la adherencia a la dieta mediterránea, aunque si entre los distintos criterios que definen la presencia del síndrome metabólico y el consumo de algunos de los alimentos que se incluyen en el cuestionario MEDAS.

Objetivo **número tres**: “Estudiar la asociación entre la adherencia a la dieta mediterránea con la actividad física, medida por el cuestionario IPAQ, y con el nivel de estudios de los pacientes con obesidad mórbida”.

El consumo de algunos de los alimentos saludables considerados en el cuestionario MEDAS se encuentra asociado a la realización de más ejercicio.

Objetivo **número cuatro**: “Analizar la asociación entre el síndrome metabólico con la actividad física y con el nivel de estudios de los pacientes con obesidad mórbida”.

Un mayor nivel educacional en los pacientes con obesidad mórbida estaría asociado a la presencia de factores relacionados a un estilo de vida más saludable (alimentación y ejercicio), así como como a una menor prevalencia de síndrome metabólico, hipertensión y DM2.

Objetivo **número cinco**: “Conocer los miRNAs séricos que se asocian con la adherencia a la dieta mediterránea y el síndrome metabólico en los pacientes con obesidad mórbida”.

Se han hallado unos mayores niveles de mir-590 en suero en aquellos pacientes con obesidad mórbida adherentes a la dieta mediterránea.

La presencia del criterio de colesterol HDL del síndrome metabólico se asocia a niveles más bajos de mir-590 y mir-let7a.

Niveles altos del mir-192 se asocian a niveles más bajos de colesterol HDL, más altos de triglicéridos y a la presencia de DM2.






8. PRODUCCIÓN CIENTÍFICA



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

Article

Association between the Mediterranean Diet and Metabolic Syndrome with Serum Levels of miRNA in Morbid Obesity

María I. Fontalba-Romero ^{1,†}, Soledad López-Enriquez ^{2,3,†} , Ana Lago-Sampedro ^{1,4}, Eva Garcia-Escobar ^{1,4,5} , Ricardo L. Pastori ⁶, Juan Domínguez-Bendala ⁶, Silvia Alvarez-Cubela ⁶, Sergio Valdés ^{1,4,5} , Gemma Rojo-Martínez ^{1,4,5,*} , Eduardo García-Fuentes ^{4,7,*} , María T. Labajos-Manzanares ^{8,‡} and Sara García-Serrano ^{1,4,5,‡}

- ¹ Unidad de Gestión Clínica de Endocrinología y Nutrición, Hospital Regional Universitario, 29010 Málaga, Spain; mariafontalba82@gmail.com (M.I.F.-R.); anishhh22@gmail.com (A.L.-S.); eyring@gmail.com (E.G.-E.); sergio.valdes@hotmail.es (S.V.); garciasara79@hotmail.com (S.G.-S.)
- ² Departamento de Bioquímica Médica, Biología Molecular e Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Sevilla, 41009 Sevilla, Spain; slenriquez@gmail.com
- ³ CABIMER-Andalusian Center for Molecular Biology and Regenerative Medicine (CSIC-University of Seville-UPO-Junta de Andalucía), 41092 Seville, Spain
- ⁴ Instituto de Investigación Biomédica de Málaga-IBIMA, 29010 Málaga, Spain
- ⁵ CIBER de Diabetes y Enfermedades Metabólicas (CIBERDEM), 29009 Málaga, Spain
- ⁶ Diabetes Research Institute, University of Miami Miller School of Medicine, Miami, FL 33136, USA; rpastori@med.miami.edu (R.L.P.); JDominguez2@med.miami.edu (J.D.-B.); salvarez@med.miami.edu (S.A.-C.)
- ⁷ Unidad de Gestión Clínica de Aparato Digestivo, Hospital Universitario Virgen de la Victoria, 29010 Málaga, Spain
- ⁸ Faculty of Health Sciences, School of Medicine, University of Málaga, 29071 Málaga, Spain; mtlabajos@uma.es
- * Correspondence: gemma.rojo.m@gmail.com (G.R.-M); edugf1@gmail.com (E.G.-F.)
- † These authors contributed equally to this work.
- ‡ These authors contributed equally to this work.



Citation: Fontalba-Romero, M.I.; López-Enriquez, S.; Lago-Sampedro, A.; Garcia-Escobar, E.; Pastori, R.L.; Domínguez-Bendala, J.; Alvarez-Cubela, S.; Valdés, S.; Rojo-Martínez, G.; García-Fuentes, E.; et al. Association between the Mediterranean Diet and Metabolic Syndrome with Serum Levels of miRNA in Morbid Obesity. *Nutrients* **2021**, *13*, 436. <https://doi.org/10.3390/nu13020436>

Received: 28 November 2020

Accepted: 25 January 2021

Published: 29 January 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Background: The Mediterranean diet (MD) could be involved in the regulation of different miRNAs related to metabolic syndrome (MS). Methods: We analyzed the serum level of mir-let7a-5p, mir-21, mir-590, mir-107 and mir-192 in patients with morbid obesity and its association with the MD and MS. Results: There is an association between the adherence to MD and higher serum levels of mir-590. Mir-590 was lower in those patients who consumed >2 commercial pastries/week. Mir-let7a was lower in those who consumed ≥ 1 sweetened drinks, in those who consumed ≥ 3 pieces of fruit/day and in those who consumed less red than white meat. A lower mir-590 and mir-let7a, and a higher mir-192 level, were found in patients who met the high-density lipoprotein cholesterol (HDL) criterion of MS. A higher mir-192 was found in those patients who met the triglyceride criterion of MS and in those with type 2 diabetes (T2DM). Conclusions: There is an association between specific serum levels of miRNAs and the amount and kind of food intake related to MD. Mir-590 was positively associated with a healthy metabolic profile and type of diet, while mir-192 was positively associated with a worse metabolic profile. These associations could be suggestive of a possible modulation of these miRNAs by food.

Keywords: Mediterranean diet; metabolic syndrome; miRNA; morbid obesity; type 2 diabetes mellitus

1. Introduction

The Mediterranean diet (MD) is mainly based on the regular consumption of vegetables, legumes, cereals, fruit and nuts, and the moderate consumption of fish and seafood, balanced by a comparatively limited use of red meat and other meat products, most of them cooked with olive oil as the main source of dietary fat, together with low-to-moderate alcohol consumption [1,2]. This diet has also been associated with a healthy lifestyle



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

9. BIBLIOGRAFÍA



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

A

Abe R, Beckett J, Abe R, Nixon A, Rochier A et al. Olive Oil Polyphenols Differentially Inhibit Smooth Muscle Cell Proliferation through a G1/S Cell Cycle Block Regulated by ERK1/2. *Int J Angiol.* 2012 Jun;21(2):69-76. doi: 10.1055/s-0032-1315630. PMID: 23730132; PMCID: PMC3444010.

Abe R, Beckett J, Abe R, Nixon A, Rochier A et al. Olive oil polyphenol oleuropein inhibits smooth muscle cell proliferation. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2011 Jun;41(6):814-20. doi: 10.1016/j.ejvs.2010.12.021. Epub 2011 Feb 18. PMID: 21333557.

Ajit SK. Circulating microRNAs as biomarkers, therapeutic targets, and signaling molecules. *Sensors (Basel).* 2012;12(3):3359-69. doi: 10.3390/s120303359. Epub 2012 Mar 8. PMID: 22737013; PMCID: PMC3376561.

Alastrué A, Rull M, Formiguera J, Casas D, Barbany M et al. Obesidad severa: tratamiento quirúrgico en 120 pacientes. Resultados y enfoque prospectivo [Severe obesity: its surgical treatment in 120 patients. The results and a prospective focus]. *Nutr Hosp.* 1993 Sep-Oct;8(7):411-23. Spanish. PMID: 8011793.

Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med.* 1998 Jul;15(7):539-53. doi: 10.1002/(SICI)1096-9136(199807)15:7<539:AID-DIA668>3.0.CO;2-S. PMID: 9686693.

Alehagen U, Johansson P, Aaseth J, Alexander J, Wågsäter D. Significant changes in circulating microRNA by dietary supplementation of selenium and coenzyme Q10 in healthy elderly males. A subgroup analysis of a prospective randomized double-blind placebo-controlled trial among elderly Swedish citizens. *PLoS One.* 2017 Apr 27;12(4):e0174880. doi: 10.1371/journal.pone.0174880. PMID: 28448590; PMCID: PMC5407645.

Ambring A, Friberg P, Axelsen M, Laffrenzen M, Taskinen MR et al. Effects of a Mediterranean-inspired diet on blood lipids, vascular function and oxidative stress in healthy subjects. *Clin Sci (Lond).* 2004 May;106(5):519-25. doi: 10.1042/CS20030315. PMID: 14683522.

Bibliografía

Aranceta J, Pérez Rodrigo C, Serra Majem L, Ribas Barba L, Quiles Izquierdo J, Vioque J et al.; Grupo colaborativo para el Estudio de la Obesidad en España. Prevalencia de la obesidad en España: resultados del estudio SEEDO 2000. *Med Clin (Barc)*. 2003 May 3;120(16):608-12. Spanish. doi: 10.1016/s0025-7753(03)73787-7. PMID: 12732125.

Aranceta-Bartrina J, Serra-Majem L, Foz-Sala M, Moreno-Esteban B; Grupo Colaborativo SEEDO. Prevalencia de obesidad en España [Prevalence of obesity in Spain]. *Med Clin (Barc)*. 2005 Oct 8;125(12):460-6. Spanish. doi: 10.1157/13079612. PMID: 16216203.

Arrizabalaga JJ, Masmiquel L, Vidal J, Calañas-Contiente A, Díaz-Fernández MJ et al.; Grupo de Trabajo sobre Obesidad de la Sociedad Española de Endocrinología y Nutrición. Recomendaciones y algoritmo de tratamiento del sobrepeso y la obesidad en personas adultas. *Med Clin (Barc)*. 2004 Jan 31;122(3):104-10. Spanish. doi: 10.1016/s0025-7753(04)74158-5. PMID: 14746701.

Avogaro P, Crepaldi G, Enzi G, Tiengo A. Aspetti metabolici dell'obesità essenziale [Metabolic aspects of essential obesity]. *Epatologia*. 1965 May-Jun;11(3):226-38. Italian. PMID: 5871768.

B

Bach A, Serra-Majem L, Carrasco JL, Roman B, Ngo J et al. The use of indexes evaluating the adherence to the Mediterranean diet in epidemiological studies: a review. *Public Health Nutr*. 2006 Feb;9(1A):132-46. doi: 10.1079/phn2005936. PMID: 16512961.

Bach-Faig A, Berry EM, Lairon D, Reguant J, Trichopoulou A, et al. Mediterranean Diet Foundation Expert Group. Mediterranean diet pyramid today. Science and cultural updates. *Public Health Nutr*. 2011 Dec;14(12A):2274-84. doi: 10.1017/S1368980011002515. PMID: 22166184.

Bacová B, Seč P, Radosinská J, Certík M, Vachulová A, Tribulová N. Lower omega-3 index is a marker of increased propensity of hypertensive rat heart to malignant arrhythmias. *Physiol Res*. 2013;62(Suppl 1):S201-8. doi: 10.33549/physiolres.932626. PMID: 24329700.

Beckett EL, Yates Z, Veysey M, Duesing K, Lucock M. The role of vitamins and minerals in modulating the expression of microRNA. *Nutr Res Rev.* 2014 Jun;27(1):94-106. doi: 10.1017/S0954422414000043. Epub 2014 May 9. PMID: 24814762.

Beer-Borst S, Morabia A, Hercberg S, Vitek O, Bernstein MS et al. Obesity and other health determinants across Europe: the EURALIM project. *J Epidemiol Community Health.* 2000 Jun;54(6):424-30. doi: 10.1136/jech.54.6.424. PMID: 10818117; PMCID: PMC1731700.

Beijer T, Bosman-Jelgersma HA, Dudok van Heel SAC, Keeman JN, Nolthenius de Man G, Wesdorp IC. *Nicolaes Tulp. Six art Promotions BV.* Amsterdam;1991.

Bendinelli B, Masala G, Saieva C, Salvini S, Calonico C et al. Fruit, vegetables, and olive oil and risk of coronary heart disease in Italian women: the EPICOR Study. *Am J Clin Nutr.* 2011 Feb;93(2):275-83. doi: 10.3945/ajcn.110.000521. Epub 2010 Dec 22. PMID: 21177799.

Bitok E, Sabaté J. Nuts and Cardiovascular Disease. *Prog Cardiovasc Dis.* 2018 May-Jun;61(1):33-37. doi: 10.1016/j.pcad.2018.05.003. Epub 2018 May 22. PMID: 29800597.

Bloom BR. Public-health priorities in the industrialised world. *Lancet.* 2000 Dec;356 Suppl:s50. doi: 10.1016/s0140-6736(00)92036-1. PMID: 11191509.

Blundell JE, Macdiarmid JI. Passive overconsumption. Fat intake and short-term energy balance. *Ann N Y Acad Sci.* 1997 Sep 20;827:392-407. doi: 10.1111/j.1749-6632.1997.tb51850.x. PMID: 9329770.

Blundell, J.E., Cotton, J.R., Delargy, H., Green, S., Greenough, A., King, N.A., and Lawton, C.L. (1995). The fat paradox: fat-induced satiety signals versus high fat overconsumption. *Int J Obes Relat Metab Disord* 19, 832-5.

Bohn B, Herbst A, Pfeifer M, Krakow D, Zimny S et al. Initiative. Impact of Physical Activity on Glycemic Control and Prevalence of Cardiovascular Risk Factors in Adults With Type 1 Diabetes: A Cross-sectional Multicenter Study of 18,028 Patients. *Diabetes Care.* 2015 Aug;38(8):1536-43. doi: 10.2337/dc15-0030. Epub 2015 May 26. PMID: 26015557.

Bibliografía

Bonner-Weir S. Morphological evidence for pancreatic polarity of beta-cell within islets of Langerhans. *Diabetes*. 1988 May;37(5):616-21. doi: 10.2337/diab.37.5.616. PMID: 3282948.

Borgonio Cuadra VM, González-Huerta NC, Romero-Córdoba S, Hidalgo-Miranda A, Miranda-Duarte A. Altered expression of circulating microRNA in plasma of patients with primary osteoarthritis and in silico analysis of their pathways. *PLoS One*. 2014 Jun 5;9(6):e97690. doi: 10.1371/journal.pone.0097690. PMID: 24901787; PMCID: PMC4046959.

Bouchard C, Pérusse L. Genetics of obesity. *Annu Rev Nutr*. 1993;13:337-54. doi: 10.1146/annurev.nu.13.070193.002005. PMID: 8369150.

Bray GA. Treatment for obesity: a nutrient balance/nutrient partition approach. *Nutr Rev*. 1991 Feb;49(2):33-45. doi: 10.1111/j.1753-4887.1991.tb02990.x. PMID: 2017319.

Bray GA. Progress in understanding the genetics of obesity. *J Nutr*. 1997 May;127(5 Suppl):940S-942S. doi: 10.1093/jn/127.5.940S. PMID: 9164269.

Bray GA, Popkin BM. Dietary fat intake does affect obesity! *Am J Clin Nutr*. 1998 Dec;68(6):1157-73. doi: 10.1093/ajcn/68.6.1157. PMID: 9846842.

Burke GL, Jacobs DR Jr, Sprafka JM, Savage PJ, Sidney S, Wagenknecht LE. Obesity and overweight in young adults: the CARDIA study. *Prev Med*. 1990 Jul;19(4):476-88. doi: 10.1016/0091-7435(90)90045-I. PMID: 2204915.

Burstein R, Prentice AM, Goldberg GR, Murgatroyd PR, Harding M et al. Metabolic fuel utilisation in obese women before and after weight loss. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1996 Mar;20(3):253-9. PMID: 8653147.

C

Cai Y, Yu X, Hu S, Yu J. A brief review on the mechanisms of miRNA regulation. *Genomics Proteomics Bioinformatics*. 2009 Dec;7(4):147-54. doi: 10.1016/S1672-0229(08)60044-3. PMID: 20172487; PMCID: PMC5054406.

Cannataro R, Caroleo MC, Fazio A, La Torre C, Plastina P, Gallelli L, Lauria G, Cione E. Ketogenic Diet and microRNAs Linked to Antioxidant Biochemical Homeostasis. *Antioxidants (Basel)*. 2019 Aug 2;8(8):269. doi: 10.3390/antiox8080269. PMID: 31382449; PMCID: PMC6719224.

Chen X, Ba Y, Ma L, Cai X, Yin Y et al. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Res*. 2008 Oct;18(10):997-1006. doi: 10.1038/cr.2008.282. PMID: 18766170.

Chen Y, Wang X, Shao X. A Combination of Human Embryonic Stem Cell-Derived Pancreatic Endoderm Transplant with LDHA-Repressing miRNA Can Attenuate High-Fat Diet Induced Type II Diabetes in Mice. *J Diabetes Res*. 2015;2015:796912. doi: 10.1155/2015/796912. Epub 2015 Dec 3. PMID: 26770982; PMCID: PMC4681983.

Chendrimada TP, Gregory RI, Kumaraswamy E, Norman J, Cooch N et al. TRBP recruits the Dicer complex to Ago2 for microRNA processing and gene silencing. *Nature*. 2005 Aug 4;436(7051):740-4. doi: 10.1038/nature03868. Epub 2005 Jun 22. PMID: 15973356; PMCID: PMC2944926.

Cho WC. MicroRNAs as therapeutic targets and their potential applications in cancer therapy. *Expert Opin Ther Targets*. 2012 Aug;16(8):747-59. doi: 10.1517/14728222.2012.696102. Epub 2012 Jun 13. PMID: 22690697.

Chooi YC, Ding C, Magkos F. The epidemiology of obesity. *Metabolism*. 2019 Mar;92:6-10. doi: 10.1016/j.metabol.2018.09.005. Epub 2018 Sep 22. PMID: 30253139.

Colberg SR, Sigal RJ, Yardley JE, Riddell MC, Dunstan DW et al. Physical Activity/Exercise and Diabetes: A Position Statement of the American Diabetes Association. *Diabetes Care*. 2016 Nov;39(11):2065-2079. doi: 10.2337/dc16-1728. PMID: 27926890; PMCID: PMC6908414.

Cole TJ, Bellizzi MC, Flegal KM, Dietz WH. Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: international survey. *BMJ*. 2000 May 6;320(7244):1240-3. doi: 10.1136/bmj.320.7244.1240. PMID: 10797032; PMCID: PMC27365.

Cortez MA, Bueso-Ramos C, Ferdin J, Lopez-Berestein G, Sood AK et al. MicroRNAs in body fluids-the mix of hormones and biomarkers. *Nat Rev Clin Oncol*. 2011 Jun 7;8(8):467-77. doi: 10.1038/nrclinonc.2011.76. PMID: 21647195; PMCID: PMC3423224.

Covas MI, Konstantinidou V, Fitó M. Olive oil and cardiovascular health. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2009 Dec;54(6):477-82. doi: 10.1097/FJC.0b013e3181c5e7fd. PMID: 19858733.

Cui J, Zhou B, Ross SA, Zempleni J. Nutrition, microRNAs, and Human Health. *Adv Nutr*. 2017 Jan 17;8(1):105-112. doi: 10.3945/an.116.013839. PMID: 28096131; PMCID: PMC5227982.

D

D'Agostino R, Barberio L, Gatto M, Muzzalupo I, Mandalà M. Extra Virgin Olive Oil Phenols Dilate the Rat Mesenteric Artery by Activation of BKCa²⁺ Channels in Smooth Muscle Cells. *Molecules*. 2020 Jun 3;25(11):2601. doi: 10.3390/molecules25112601. PMID: 32503254; PMCID: PMC7321220.

Daimiel-Ruiz L, Klett-Mingo M, Konstantinidou V, Micó V, Aranda JF et al. Dietary lipids modulate the expression of miR-107, a miRNA that regulates the circadian system. *Mol Nutr Food Res*. 2015 Sep;59(9):1865-78. doi: 10.1002/mnfr.201570094. PMID: 26387852.

Day C. Metabolic syndrome, or What you will: definitions and epidemiology. *Diab Vasc Dis Res*. 2007 Mar;4(1):32-8. doi: 10.3132/dvdr.2007.003. PMID: 17469041.

de Lorgeril M, Salen P, Martin JL, Monjaud I, Delaye J et al. Mediterranean diet, traditional risk factors, and the rate of cardiovascular complications after myocardial infarction: final report of the Lyon Diet Heart Study. *Circulation*. 1999 Feb 16;99(6):779-85. doi: 10.1161/01.cir.99.6.779. PMID: 9989963.

de Lorgeril M, Renaud S, Mamelle N, Salen P, Martin JL et al. Mediterranean alpha-linolenic acid-rich diet in secondary prevention of coronary heart disease. *Lancet*. 1994 Jun 11;343(8911):1454-9. doi: 10.1016/s0140-6736(94)92580-1. Erratum in: *Lancet* 1995 Mar 18;345(8951):738. PMID: 7911176.

de Vegt F, Dekker JM, Jager A, Hienkens E, Kostense PJ et al. Relation of impaired fasting and postload glucose with incident type 2 diabetes in a Dutch population: The Hoorn Study. *JAMA*. 2001 Apr 25;285(16):2109-13. doi: 10.1001/jama.285.16.2109. PMID: 11311100.

Delgado FJ, Pérez A, Pérez AI, Pérez F. Dieta mediterránea y prevención cardiovascular. *Rev Esp Obes* 2009;47:135-43

Dock W. Research in arteriosclerosis; the first fifty years. *Ann Intern Med.* 1958 Sep;49(3):699-705. doi: 10.7326/0003-4819-49-3-699. PMID: 13571855.

Doench JG, Petersen CP, Sharp PA. siRNAs can function as miRNAs. *Genes Dev.* 2003 Feb 15;17(4):438-42. doi: 10.1101/gad.1064703. PMID: 12600936; PMCID: PMC195999.

DP, B. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell.* 2004 Jan 23;116(2):281-97. doi: 10.1016/s0092-8674(04)00045-5. PMID: 14744438.

E

El Harchaoui K, Arsenault BJ, Franssen R, Després JP, Hovingh GK et al. High-density lipoprotein particle size and concentration and coronary risk. *Ann Intern Med.* 2009 Jan 20;150(2):84-93. doi: 10.7326/0003-4819-150-2-200901200-00006. PMID: 19153411.

Elhayany A, Lustman A, Abel R, Attal-Singer J, Vinker S. A low carbohydrate Mediterranean diet improves cardiovascular risk factors and diabetes control among overweight patients with type 2 diabetes mellitus: a 1-year prospective randomized intervention study. *Diabetes Obes Metab.* 2010 Mar;12(3):204-9. doi: 10.1111/j.1463-1326.2009.01151.x. PMID: 20151996.

Erkkilä AT, Schwab US, de Mello VD, Lappalainen T, Mussalo H et al. Effects of fatty and lean fish intake on blood pressure in subjects with coronary heart disease using multiple medications. *Eur J Nutr.* 2008 Sep;47(6):319-28. doi: 10.1007/s00394-008-0728-5. Epub 2008 Jul 29. PMID: 18665413.

Esposito K, Kastorini CM, Panagiotakos DB, Giugliano D. Mediterranean diet and weight loss: meta-analysis of randomized controlled trials. *Metab Syndr Relat Disord.* 2011 Feb;9(1):1-12. doi: 10.1089/met.2010.0031. Epub 2010 Oct 25. PMID: 20973675.

Bibliografía

Esposito K, Maiorino MI, Bellastella G, Panagiotakos DB, Giugliano D. Mediterranean diet for type 2 diabetes: cardiometabolic benefits. *Endocrine*. 2017 Apr;56(1):27-32. doi: 10.1007/s12020-016-1018-2. Epub 2016 Jul 9. PMID: 27395419.

Estruch R, Ros E, Salas-Salvadó J, Covas MI, Corella D et al. PREDIMED Study Investigators. Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet. *N Engl J Med*. 2013 Apr 4;368(14):1279-90. doi: 10.1056/NEJMoa1200303. Epub 2013 PMID: 23432189.

Estruch R, Ros E, Salas-Salvadó J, Covas MI, Corella D et al. PREDIMED Study Investigators. Primary Prevention of Cardiovascular Disease with a Mediterranean Diet Supplemented with Extra-Virgin Olive Oil or Nuts. *N Engl J Med*. 2018 Jun 21;378(25):e34. doi: 10.1056/NEJMoa1800389. Epub 2018 Jun 13. PMID: 29897866.

Eulalio A, Rehwinkel J, Stricker M, Huntzinger E, Yang SF et al. Target-specific requirements for enhancers of decapping in miRNA-mediated gene silencing. *Genes Dev*. 2007 Oct 15;21(20):2558-70. doi: 10.1101/gad.443107. Epub 2007 Sep 27. PMID: 17901217; PMCID: PMC2000321.

Eulalio A, Huntzinger E, Izaurralde E. Getting to the root of miRNA-mediated gene silencing. *Cell*. 2008 Jan 11;132(1):9-14. doi: 10.1016/j.cell.2007.12.024. PMID: 18191211.

Eyre H, Kahn R, Robertson RM; American Cancer Society, the American Diabetes Association, and the American Heart Association. Collaborative Writing Committee. Preventing cancer, cardiovascular disease, and diabetes: a common agenda for the American Cancer Society, the American Diabetes Association, and the American Heart Association. *Diabetes Care*. 2004 Jul;27(7):1812-24. doi: 10.2337/diacare.27.7.1812. PMID: 15220271.

F

Feinman RD, Volek JS. Carbohydrate restriction as the default treatment for type 2 diabetes and metabolic syndrome. *Scand Cardiovasc J*. 2008 Aug;42(4):256-63. doi: 10.1080/14017430802014838. PMID: 18609058.

Fernández-Bergés D, Cabrera de León A, Sanz H, Elosua R, Guembe MJ et al. Metabolic syndrome in Spain: prevalence and coronary risk associated with harmonized definition and WHO proposal. DARIOS study. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*. 2012 Mar;65(3):241-8. English, Spanish. doi: 10.1016/j.recesp.2011.10.015. Epub 2012 Feb 3. PMID: 22305818.

Ferrannini E, Haffner SM, Mitchell BD, Stern MP. Hyperinsulinaemia: the key feature of a cardiovascular and metabolic syndrome. *Diabetologia*. 1991 Jun;34(6):416-22. doi: 10.1007/BF00403180. PMID: 1884900.

Fitó M, Konstantinidou V. Nutritional Genomics and the Mediterranean Diet's Effects on Human Cardiovascular Health. *Nutrients*. 2016 Apr 13;8(4):218. doi: 10.3390/nu8040218. PMID: 27089360; PMCID: PMC4848687.

Flatt JP, G.SK. (1999). Stature, fat free-mass, resting energy expenditure and obesity. *Scand J Nutr* 34, 40

Flatt JP. Body composition, respiratory quotient, and weight maintenance. *Am J Clin Nutr*. 1995 Nov;62(5 Suppl):1107S-1117S. doi: 10.1093/ajcn/62.5.1107S. PMID: 7484929.

Flatt JP. Carbohydrate balance and body-weight regulation. *Proc Nutr Soc*. 1996 Mar;55(1B):449-65. doi: 10.1079/pns19960041. PMID: 8832812.

Ford ES, Giles WH, Dietz WH. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA*. 2002 Jan 16;287(3):356-9. doi: 10.1001/jama.287.3.356. PMID: 11790215.

Ford ES, Merritt RK, Heath GW, Powell KE, Washburn RA et al. Physical activity behaviors in lower and higher socioeconomic status populations. *Am J Epidemiol*. 1991 Jun 15;133(12):1246-56. doi: 10.1093/oxfordjournals.aje.a115836. PMID: 2063832.

Formica JV, Regelson W. Review of the biology of Quercetin and related bioflavonoids. *Food Chem Toxicol*. 1995 Dec;33(12):1061-80. doi: 10.1016/0278-6915(95)00077-1. PMID: 8847003.

G

Gao D, Griffiths HR, Bailey CJ. Oleate protects against palmitate-induced insulin resistance in L6 myotubes. *Br J Nutr.* 2009 Dec;102(11):1557-63. doi: 10.1017/S0007114509990948. Epub 2009 Jul 22. PMID: 19622194.

García-Serrano S, Moreno-Santos I, Garrido-Sánchez L, Gutierrez-Repiso C, García-Almeida JM et al. Stearoyl-CoA desaturase-1 is associated with insulin resistance in morbidly obese subjects. *Mol Med.* 2011 Mar-Apr;17(3-4):273-80. doi: 10.2119/molmed.2010.00078. Epub 2010 Nov 5. PMID: 21060977; PMCID: PMC3060976.

Gargallo Fernández M, Marset JB, Lesmes IB, Izquierdo JQ, Sala XF et al.; Grupo de Consenso FESNAD-SEEDO. Resumen del consenso FESNAD-SEEDO: recomendaciones nutricionales basadas en la evidencia para la prevención y el tratamiento del sobrepeso y la obesidad en adultos. *Endocrinol Nutr.* 2012 Aug-Sep;59(7):429-37. Spanish. doi: 10.1016/j.endonu.2012.05.004. Epub 2012 Jul 13. PMID: 22795577.

Gerber M, Hoffman R. The Mediterranean diet: health, science and society. *Br J Nutr.* 2015 Apr;113 Suppl 2:S4-10. doi: 10.1017/S0007114514003912. PMID: 26148921.

Gil A, María Aguilera C, Gil-Campos M, Cañete R. Altered signalling and gene expression associated with the immune system and the inflammatory response in obesity. *Br J Nutr.* 2007 Oct;98 Suppl 1:S121-6. doi: 10.1017/S0007114507838050. PMID: 17922949.

Gilad S, Meiri E, Yogev Y, Benjamin S, Lebanony D et al. Serum microRNAs are promising novel biomarkers. *PLoS One.* 2008 Sep 5;3(9):e3148. doi: 10.1371/journal.pone.0003148. PMID: 18773077; PMCID: PMC2519789.

Gils Contreras A, Bonada Sanjaume A, Becerra-Tomás N, Salas-Salvadó J. Adherence to Mediterranean Diet or Physical Activity After Bariatric Surgery and Its Effects on Weight Loss, Quality of Life, and Food Tolerance. *Obes Surg.* 2020 Feb;30(2):687-696. doi: 10.1007/s11695-019-04242-3. PMID: 31758475.

Goldblatt PB, Moore ME, Stunkard AJ. Social Factors in obesity. *Jama.* 1965 Jun 21;192:1039-44. doi: 10.1001/jama.1965.03080250017004. PMID: 14293500.

Gregory RI, Yan KP, Amuthan G, Chendrimada T, Doratotaj B et al. The Microprocessor complex mediates the genesis of microRNAs. *Nature*. 2004 Nov 11;432(7014):235-40. doi: 10.1038/nature03120. Epub 2004 Nov 7. PMID: 15531877.

Grosso G, Godos J, Galvano F, Giovannucci EL. Coffee, Caffeine, and Health Outcomes: An Umbrella Review. *Annu Rev Nutr*. 2017 Aug 21;37:131-156. doi: 10.1146/annurev-nutr-071816-064941. PMID: 28826374.

Guallar-Castillón P, Pérez RF, López García E, León-Muñoz LM, Aguilera MT et al. Magnitude and management of metabolic syndrome in Spain in 2008-2010: the ENRICA study. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*. 2014 May;67(5):367-73. doi: 10.1016/j.rec.2013.08.014. Epub 2014 Jan 14. PMID: 24774729.

Guasch-Ferré M, Liu X, Malik VS, Sun Q, Willett WC et al. Nut Consumption and Risk of Cardiovascular Disease. *J Am Coll Cardiol*. 2017 Nov 14;70(20):2519-2532. doi: 10.1016/j.jacc.2017.09.035. PMID: 29145952; PMCID: PMC5762129.

H

Han J, Lee Y, Yeom KH, Kim YK, Jin H et al. The Drosha-DGCR8 complex in primary microRNA processing. *Genes Dev*. 2004 Dec 15;18(24):3016-27. doi: 10.1101/gad.1262504. Epub 2004 Dec 1. PMID: 15574589; PMCID: PMC535913.

Hernández-Alonso P, Giardina S, Salas-Salvadó J, Arcelin P, Bulló M. Chronic pistachio intake modulates circulating microRNAs related to glucose metabolism and insulin resistance in prediabetic subjects. *Eur J Nutr*. 2017 Sep;56(6):2181-2191. doi: 10.1007/s00394-016-1262-5. Epub 2016 Jul 6. PMID: 27383196.

Hirsch J, Hudgins LC, Leibel RL, Rosenbaum M. Diet composition and energy balance in humans. *Am J Clin Nutr*. 1998 Mar;67(3 Suppl):551S-555S. doi: 10.1093/ajcn/67.3.551S. PMID: 9497169.

Horton TJ, Drougas H, Brachey A, Reed GW, Peters JC et al. Fat and carbohydrate overfeeding in humans: different effects on energy storage. *Am J Clin Nutr*. 1995 Jul;62(1):19-29. doi: 10.1093/ajcn/62.1.19. PMID: 7598063.

Bibliografía

Hu FB. Dietary pattern analysis: a new direction in nutritional epidemiology. *Curr Opin Lipidol.* 2002 Feb;13(1):3-9. doi: 10.1097/00041433-200202000-00002. PMID: 11790957.

Hu G, Qiao Q, Tuomilehto J, Balkau B, Borch-Johnsen K, Pyorala K; DECODE Study Group. Prevalence of the metabolic syndrome and its relation to all-cause and cardiovascular mortality in nondiabetic European men and women. *Arch Intern Med.* 2004 May 24;164(10):1066-76. doi: 10.1001/archinte.164.10.1066. PMID: 15159263.

Hu S, Dong TS, Dalal SR, Wu F, Bissonnette M et al. The microbe-derived short chain fatty acid butyrate targets miRNA-dependent p21 gene expression in human colon cancer. *PLoS One.* 2011 Jan 20;6(1):e16221. doi: 10.1371/journal.pone.0016221. PMID: 21283757; PMCID: PMC3024403.

Hulsmans M, De Keyzer D, Holvoet P. MicroRNAs regulating oxidative stress and inflammation in relation to obesity and atherosclerosis. *FASEB J.* 2011 Aug;25(8):2515-27. doi: 10.1096/fj.11-181149. Epub 2011 Apr 20. PMID: 21507901.

Hutvagner G, McLachlan J, Pasquinelli AE, Bálint E, Tuschl T et al. A cellular function for the RNA-interference enzyme Dicer in the maturation of the let-7 small temporal RNA. *Science.* 2001 Aug 3;293(5531):834-8. doi: 10.1126/science.1062961. Epub 2001 Jul 12. PMID: 11452083.

Hutvagner G, Zamore PD. RNAi: nature abhors a double-strand. *Curr Opin Genet Dev.* 2002 Apr;12(2):225-32. doi: 10.1016/s0959-437x(02)00290-3. PMID: 11893497.

|

Izzotti A, Cartiglia C, Steele VE, De Flora S. MicroRNAs as targets for dietary and pharmacological inhibitors of mutagenesis and carcinogenesis. *Mutat Res.* 2012 Oct-Dec;751(2):287-303. doi: 10.1016/j.mrrev.2012.05.004. Epub 2012 Jun 7. PMID: 22683846; PMCID: PMC4716614.

Iwaki T, Urano T, Umemura K. PAI-1, progress in understanding the clinical problem and its aetiology. *Br J Haematol.* 2012 May;157(3):291-8. doi: 10.1111/j.1365-2141.2012.09074.x. Epub 2012 Feb 24. PMID: 22360729.

J

Janssen HL, Reesink HW, Lawitz EJ, Zeuzem S, Rodriguez-Torres M et al. Treatment of HCV infection by targeting microRNA. *N Engl J Med.* 2013 May 2;368(18):1685-94. doi: 10.1056/NEJMoa1209026. Epub 2013 Mar 27. PMID: 23534542.

Jensen MD. Diet effects on fatty acid metabolism in lean and obese humans. *Am J Clin Nutr.* 1998 Mar;67(3 Suppl):531S-534S. doi: 10.1093/ajcn/67.3.531S. PMID: 9497165.

Jéquier E, Tappy L. Regulation of body weight in humans. *Physiol Rev.* 1999 Apr;79(2):451-80. doi: 10.1152/physrev.1999.79.2.451. PMID: 10221987.

Jingsheng S, Yibing W, Jun X, Siqun W, Jianguo W et al. MicroRNAs are potential prognostic and therapeutic targets in diabetic osteoarthritis. *J Bone Miner Metab.* 2015 Jan;33(1):1-8. doi: 10.1007/s00774-014-0628-0. Epub 2014 Sep 23. PMID: 25245120.

Joglekar MV, Parekh VS, Mehta S, Bhonde RR, Hardikar AA. MicroRNA profiling of developing and regenerating pancreas reveal post-transcriptional regulation of neurogenin3. *Dev Biol.* 2007 Nov 15;311(2):603-12. doi: 10.1016/j.ydbio.2007.09.008. Epub 2007 Sep 18. PMID: 17936263.

Joglekar MV, Patil D, Joglekar VM, Rao GV, Reddy DN et al. The miR-30 family microRNAs confer epithelial phenotype to human pancreatic cells. *Islets.* 2009 Sep-Oct;1(2):137-47. doi: 10.4161/isl.1.2.9578. PMID: 21099261.

John JH, Ziebland S, Yudkin P, Roe LS, Neil HA et al. Fruit and Vegetable Study Group. Effects of fruit and vegetable consumption on plasma antioxidant concentrations and blood pressure: a randomised controlled trial. *Lancet.* 2002 Jun 8;359(9322):1969-74. doi: 10.1016/s0140-6736(02)98858-6. PMID: 12076551.

K

Karkeni E, Bonnet L, Marcotorchino J, Tourniaire F, Astier J et al. Vitamin D limits inflammation-linked microRNA expression in adipocytes in vitro and in vivo: A new mechanism for the

Bibliografía

regulation of inflammation by vitamin D. *Epigenetics*. 2018;13(2):156-162. doi: 10.1080/15592294.2016.1276681. Epub 2018 Mar 7. PMID: 28055298; PMCID: PMC5873365.

Kastorini CM, Milionis HJ, Esposito K, Giugliano D, Goudevenos JA et al. The effect of Mediterranean diet on metabolic syndrome and its components: a meta-analysis of 50 studies and 534,906 individuals. *J Am Coll Cardiol*. 2011 Mar 15;57(11):1299-313. doi: 10.1016/j.jacc.2010.09.073. PMID: 21392646.

Kendall A, Levitsky DA, Strupp BJ, Lissner L. Weight loss on a low-fat diet: consequence of the imprecision of the control of food intake in humans. *Am J Clin Nutr*. 1991 May;53(5):1124-9. doi: 10.1093/ajcn/53.5.1124. PMID: 2021123.

Kendrick J, Targher G, Smits G, Chonchol M. 25-Hydroxyvitamin D deficiency is independently associated with cardiovascular disease in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Atherosclerosis*. 2009 Jul;205(1):255-60. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2008.10.033. Epub 2008 Nov 11. PMID: 19091317.

Ketting RF, Fischer SE, Bernstein E, Sijen T, Hannon GJ et al. Dicer functions in RNA interference and in synthesis of small RNA involved in developmental timing in *C. elegans*. *Genes Dev*. 2001 Oct 15;15(20):2654-9. doi: 10.1101/gad.927801. PMID: 11641272; PMCID: PMC312808.

Keys A, Aravanis C, Blackburn HW, Van Buchem FS, Buzina R et al. Epidemiological studies related to coronary heart disease: characteristics of men aged 40-59 in seven countries. *Acta Med Scand Suppl*. 1966;460:1-392. PMID: 5226858.

Keys A, Arvanis C, Blackburn H: *Seven Countries: A Multivariate Analysis of Death and Coronary Heart Disease*. 1980, Cambridge, MA: Harvard University Press, 381.

Keys A. Calories and cholesterol. *Geriatrics*. 1957 May;12(5):301-10. PMID: 13415359.

Khedir, S. Ben effects of minor components of olive oil on health. *J. Complement. Med. Altern. Healthc*. 2018, 5,6–10.

Kim Y, Je Y. Prospective association of sugar-sweetened and artificially sweetened beverage intake with risk of hypertension. *Arch Cardiovasc Dis.* 2016 Apr;109(4):242-53. doi: 10.1016/j.acvd.2015.10.005. Epub 2016 Jan 19. PMID: 26869455.

Kinsell LW, Patridge J, Boling L, Margen S, Michaels G. Dietary modification of serum cholesterol and phospholipid levels. *J Clin Endocrinol Metab.* 1952 Jul;12(7):909-13. doi: 10.1210/jcem-12-7-909. PMID: 14938428.

Kleinman NL, Melkonian A, Borden S, Rohrbacker N, Lynch WD et al. The impact of morbid obesity and bariatric surgery on comorbid conditions: a comprehensive examination of comorbidities in an employed population. *J Occup Environ Med.* 2009 Feb;51(2):170-9. doi: 10.1097/JOM.0b013e31818def04. PMID: 19209038.

Knoops KT, de Groot LC, Kromhout D, Perrin AE, Moreiras-Varela O et al. Mediterranean diet, lifestyle factors, and 10-year mortality in elderly European men and women: the HALE project. *JAMA.* 2004 Sep 22;292(12):1433-9. doi: 10.1001/jama.292.12.1433. PMID: 15383513.

Knowler WC, Barrett-Connor E, Fowler SE, Hamman RF, Lachin JM et al. Diabetes Prevention Program Research Group. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N Engl J Med.* 2002 Feb 7;346(6):393-403. doi: 10.1056/NEJMoa012512. PMID: 11832527; PMCID: PMC1370926.

Konieczna J, Yañez A, Moñino M, Babio N, Toledo E et al. Longitudinal changes in Mediterranean diet and transition between different obesity phenotypes. *Clin Nutr.* 2020 Mar;39(3):966-975. doi: 10.1016/j.clnu.2019.04.002. Epub 2019 Apr 20. PMID: 31053509.

Kosaka N, Iguchi H, Ochiya T. Circulating microRNA in body fluid: a new potential biomarker for cancer diagnosis and prognosis. *Cancer Sci.* 2010 Oct;101(10):2087-92. doi: 10.1111/j.1349-7006.2010.01650.x. Epub 2010 Jul 7. PMID: 20624164.

Kozak M. Faulty old ideas about translational regulation paved the way for current confusion about how microRNAs function. *Gene.* 2008 Nov 1;423(2):108-15. doi: 10.1016/j.gene.2008.07.013. Epub 2008 Jul 22. PMID: 18692553.

Krek A, Grün D, Poy MN, Wolf R, Rosenberg L et al. Combinatorial microRNA target predictions. *Nat Genet.* 2005 May;37(5):495-500. doi: 10.1038/ng1536. Epub 2005 Apr 3. PMID: 15806104.

Kromhout D, Menotti A, Bloemberg B, Aravanis C, Blackburn H et al. Dietary saturated and trans fatty acids and cholesterol and 25-year mortality from coronary heart disease: the Seven Countries Study. *Prev Med.* 1995 May;24(3):308-15. doi: 10.1006/pmed.1995.1049. PMID: 7644455.

Kromhout D, Yasuda S, Geleijnse JM, Shimokawa H. Fish oil and omega-3 fatty acids in cardiovascular disease: do they really work? *Eur Heart J.* 2012 Feb;33(4):436-43. doi: 10.1093/eurheartj/ehr362. Epub 2011 Sep 19. PMID: 21933782; PMCID: PMC3279313.

Kumar R, Salwe KJ, Kumarappan M. Evaluation of Antioxidant, Hypolipidemic, and Antiatherogenic Property of Lycopene and Astaxanthin in Atherosclerosis-induced Rats. *Pharmacognosy Res.* 2017 Apr-Jun;9(2):161-167. doi: 10.4103/0974-8490.204654. PMID: 28539740; PMCID: PMC5424557.

L

Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell.* 1993 Dec 3;75(5):843-54. doi: 10.1016/0092-8674(93)90529-y. PMID: 8252621.

Levy AS, Heaton AW. Weight control practices of U.S. adults trying to lose weight. *Ann Intern Med.* 1993 Oct 1;119(7 Pt 2):661-6. doi: 10.7326/0003-4819-119-7_part_2-199310011-00007. PMID: 8363193.

Lia A, Hallmans G, Sandberg AS, Sundberg B, Aman P et al. Oat beta-glucan increases bile acid excretion and a fiber-rich barley fraction increases cholesterol excretion in ileostomy subjects. *Am J Clin Nutr.* 1995 Dec;62(6):1245-51. doi: 10.1093/ajcn/62.6.1245. PMID: 7491888.

Lim S.S., Vos T., Flaxman A. D., Danaei G., Shibuya K. et al. A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet.* 2012 Dec 15;380(9859):2224-60. MID: 23245609.

Liu CG, Calin GA, Meloon B, Gamliel N, Sevignani C et al. An oligonucleotide microchip for genome-wide microRNA profiling in human and mouse tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004 Jun 29;101(26):9740-4. doi: 10.1073/pnas.0403293101. Epub 2004 Jun 21. PMID: 15210942; PMCID: PMC470744.

Logan CY, Nusse R. The Wnt signaling pathway in development and disease. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2004;20:781-810. doi: 10.1146/annurev.cellbio.20.010403.113126. PMID: 15473860.

Lorente-Cebrián S, Herrera K, I Milagro F, Sánchez J, de la Garza AL et al. miRNAs and Novel Food Compounds Related to the Browning Process. *Int J Mol Sci*. 2019 Nov 28;20(23):5998. doi: 10.3390/ijms20235998. PMID: 31795191; PMCID: PMC6928892.

Lutz W, Kebede E. Education and Health: Redrawing the Preston Curve. *Popul Dev Rev*. 2018 Jun;44(2):343-361. doi: 10.1111/padr.12141. Epub 2018 Apr 14. PMID: 29937609; PMCID: PMC6001628.

M

Ma H, Chen P, Sang C, Huang D, Geng Q et al. Modulation of apoptosis-related microRNAs following myocardial infarction in fat-1 transgenic mice vs wild-type mice. *J Cell Mol Med*. 2018 Nov;22(11):5698-5707. doi: 10.1111/jcmm.13846. Epub 2018 Sep 14. PMID: 30589501; PMCID: PMC6201345.

Malik VS, Pan A, Willett WC, Hu FB. Sugar-sweetened beverages and weight gain in children and adults: a systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr*. 2013 Oct;98(4):1084-102. doi: 10.3945/ajcn.113.058362. Epub 2013 Aug 21. PMID: 23966427; PMCID: PMC3778861.

Mancia G, Bombelli M, Corrao G, Facchetti R, Madotto F et al. Metabolic syndrome in the Pressioni Arteriose Monitorate E Loro Associazioni (PAMELA) study: daily life blood pressure, cardiac damage, and prognosis. *Hypertension*. 2007 Jan;49(1):40-7. doi: 10.1161/01.HYP.0000251933.22091.24. Epub 2006 Nov 27. PMID: 17130308.

Marañón G. Prediabetic states. *R Novac & C*;1927.

Bibliografía

Marcuello C, Calle-Pascual AL, Fuentes M, Runkle I, Rubio MA et al. Prevalence of the metabolic syndrome in Spain using regional cutoff points for waist circumference: the di@bet.es study. *Acta Diabetol.* 2013 Aug;50(4):615-23. doi: 10.1007/s00592-013-0468-8. Epub 2013 Mar 20. PMID: 23512475.

Marques-Lopes I, Ansorena D, Astiasaran I, Forga L, Martínez JA. Postprandial de novo lipogenesis and metabolic changes induced by a high-carbohydrate, low-fat meal in lean and overweight men. *Am J Clin Nutr.* 2001 Feb;73(2):253-61. doi: 10.1093/ajcn/73.2.253. PMID: 11157321.

Martínez G, Jódar E, Hawkins F. Bases fisiopatológicas de la obesidad [Physiopathologic basis of obesity]. *Aten Primaria.* 2000 Apr 15;25(6):425-31. Spanish. doi: 10.1016/s0212-6567(00)78535-0. PMID: 10857235; PMCID: PMC7675790.

Martínez JA, Moreno MJ, Marques-Lopes I, Martí A. Causas de obesidad [Causes of obesity]. *An Sist Sanit Navar.* 2002;25 Suppl 1:17-27. Spanish. doi: 10.23938/ASSN.0811. PMID: 12861267.

Martínez JA, Kearney JM, Kafatos A, Paquet S, Martínez-González MA. Variables independently associated with self-reported obesity in the European Union. *Public Health Nutr.* 1999 Mar;2(1A):125-33. doi: 10.1017/s1368980099000178. PMID: 10933632.

Martínez-González J, Rodríguez-Rodríguez R, González-Díez M, Rodríguez C, Herrera MD et al. Oleic acid induces prostacyclin release in human vascular smooth muscle cells through a cyclooxygenase-2-dependent mechanism. *J Nutr.* 2008 Mar;138(3):443-8. doi: 10.1093/jn/138.3.443. PMID: 18287347.

Martínez-González MA, Gea A, Ruiz-Canela M. The Mediterranean Diet and Cardiovascular Health. *Circ Res.* 2019 Mar;124(5):779-798. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.118.313348. PMID: 30817261.

Martorell R. Panel discussion: regional action priorities. *J Nutr.* 2002 Apr;132(4 Suppl):871S-4S. doi: 10.1093/jn/132.4.871S. PMID: 11925501.

Mayneris-Perxachs J, Sala-Vila A, Chisaguano M, Castellote AI, Estruch R et al. PREDIMED Study Investigators. Effects of 1-year intervention with a Mediterranean diet on plasma fatty acid composition and metabolic syndrome in a population at high cardiovascular risk. *PLoS One.* 2014

Mar 20;9(3):e85202. doi: 10.1371/journal.pone.0085202. PMID: 24651160; PMCID: PMC3961210.

McLaughlin T, Abbasi F, Cheal K, Chu J, Lamendola C et al. Use of metabolic markers to identify overweight individuals who are insulin resistant. *Ann Intern Med.* 2003 Nov 18;139(10):802-9. doi: 10.7326/0003-4819-139-10-200311180-00007. PMID: 14623617.

McTigue KM, Harris R, Hemphill B, Lux L, Sutton S et al. Screening and interventions for obesity in adults: summary of the evidence for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med.* 2003 Dec 2;139(11):933-49. doi: 10.7326/0003-4819-139-11-200312020-00013. PMID: 14644897.

Meister G, Tuschl T. Mechanisms of gene silencing by double-stranded RNA. *Nature.* 2004 Sep 16;431(7006):343-9. doi: 10.1038/nature02873. PMID: 15372041.

Mellen PB, Walsh TF, Herrington DM. Whole grain intake and cardiovascular disease: a meta-analysis. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2008 May;18(4):283-90. doi: 10.1016/j.numecd.2006.12.008. Epub 2007 Apr 20. PMID: 17449231.

Menotti A, Keys A, Aravanis C, Blackburn H, Dontas A et al. Seven Countries Study. First 20-year mortality data in 12 cohorts of six countries. *Ann Med.* 1989 Jun;21(3):175-9. doi: 10.3109/07853898909149929. PMID: 2765258.

Mente A, Yusuf S, Islam S, McQueen MJ, Tanomsup S et al. INTERHEART Investigators. Metabolic syndrome and risk of acute myocardial infarction a case-control study of 26,903 subjects from 52 countries. *J Am Coll Cardiol.* 2010 May 25;55(21):2390-8. doi: 10.1016/j.jacc.2009.12.053. PMID: 20488312.

Miguel A. Aguirre-Urdaneta, Joselyn J. Rojas-Quintero, Marcos M. Lima-Martínez, Actividad física y síndrome metabólico: Citius-Altius-Fortius, *Avances en Diabetología*, Volume 28, Issue 6, 2012, Pages 123-130, ISSN 1134-3230.

Miguel A. Rubio, Jordi Salas-Salvadó, Montserrat Barbany, Basilio Moreno, Javier Aranceta et al. Consenso SEEDO 2007 para la evaluación del sobrepeso y la obesidad y el establecimiento de criterios de intervención terapéutica. *Rev Esp Obes* 2007; 7-48.

Bibliografía

Mirmiran P, Noori N, Azizi F. A prospective study of determinants of the metabolic syndrome in adults. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2008 Oct;18(8):567-73. doi: 10.1016/j.numecd.2007.06.002. Epub 2008 Feb 20. PMID: 18068961.

Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, Fritz BR, Wyman SK et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008 Jul 29;105(30):10513-8. doi: 10.1073/pnas.0804549105. Epub 2008 Jul 28. PMID: 18663219; PMCID: PMC2492472.

Mitri J, Muraru MD, Pittas AG. Vitamin D and type 2 diabetes: a systematic review. *Eur J Clin Nutr.* 2011 Sep;65(9):1005-15. doi: 10.1038/ejcn.2011.118. Epub 2011 Jul 6. PMID: 21731035; PMCID: PMC4066381.

Moon HS, Batirel S, Mantzoros CS. Alpha linolenic acid and oleic acid additively down-regulate malignant potential and positively cross-regulate AMPK/S6 axis in OE19 and OE33 esophageal cancer cells. *Metabolism.* 2014 Nov;63(11):1447-54. doi: 10.1016/j.metabol.2014.07.009. Epub 2014 Jul 25. PMID: 25129649.

Moghaddam AA, Woodward M, Huxley R. Obesity and risk of colorectal cancer: a meta-analysis of 31 studies with 70,000 events. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2007 Dec;16(12):2533-47. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-07-0708. PMID: 18086756.

Morales-Falo EM, Sánchez-Moreno C, Esteban A, Albuquerque JJ, Garaulet M. Calidad de la dieta "antes y durante" un tratamiento de pérdida de peso basado en una dieta mediterránea; terapia conductual y educación nutricional. *Nutr Hosp.* 2013 Jul-Aug;28(4):980-7. Spanish. doi: 10.3305/nh.2013.28.4.6665. PMID: 23889612.

Mozaffarian D. Dietary and Policy Priorities for Cardiovascular Disease, Diabetes, and Obesity: A Comprehensive Review. *Circulation.* 2016 Jan 12;133(2):187-225. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.115.018585. PMID: 26746178; PMCID: PMC4814348.

Mozaffarian D, Appel LJ, Van Horn L. Components of a cardioprotective diet: new insights. *Circulation.* 2011 Jun 21;123(24):2870-91. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.110.968735. PMID: 21690503; PMCID: PMC6261290.

N

Neel JV. Diabetes mellitus: a "thrifty" genotype rendered detrimental by "progress"? *Am J Hum Genet.* 1962 Dec;14(4):353-62. PMID: 13937884; PMCID: PMC1932342.

Nestel P. Nutritional aspects in the causation and management of the metabolic syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2004 Sep;33(3):483-92, v. doi: 10.1016/j.ecl.2004.03.010. PMID: 15262292.

Nilsson S. Eskil Kylin: överläkare vid medicinska kliniken i Jönköping 1926-1945 [Research contributions of Eskil Kylin]. *Sven Med Tidskr.* 2001;5(1):15-28. Swedish. PMID: 11813720.

Nissensohn M, Román-Viñas B, Sánchez-Villegas A, Piscopo S, Serra-Majem L. The Effect of the Mediterranean Diet on Hypertension: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Nutr Educ Behav.* 2016 Jan;48(1):42-53.e1. doi: 10.1016/j.jneb.2015.08.023. Epub 2015 Oct 21. PMID: 26483006.

Noppa H, Bengtsson C. Obesity in relation to socioeconomic status. A population study of women in Göteborg, Sweden. *J Epidemiol Community Health.* 1980 Jun;34(2):139-42. doi: 10.1136/jech.34.2.139. PMID: 7400727; PMCID: PMC1052059.

O

Ortega FJ, Cardona-Alvarado MI, Mercader JM, Moreno-Navarrete JM, Moreno M et al. Circulating profiling reveals the effect of a polyunsaturated fatty acid-enriched diet on common microRNAs. *J Nutr Biochem.* 2015 Oct;26(10):1095-101. doi: 10.1016/j.jnutbio.2015.05.001. Epub 2015 May 30. PMID: 26092372.

P

Paeratakul S, Popkin BM, Keyou G, Adair LS, Stevens J. Changes in diet and physical activity affect the body mass index of Chinese adults. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1998 May;22(5):424-31. doi: 10.1038/sj.ijo.0800603. PMID: 9622339.

Page IH, Stare FJ, Corcoran AC, Pollack H, Wilkinson CF Jr. Atherosclerosis and the fat content of the diet. *J Am Med Assoc*. 1957 Aug 31;164(18):2048-51. doi: 10.1001/jama.1957.62980180004013. PMID: 13462729.

Papadaki A, Martínez-González MÁ, Alonso-Gómez A, Rekondo J, Salas-Salvadó J et al. Mediterranean diet and risk of heart failure: results from the PREDIMED randomized controlled trial. *Eur J Heart Fail*. 2017 Sep;19(9):1179-1185. doi: 10.1002/ejhf.750. PMID: 28133855.

Párrizas M, Brugnara L, Esteban Y, González-Franquesa A, Canivell S et al. Circulating miR-192 and miR-193b are markers of prediabetes and are modulated by an exercise intervention. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015 Mar;100(3):E407-15. doi: 10.1210/jc.2014-2574. Epub 2014 Dec 22. PMID: 25532038.

Pate RR, Pratt M, Blair SN, Haskell WL, Macera CA et al. Physical activity and public health. A recommendation from the Centers for Disease Control and Prevention and the American College of Sports Medicine. *JAMA*. 1995 Feb 1;273(5):402-7. doi: 10.1001/jama.273.5.402. PMID: 7823386.

Pereira BLB, Reis PP, Severino FE, Felix TF, Braz MG et al. Tomato (*Lycopersicon esculentum*) or lycopene supplementation attenuates ventricular remodeling after myocardial infarction through different mechanistic pathways. *J Nutr Biochem*. 2017 Aug;46:117-124. doi: 10.1016/j.jnutbio.2017.05.010. Epub 2017 Jun 1. PMID: 28599197.

Pérusse L, Chagnon YC, Weisnagel J, Bouchard C. The human obesity gene map: the 1998 update. *Obes Res*. 1999 Jan;7(1):111-29. doi: 10.1002/j.1550-8528.1999.tb00398.x. PMID: 10023738.

Pérusse L, Chagnon YC, Weisnagel SJ, Rankinen T, Snyder E et al. The human obesity gene map: the 2000 update. *Obes Res*. 2001 Feb;9(2):135-69. doi: 10.1038/oby.2001.17. PMID: 11316348.

Pescador N, Pérez-Barba M, Ibarra JM, Corbatón A, Martínez-Larrad MT et al. Serum circulating microRNA profiling for identification of potential type 2 diabetes and obesity biomarkers. *PLoS One*. 2013 Oct 15;8(10):e77251. doi: 10.1371/journal.pone.0077251. PMID: 24204780; PMCID: PMC3817315.

Petersen CP, Bordeleau ME, Pelletier J, Sharp PA. Short RNAs repress translation after initiation in mammalian cells. *Mol Cell*. 2006 Feb 17;21(4):533-42. doi: 10.1016/j.molcel.2006.01.031. PMID: 16483934.

Petsini F, Fragopoulou E, Antonopoulou S. Fish consumption and cardiovascular disease related biomarkers: A review of clinical trials. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2019;59(13):2061-2071. doi: 10.1080/10408398.2018.1437388. Epub 2018 Mar 13. PMID: 29420061.

Pittas AG, Chung M, Trikalinos T, Mitri J, Brendel M et al. Systematic review: Vitamin D and cardiometabolic outcomes. *Ann Intern Med*. 2010 Mar 2;152(5):307-14. doi: 10.7326/0003-4819-152-5-201003020-00009. PMID: 20194237; PMCID: PMC3211092.

Potenza MV, Mechanick JI. The metabolic syndrome: definition, global impact, and pathophysiology. *Nutr Clin Pract*. 2009 Oct-Nov;24(5):560-77. doi: 10.1177/0884533609342436. PMID: 19841245.

Poy MN, Eliasson L, Krutzfeldt J, Kuwajima S, Ma X et al. A pancreatic islet-specific microRNA regulates insulin secretion. *Nature*. 2004 Nov 11;432(7014):226-30. doi: 10.1038/nature03076. PMID: 15538371.

Proserpi C, Sparti A, Schutz Y, Di Vetta V, Milon H et al. Ad libitum intake of a high-carbohydrate or high-fat diet in young men: effects on nutrient balances. *Am J Clin Nutr*. 1997 Sep;66(3):539-45. doi: 10.1093/ajcn/66.3.539. PMID: 9280170.

Q

Quintanilha BJ, Reis BZ, Duarte GBS, Cozzolino SMF, Rogero MM. Nutrimiomics: Role of microRNAs and Nutrition in Modulating Inflammation and Chronic Diseases. *Nutrients*. 2017 Oct 27;9(11):1168. doi: 10.3390/nu9111168. PMID: 29077020; PMCID: PMC5707640.

R

Rabinowits G, Gerçel-Taylor C, Day JM, Taylor DD, Kloecker GH. Exosomal microRNA: a diagnostic marker for lung cancer. *Clin Lung Cancer*. 2009 Jan;10(1):42-6. doi: 10.3816/CLC.2009.n.006. PMID: 19289371.

Ramel A, Martinez JA, Kiely M, Bandarra NM, Thorsdottir I. Moderate consumption of fatty fish reduces diastolic blood pressure in overweight and obese European young adults during energy restriction. *Nutrition*. 2010 Feb;26(2):168-74. doi: 10.1016/j.nut.2009.04.002. Epub 2009 May 31. PMID: 19487105.

Ranka S, Gee JM, Biro L, Brett G, Saha S, Kroon P, Skinner J, Hart AR, Cassidy A, Rhodes M, Johnson IT. Development of a food frequency questionnaire for the assessment of quercetin and naringenin intake. *Eur J Clin Nutr*. 2008 Sep;62(9):1131-8. doi: 10.1038/sj.ejcn.1602827. Epub 2007 May 30. PMID: 17538531.

Ravussin E, Swinburn BA. Pathophysiology of obesity. *Lancet*. 1992 Aug 15;340(8816):404-8. doi: 10.1016/0140-6736(92)91480-v. PMID: 1353565.

Reaven G. Metabolic syndrome: pathophysiology and implications for management of cardiovascular disease. *Circulation*. 2002 Jul 16;106(3):286-8. doi: 10.1161/01.cir.0000019884.36724.d9. PMID: 12119239.

Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*. 1988 Dec;37(12):1595-607. doi: 10.2337/diab.37.12.1595. PMID: 3056758.

Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, Pasquinelli AE, Bettinger JC et al. The 21-nucleotide let-7 RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*. 2000 Feb 24;403(6772):901-6. doi: 10.1038/35002607. PMID: 10706289.

Rissanen AM, Heliövaara M, Knekt P, Reunanen A, Aromaa A. Determinants of weight gain and overweight in adult Finns. *Eur J Clin Nutr*. 1991 Sep;45(9):419-30. PMID: 1959514.

Rivas FV, Tolia NH, Song JJ, Aragon JP, Liu J et al. Purified Argonaute2 and an siRNA form recombinant human RISC. *Nat Struct Mol Biol*. 2005 Apr;12(4):340-9. doi: 10.1038/nsmb918. Epub 2005 Mar 30. PMID: 15800637.

Rodríguez A, González B. El trasfondo económico de las intervenciones sanitarias en la prevención de la obesidad. *Rev Esp Salud Pública*. 2009;83:25-41

Rodríguez Artalejo F, Banegas JR, Oya Otero Md. Dieta y enfermedad cardiovascular [Diet and cardiovascular disease]. *Med Clin (Barc)*. 2002 Jul 6;119(5):180-8. Spanish. PMID: 12200021.

Roessler C, Kuhlmann K, Hellwing C, Leimert A, Schumann J. Impact of Polyunsaturated Fatty Acids on miRNA Profiles of Monocytes/Macrophages and Endothelial Cells-A Pilot Study. *Int J Mol Sci*. 2017 Jan 28;18(2):284. doi: 10.3390/ijms18020284. PMID: 28134837; PMCID: PMC5343820.

Romaguera D, Guevara M, Norat T, Langenberg C, Forouhi NG et al. Mediterranean diet and type 2 diabetes risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) study: the InterAct project. *Diabetes Care*. 2011 Sep;34(9):1913-8. doi: 10.2337/dc11-0891. Epub 2011 Jul 25. PMID: 21788627; PMCID: PMC3161259.

Ross SA, Davis CD. The emerging role of microRNAs and nutrition in modulating health and disease. *Annu Rev Nutr*. 2014;34:305-36. doi: 10.1146/annurev-nutr-071813-105729. PMID: 25033062.

Rubio Herrera y cols (2005). Manual de Obesidad Mórbida. En Aranceta Batrina J.: Epidemiología de la obesidad mórbida en España. Madrid: Panamericana, 37-45.

Bibliografía

Rubio MA., Martínez C, Vidal O, Larrad A, Salas-Salvadó J, Pujol J, Díez I, Moreno B. Documento de Consenso sobre cirugía bariátrica. *Revista Española de Obesidad* 2004; 4: 223-49.

Ruiz-Tovar J, Boix E, Bozhychko M, Miren Del Campo J, Martínez R et al. Grupo OBELCHE. Adherencia pre y postoperatoria a la dieta Mediterránea y su efecto sobre la pérdida de peso y el perfil lipídico en pacientes obesos mórbidos sometidos a gastrectomía vertical como procedimiento bariátrico. *Nutr Hosp.* 2014 Oct 1;30(4):756-62. Spanish. doi: 10.3305/nh.2014.30.4.7650. PMID: 25335658.

Ruvkun G. Molecular biology. Glimpses of a tiny RNA world. *Science.* 2001 Oct 26;294(5543):797-9. doi: 10.1126/science.1066315. PMID: 11679654.

S

Saklayen MG. The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome. *Curr Hypertens Rep.* 2018 Feb 26;20(2):12. doi: 10.1007/s11906-018-0812-z. PMID: 29480368; PMCID: PMC5866840.

Salas-Salvadó J, Bulló M, Babio N, Martínez-González MÁ, Ibarrola-Jurado N et al. PREDIMED Study Investigators. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with the Mediterranean diet: results of the PREDIMED-Reus nutrition intervention randomized trial. *Diabetes Care.* 2011 Jan;34(1):14-9. doi: 10.2337/dc10-1288. PMID: 20929998; PMCID: PMC3005482.

Salas-Salvadó J, Díaz-López A, Ruiz-Canela M, Basora J, Fitó M et al.; PREDIMED-Plus investigators. Effect of a Lifestyle Intervention Program With Energy-Restricted Mediterranean Diet and Exercise on Weight Loss and Cardiovascular Risk Factors: One-Year Results of the PREDIMED-Plus Trial. *Diabetes Care.* 2019 May;42(5):777-788. doi: 10.2337/dc18-0836. Epub 2018 Nov 2. PMID: 30389673.

Salas-Salvadó J, Rubio MA, Barbany M, Moreno B; Grupo Colaborativo de la SEEDO. Consenso SEEDO 2007 para la evaluación del sobrepeso y la obesidad y el establecimiento de criterios de intervención terapéutica. *Med Clin (Barc).* 2007 Feb 10;128(5):184-96; quiz 1 p following 200. Spanish. doi: 10.1016/s0025-7753(07)72531-9. PMID: 17298782.

Salas-Salvadó J, Bulló M, Estruch R, Ros E, Covas MI et al. Prevention of diabetes with Mediterranean diets: a subgroup analysis of a randomized trial. *Ann Intern Med*. 2014 Jan 7;160(1):1-10. doi: 10.7326/M13-1725. Erratum in: *Ann Intern Med*. 2018 Aug 21;169(4):271-272. PMID: 24573661.

Salvadó L, Coll T, Gómez-Foix AM, Salmerón E, Barroso E et al. Oleate prevents saturated-fatty-acid-induced ER stress, inflammation and insulin resistance in skeletal muscle cells through an AMPK-dependent mechanism. *Diabetologia*. 2013 Jun;56(6):1372-82. doi: 10.1007/s00125-013-2867-3. Epub 2013 Mar 5. PMID: 23460021.

Samaha FF, Iqbal N, Seshadri P, Chicano KL, Daily DA et al. A low-carbohydrate as compared with a low-fat diet in severe obesity. *N Engl J Med*. 2003 May 22;348(21):2074-81. doi: 10.1056/NEJMoa022637. PMID: 12761364.

Saris WH, Astrup A, Prentice AM, Zunft HJ, Formiguera X et al. Randomized controlled trial of changes in dietary carbohydrate/fat ratio and simple vs complex carbohydrates on body weight and blood lipids: the CARMEN study. *The Carbohydrate Ratio Management in European National diets*. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2000 Oct;24(10):1310-8. doi: 10.1038/sj.ijo.0801451. PMID: 11093293.

Sayon-Orea C, Martinez-Gonzalez MA, Gea A, Alonso A, Pimenta AM et al. Baseline consumption and changes in sugar-sweetened beverage consumption and the incidence of hypertension: The SUN project. *Clin Nutr*. 2015 Dec;34(6):1133-40. doi: 10.1016/j.clnu.2014.11.010. Epub 2014 Nov 22. PMID: 25481680.

Schiffelers SL, Saris WH, van Baak MA. The effect of an increased free fatty acid concentration on thermogenesis and substrate oxidation in obese and lean men. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2001 Jan;25(1):33-8. doi: 10.1038/sj.ijo.0801528. PMID: 11244455.

Schrauwen P, van Marken Lichtenbelt WD, Saris WH, Westerterp KR. Changes in fat oxidation in response to a high-fat diet. *Am J Clin Nutr*. 1997 Aug;66(2):276-82. doi: 10.1093/ajcn/66.2.276. PMID: 9250105.

Schröder H, Fitó M, Estruch R, Martínez-González MA, Corella D et al. A short screener is valid for assessing Mediterranean diet adherence among older Spanish men and women. *J Nutr*. 2011 Jun;141(6):1140-5. doi: 10.3945/jn.110.135566. Epub 2011 Apr 20. PMID: 21508208.

Bibliografía

Schulte C, Karakas M, Zeller T. microRNAs in cardiovascular disease - clinical application. *Clin Chem Lab Med*. 2017 May 1;55(5):687-704. doi: 10.1515/cclm-2016-0576. PMID: 27914211.

Schutz Y. Abnormalities of fuel utilization as predisposing to the development of obesity in humans. *Obes Res*. 1995 Sep;3 Suppl 2:173S-178S. doi: 10.1002/j.1550-8528.1995.tb00460.x. PMID: 8581773.

Schutz Y, Flatt JP, Jéquier E. Failure of dietary fat intake to promote fat oxidation: a factor favoring the development of obesity. *Am J Clin Nutr*. 1989 Aug;50(2):307-14. doi: 10.1093/ajcn/50.2.307. PMID: 2756918.

Schwartz MW, Baskin DG, Kaiyala KJ, Woods SC. Model for the regulation of energy balance and adiposity by the central nervous system. *Am J Clin Nutr*. 1999 Apr;69(4):584-96. doi: 10.1093/ajcn/69.4.584. PMID: 10197558.

Schwarzenbach H, da Silva AM, Calin G, Pantel K. Data Normalization Strategies for MicroRNA Quantification. *Clin Chem*. 2015 Nov;61(11):1333-42. doi: 10.1373/clinchem.2015.239459. Epub 2015 Sep 25. PMID: 26408530; PMCID: PMC4890630.

Sciatti E, Lombardi C, Ravera A, Vizzardi E, Bonadei I et al. Nutritional Deficiency in Patients with Heart Failure. *Nutrients*. 2016 Jul 22;8(7):442. doi: 10.3390/nu8070442. PMID: 27455314; PMCID: PMC4963918.

Seeliger C, Karpinski K, Haug AT, Vester H, Schmitt A et al. Five freely circulating miRNAs and bone tissue miRNAs are associated with osteoporotic fractures. *J Bone Miner Res*. 2014 Aug;29(8):1718-28. doi: 10.1002/jbmr.2175. Erratum in: *J Bone Miner Res*. 2015 Jan;30(1):195-6. PMID: 24431276.

Serra Majem L, Ribas Barba L, Aranceta Bartrina J, Pérez Rodrigo C, Saavedra Santana P et al. Obesidad infantil y juvenil en España. Resultados del Estudio enKid (1998-2000). *Med Clin (Barc)*. 2003 Nov 29;121(19):725-32. Spanish. doi: 10.1016/s0025-7753(03)74077-9. PMID: 14678693.

Serra-Majem L, Roman B, Estruch R. Scientific evidence of interventions using the Mediterranean diet: a systematic review. *Nutr Rev*. 2006 Feb;64(2 Pt 2):S27-47. doi: 10.1111/j.1753-4887.2006.tb00232.x. PMID: 16532897.

Serra-Majem L, Román-Viñas B, Sanchez-Villegas A, Guasch-Ferré M, Corella D et al. Benefits of the Mediterranean diet: Epidemiological and molecular aspects. *Mol Aspects Med.* 2019 Jun;67:1-55. doi: 10.1016/j.mam.2019.06.001. Epub 2019 Jul 4. PMID: 31254553.

Sobal J, Stunkard AJ. Socioeconomic status and obesity: a review of the literature. *Psychol Bull.* 1989 Mar;105(2):260-75. doi: 10.1037/0033-2909.105.2.260. PMID: 2648443.

Sofi F, Abbate R, Gensini GF, Casini A. Accruing evidence on benefits of adherence to the Mediterranean diet on health: an updated systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr.* 2010 Nov;92(5):1189-96. doi: 10.3945/ajcn.2010.29673. Epub 2010 Sep 1. PMID: 20810976.

Soriguer F, Rojo-Martínez G, Esteve de Antonio I, Ruiz de Adana MS, Catalá M et al. Prevalence of obesity in south-east Spain and its relation with social and health factors. *Eur J Epidemiol.* 2004;19(1):33-40. doi: 10.1023/b:ejep.0000013254.93980.97. PMID: 15012020.

Soriguer F, Rojo-Martínez G, Goday A, Bosch-Comas A, Bordiú E et al. Olive oil has a beneficial effect on impaired glucose regulation and other cardiometabolic risk factors. *Di@bet.es study.* *Eur J Clin Nutr.* 2013 Sep;67(9):911-6. doi: 10.1038/ejcn.2013.130. Epub 2013 Jul 17. PMID: 23859999.

Storniolo CE, Casillas R, Bulló M, Castañer O, Ros E et al. Mediterranean diet supplemented with extra virgin olive oil or nuts improves endothelial markers involved in blood pressure control in hypertensive women. *Eur J Nutr.* 2017 Feb;56(1):89-97. doi: 10.1007/s00394-015-1060-5. Epub 2015 Oct 8. PMID: 26450601.

Stubbs RJ. Dietary macronutrients and glucostatic control of feeding. *Proc Nutr Soc.* 1996 Mar;55(1B):467-83. doi: 10.1079/pns19960042. PMID: 8832813.

Stunkard AJ, Harris JR, Pedersen NL, McClearn GE. The body-mass index of twins who have been reared apart. *N Engl J Med.* 1990 May 24;322(21):1483-7. doi: 10.1056/NEJM199005243222102. PMID: 2336075.

Stunkard AJ, Sørensen TI, Hanis C, Teasdale TW, Chakraborty R et al. An adoption study of human obesity. *N Engl J Med.* 1986 Jan 23;314(4):193-8. doi: 10.1056/NEJM198601233140401. PMID: 3941707.

Summerhill V, Karagodin V, Grechko A, Myasoedova V, Orekhov A. Vasculoprotective Role of Olive Oil Compounds via Modulation of Oxidative Stress in Atherosclerosis. *Front Cardiovasc Med.* 2018 Dec 21;5:188. doi: 10.3389/fcvm.2018.00188. PMID: 30622950; PMCID: PMC6308304.

T

Tresserra-Rimbau A, Medina-Remón A, Lamuela-Raventós RM, Bulló M, Salas-Salvadó J et al. PREDIMED Study Investigators. Moderate red wine consumption is associated with a lower prevalence of the metabolic syndrome in the PREDIMED population. *Br J Nutr.* 2015 Apr;113 Suppl 2:S121-30. doi: 10.1017/S0007114514003262. PMID: 26148915.

Trichopoulou A, Costacou T, Bamia C, Trichopoulos D. Adherence to a Mediterranean diet and survival in a Greek population. *N Engl J Med.* 2003 Jun 26;348(26):2599-608. doi: 10.1056/NEJMoa025039. PMID: 12826634.

Trichopoulou A, Lagiou P. Healthy traditional Mediterranean diet: an expression of culture, history, and lifestyle. *Nutr Rev.* 1997 Nov;55(11 Pt 1):383-9. doi: 10.1111/j.1753-4887.1997.tb01578.x. PMID: 9420448.

Trichopoulou A, Martínez-González MA, Tong TY, Forouhi NG, Khandelwal S et al. Definitions and potential health benefits of the Mediterranean diet: views from experts around the world. *BMC Med.* 2014 Jul 24;12:112. doi: 10.1186/1741-7015-12-112. PMID: 25055810; PMCID: PMC4222885.

Tuttolomondo A, Simonetta I, Daidone M, Mogavero A, Ortello A et al. Metabolic and Vascular Effect of the Mediterranean Diet. *Int J Mol Sci.* 2019 Sep 23;20(19):4716. doi: 10.3390/ijms20194716. PMID: 31547615; PMCID: PMC6801699.

V

Vague J. Sexual differentiation, a factor affecting the form of obesity. *Press Med* 1947;30:339-40.

Valadi H, Ekström K, Bossios A, Sjöstrand M, Lee JJ et al. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol.* 2007 Jun;9(6):654-9. doi: 10.1038/ncb1596. Epub 2007 May 7. PMID: 17486113.

Van Baak MA. The peripheral sympathetic nervous system in human obesity. *Obes Rev.* 2001 Feb;2(1):3-14. doi: 10.1046/j.1467-789x.2001.00010.x. PMID: 12119635.

Van Horn L, McCoin M, Kris-Etherton PM, Burke F, Carson JA et al. The evidence for dietary prevention and treatment of cardiovascular disease. *J Am Diet Assoc.* 2008 Feb;108(2):287-331. doi: 10.1016/j.jada.2007.10.050. PMID: 18237578.

Van Itallie TB. "Morbid" obesity: a hazardous disorder that resists conservative treatment. *Am J Clin Nutr.* 1980 Feb;33(2 Suppl):358-63. doi: 10.1093/ajcn/33.2.358. PMID: 7355807.

Van Rooij E, Purcell AL, Levin AA. Developing microRNA therapeutics. *Circ Res.* 2012 Feb 3;110(3):496-507. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.111.247916. PMID: 22302756.

Vasudevan S, Tong Y, Steitz JA. Switching from repression to activation: microRNAs can up-regulate translation. *Science.* 2007 Dec 21;318(5858):1931-4. doi: 10.1126/science.1149460. Epub 2007 Nov 29. PMID: 18048652.

W

Wagenknecht LE, Langefeld CD, Scherzinger AL, Norris JM, Haffner SM et al. Insulin sensitivity, insulin secretion, and abdominal fat: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS) Family Study. *Diabetes.* 2003 Oct;52(10):2490-6. doi: 10.2337/diabetes.52.10.2490. PMID: 14514631.

Bibliografía

Wahlestedt C, Salmi P, Good L, Kela J, Johnsson T et al. Potent and nontoxic antisense oligonucleotides containing locked nucleic acids. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000 May 9;97(10):5633-8. doi: 10.1073/pnas.97.10.5633. PMID: 10805816; PMCID: PMC25880.

Wang X, Guo B, Li Q, Peng J, Yang Z et al. miR-214 targets ATF4 to inhibit bone formation. *Nat Med*. 2013 Jan;19(1):93-100. doi: 10.1038/nm.3026. Epub 2012 Dec 9. PMID: 23223004.

Wang J, Chen J, Sen S. MicroRNA as Biomarkers and Diagnostics. *J Cell Physiol*. 2016 Jan;231(1):25-30. doi: 10.1002/jcp.25056. PMID: 26031493.

Wärnberg J, Pérez-Farinós N, Benavente-Marín JC, Gómez SF, Labayen I et al. Screen Time and Parents' Education Level Are Associated with Poor Adherence to the Mediterranean Diet in Spanish Children and Adolescents: The PASOS Study. *J Clin Med*. 2021 Feb 16;10(4):795. doi: 10.3390/jcm10040795. PMID: 33669366; PMCID: PMC7920265.

Weintraub M. Long-term weight control study: conclusions. *Clin Pharmacol Ther*. 1992 May;51(5):642-6. doi: 10.1038/clpt.1992.76. PMID: 1587079.

Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL et al. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest*. 2003 Dec;112(12):1796-808. doi: 10.1172/JCI19246. PMID: 14679176; PMCID: PMC296995.

Westerterp KR, Goran MI. Relationship between physical activity related energy expenditure and body composition: a gender difference. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1997 Mar;21(3):184-8. doi: 10.1038/sj.ijo.0800385. PMID: 9080256.

Whitley HA, Humphreys SM, Samra JS, Campbell IT, Maclaren DP et al. Metabolic responses to isoenergetic meals containing different proportions of carbohydrate and fat. *Br J Nutr*. 1997 Jul;78(1):15-26. doi: 10.1079/bjn19970115. PMID: 9292756.

Willett WC, Sacks F, Trichopoulos A, Drescher G, Ferro-Luzzi A et al. Mediterranean diet pyramid: a cultural model for healthy eating. *Am J Clin Nutr*. 1995 Jun;61(6 Suppl):1402S-1406S. doi: 10.1093/ajcn/61.6.1402S. PMID: 7754995.

Williamson DF. Dietary intake and physical activity as "predictors" of weight gain in observational, prospective studies of adults. *Nutr Rev.* 1996 Apr;54(4 Pt 2):S101-9. doi: 10.1111/j.1753-4887.1996.tb03904.x. PMID: 8700435.

Witham MD, Nadir MA, Struthers AD. Effect of vitamin D on blood pressure: a systematic review and meta-analysis. *J Hypertens.* 2009 Oct;27(10):1948-54. doi: 10.1097/HJH.0b013e32832f075b. PMID: 19587609.

Wu T, Xiang Y, Lv Y, Li D, Yu L, Guo R. miR-590-3p mediates the protective effect of curcumin on injured endothelial cells induced by angiotensin II. *Am J Transl Res.* 2017 Feb 15;9(2):289-300. PMID: 28337260; PMCID: PMC5340667.

Y

Yang L, Gao C. MiR-590 Inhibits Endothelial Cell Apoptosis by Inactivating the TLR4/NF- κ B Pathway in Atherosclerosis. *Yonsei Med J.* 2019 Mar;60(3):298-307. doi: 10.3349/ymj.2019.60.3.298. PMID: 30799593; PMCID: PMC6391523.

Yang T, Santisteban MM, Rodriguez V, Li E, Ahmari N et al. Gut dysbiosis is linked to hypertension. *Hypertension.* 2015 Jun; 65(6):1331-40. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.05315. Epub 2015 Apr 13. PMID: 25870193; PMCID: PMC4433416.

Yusuf S, Reddy S, Ounpuu S, Anand S. Global burden of cardiovascular diseases: part I: general considerations, the epidemiologic transition, risk factors, and impact of urbanization. *Circulation.* 2001 Nov 27;104(22):2746-53. doi: 10.1161/hc4601.099487. PMID: 11723030.

Z

Zeljic K, Supic G, Magic Z. New insights into vitamin D anticancer properties: focus on miRNA modulation. *Mol Genet Genomics.* 2017 Jun;292(3):511-524. doi: 10.1007/s00438-017-1301-9. Epub 2017 Feb 27. PMID: 28243735.

Bibliografía

Zhang H, Kolb FA, Jaskiewicz L, Westhof E, Filipowicz W. Single processing center models for human Dicer and bacterial RNase III. *Cell*. 2004 Jul 9;118(1):57-68. doi: 10.1016/j.cell.2004.06.017. PMID: 15242644.

Zheng Z, Ge Y, Zhang J, Xue M, Li Q et al. PUFA diets alter the microRNA expression profiles in an inflammation rat model. *Mol Med Rep*. 2015 Jun;11(6):4149-57. doi: 10.3892/mmr.2015.3318. Epub 2015 Feb 9. PMID: 25672643; PMCID: PMC4394972.

Zimmet P, Magliano D, Matsuzawa Y, Alberti G, Shaw J. The metabolic syndrome: a global public health problem and a new definition. *J Atheroscler Thromb*. 2005;12(6):295-300. doi: 10.5551/jat.12.295. PMID: 16394610.

Zimmet P. Globalization, coca-colonization and the chronic disease epidemic: can the Doomsday scenario be averted? *J Intern Med*. 2000 Mar;247(3):301-10. doi: 10.1046/j.1365-2796.2000.00625.x. PMID: 10762445

10. ANEXOS



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE

Nos dirigimos a usted desde la Unidad de Gestión Clínica de Endocrinología y Nutrición del Hospital Regional Universitario de Málaga.

Como usted conoce, la obesidad mórbida es una enfermedad con una patología que implica una serie de consecuencias físicas y psicológicas muy importantes. La obesidad se encuentra muy relacionada con otros problemas como la diabetes, la hiperlipidemia, la hipertensión y, en general, con las enfermedades cardiovasculares.

Los estudios sobre las causas de la obesidad mórbida que usted padece no han aportado una clara solución al problema. De ahí la importancia de la investigación en este campo, para lo cual solicitamos su colaboración.

Con este motivo se le solicita una extracción de sangre previa a la cirugía para medir distintos parámetros analíticos y el grado de resistencia a la insulina que usted tiene. También estudiaremos la adherencia a la dieta mediterránea y si realiza alguna actividad física con la ayuda de unos cuestionarios que le facilitaremos.

Los resultados de estas investigaciones es posible que no tengan para usted una utilidad inmediata, es por lo que le solicitamos su colaboración. En el caso de no aceptar colaborar, no se producirá ninguna modificación en el resto de los protocolos, procedimientos y atención médica y quirúrgica que usted está recibiendo.

Los resultados de estos estudios no se registrarán en su historia clínica. Toda la información que Ud. generosamente nos proporcione será utilizada de manera anónima, únicamente con fines de investigación y será protegida por el secreto profesional y por la vigilancia del Comité de Ética y Ensayos Clínicos del Hospital Regional Universitario de Málaga.



Hospital Regional Universitario
CARLOS HAYA
Servicio Andalúz de Salud
CONSEJERÍA DE SALUD

BioBanco Hospitalario Carlos Haya

Hospital Civil - Pabellón 5- Sótano Telf: 951 29 02 24
biobanco.hch.sspa@juntadeandalucia.es

COPIA PARA EL PACIENTE

FORMULARIO DE INFORMACIÓN Y CONSENTIMIENTO INFORMADO ESCRITO

1. DOCUMENTO DE INFORMACIÓN PARA DONACIÓN DE MUESTRAS BIOLÓGICAS AL BIOBANCO PARA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA

Este documento sirve para que usted otorgue su consentimiento para donar sus muestras biológicas, o las del sujeto al que representa, al Biobanco indicado, establecimiento público, sin ánimo de lucro, dependiente de la Consejería de Salud/del Servicio Andalúz de Salud, que acoge colecciones de muestras biológicas concebidas con fines diagnósticos o de investigación biomédica y organizadas como una unidad técnica con criterios de calidad, orden y destino, donde serán conservadas hasta que se agoten por su uso, salvo que usted solicitara su eliminación. Las muestras biológicas son un excelente elemento para la investigación de enfermedades. A través de dichas investigaciones se podrán obtener datos que permitirán mejorar el conocimiento sobre la aparición, desarrollo y tratamiento de multitud de enfermedades.

Esta hoja de información puede contener palabras que usted no entienda. Por favor, pídale al profesional sanitario que le explique la información que no comprenda. Tómese el tiempo necesario para decidir si quiere o no donar su muestra biológica y consulte a personas de su confianza si lo desea. Para consultas que desee plantear posteriormente, podrá dirigirse al Biobanco, a la dirección de correo electrónico: **biobanco.hch.sspa@juntadeandalucia.es**

Las muestras biológicas donadas y sus datos clínicos asociados se utilizarán de conformidad con lo establecido en la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica (en adelante Ley de Investigación biomédica).

Es posible que la información obtenida de las investigaciones en las que se utilicen sus muestras no le genere un beneficio directo, pero habrá contribuido al avance de la medicina y del conocimiento de diversas enfermedades, lo que supondrá, sin duda, un beneficio para la sociedad.

La donación es voluntaria y altruista, por lo que usted no tendrá derecho alguno sobre los resultados que pudieran derivarse de las investigaciones que se lleven a cabo con dichas muestras, de conformidad con la normativa vigente. Su decisión de donar o no, no afectará a su asistencia sanitaria.

En el apartado dedicado al consentimiento (2.3), usted podrá decidir si quiere que sus muestras se conserven de forma codificada (en cuyo caso se protege su identidad con un código anonimizada (eliminandose de forma irreversible toda vinculación con su identidad).

Sus muestras y los datos asociados a las mismas sólo se cederán a terceros que las utilicen en investigación biomédica de manera anónima o disociada. Si, por la naturaleza del proyecto de investigación en el que se utilizara su muestra se necesitaran datos clínicos adicionales, el Biobanco coordinará la obtención de los mismos, siempre que la muestra no hubiese sido anonimizada.

1.1. LO QUE USTED DEBE SABER:

1. Obtención de las muestras

Las muestras serán obtenidas durante el procedimiento médico-quirúrgico al que va a someterse o se ha sometido durante su proceso asistencial, o a través de un procedimiento expreso para obtenerla, según lo indicado en el apartado sobre consentimiento (2.3).

En el caso de que usted done las muestras obtenidas durante procedimientos médico-quirúrgicos asistenciales, no existe ningún inconveniente adicional derivado de la donación de las mismas. Si, por el contrario, las muestras fueran extraídas expresamente para la donación para investigación biomédica podrían existir inconvenientes vinculados con la obtención de las mismas, de las que será convenientemente informado en la hoja de información del procedimiento correspondiente.

2. Utilización de las muestras

Usted autoriza a que las muestras donadas sean utilizadas en investigación biomédica pudiendo establecer restricciones a su utilización.



Hospital Regional Universitario
CARLOS HAYA
Servicio Andaluz de Salud
CONSEJERÍA DE SALUD

BioBanco Hospitalario Carlos Haya

Hospital Civil - Pabellón 5- Sótano Telf: 951 29 02 24
biobanco.hch.sspa@juntadeandalucia.es

Las muestras sólo podrán ser utilizadas en proyectos de investigación científicamente avalados, que cumplan las exigencias legales y los principios éticos que rigen la investigación en salud y que sean autorizados por los órganos competentes, de conformidad con lo establecido en la normativa vigente. Cuando, por razones de salud, usted o su familia lo necesiten, podrán hacer uso de las muestras, siempre que no se hayan agotado o eliminado y no se encuentren anonimizadas.

3. Disponibilidad de la información sobre la muestra

Si lo solicita, el Biobanco le facilitará la información sobre los proyectos de investigación en los que se utilicen las muestras donadas, si éstas no hubieran sido anonimizadas.

Al donar sus muestras al Biobanco, en este momento puede no saberse el lugar de realización de los análisis. El Biobanco mantiene un registro detallado del lugar de realización de los análisis realizados. La información que se obtenga puede tener implicaciones para sus familiares, por lo que debe transmitirles dicha información.

4. Posibilidad de ponerse nuevamente en contacto

Puede que sea necesario ponerse en contacto nuevamente con usted, con el fin de recabar datos o muestras adicionales, proporcionarle la información relevante para su salud, salvo que haya solicitado que las muestras sean anonimizadas.

5. Protección de datos y confidencialidad de la información

La información proporcionada en este apartado será aplicable siempre que sus muestras no se encuentren anonimizadas.

Los datos personales recabados serán confidenciales y tratados de acuerdo con la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal, y su normativa de desarrollo, y la Ley de Investigación biomédica.

Sus datos de carácter personal serán incorporados a un fichero automatizado, debidamente inscrito en la Agencia Española de Protección de Datos, cuya titularidad corresponde al Servicio Andaluz de Salud. Sólo los responsables del Biobanco podrán identificar a quién corresponde cada muestra o dato.

Podrá ejercer los derechos de acceso, rectificación, oposición y cancelación de sus datos personales, reconocidos en la citada Ley Orgánica 15/1999, con las limitaciones establecidas en dicha Ley. Para ello, deberá dirigirse a la Dirección General de Asistencia Sanitaria del Servicio Andaluz de Salud, Avenida de la Constitución, núm. 18, de Sevilla.

6. Derecho de revocación del consentimiento

Salvo que sus muestras se encuentren anonimizadas, podrá revocar o retirar, en cualquier momento, el consentimiento prestado. Para ello, deberá dirigirse al Biobanco, pudiendo solicitar la eliminación o la anonimización de las muestras.

Los efectos de la revocación no se extenderán a las investigaciones llevadas a cabo con anterioridad.

7. Información relativa a análisis genéticos

Salvo que usted manifieste lo contrario en el apartado dedicado al consentimiento, se podrán realizar análisis genéticos.

Excepto si solicita que sus muestras sean anonimizadas, tiene derecho a conocer los datos genéticos que se obtengan a partir del análisis de las muestras donadas, así como de la información relativa a su salud derivada de dichos análisis, según los términos en que exprese su voluntad en el apartado 2.3.

Si no desea recibir dicha información y ésta fuera necesaria para evitar un grave perjuicio para su salud o la de sus familiares biológicos, se informará a un familiar o a un representante. La comunicación se limitará exclusivamente a los datos necesarios para evitar tal perjuicio.

8. Otras consideraciones

Una vez informado/a de los aspectos relacionados con la donación de muestras biológicas Usted deberá firmar el consentimiento informado para la donación.



Hospital Regional Universitario
CARLOS HAYA
 Servicio Andaluz de Salud
 CONSEJERÍA DE SALUD

BioBanco Hospitalario Carlos Haya

Hospital Civil - Pabellón 5- Sótano Telf: 951 29 02 24
 biohbanco.hch.sspa@juntadeandalucia.es

COPIA PARA EL PACIENTE

2. CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA DONACIÓN DE MUESTRAS BIOLÓGICAS AL BIOBANCO

2.1. DATOS DEL/DE LA DONANTE Y DE SU REPRESENTANTE (éste último sólo en caso de incapacidad del/de la donante):

Apellidos y nombre del Donante:

DNI / NIE: _____ **NUHSA:** _____

Apellidos y nombre del/de la representante legal:

DNI / NIE del/de la representante legal: _____

2.2. PROFESIONALES QUE INTERVIENEN EN EL PROCESO DE INFORMACIÓN Y/O CONSENTIMIENTO:

Apellidos y nombre del profesional	Fecha	Firma
------------------------------------	-------	-------

2.3. CONSENTIMIENTO:

Yo, D./Dña. declaro bajo mi responsabilidad que he leído y comprendido el Formulario de Información, del que se me ha entregado un ejemplar.

He recibido suficiente información sobre la donación de muestras biológicas y sobre la posible realización de análisis genéticos sobre las mismas y he podido hacer preguntas sobre la información recibida y hablar con el profesional indicado, quien me ha resuelto todas las dudas que le he planteado.

Manifiesto mi voluntad de donar mis muestras biológicas y permitir el tratamiento de los datos asociados a la misma al Biobanco, procedente de:

- Excedente del procedimiento diagnóstico, terapéutico o quirúrgico al que va a someterse o se ha sometido.....
- La obtención de forma expresa.....

Asimismo, consiento el tratamiento de los datos clínicos asociados a las muestras.

Deseo que dichas muestras y los datos clínicos asociados sean tratadas de la siguiente forma:

- Codificada** (serán identificadas por un código, desligándose de la información que me identifica, siendo posible volver a ligarlas conmigo) o
- Anonimizada** (no se podrán asociar las muestras conmigo, por haberse eliminado de forma irreversible la vinculación entre las mismas y mi identidad).

Deseo establecer **restricciones** respecto al uso de la muestra, para que no sea utilizada en

.....

Autorizo que se pueda contactar conmigo posteriormente: **SI** **NO**

En caso afirmativo, por favor, indique el medio de hacerlo:

.....

Autorizo a recibir información de los datos genéticos y otros de carácter personal obtenidos durante la investigación relativa a mi salud: **SI** **NO**

Sé que puedo **revocar**, en cualquier momento, el consentimiento otorgado en este documento.

En Málaga, a _____ de _____ de 20_____

Ei/La Donante

 E/La Representante legal (sólo en caso de incapacidad del/de la donante)

Fdo.:

Fdo.:





Hospital Regional Universitario
CARLOS HAYA
Servicio Andalúz de Salud
CONSEJERÍA DE SALUD

BioBanco Hospitalario Carlos Haya

Hospital Civil - Pabellón 5- Sótano Telf: 951 29 02 24
biobanco.hch.sspa@juntadeandalucia.es

3. REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO PARA USO DE MUESTRAS DONADAS:

Yo, D./Dña.....
revoco el consentimiento informado otorgado con fecha (especificar fecha aproximada y/o
procedimiento:.....

.....
.....)

y solicito:

- La eliminación de las muestras donadas
- La anonimización de las mismas

Otras consideraciones:

.....
.....
.....

En a de de

El/La Donante

El/La Representante legal (sólo en caso de
incapacidad del/de la donante)

Fdo.:

Fdo.:



Hospital Regional Universitario
CARLOS HAYA
Servicio Andaluz de Salud
CONSEJERÍA DE SALUD

BioBanco Hospitalario Carlos Haya

Hospital Civil - Pabellón 5- Sótano Telf: 951 29 02 24
biobanco.hch.sspa@juntadeandalucia.es

COPIA PARA HISTORIA

2. CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA DONACIÓN DE MUESTRAS BIOLÓGICAS AL BIOBANCO

2.1. DATOS DEL/DE LA DONANTE Y DE SU REPRESENTANTE (éste último sólo en caso de incapacidad del/de la donante):

Apellidos y nombre del Donante:

DNI / NIE:

NUHSA:

Apellidos y nombre del/de la representante legal:

DNI / NIE del/de la representante legal:

2.2. PROFESIONALES QUE INTERVIENEN EN EL PROCESO DE INFORMACIÓN Y/O CONSENTIMIENTO:

Apellidos y nombre del profesional Fecha Firma

2.3. CONSENTIMIENTO:

Yo, D./Dña. declaro bajo mi responsabilidad que he leído y comprendido el Formulario de Información, del que se me ha entregado un ejemplar.

He recibido suficiente información sobre la donación de muestras biológicas y sobre la posible realización de análisis genéticos sobre las mismas y he podido hacer preguntas sobre la información recibida y hablar con el profesional indicado, quien me ha resuelto todas las dudas que le he planteado.

Manifiesto mi voluntad de donar mis muestras biológicas y permitir el tratamiento de los datos asociados a la misma al Biobanco, procedente de:

Excedente del procedimiento diagnóstico, terapéutico o quirúrgico al que va a someterse o se ha sometido.....

La obtención de forma expresa.....

Asimismo, consiento el tratamiento de los datos clínicos asociados a las muestras.

Deseo que dichas muestras y los datos clínicos asociados sean tratadas de la siguiente forma:

Codificada (serán identificadas por un código, desligándose de la información que me identifica, siendo posible volver a ligarlas conmigo) o

Anonimizada (no se podrán asociar las muestras conmigo, por haberse eliminado de forma irreversible la vinculación entre las mismas y mi identidad).

Deseo establecer **restricciones** respecto al uso de la muestra, para que no sea utilizada en

.....

Autorizo que se pueda contactar conmigo posteriormente: **SI** **NO**

En caso afirmativo, por favor, indique el medio de hacerlo:

.....

Autorizo a recibir información de los datos genéticos y otros de carácter personal obtenidos durante la investigación relativa a mi salud: **SI** **NO**

Sé que puedo **revocar**, en cualquier momento, el consentimiento otorgado en este documento.

En Málaga, a de de 20

Ei/La Donante

Ei/La Representante legal (sólo en caso de incapacidad del/de la donante)

Fdo.:

Fdo.:





Hospital Regional Universitario
CARLOS HAYA
Servicio Andaluz de Salud
CONSEJERÍA DE SALUD

BioBanco Hospitalario Carlos Haya

Hospital Civil - Pabellón 5- Sótano Telf: 951 29 02 24
biohbanco.hch.sspa@juntadeandalucia.es

COPIA PARA BIOBANCO

2. CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA DONACIÓN DE MUESTRAS BIOLÓGICAS AL BIOBANCO

2.1. DATOS DEL/DE LA DONANTE Y DE SU REPRESENTANTE (éste último sólo en caso de incapacidad del/de la donante):

Apellidos y nombre del Donante:

DNI / NIE:

NUHSA:

Apellidos y nombre del/de la representante legal:

DNI / NIE del/de la representante legal:

2.2. PROFESIONALES QUE INTERVIENEN EN EL PROCESO DE INFORMACIÓN Y/O CONSENTIMIENTO:

Apellidos y nombre del profesional Fecha Firma

2.3. CONSENTIMIENTO:

Yo, D./Dña. declaro bajo mi responsabilidad que he leído y comprendido el Formulario de Información, del que se me ha entregado un ejemplar.

He recibido suficiente información sobre la donación de muestras biológicas y sobre la posible realización de análisis genéticos sobre las mismas y he podido hacer preguntas sobre la información recibida y hablar con el profesional indicado, quien me ha resuelto todas las dudas que le he planteado.

Manifiesto mi voluntad de donar mis muestras biológicas y permitir el tratamiento de los datos asociados a la misma al Biobanco, procedente de:

Excedente del procedimiento diagnóstico, terapéutico o quirúrgico al que va a someterse o se ha sometido.....

La obtención de forma expresa.....

Asimismo, consiento el tratamiento de los datos clínicos asociados a las muestras.

Deseo que dichas muestras y los datos clínicos asociados sean tratadas de la siguiente forma:

Codificada (serán identificadas por un código, desligándose de la información que me identifica, siendo posible volver a ligarlas conmigo) o

Anonimizada (no se podrán asociar las muestras conmigo, por haberse eliminado de forma irreversible la vinculación entre las mismas y mi identidad).

Deseo establecer **restricciones** respecto al uso de la muestra, para que no sea utilizada en

.....

Autorizo que se pueda contactar conmigo posteriormente: SI NO

En caso afirmativo, por favor, indique el medio de hacerlo:

.....

Autorizo a recibir información de los datos genéticos y otros de carácter personal obtenidos durante la investigación relativa a mi salud: SI NO

Sé que puedo **revocar**, en cualquier momento, el consentimiento otorgado en este documento.

En Málaga, a de de 20

Ei/La Donante

Ei/La Representante legal (sólo en caso de incapacidad del/de la donante)

Fdo.:

Fdo.:



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA