





UNIVERSIDAD DE MÁLAGA

Doctorado en Biomedicina, Investigación  
Traslacional, y Nuevas Tecnologías en Salud.

**Facultad de Medicina**

## **Tesis Doctoral**

CARACTERIZACIÓN DEL PERFIL LIPÍDICO  
MEDIANTE ESPECTROSCOPIA DE RESONANCIA  
MAGNÉTICA NUCLEAR DE UNA POBLACIÓN  
ADULTA DE MUJERES OBESAS  
METABÓLICAMENTE SANAS

**Enrique Rodríguez García**

2019


*Directores:*

Prof. Ricardo Gómez Huelgas  
Dra. María Rosa Bernal López



UNIVERSIDAD  
DE MÁLAGA

AUTOR: Enrique Rodríguez García

 <http://orcid.org/0000-0003-0748-2877>

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](http://riuma.uma.es)

UNIVERSIDAD  
DE MÁLAGA







Prof. Ricardo Gómez Huelgas, Profesor Titular de la Facultad de Medicina de la Universidad de Málaga y Director de la Unidad de Gestión Clínica de Medicina Interna del Complejo Hospitalario Universitario, Regional y Virgen de la Victoria de Málaga

CERTIFICA:

Que D. Enrique Rodríguez García, licenciado en Farmacia por la Universidad de Sevilla ha realizado bajo su dirección la realización de esta tesis doctoral, cuyo título es **“Caracterización del perfil lipídico mediante espectroscopía de resonancia magnética nuclear de una población adulta de mujeres obesas metabólicamente sanas”**, para optar al grado de Doctor por la Universidad de Málaga.

Dicho trabajo reúne, a su juicio, las condiciones de originalidad y rigor metodológico necesarios para ser sometido a la lectura y defensa ante el tribunal.

Y para que conste, firmo al presente en Málaga, a 15 de Marzo de 2019.

Fdo. Director: Prof. Ricardo Gómez Huelgas



Dra. María Rosa Bernal López, Coordinadora de Investigación de la Unidad de Gestión Clínica de Medicina Interna del Complejo Hospitalario Universitario, Regional y Virgen de la Victoria de Málaga

CERTIFICA:

Que D. Enrique Rodríguez García, licenciado en Farmacia por la Universidad de Sevilla ha realizado bajo su dirección la realización de esta tesis doctoral, cuyo título es **“Caracterización del perfil lipídico mediante espectroscopía de resonancia magnética nuclear de una población adulta de mujeres obesas metabólicamente sanas”**, para optar al grado de Doctor por la Universidad de Málaga.

Dicho trabajo reúne, a su juicio, las condiciones de originalidad y rigor metodológico necesarios para ser sometido a la lectura y defensa ante el tribunal.

Y para que conste, firmo al presente en Málaga, a 15 de Marzo de 2019.

Fdo. Director: Dra. M<sup>a</sup> Rosa Bernal López

## AGRADECIMIENTOS

Me gustaría agradecer a todas las personas que han colaborado en todo este tiempo a que esta tesis sea hoy una realidad. No sólo porque animaran a realizarla sino por mantener viva esa llama día a día durante años, a las personas que me han comprendido en los momentos de debilidad y por hacer que día a día creciera a nivel profesional pero sobre todo como persona. A todos ellos gracias por haberos cruzado en mi vida.

A todos los que fueron **mis compañeros y amigos** en el laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital Regional Universitario de Málaga.

A mis **profesores** del máster de Nuevas Tendencias de Investigación en Ciencias de la Salud de la Universidad de Málaga por generar en los alumnos la inquietud y promover la realización de la tesis doctoral, en especial a la **Dra. Rocío Martín Valero**, por haberme ilusionado e insistido para que este trabajo saliera adelante.

A mi director de tesis y tutor **Dr. Ricardo Gómez Huelgas**, por haberme escuchado con entusiasmo desde el primer día que nos conocimos y nos sentamos a trabajar en ello. Todo han sido facilidades para poder llevar a cabo este trabajo.

A mi directora la **Dra. María Rosa Bernal López**, ha sido la persona más importante a nivel profesional en todo este trabajo. Gracias por escucharme, por infinitas reuniones, comprensión, apoyo, cariño, palabras de ánimo y por su profesionalidad y personalidad que han hecho que este trabajo haya podido salir adelante.

Al **D. Manuel Rodríguez Espinosa**, gracias por haberme puesto en el camino adecuado que me ha permitido haber llegado a donde he querido. Gracias por haberme transmitido tantas y tantas cosas, por enseñarme, por abrirme caminos, por tu apoyo incondicional en los peores momentos, por alegrarte por mí, por haberme guiado y ser mi referente desde que te conocí.

A la **Dra. Raquel Yahyaoui Macías**, gracias por haber confiado en mí; por apoyarme desde el primer momento, ofrecerme todos los medios disponibles, por brindarme oportunidades, transmitirme la ilusión de investigar, realizar nuevos proyectos, llevarme a congresos, permitirme la oportunidad de aprender y de crecer cuanto yo quisiera, gracias de corazón por haber sacado lo mejor de mí.

A todo el equipo que compone **Biosfer Teslab**, en especial a la **Dra. Núria Amigó Grau** y al **Dr. Roger Mallol Parera**; por haberme transmitido algo especial que hizo que la estancia en Reus abriera por completo mi mente y se abrieran infinidad de puertas. Fue un mes duro pero sin duda uno de los mejores de esta gran etapa. Eternamente agradecido por vuestro trato profesional pero sobre todo por el lado humano y personal.

Gracias a **todas las participantes del estudio**, que de manera desinteresada han permitido que se haya podido realizar este trabajo.

A **mi familia**, por haberme transmitido los valores fundamentales y esenciales que me han ido formando en la vida.

A mi mujer **Sara**; gracias por acompañarme en los momentos de calma, en la tempestad, en los días soleados y en los lluviosos; por tu infinita espera, por animarme, protegerme, dedicarte a mí cuando más lo he necesitado sin esperar nada a cambio. No podría haber hecho este trabajo nunca sin tu apoyo y comprensión.

A todos los que me acompañaron algún día y ya no están,

A todos muchas gracias y mi agradecimiento eterno.

Enrique





*Dedico esta tesis, con amor y gratitud,  
a mis padres, Enrique y M<sup>a</sup> Ángeles;  
a mi hermana Elena,  
a mi abuelo Antonio desde el cielo  
a Manolo y Sara,  
a Pedro Manuel  
y en especial al amor de mi vida  
y compañera de viaje  
Sara,  
por haberme comprendido, apoyado  
y acompañado con paciencia  
en todo momento en este  
largo y arduo camino.  
Gracias a Dios y a la vida  
por permitirme disfrutar  
de esta experiencia y haberme dejado  
llegar hasta aquí*

Resumen

Abreviaturas

## PARTE I. MARCO TEÓRICO

### CAPÍTULO I. Obesos Metabólicamente sanos

1.1 Definición de la obesidad

1.2 Epidemiología

1.3 Sujetos con Obesidad metabólicamente sanos (OMS) y clasificación

### CAPÍTULO II. Lípidos

2.1 Composición y Metabolismo de las lipoproteínas

2.2 Determinación de lipoproteínas mediante métodos convencionales

2.2.1 Colesterol total

2.2.2 Triglicéridos

2.2.3 Lipoproteínas de alta densidad (HDLc)

2.2.4 Lipoproteínas de baja densidad (LDLc)

2.2.5 Limitaciones en la determinación del perfil lipídico convencional

2.3 Medida perfil lipídico mediante espectroscopía de resonancia magnética nuclear ( $^1\text{H-RMN}$ )

2.3.1 Características de la técnica

2.3.2 Determinación del número de partículas

2.3.3 Determinación tamaños de las partículas

2.3.3.1 Lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL)

2.3.3.2 Lipoproteínas de baja densidad (LDL)

2.3.3.3 Lipoproteínas de alta densidad (HDL)

## CAPÍTULO III. Cambios en los hábitos de vida

### 3.1 Dieta

### 3.2 Ejercicio físico

## PARTE II. MARCO EMPÍRICO

## CAPÍTULO IV. Objetivos de la investigación

### 4.1 Objetivos

## CAPÍTULO V. Planteamiento de la investigación

### 5.1 Metodología

### 5.2 Población de estudio

### 5.3 Recogida de Datos e Intervención

### 5.4 Definición de las variables

### 5.5 Análisis estadístico

## CAPÍTULO VI. Resultados

### 6.1 Basal y 3 meses

### 6.2 2 años de intervención

### 6.3 Comparación de técnicas mediante perfil convencional y perfil avanzando de lipoproteínas mediante $^1\text{H}$ -RMN

#### 6.3.1 Perfil de lipídico convencional frente a $^1\text{H}$ -RMN al inicio del estudio

#### 6.3.2 Perfil lipídico convencional frente a $^1\text{H}$ -NMR tras 2 años de modificación de estilo de vida

## CAPÍTULO VII. Discusión

CAPÍTULO VIII. Fortalezas y debilidades

CAPÍTULO IX. Conclusiones

CAPÍTULO X. Competencias adquiridas

CAPÍTULO XI. Papers Publicados

- 11.1 Characterization of lipid profile by nuclear magnetic resonance spectroscopy ( $^1\text{H}$  NMR) of metabolically healthy obese women after weight loss with Mediterranean diet and physical exercise
- 11.2 Implications of the Mediterranean diet and physical exercise on the lipid profile of metabolically healthy obese women as measured by nuclear magnetic resonance spectroscopy ( $^1\text{H}$  NMR)

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANEXO

- I. Cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos
- II. Cuestionario de adhesión a la dieta mediterránea hipocalórica
- III. Cuestionario de Actividad Física

APENDICE

- I. Nota informativa
- II. Modelo de consentimiento informado

## Resumen

La obesidad, es una patología que se está expandiendo en los países desarrollados, que se asocia comúnmente con un perfil lipídico aterogénico. Sin embargo hay un fenotipo dentro de la población con obesidad que se caracteriza por presentar un perfil cardiometabólico sin alteraciones, el llamado “*obeso metabólicamente sano*” (OMS).

No se ha estudiado hasta el momento el perfil avanzado y exhaustivo de las lipoproteínas en este fenotipo y tampoco cómo un programa personalizado de pérdida de peso basado en consumo de dieta mediterránea y promoción de ejercicio físico diario que impactaría en dicho perfil lipídico, objetivos principales de esta tesis doctoral.

En este proyecto hemos caracterizado este perfil lipídico de manera completa utilizando como metodología dos técnicas compatibles pero distintas entre sí. Por un lado hemos estudiado el perfil lipídico mediante las técnicas convencionales y rutinarias de un laboratorio de análisis clínicos dentro de un hospital de tercer nivel y por otro lado, hemos analizado el perfil lipoproteico mediante una nueva técnica de cuantificación lipídica como es la espectroscopía de resonancia magnética nuclear ( $^1\text{H-RMN}$ ), la cual incluye nuevos parámetros de cuantificación como son el número de partícula y los tamaños de las lipoproteínas.

Para ello hemos reclutado 115 mujeres OMS (35-55 años), con un IMC de 30–40  $\text{Kg/m}^2$ , que presentaban 1 o ninguna de las siguientes alteraciones cardiometabólicas: presión arterial  $\geq 135/85$  mmHg, glucosa plasmática en ayunas  $\geq 100$  mg / dL, HDL-C  $< 40$  mg/dL en varones o  $< 50$  mg/dL en mujeres, triglicéridos  $\geq 150$  mg/dL.

Todas las participantes se han incluido de forma voluntaria a una intervención de modificación de estilo de vida basada en consumo de dieta mediterránea con restricción calórica y realización de ejercicio físico diario. El periodo de ejecución de este estudio ha sido de 2 años de duración durante el cual hemos analizado el perfil lipoproteico de las participantes al inicio, tras 3 meses y tras 2 años desde el inicio de dicha intervención.

Las participantes reclutadas se clasificaron en 3 grupos en función de la pérdida de peso corporal conseguido  $<5\%$ ,  $\geq 5\%$  a  $<10\%$  y  $\geq 10\%$  observándose modificaciones, aunque manteniéndose dentro de la normalidad, en los niveles circulantes de las distintas lipoproteínas desde el inicio de la intervención.

Por otro lado, cuando comparamos los resultados obtenidos por las distintas técnicas (convencional vs  $^1\text{H-RMN}$ ), encontramos diferencias de medición para los niveles de LDL-C y los niveles de HDL-C, con lo que podemos estar sobreestimado el riesgo cardiovascular de la población OMS.

## Abreviaturas

OMS: Obesos Metabólicamente Sanos

OMNS: Sujetos con obesidad metabólicamente no saludables

<sup>1</sup>H-RMN: Espectroscopía de resonancia magnética nuclear

PAS: Presión Arterial Sistólica

PAD: Presión Arterial Diastólica

IMC: Índice de masa corporal

HbA1c: Hemoglobina Glicosilada

CT: Colesterol total

TG: Triglicéridos

QM: Quilomicrones

LDL-C: Concentración de lipoproteínas de baja densidad

HDL-C: Concentración de lipoproteínas de alta densidad

no-HDL: Concentración de colesterol no-HDL

VLDL-C: Concentración de lipoproteínas de muy baja densidad

IDL-C: Concentración de lipoproteínas de densidad intermedia

ATP III: National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III

ECV: Evento cardiovascular

RCV: Riesgo cardiovascular

HOMA: Índice de resistencia insulínica

SREBPs: Proteínas de unión a elementos reguladores de esteroides

HMG-CoA reductasa: Hidroximetilglutaril coenzima A reductasa



MTP: Proteínas microsomales de triglicéridos

ApoB48: Apolipoproteína B-48

APO-CII: Apolipoproteína CII

APO-E: Apolipoproteína E

LPL: Lipoprotein lipasa

APO B-100: Apolipoproteína B-100

LDLR: Receptor de LDL

ABCA1: Proteína transportadora de casete de unión a ATP

ABCG1: Casete de unión a ATP subfamilia G miembro 1

SR-BI: Receptor Scavenger de tipo B, clase I

CETP: Proteína transferidora de ésteres de colesterol

APO-AI: Apolipoproteína AI

LCAT: Lecitin-colesterol-acil-transferasa

PLTP: Proteína transferidora de fosfolípidos

UC: Ultracentrifugación

Liposcale<sup>®</sup>: Test del perfil lipídico avanzado por <sup>1</sup>H-RMN

CDC: Center for Disease Control and Prevention

ID-MS: Espectrometría de masas de dilución isotópica

GC-MS: Espectrometría de masas acoplada a cromatografía gaseosa

DOSY: Espectroscopía de difusión ordenada en 2 dimensiones

PREDIMED: Estudio de Prevención con dieta mediterránea

MEV: Modificación de estilo de vida

SISA: Simple Interactive Statistical Analysis

RAPA: Cuestionario de evaluación rápida de la actividad física

DE: Desviación estándar

## PARTE I. MARCO TEÓRICO

# CAPÍTULO 1. Pacientes con Obesidad y Metabólicamente Sanos (OMS)

## 1.1 Definición de obesidad

Según la Organización Mundial de la Salud, la obesidad es una enfermedad crónica caracterizada por el aumento de la grasa corporal, que se asocia a un mayor riesgo para la salud (1).

La OMS clasifica la obesidad basándose en el Índice de Masa Corporal (IMC), relación entre el peso (kilos) y la altura (metros al cuadrado) del individuo, ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ). Esta clasificación se resume en la Tabla 1.

Clasificación	IMC ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )
<b>Normopeso</b>	18,5 – 24,9
<b>Sobrepeso</b>	25 – 29,9
<b>Obesidad grado I</b>	30 – 34,9
<b>Obesidad grado II</b>	35 – 39,9
<b>Obesidad grado III (mórbida)</b>	$\geq 40$

**Tabla 1.** Clasificación de la obesidad según la OMS (2)

El IMC proporciona una medida muy útil acerca del sobrepeso y la obesidad en la población. Sin embargo, tiene algunas limitaciones. El IMC es una medida subrogada de la adiposidad ya que mide cuanto se pesa de más y no el exceso de grasa corporal. Diversos factores como la edad, el sexo, la raza y la masa muscular pueden influir en la relación entre el IMC y la adiposidad corporal (3,4).

Las medidas antropométricas de obesidad abdominal (perímetro de la cintura e índice cintura-cadera), dan mayor información sobre la adiposidad visceral por lo que son mejores predictores de enfermedades cardiovasculares (5) y de diabetes tipo 2 (6,7).

A nivel poblacional, existe una fuerte correlación entre el IMC y el perímetro de la cintura (PC), pero a nivel individual para cada nivel de IMC los sujetos con mayor obesidad abdominal tienen más riesgo cardiometabólico. Más del 95% de los obesos presentan un perímetro de la cintura elevado según criterios del National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III (ATP III) (8).

La obesidad es un estado patológico crónico de origen heterogéneo; prevenible cuando existe un exceso de tejido adiposo en el cuerpo, por tanto el riesgo de desarrollar complicaciones cardiometabólicas a largo plazo, puede variar bastante entre los individuos (9,10).

Dicha heterogeneidad, hace referencia a que es a una enfermedad polifacética que genera cambios de aspecto no sólo físico, sino que también produce problemas psíquicos, de estrés, problemas de personalidad, hormonales (11–13) y sobre todo problemas cardiovasculares(14–16). En los últimos años se ha producido una gran prevalencia de esta patología, sobre todo en los países desarrollados (13,14,16,17). Tanto es así, que ha sido considerada como un problema de salud público y ha sido calificada como epidemia (18); afectando más al sexo femenino que al masculino (19–21).

Según Eurostat Research del año 2017, el 51.6% de la población europea tiene sobrepeso u obesidad (22,23), lo que implica que una de cada dos personas está afectada por esta patología; o lo estará en el futuro si no se logra detener dicha epidemia.

## 1.2 Epidemiología

Hay multitud de causas factores de riesgo que pueden favorecer la aparición de la obesidad, como son los factores genéticos, ambientales o los relacionados con el estilo de vida.

**Factores genéticos.** Se han comprobado en diferentes estudios la existencia de un componente genético para la obesidad, es decir existe una variedad de loci genéticos asociados con la forma más común de obesidad, lo que permite una asociación muy fuerte sobre la arquitectura genética subyacente de este fenotipo así como una heredabilidad del IMC (24,25). Por otro lado se ha establecido una relación directa entre diferentes genes y el desarrollo de determinados tipos de obesidad (26–30).

**Factores ambientales.** Tanto vivir en una determinada área geográfica (31) como el entorno familiar pueden favorecer el desarrollo de la obesidad (32,33). Se ha demostrado que los hijos de madres activas duplican los niveles de actividad y si ambos progenitores son activos se verá incrementado los niveles óptimos de actividad física del niño en 5.8 veces (33,34).

**Factores de estilo de vida.** Se ha relacionado los estilos de vida (hábitos dietéticos y hábitos de ejercicio físico) (21) con la aparición de obesidad y están estrechamente relacionados con el índice de masa corporal (IMC) (35). Se ha visto que poseer un alto IMC eleva el riesgo de sufrir un evento cardiovascular (ECV) y causar una muerte prematura (36). No obstante, esta asociación no es estrictamente lineal (37); y algunos estudios sugieren que existe una obesidad paradójica (35,37); en los cuales existiría diferentes rangos de IMC que están relacionados con muerte prematura (35).

A pesar de todos estos factores de riesgo así como de estados metabólicos, existen algunos individuos que tienen un IMC elevado pero no tienen un estado clínico/bioquímico alterado. Este subgrupo dentro de la obesidad es llamado como sujeto con obesidad y metabólicamente sanos (OMS)(38–41).

### 1.3 Sujetos con Obesidad Metabólicamente Sanos (OMS) y clasificación

En la actualidad existe una falta de consenso a la hora de definir a los OMS entre los diferentes investigadores.

No obstante se clasifican en base a tres parámetros fundamentales (37):

- IMC
- Grado de resistencia a la insulina
- El número de anomalías metabólicas

Sin embargo aunque categoricemos en el mismo de IMC, las condiciones metabólicas y los resultados clínicos pueden diferir entre los distintos estados de salud (37). Esto implica que determinados individuos con obesidad, presentan un menor grado de resistencia insulínica y adiposidad visceral junto con perfiles de riesgo cardiovascular (RCV) más favorables; a pesar de presentar un IMC más elevado, clasificándose por tanto como un fenotipo saludable dentro de la obesidad. Son los denominados individuos OMS (42–45).

Dentro de la diversidad de estudios a la hora de definir a los OMS, algunos autores indican que los OMS tienen una distribución de la grasa corporal normal, perfil hormonal normal, bajo perfil proinflamatorio (46–49), lipídico normal (50) e inmunológico (51).

Existen diferentes patrones de distribución de grasa corporal. El aumento de grasa visceral y grasa ectópica (intramuscular, hepática y epicárdica) está relacionada con el riesgo cardiometabólico (52).

La grasa hepática ha sido identificada como un posible predictor de obesidad metabólicamente no saludable, diabetes tipo 2 y arteriosclerosis subclínica (53–57).

Los sujetos con obesidad metabólicamente no saludables (OMNS) poseen un tejido adiposo disfuncional con adipocitos más grandes, un aumento de infiltrado de células inmunes, una elevación de estado proinflamatorio, una capacidad reducida de tejido adiposo subcutáneo en expansión y un aumento de la deposición de grasa ectópica, lo que conduce a lipotoxicidad, resistencia a la insulina en tejidos periféricos, y una gama de trastornos metabólicos (52,58).

Sin embargo, en individuos OMS, el exceso de calorías es canalizado en tejido adiposo subcutáneo sensible a la insulina, tejido que es capaz de poseer expansión; por lo que, la grasa visceral y la adiposidad ectópica se reducen, la infiltración de macrófagos y aumento del estado proinflamatorio son atenuados, y la sensibilidad a la insulina se conserva (59–62).

Existen importantes diferencias bioquímicas entre los individuos OMS y los individuos OMNS recogidas en la Tabla 2.

<i>Obesos Metabólicamente Sanos (OMS)</i>	<i>Obesos Metabólicamente no sano (OMNS)</i>
Masa alta en grasa	Masa alta en grasa
Alta sensibilidad a la insulina	Baja sensibilidad a la insulina
Baja grasa ectópica	Alta grasa ectópica
Triglicéridos bajos	Triglicéridos altos
Baja inflamación	Alta inflamación
Alto nivel de colesterol HDL	Bajo HDL-colesterol
Bajo espesor íntima-media	Alto grosor íntima-media
Alta adiponectina	Baja adiponectina
Bajo ApoB	ApoB alto

**Tabla 2.** Características bioquímicas diferenciales en individuos OMS y OMNS.



En la actualidad no existe consenso a la hora de definir al sujeto OMS por lo que se han realizado multitud de estudios que analizan cuáles deberían ser estos criterios diagnósticos para identificar a un sujeto como OMS.

	Wildman et al.(20)	Karelis /Rabasa-Lhoret (63)	Meigs et al.(64)	Aguilar-Salinas et al.(65)	Meigs et al.(64)
<b>Presión arterial (mmHg)</b>	≥ 130/85 o tratamiento antihipertensivo		≥ 130/85 o tratamiento antihipertensivo	> 140/90	
<b>Triglicéridos (mg/dl)</b>	≥ 150	>150 o tratamiento	≥ 150		
<b>HDL (mg/dl)</b>	< 40 (V), < 50 (M) o tratamiento	< 50 o tratamiento	< 40 (V) , < 50 (M)	< 40	
<b>LDL (mg/dl)</b>		> 100 o tratamiento			
<b>Glucosa (mg/dl)</b>	≥ 100 o tratamiento		100-124 (excluidos los diabéticos)	Presencia de diabetes	
<b>HOMA</b>	> 5,13 (percentil 90)	> 2,7			≥ percentil 75 (Entre sujetos no diabéticos)
<b>Otros</b>	PCRs > 0,1 mg/l	PCRs > 3mg/l	PC ≥ 102 cm (V) / 88 cm (M)		
<b>MHO</b>	< 2 criterios	< 2 criterios	< 3 criterios	0 criterios	0 criterios

**Tabla 3.** Parámetros para definir a OMS.

El programa Nacional de educación sobre el colesterol NCEP ATPIII (66) incluye los criterios de clasificación para los sujetos OMS. Para ello define la presión arterial sistólica >130 mmHg y la presión diastólica >85 mmHg, triglicéridos ≥1.70 mmol/L, HDL-C <1.29 mmol/L en mujeres y <1.03 mmol/L en hombres, glucosa plasmática en ayunas ≥5.6 mmol/L, perímetro de cintura >88 cm para mujeres y >102 cm para

hombres. Por tanto este programa considera que para que se den condiciones metabólicas de sujeto OMS tienen que cumplirse menos de 3 de estos criterios.

En este trabajo de investigación nos hemos decantado por utilizar la clasificación de Wildman et al. (20), debido a que sus criterios de selección para los sujetos OMS son los más parecidos a los criterios diagnósticos de síndrome metabólico de la ATP III (66), y además incluye parámetros inflamatorios (PCR).

Adicionalmente esta clasificación incluye el índice de resistencia insulínica (HOMA), así como la glucosa plasmática en ayunas.

Sin embargo como hemos visto, a pesar de incluir muchos parámetros; la mayoría de autores no incluye la concentración de lipoproteínas de baja densidad (LDL-C), estando estas últimas muy relacionadas con el riesgo de sufrir eventos cardiovasculares; sobre todo en los individuos con obesidad (67–72).

## CAPÍTULO 2. Lípidos

### 2.1 Composición y Metabolismo de las lipoproteínas

Las lipoproteínas son complejos macromoleculares compuestos por proteínas y lípidos que transportan masivamente las grasas por todo el organismo. Son esféricas, formadas por un núcleo de lípidos apolares (colesterol esterificado y triglicéridos) cubiertos con una capa externa polar de 2 nm formada a su vez por apoproteínas, fosfolípidos y colesterol libre (73,74).

Las apolipoproteínas de las lipoproteínas tienen, entre otras funciones, la de la estabilización de las moléculas de lípidos como triglicéridos, fosfolípidos, colesterol, en un entorno acuoso como es la sangre.

- ***Colesterol total***

El metabolismo de las partículas lipoproteicas, se encuentra constituido por el colesterol total, los triglicéridos, las lipoproteínas de baja densidad (LDL), las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y las lipoproteínas de alta densidad (HDL).

El colesterol total, es un esteroide, derivado del ciclopentanoperhidrofenantreno. Está constituida por 4 anillos condensados y que a su vez presentan dos radicales metilo en las posiciones C-10 y C-13, una cadena alifática de ocho carbonos en la posición C-17, un grupo hidroxilo en la posición C-3 y una insaturación entre los carbonos C-5 y C-6 (73,74).

La biosíntesis endógena del colesterol tiene lugar en el retículo endoplásmico liso del hígado. Aunque, más bien la mayor fuente del colesterol de un individuo proviene de la síntesis endógena; existe una cantidad de colesterol que varía de unos individuos a otros dependiendo de su alimentación, que proviene de la dieta exógena. Esta molécula tiene funciones imprescindibles en nuestro organismo como formar parte de las estructuras de las membranas de las células de los órganos y tejidos e intervenir

en la síntesis de otras moléculas como las hormonas sexuales, precursor de la vitamina D y sales biliares (75).

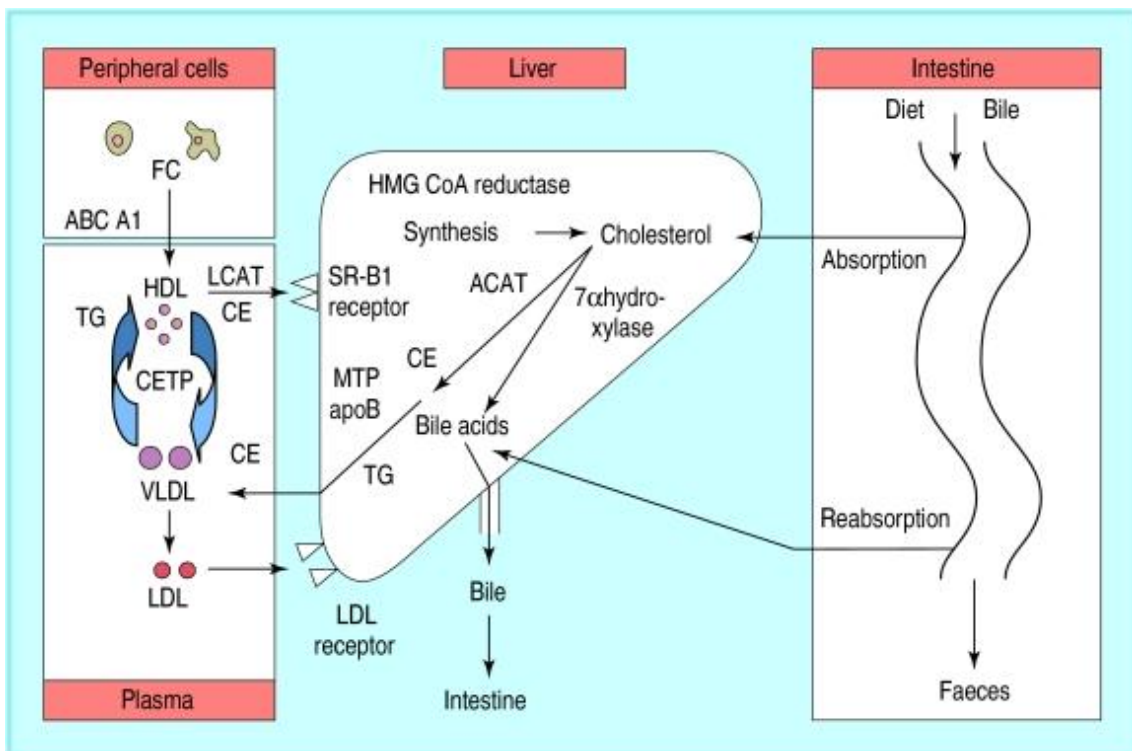


Figura 1. Metabolismo de las Lipoproteínas. Tomado de Thompson GR, (76)

Una alta ingesta de colesterol produce una disminución de la síntesis del mismo y viceversa. Este mecanismo está regulado por un complejo sistema llamado Sterol Regulatory Element Binding Proteins (SREBPs). La síntesis endógena de colesterol está regulada principalmente por una enzima llamada hidroximetilglutaril coenzima A reductasa (HMG-CoA reductasa) y es la principal diana de los fármacos antilipemiantes para reducir la síntesis endógena de colesterol.

Por tanto esta molécula es fundamental para el correcto funcionamiento del organismo. Sin embargo, elevadas concentraciones de colesterol en el torrente circulatorio puede llevar a estrechar las arterias y producir un engrosamiento de las mismas produciendo favoreciendo por tanto la arteriosclerosis así como elevando el riesgo cardiovascular de las personas (73–75).

No obstante el colesterol viaja unido a través de las diferentes lipoproteínas como se ha mencionado anteriormente, siendo estas las (VLDL, LDL, HDL y quilomicrones) aunque la mayor parte del colesterol viaja en forma de ésteres de colesterol.

- **Quilomicrones (QM)**

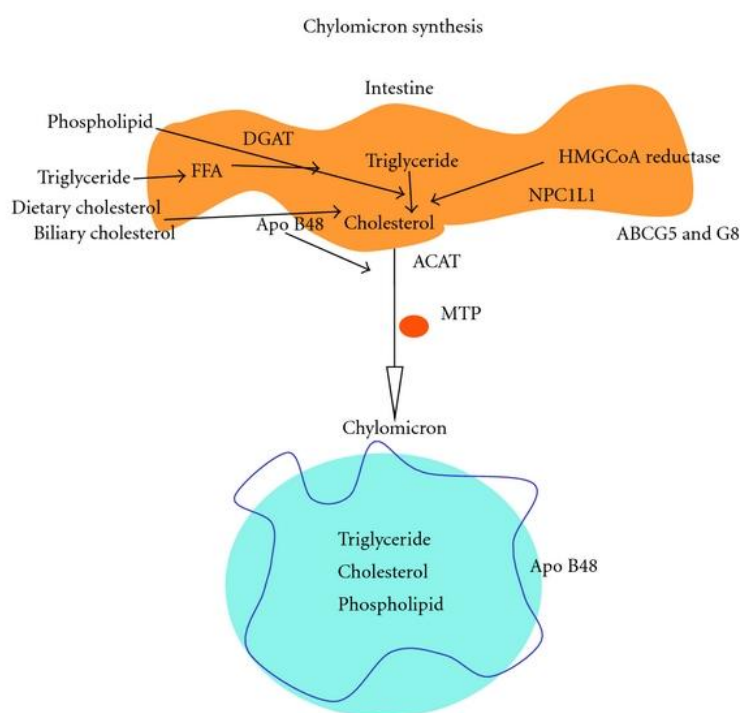
Los lípidos que son ingeridos a través de la dieta van a ser absorbidos en el intestino y una vez allí son ensamblados con diferentes apolipoproteínas en el retículo endoplásmico y en el aparato de golgi para formar los quilomicrones. Durante este proceso van a intervenir una serie de proteínas que son las proteínas microsomales de triglicéridos (MTP). Estas proteínas se encargan de transferir lípidos a la Apolipoproteína B-48 (ApoB48) para formar de forma progresiva y a medida que vaya adquiriendo más lípido, un QM (77–79).

La función principal de los QM es transportar la grasa adquirida de la dieta y transportarla hacia la linfa, para alcanzar finalmente el torrente sanguíneo (77). Los QM variarán su tamaño dependiendo de la cantidad de grasa ingerida y de la composición de los triglicéridos (80).

Una vez vayan formándose los QM, van a ir adquiriendo de forma progresiva 2 apolipoproteínas siendo estas, la APO-CII y APO-E. Este proceso se produce a través de las HDL. Las funciones de estas apolipoproteínas son la activación de la enzima lipoprotein lipasa (LPL) y la eliminación posterior del remante de QM respectivamente (77,81).

Los QM, van a sufrir una lipólisis por acción de la LPL y se va producir la pérdida de la mayor parte de los triglicéridos (73,74,82). Posteriormente los ácidos grasos van a ser captados por las células musculares y por los adipocitos. La partícula que queda resultante de todo este proceso es el llamado remante de QM y será captado por los receptores de LDL a nivel hepático, principalmente por proteoglicanos de heparán

sulfato y la proteína relacionada con el receptor de LDL (77,83,84). Esta captación es mediada por la APO-E y la lipasa hepática (73,74).



**Figura 2.** Ruta de síntesis de los Quilomicrones. Tomkin et al. (85)

- **Lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL)**

Estas partículas son producidas en el hígado en el retículo endoplásmico y en el aparato de golgi. Se encargan de ensamblar lípidos endógenos, constituidos en su mayoría por triglicéridos; con las diferentes apolipoproteínas como son la APO B-100.

Estos triglicéridos endógenos normalmente provienen de diferentes rutas metabólicas siendo las más habituales, la lipólisis del tejido adiposo que da lugar a ácidos grasos libres; la lipogénesis dando lugar en el hígado a la formación de novo, y la captación de remanentes de VLDL y QM (77,86,87).

En los sujetos OMS, al igual que en la obesidad y en la diabetes, se produce un aumento de la los ácidos grasos, lo que conlleva a un aumento de las lipoproteínas de VLDL (77,86,88).

Durante el proceso de síntesis de VLDL, la proteína MTP tiene una especial importancia, ya que se encargará de ir transfiriendo los diferentes lípidos a las partículas de VLDL nacientes.

Las partículas de VLDL formadas a nivel extrahepático, van a sufrir una hidrólisis por acción de la LPL, formándose los remanente de VLDL o partículas de densidad intermedia (IDL) (73).

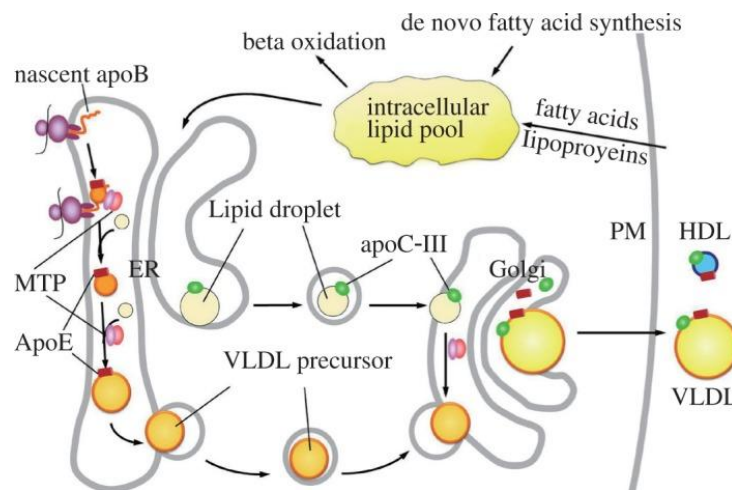


Figura 3. Mecanismo de Síntesis de VLDL. Tomado de Jiang ZG et al. (89)

- **Lipoproteínas de densidad intermedia (IDL)**

Las IDL intervienen fundamentalmente en dos rutas metabólicas. Una de ellas es bastante similar a la de los remanentes de QM. Sin embargo la ruta metabólica más común para este tipo de lipoproteína es permanecer en el torrente circulatorio y a través de la lipasa hepática que rompe los triglicéridos y a proteína transferidora de ésteres de colesterol (CETP) que capta los ésteres de colesterol a partir de HDL; da lugar a las lipoproteínas de baja densidad o LDL. (77,90,91).

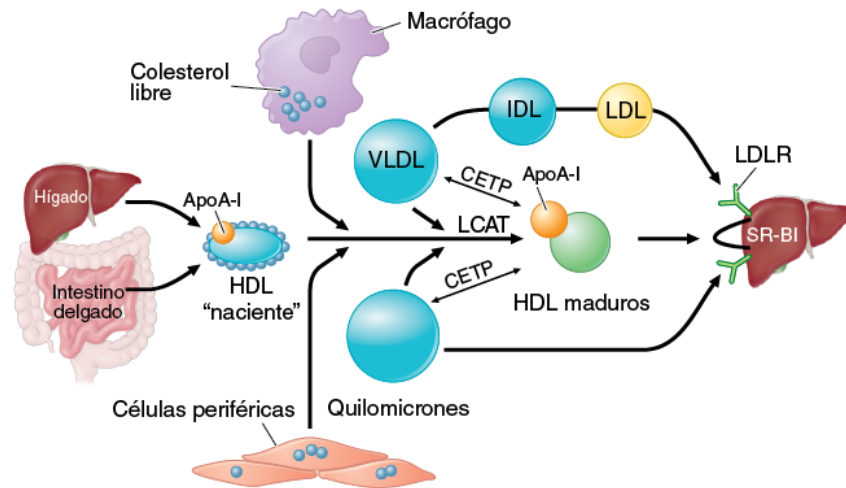


Figura 4. Síntesis de lipoproteínas de IDL. Tomada de Harrison et al. (92)

- **Lipoproteínas de baja densidad (LDL)**

La mayor parte del colesterol se transporta en la sangre unido a proteínas, formando las lipoproteínas de baja densidad o LDL. Cuando la célula necesita colesterol para la síntesis de membrana, produce proteínas receptoras de LDL y las inserta en su membrana plasmática. El colesterol es captado y pasa a los lisosomas donde se hidrolizan los ésteres de colesterol dando lugar a colesterol libre, que de esta forma queda a disposición de la célula para la biosíntesis de las membranas. Si se acumula demasiado colesterol libre en la célula, ésta detiene tanto la síntesis de colesterol como la síntesis de proteínas receptoras de LDL, con lo que la célula produce y absorbe menos colesterol. Esta vía regulada para la absorción del colesterol puede estar alterada en algunos individuos, por lo que el aumento de colesterol en sangre resultantes predisponen a estos individuos a una aterosclerosis (73,74).

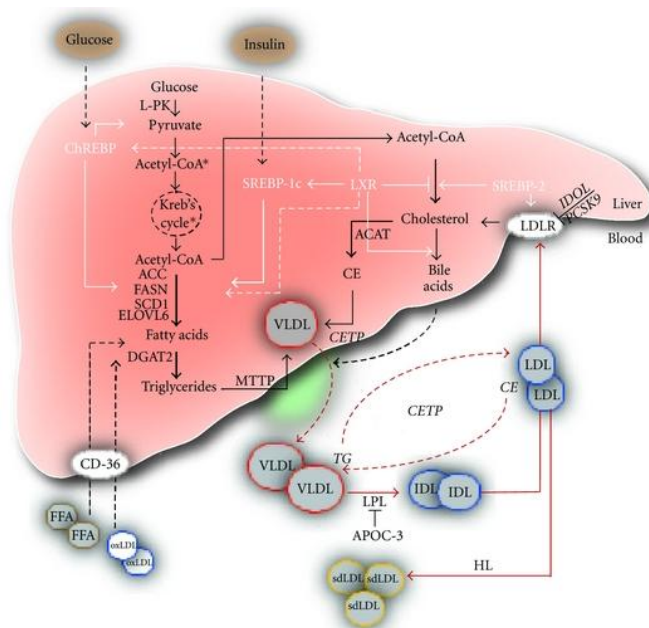
Las lipoproteínas de LDL ya tienen en su membrana una apolipoproteína que es la APO B-100. Esta va a hacer que ya bien sea por una ruta u otra sea captada por los receptores de LDL de la membrana de las células y sea endocitada al interior de la misma.

Las diferentes rutas metabólicas pueden ser, o bien viajar hacia el hígado o en su mayoría distribuirse hacia los tejidos extrahepáticos (73,74).



Cuando esto sucede, las células expresan en su membrana el receptor de LDL y los externalizan hacia la superficie. Este mecanismo hace que la molécula transportadora de colesterol unido a proteínas (LDL) sea captada por dichos receptores.

Una vez unido la molécula de LDL y el receptor de LDL, se internalizará en la célula y será transferido a un lisosoma. Los receptores de LDL pertenecen a la familia llamada LDLR y todos comparten un dominio o motivo estructural común. Esta familia de receptores está compuesta por LDLR, LRP1, LRP2, LRP6, ApoER2 y VLDLR (77,93).



**Figura 5.** Metabolismo de LDL. Tomada de Tacer F et al. (94)

Existen diferentes tamaños de partículas de LDL; grandes, intermedias y pequeñas. Esta clasificación está basada en el tamaño, densidad y grado de aterogenicidad.

Las partículas grandes son menos aterogénicas y menos densas por lo que atraviesan peor la barrera del endotelio. Las partículas pequeñas son las más aterogénicas y más densas; confiriéndole mejor capacidad para poder atravesar la barrera del endotelio y pudiéndose quedar almacenadas dentro de la capa íntima de las arterias favoreciendo la formación de placas de ateroma y por tanto elevando el riesgo cardiovascular (37,77,95).

- **Lipoproteínas de alta densidad (HDL)**

Estas lipoproteínas se sintetizan principalmente en el hígado e intestino. Este proceso se realiza a través de la Apolipoproteína AI (APO-AI) naciente y tiene forma discoidal.

Posteriormente esta APOA-I captará los fosfolípidos y el colesterol mediante la proteína ABCA1 del hígado y tejidos extrahepáticos, originando por tanto una lipoproteína APOA-I pobre en lípidos; siendo comúnmente llamada HDL naciente (73,74,77,96).

El siguiente paso es la maduración de la partícula de HDL naciente o pre $\beta$ -HDL. En este proceso dicha partícula se convierte en esférica a través de la acción de una enzima llamada lecitin-colesterol-acil-transferasa (LCAT) transformándose el colesterol libre en colesterol esterificado (82). Una vez adquirida la forma esférica podemos considerar la partícula de HDL madura o funcional; siendo capaz de captar el colesterol extrahepático a través de proteínas como ABCG1 y receptor Scavenger de tipo B, clase I (SR-BI). De esta manera va a convertirse en sustrato de la LCAT produciendo mayor cantidad de colesterol esterificado (77). De esta forma por medio de ABCG1, SR-BI y LCAT, la HDL va ir convirtiéndose en cada vez más funcional y cambiará de tamaño.

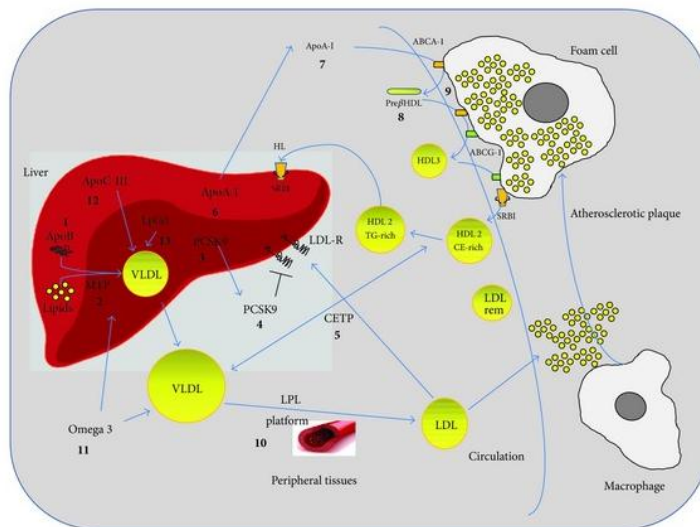
La madurez de esta lipoproteína hace que se produzca un intercambio de ésteres de colesterol por triglicéridos, con las VLDL, LDL y QM. Esto tiene lugar gracias a la CEPT; aunque también hay que remarcar que las HDL maduras van a recibir fosfolípidos de las VLDL por medio de la proteína transferidora de fosfolípidos (PLTP) (77,79).

Existen diferentes tamaños de HDL que están relacionados con este proceso de maduración de las mismas.

Se puede producir una interconversión entre las HDL nacientes para convertirse en madura a través de la lipasa hepática y de la lipasa endotelial; ambas localizadas en el

hígado. La lipasa hepática hidroliza los triglicéridos y los fosfolípidos; pudiéndose liberar en este proceso ApoA-I.

Esta última puede o bien convertirse en lípido por acción de ABCA1 o bien ser eliminada. La ApoA-I también puede liberarse al medio mediante la acción de PLTP tras la fusión de dos HDL. Por tanto existe un reservorio de HDL formado por el sintetizado a nivel hepático e intestinal y el liberado por la acción de la lipasa hepática, lipasa endotelial y PLTP (73,74,77,90).



**Figura 6.** Metabolismo de síntesis de las HDL. Tomada de Norata et al. (97)

El proceso del metabolismo lipídico termina cuando la lipoproteína de HDL llega al hígado y descarga su contenido de ésteres de colesterol a través de SR-BI y la lipasa hepática hidrolizando los triglicéridos (77).

SR-BI posee un receptor endocítico de HDL, una cadena beta de la ATP sintetasa, que internaliza el HDL (77,98).

Una vez descargada de su contenido transportador de ésteres de colesterol en el hígado para su posterior eliminación, la partícula pierde su tamaño adquirido y vuelve al torrente circulatorio para comenzar un nuevo ciclo de transporte de colesterol.

## 2.2 Determinación de lipoproteínas mediante métodos convencionales

La determinación de lipoproteínas se realiza por una técnica denominada ultracentrifugación, en la cual podemos separar las diferentes lipoproteínas gracias a las diferentes densidades que presentan y a continuación determinar cada uno de los parámetros lipídicos mediante las técnicas convencionales.

Sin embargo la mayoría de los laboratorios clínicos no disponen de una ultracentrífuga y por tanto se realizan estas determinaciones en la muestra de suero total con las técnicas disponibles para la mayoría de ellos; determinándose por tanto el colesterol total, HDL-C; LDL-C y triglicéridos.

Ante esta problemática, es necesario tener en cuenta que existe una clara variabilidad de los resultados en la cuantificación de los parámetros lipídicos dependiendo del tipo de metodología usada para ello.

Además existe un problema añadido que es la falta de estandarización para poder determinar LDL-C (99). Este motivo ha hecho que se exista una gran variabilidad entre individuos, llevando a una incorrecta interpretación del perfil lipídico en los individuos OMS (37).

Aún no se ha establecido el método definitivo de medición de LDL y HDL, aunque sí existen métodos de referencia, siendo este último la UC (100,101). Por este motivo la mayoría de los laboratorios clínicos, utilizan métodos recomendados de medición basados en métodos enzimáticos para determinar colesterol total (CT) y los triglicéridos (TG), sin embargo el HDL es medido por la mayoría por métodos homogéneos.

### 2.2.1 Colesterol total

Existe un método de referencia; es el modificado de Abell-Kendall Center for Disease Control and Prevention (CDC) (102). Éste se basa en la liberación de colesterol en forma de éster contenido en la muestra de suero por saponificación con hidróxido de potasio alcohólico (103). Seguidamente se extrae con hexano y se deja que se evapore una alícuota del extracto, la cual mediante la adición del reactivo de Liebermann-Burchard (anhídrido acético, ácido acético glacial y ácido sulfúrico concentrado) se origina un cromóforo de 602 nm de longitud de onda.

Recientemente este método se puede trazar al método definitivo de dilución isotópica de espectrometría de masas (ID-MS (NIST)) (104).

Tal y como está descrito en la bibliografía, ambos métodos (definitivo y referencia) son muy costosos y tediosos. Por este motivo no se utilizan y por ello los laboratorios clínicos abogan por utilizar métodos enzimáticos. Estos variarán de una casa comercial a otra, pero todos se basan en el método de Abell-Kendall (105).

El método usado en este proyecto para medir el colesterol total es de la casa comercial Siemens Healthineers, mediante dos enzimas, la colesterol-esterasa y la colesterol oxidasa seguida de un punto final de Trinder. En este método se produce en primer lugar la hidrólisis del colesterol total por acción de la colesterol-esterasa a colesterol produciéndose la liberación de ácidos grasos. A continuación el colesterol se convierte en colest-4-en-3-ona por la acción de la enzima colesterol oxidasa en presencia de oxígeno para después formar peróxido de hidrógeno. Una vez realizada esta reacción se formará un complejo coloreado a partir de peróxido de hidrógeno, 4 aminoantipirina y fenol ante la actividad de la peroxidasa. Finalmente se mide la absorbancia del complejo a 505/694 nm como reacción de punto final (106–111).

### 2.2.2 Triglicéridos

Los métodos recomendados para la determinación de triglicéridos en los laboratorios clínicos son los métodos enzimáticos valorados frente al método de referencia. El CDC marca como método de referencia la espectrometría de masas-dilución isotópica para poder establecer una estandarización en esta medida.

Es necesario diluir la muestra de suero con  $^{13}\text{C}_3$ -glicerol marcado isotópicamente. Seguidamente se mezcla y se hidroliza con alcohol/KOH a  $60^\circ\text{C}$  durante una hora. El disolvente generado tras estos pasos se evapora bajo nitrógeno y el residuo resultante va a contener glicerol libre e hidrolizado. Este compuesto se derivatiza con anhídrido acético en presencia de piridina. El producto resultante se extrae con acetato de etilo. La capa orgánica se extrae y se deja secar bajo nitrógeno a  $60^\circ\text{C}$ . Finalmente el derivado de acetato de glicerol obtenido se reconstituye con metanol y se analiza mediante espectrometría de masas acoplada a cromatografía gaseosa (GC-MS) (104,105,106).

El método de laboratorio empleado en este caso fue de la casa comercial Siemens Healthineers que se basa en una reacción enzimática con 3 pasos y medición con punto final de Trinder. La cuantificación de los triglicéridos incluye la cuantificación de triglicéridos totales, incluidos los monoglicéridos, diglicéridos y las fracciones de glicerol libre.

La reacción consiste en la transformación de los triglicéridos en glicerol y ácido grasos libres gracias a la acción de la enzima lipasa. Seguidamente este último se transforma primero en glicerol-3-fosfato por acción de la glicerol-quinasa y a continuación en peróxido de hidrógeno mediante la glicerol-3-fosfato-oxidada.

Se utiliza como catalizador a la peroxidasa y al final se forma un complejo coloreado a partir de peróxido de hidrógeno, 4-aminofenazona y 4-clorofenol. Por último se mide la absorbancia de dicho complejo coloreado a 505/694 nm como reacción de punto final (111,114).

### 2.2.3 Lipoproteínas de alta densidad (HDL-C)

Para la determinación de la HDL-C no existe un método definitivo, pero sí que se dispone de un método de referencia (115,116). Este consiste en la separación de las VLDL y posibles QM mediante ultracentrifugación; para después continuar con una precipitación con heparina-manganeso de las HDL aisladas. Sobre estas últimas se realiza la cuantificación de colesterol por el método de Abel-Kendall (103). Es necesario realizar la ultracentrifugación a 105.000 g y densidad 1.006 Kg/L durante 18 horas a 18°C.

Sin embargo para poder realizar esta determinación en los laboratorios clínicos sería inviable por el tiempo requerido para poder llegar a su estimación. Por este motivo hoy en día se utilizan los métodos homogéneos para su determinación (117).

La determinación directa de HDL-C en este proyecto ha sido realizada con reactivos de la casa comercial Siemens Healthineers y se basa en los procedimientos creados por Izawa, Okada y Matsui (118). En una primera reacción de este método, se eliminan QM, VLDL, LDL y el colesterol mediante la colesterol esterasa y colesterol-oxidasa. Se genera un peróxido de hidrógeno que se elimina vía catalasa.

En la segunda fase de la reacción se mide el colesterol HDL tras su liberación mediante el uso de un surfactante. La acción de la catalasa de la primera reacción se va a inhibir gracias al uso de una azida sódica que se encuentra en este segundo reactivo. Por último se mide la absorbancia del colorante quinoneimina que se produce en la reacción de Trinder a 596 nm.

#### **2.2.4 Lipoproteínas de baja densidad (LDL-C)**

Para la determinación de LDL-C, tampoco existe un método definitivo, aunque sí existe uno de referencia basado en el programa de la CDC (119). Este consiste en realizar una primera separación mediante ultracentrifugación las VLDL y los QM. A continuación se precipita con polianiones las LDL. Finalmente se determina el colesterol de las distintas fracciones mediante el método de Abell-Kendall (102,103) obteniendo por tanto el LDL-C por diferencia. Sin embargo de esta manera en esta fracción vamos a obtener una mezcla de lipoproteínas aterogénicas (LDL, LpA e IDL).

Los laboratorios clínicos realizan esta determinación mediante la fórmula de Friedewald, siempre y cuando la concentración de triglicéridos sea inferior a 400 mg/dL (120). Cuando superamos esta cifra, no se puede aplicar dicho algoritmo y por tanto es necesario emplear la medida de no-HDL o ApoB-100 (100,101).

#### **2.2.5 Limitaciones en la determinación del perfil lipídico convencional**

Debido a las diferentes propiedades físico-químicas (densidad, tamaño, movilidad electroforética) (121) que exhiben las lipoproteínas de LDL y de HDL resulta muy complicado disponer de un material de referencia primario.

Cada laboratorio, debe de establecer y seleccionar cuál es el mejor método de cuantificación de acuerdo a los criterios técnicos y concretos de la técnica empleada y con el menor coste.

Aunque la mayor parte de los métodos directos que se emplean para medir el perfil lipídico cumplen con las especificaciones de calidad de la NCEP (116); existe el problema añadido de que todos estos métodos fallan cuando hablamos de pacientes con dislipemia. Esto es debido en parte a que existe una falta de especificidad por las llamadas lipoproteínas anormales (115). Esto produce una incorrecta interpretación clínica de los resultados en cuanto al perfil lipídico a pesar de existir múltiples ecuaciones en el caso del LDL-C (122).



El hecho de que no exista una separación previa de las distintas lipoproteínas por ultracentrifugación, hace que muchos laboratorios empleen métodos homogéneos para medir el LDL-C. Esto hace que en pacientes que tengan los triglicéridos elevados, la técnica homogénea no sea capaz de discriminar correctamente cada una de las fracciones de lipoproteínas. Este motivo ha llevado a algunos laboratorios a tomar la decisión de calcular este parámetro mediante la ecuación de no-HDL o la Apo B-100 en vez de usar métodos homogéneos (121–123).

Ante esta problemática surgida, han ido apareciendo distintos investigadores y clínicos que han intentado encontrar nuevos algoritmos o fórmulas matemáticas que pudieran resolver este problema (120,124) así como nuevas técnicas que impliquen determinar el número de partículas de las distintas lipoproteínas así como el tamaño de las mismas para poder conocer con mayor exactitud el perfil lipídico de un individuo obeso o un individuo con un perfil lipídico anormal (125–127).

## 2.3 Medida perfil lipídico mediante espectroscopía de resonancia magnética nuclear ( $^1\text{H}$ -RMN)

### 2.3.1 Características de la técnica

La espectroscopía de resonancia magnética nuclear ( $^1\text{H}$ -RMN) es una técnica novedosa de análisis de metabolitos. En concreto permite la determinación de lipoproteínas (68,128).

La  $^1\text{H}$ -RMN se basa en el principio de la frecuencia a la que resuenan los grupos metilo de las partículas lipoproteicas. Dependiendo del tamaño que tengan esos grupos resonarán a unas frecuencias ligeramente diferentes y podrán ser detectados y cuantificados. Las partículas más pequeñas resuenan a frecuencias más bajas (68). Las señales de los grupos metilo pueden detectarse mediante el aislamiento de los grupos metilo y posterior descomposición de la señal (68,128–130).

En la actualidad existen diferentes métodos desarrollados que determinan el número de partículas de las principales subclases de lipoproteínas.

Se ha descrito esta técnica utilizando una librería de lipoproteínas aisladas (130) y posteriormente cuantificadas aislando la señal del grupo metilo de las partículas lipoproteicas mediante  $^1\text{H}$ -RMN y un algoritmo matemático que las interpreta (68), pudiendo determinar hasta 9 subclases de lipoproteínas. Los tamaños de las partículas fueron determinados por microscopía electrónica de transmisión y electroforesis en gel de gradiente (130).

Se ha descrito otros métodos que caracterizan 15 subclases de lipoproteínas (129), basándose en la medición del gradiente de intensidad del campo magnético y en la temperatura (68,131).

Otra alternativa para determinar el número de partículas es utilizar modelos de regresión calibrados usando el contenido lipídico y el tamaño obtenido por cromatografía líquida de alta resolución (68).

Recientemente se ha desarrollado un nuevo método de determinación de lipoproteínas denominado Liposcale<sup>®</sup> (68). Este novedoso método discrimina las diferentes subclases de lipoproteínas pudiendo distinguir entre VLDL, LDL, HDL e IDL. Asimismo es capaz de determinar los diferentes tamaños de las principales lipoproteínas (VLDL, HDL e IDL), así como determinar el número de partículas y el contenido lipídico dentro de cada una de estas lipopartículas.

Este método utiliza espectroscopía de difusión ordenada en 2 dimensiones (DOSY). La DOSY es capaz de calcular la difusión de los cocientes y puede calcular directamente los tamaños de las lipoproteínas a través de la ecuación de Stokes-Einstein (68,132).

### **2.3.2 Determinación del número de partículas**

Para la determinación del número de partículas así como los tamaños de las mismas se utiliza el test Liposcale<sup>®</sup>.

Este calcula el número de partículas midiendo directamente el tamaño de la partícula, y tiene la ventaja que se puede utilizar dicha medición para calcular el número de partículas. Este se obtiene dividiendo el volumen espacial de las moléculas de lípidos totales por el volumen medio (el tamaño de las partículas lipoproteicas) (68).

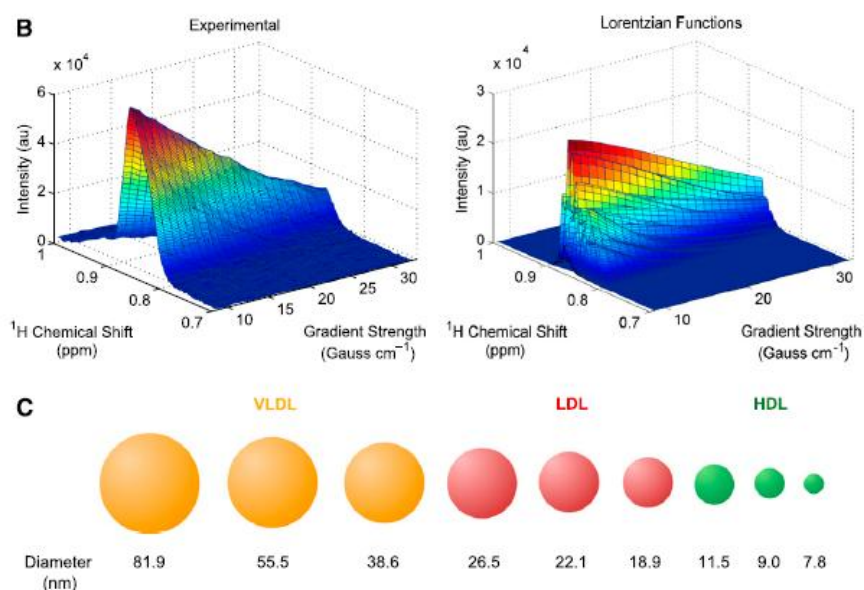
Los volúmenes de las diferentes subclases de lipoproteínas se calculan con el uso de factores de conversión (68,130).

A continuación tiene lugar la descomposición de cada una de las áreas relativas obtenidas mediante la difusión en 2D de las diferentes lipoproteínas para poder así determinar el número de partículas de cada una de las principales lipoproteínas (68).

### 2.3.3 Determinación tamaños de las partículas

El test Liposcale<sup>®</sup>, proporciona información sobre los tamaños de las principales subclases de lipoproteínas (VLDL, LDL y HDL) de mayor a menor tamaño respectivamente. Dentro de cada una de estas fracciones distingue entre partículas grandes, medianas y pequeñas; y por tanto genera información en cuanto al tamaño de las mismas de un total de 9 subfracciones de lipoproteínas.

La determinación de las 9 subclases de lipoproteínas se realiza mediante la técnica DOSY), que descompone los protones del grupo metilo (-CH<sub>3</sub>) de las diferentes lipoproteínas y realiza una transformación que genera 9 funciones Lorentzianas (68), tal y como se observa en la figura 7.



**Figura 7.** Subclases de lipoproteínas generadas a través de funciones Lorentzianas. (Tomado de Mallol R et al. (133))

Los ésteres de colesterol y triglicéridos del núcleo de cada lipoproteína aporta 3 grupos metilo cada uno de ellos (128,134), para poder determinar los tamaños de las partículas ya que se sabe que no va a estar afectado las variaciones en cuanto al número de ésteres de colesterol y triglicéridos que van a venir impulsados fundamentalmente por la proteína CETP aunque sí por el tamaño (68,135).

### *2.3.3.1 Lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL)*

Las lipoproteínas VLDL son las más grandes. Poseen un rango de tamaño que va desde 38.6-81.9 nm. Está demostrado que las lipoproteínas ricas en triglicéridos como son las VLDL son altamente aterogénicas (136,137). Esto hace que cuanto más grande sea la VLDL mayor será el contenido en triglicéridos y por lo tanto mayor aterogenicidad.

Sin embargo ha existido una falta de asociación entre los tamaños de las VLDL y la enfermedad coronaria en diferentes estudios prospectivos (137,138) debido a un problema metodológico para poder aislar las diferentes subclases de VLDL (138). No obstante distintos investigadores han propuesto que las VLDL y/o remanentes de quilomicrones están relacionados con la severidad de enfermedad cardiovascular (137–140).

Se ha especulado mucho sobre el verdadero rol de las VLDL en la arteriosclerosis, ya que pueden generar un estado procoagulante que promueve la trombosis (141) y están asociadas con lesiones coronarias avanzadas o una arteriosclerosis subclínica (136). Por otro lado, se ha relacionado la presencia de estas VLDL con el aclaramiento retrasado de quilomicrones (138,142), y con la progresión de las enfermedad cardiovascular (138,143,144).

### 2.3.3.2 Lipoproteínas de baja densidad (LDL)

La presencia de lipoproteínas LDL se ha relacionado tradicionalmente con un aumento del riesgo de sufrir una enfermedad cardiovascular (68,69,71,126,145,146). Los diferentes tamaños de las LDL van desde 26.5 - 18.9 nm de grandes a pequeñas respectivamente (68). Se ha demostrado que la  $^1\text{H}$ -RMN calcula y concreta el número de partículas de LDL y que éste es un mejor predictor del riesgo cardiovascular y que guarda una mejor relación que la medición de la concentración de LDL-C (71,147).

Sin embargo existe una gran variabilidad interindividual en el contenido de colesterol de las LDL debido a la diferencia de tamaño, así como al contenido relativo de ésteres de colesterol y triglicéridos en el núcleo de la partícula (71). Es por este motivo por el cual la concentración de LDL y el número de partícula de LDL no son parámetros equivalentes (71,135).

Se sabe que dos individuos que presentan la misma concentración de LDL-C, pueden presentar diferente número de partículas de LDL y por tanto diferente riesgo de sufrir enfermedad cardiovascular (71).

Altos niveles de LDL pequeñas están asociados con niveles más altos de triglicéridos y niveles más bajos de HDL (148,149).

### 2.3.3.3 Lipoproteínas de alta densidad (HDL)

Las lipoproteínas de HDL, tienen una dimensión desde 11.5 - 7.8 nm según lo descrito por Mallol et. al (68) en su técnica DOSY de <sup>1</sup>H-RMN. Las HDL poseen una estructura bastante heterogénea en cuanto a composición, metabolismo y funciones. Esta heterogeneidad hace sean claves en el proceso de arteriosclerosis (150,151).

Hay suficiente evidencia científica que indica que el tamaño de lipoproteína de HDL tiene una asociación positiva con el riesgo cardiovascular (71,136,146,148,151–156).

Sin embargo, existen otros estudios que indican lo contrario, es decir, que existe una relación inversa entre el tamaño de lipoproteína y el riesgo cardiovascular (151).

Se ha descrito que las partículas pequeñas de HDL son menos protectoras frente a la oxidación de LDL o puede ser indicativo de una sobreproducción de VLDL (37,145).

Las partículas pequeñas de HDL son no funcionales y tienen una capacidad de carga de colesterol mucho menor. Esto hace que las partículas medianas y grandes sean las que tienen mayor capacidad para transportar el colesterol y por tanto sean ateroprotectoras (157).

## CAPÍTULO 3. Cambios en los hábitos de vida

### 3.1 Dieta

Existen multitud de estudios en los que se relaciona el consumo de determinados alimentos y nutrientes con determinadas enfermedades crónicas (158,159). Algunos de ellos van encaminados a buscar la longevidad en las personas (158,160–170), sin embargo no se incluye suficiente información sobre la ingesta de energía o la actividad física; siendo estos dos parámetros fundamentales en muchos estudios (158).

Existen multitud de dietas y hábitos alimenticios, pero sobre la dieta mediterránea ha demostrado beneficios sobre la salud de las personas (158,171).

La dieta mediterránea tradicional se basa en una alta ingesta de verduras, legumbres, frutas y nueces, y cereales (que en el pasado eran en gran parte sin refinar), y una alta ingesta de aceite de oliva pero baja ingesta de lípidos saturados, una ingesta moderadamente alta de peces (dependiendo de la proximidad del mar), un consumo bajo a moderado de productos lácteos (y luego principalmente en forma de queso o yogur), una baja ingesta de carne y aves, y una ingesta regular pero moderada de etanol, principalmente en forma de vino y generalmente durante las comidas (158,172).

El reciente ensayo clínico aleatorizado PREDIMED (PREvención con Dieta MEDiterránea; [www.predimed.org](http://www.predimed.org)) ha catalogado la adherencia a la dieta mediterránea como modelo dietético más favorable para la prevención de las enfermedades cardiovasculares (173–175). Con esta intervención se reduce un 30% la muerte cardiovascular, infarto de miocardio y accidente cerebrovascular (173,176).

No está claro si el consumo de aceite de oliva virgen extra y los frutos secos, base de la dieta mediterránea, se relaciona con una disminución de marcadores inflamatorios



circulantes, aunque si se ha demostrado que retrasa el desarrollo de la arteriosclerosis (173,177).

En este sentido se han relacionado multitud de estudios descritos en la Tabla 4 relacionados con la dieta en OMS, aplicando cada uno una restricción calórica diferente (178).

	Rondanelli et al (179)	Ruiz et al.(180)	Kantartzis et al.(181)	Janiszewski et al.(182)
<b>N del Estudio (OMS)</b>	103	25 mujeres españolas	26	63
<b>Restricción Calórica</b>	600 Kcal/día	600 Kcal/día	Reducción $\geq$ 5% del peso corporal de los participantes	700 Kcal / día y 500 Kcal / día en hombres y mujeres respectivamente.
<b>Duración</b>	8 Semanas	8 Semanas	36 Semanas	12 Semanas en hombres 14 Semanas en Mujeres

	Shin et al. (49)	Liu et al (183)	Foster et al (184)	Christiansen et al (185)
<b>N del Estudio (OMS)</b>	23	83	307	79
<b>Restricción Calórica</b>	600 Kcal / día	500 – 1000 calorías/día	1200 a 1800 kcal / día	600 y 800 kcal / día
<b>Duración</b>	12 Semanas	12 Semanas	104 Semanas	8 Semanas

**Tabla 4.** Estudios dietéticos en OMS. Modificado de Stelmach-Mardas et al. (178)

### 3.2 Ejercicio Físico

El ejercicio físico es una actividad beneficiosa para la salud. El comportamiento sedentario se define como la participación en actividades en el nivel de reposo del gasto de energía e incluye actividades como dormir, sentarse, acostarse, jugar en la computadora y mirar televisión (186). Debido a que el comportamiento sedentario no se define como la falta de actividad física de moderada a vigorosa, es importante estudiarlo por separado de la actividad ligera, moderada o vigorosa. Además, el comportamiento sedentario se asocia de forma independiente con los resultados de salud (186–188).

En los OMS, hasta la fecha sólo unos pocos estudios han examinado de manera objetiva en los grupos metabólicamente saludables de los no saludables (189).

Se ha descrito en que existe diferencias en las personas OMS de las OMNS cuando se realiza un ejercicio físico (190). En este sentido se sabe que los OMS son generalmente más activos físicamente que los OMNS (189,191). No obstante, a pesar de estas evidencias, existen datos contradictorios (43,49,181,182); sin embargo se ha resaltado la necesidad de diferenciar la actividad física de los OMS de las de OMNS (192). Se ha demostrado que un nivel moderado – alto de actividad física se asocia positivamente en los OMS. Además se ha demostrado que el ejercicio físico tiene efectos beneficiosos sobre los factores de riesgo cardiometabólico independientemente de si son OMS, obesos o simplemente tienen sobrepeso (192).

Un aumento en la duración y el porcentaje de tiempo dedicado al comportamiento sedentario se asocian con un aumento en el riesgo metabólico en adultos (179, 185,186), mientras que un incremento en las interrupciones del comportamiento sedentario se asocia con una disminución en el riesgo metabólico. Además del tiempo total dedicado al comportamiento sedentario, la proporción y distribución del tiempo sedentario durante el día se asocian de forma independiente con los resultados de salud (187).

## PARTE II. MARCO EMPÍRICO

## CAPÍTULO 4. Objetivos de la investigación

### 4.1 Objetivos

- *Objetivo Principal*

Estudiar el impacto que la modificación de estilo de vida (MEV), basada en un programa personalizado de dieta (mediterránea) y la promoción de ejercicio físico que ejerce sobre el perfil lipídico de una muestra de población con obesidad y metabólicamente sana.

- *Objetivos Específicos*

- Analizar el perfil lipídico de una población OMS tras 3 meses de intervención intensiva en el estilo de vida con pérdida de peso.
- Evaluar el perfil lipídico de una población OMS tras 2 años de intervención del estilo de vida.
- Estudiar si las técnicas de medición del perfil lipídico (convencional y  $^1\text{H-RMN}$ ) son capaces de discernir el riesgo aterogénico asociado a la obesidad en población OMS.

## CAPÍTULO 5. Planteamiento de la investigación

### 5.1 Metodología

Esta tesis doctoral es un estudio abierto, longitudinal y analítico realizado sobre una muestra de la población de Málaga que presenta obesidad y son metabólicamente sanos.

El estudio se realizó sobre una muestra aleatoria y representativa de la población adulta entre los 18 y los 80 años de edad, adscrita a 4 Centros de Salud (Ciudad Jardín, Puerta Blanca, Victoria y Tiro Pichón) del Distrito Málaga pertenecientes al Servicio Andaluz de Salud, (Málaga, España)

Para realizar este estudio, se agruparon a los participantes en 3 grupos en función de la pérdida de peso inicial, tras la intervención en el estilo de vida. Esto se realizó en 2 ocasiones, tras 3 meses y tras 2 años desde el inicio de la intervención.

De esta forma los 3 grupos de estudio fueron:

- Grupo 1: Participantes que presentaban una pérdida de  $< 5\%$  de su peso corporal.
- Grupo 2: Participantes que presentaban una pérdida  $\geq 5\% - 10\%$  de su peso corporal.
- Grupo 3: Participantes que presentaban una pérdida  $\geq 10\%$  de su peso corporal.

## 5.2 Población de estudio

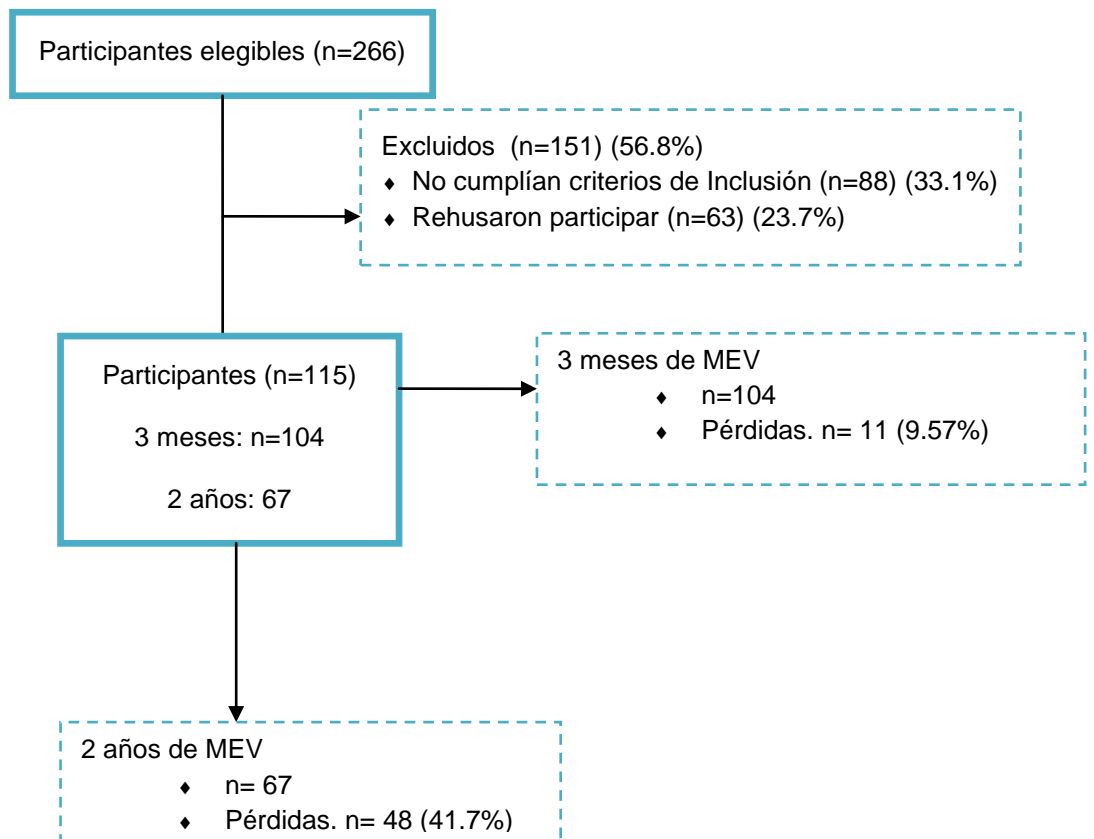
### **Reclutamiento:**

Los pacientes de la muestra fueron localizados e invitados a participar en el estudio en las visitas rutinarias con su facultativo de atención primaria de los distintos centros de salud del Distrito Málaga implicados en el estudio (Ciudad Jardín, Puerta Blanca, Victoria y Tiro Pichón) al que estaban adscritos los participantes, por el Servicio de Medicina Interna del Hospital Universitario Regional de Málaga o mediante contacto telefónico.

### **Cálculo Muestral:**

Para el cálculo del tamaño muestral, hemos empleado el programa SISA, Simple Interactive Statistical Analysis; nos hemos basado en otros ensayos clínicos que han demostrado los beneficios metabólicos de una pérdida ponderal  $\geq 5\%$  del peso corporal en población con sobrepeso (estudios DPP, DPS), así como en estudios más pequeños realizados específicamente en sujetos OMS (182,193). Para el cálculo del tamaño muestral se asumió una prevalencia de obesidad metabólicamente sana del 16% (194), un nivel de confianza del 95% (error  $\alpha$  de 0.05), un poder estadístico del 80% y un porcentaje de pérdidas del 5%. Con estas estimaciones, se requería una muestra mínima de 110 sujetos, estratificados por sexo y edad, que se extrajeron de modo aleatorio simple del listado completo de tarjetas sanitarias proporcionado por el Servicio Andaluz de Salud.

El reclutamiento se realizó entre junio de 2013 y abril de 2014, obteniéndose un tamaño muestral final de 266 sujetos elegibles, de los cuales 151 (56.8%) fueron excluidos, 88 (33.1%) por no cumplir los criterios de inclusión o presentar criterios de exclusión y 63 (23.7%) rehusaron participar en el estudio, incluyéndose finalmente a 115 sujetos (figura 8).



**Figura 8.** Proceso de selección de la población estudiada.

***Criterios de inclusión:***

Se incluyeron aquellas personas adscritas al Centro de Salud, que pudieran desplazarse y firmar el consentimiento informado, con una edad entre 35 y 55 años, un IMC  $\geq 30$ - $\leq 40$  kg/m<sup>2</sup> y que presentasen  $\leq 1$  de las siguientes 4 alteraciones cardiometabólicas:

- Presión arterial sistólica  $\geq 130$  mmHg y/o diastólica  $\geq 85$  mmHg (o uso de tratamiento antihipertensivo en un sujeto con historia de hipertensión arterial) (195).
- Niveles de triglicéridos  $\geq 150$  mg/dL (o tratamiento con fibrato, ácido nicotínico o ácidos grasos omega-3) (195).
- HDL colesterol  $< 40$  mg/dL en varones o  $< 50$  mg/dL en mujeres (o tratamiento con fibrato, ácido nicotínico o ácidos grasos omega-3)(195).
- Estado de prediabetes, definido por la presencia de glucemia  $\geq 100$  y  $\leq 125$  mg/dL y/o valor de HbA1c  $\geq 5.7$  y  $\leq 6.4\%$  (196)

***Criterios de exclusión:***

- Diagnóstico de diabetes o intolerancia a la glucosa, detectada con la prueba de sobrecarga oral a la glucosa en 2 horas y realizada con 75 g de glucosa.
- Hipertensión arterial
- Mujeres embarazadas o con previsión de quedarse embarazada durante el estudio
- Enfermedad cardiovascular previa (coronaria, cerebrovascular o periférica; aneurisma aórtico, insuficiencia cardiaca)
- Enfermedad asociada grave (fallo orgánico avanzado, demencia, cáncer)
- Pacientes hospitalizados en el momento del estudio; individuos inmovilizados o en situación terminal
- Abuso de alcohol o drogas
- Enfermedad psiquiátrica grave
- Menores de 35 años o mayores de 55 años de edad
- Sujetos que hayan iniciado por iniciativa propia un programa de actividad física o iniciado una dieta en los tres últimos meses
- Pérdida de peso de  $\geq 5$  Kg en los últimos 6 meses de causa desconocida



### 5.3 Recogida de Datos e intervención

Tras la comprensión de la nota informativa y la firma del consentimiento informado del estudio (Apéndice I y II), los participantes recibieron un cuestionario estandarizado (Anexo I), adaptado del protocolo OMS-MONICA (197), en el que se recogen: variables sociodemográficas, hábitos de vida, antecedentes personales y familiares.

A todos los sujetos se les realizó una entrevista clínica en el ámbito habitual de consulta evaluando el nivel educativo, la presencia de enfermedades cardiovasculares y sus factores de riesgo (diabetes, hipertensión arterial, dislipidemia), uso de fármacos y el tabaquismo. Las determinaciones de la altura, del peso, del índice de masa corporal, perímetro de cintura y presión arterial fueron llevadas a cabo por personal sanitario (médicos o enfermeros) previamente entrenado. Este punto se describe en el apartado 5.4 de esta tesis. Posteriormente se les realizó una analítica de sangre y orina tras ayuno de 12 horas. Las determinaciones analíticas se realizaron en el Laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital Universitario Regional Universitario de Málaga, exceptuando la medida del perfil lipídico avanzado, el cual fue realizado mediante técnicas de  $^1\text{H-RMN}$  en la empresa Biosfer Teslab<sup>®</sup>, Reus, Tarragona.

Los hábitos nutricionales de los participantes fueron valorados por un nutricionista mediante el registro de la alimentación de 72 horas así como mediante cuestionarios, tanto de consumo de alimentos de dieta mediterránea como de adherencia a la misma (198). (Anexo II)

La actividad física que realizaban nuestros participantes fue evaluada por profesores de Facultad de Ciencias de la Educación, las Artes y el Deporte de la Universidad de Málaga, mediante cuestionarios específicos validados para dicho propósito (199,200) (Anexo III)

La realización del estudio se realizó respetando los aspectos éticos en investigación con pacientes de acuerdo a la Normativa de Helsinki y rubricada en Fortaleza en 2013 (201,202), así como el buen uso de las normas de buena práctica clínica (203–205). Asimismo se garantizó la confidencialidad y protección de datos de cada uno de los participantes en el mismo de acuerdo en lo descrito a Ley orgánica de protección de datos 15/1999. El estudio se sometió a la aprobación del Comité de Ética de la Investigación (CEI) Provincial de Málaga, del Servicio Andaluz de Salud.

Todos los sujetos recibieron información personalizada por escrito (Apéndice I y II), firmada por el investigador principal y por los responsables del Servicio Andaluz de Salud, explicando los objetivos del estudio y solicitando su participación voluntaria. En caso de no recibir respuesta a las 2 semanas, se estableció contacto telefónico con el sujeto seleccionado para confirmar o no su participación el dicho proyecto. En caso de aceptar, los sujetos participantes en el estudio corroboraron su consentimiento por escrito.

En dicho consentimiento se garantizó todas las medidas necesarias para preservar la intimidad del paciente en todo momento, pudiendo abandonar el paciente el estudio en cualquier momento y sin tener que dar ninguna explicación al respecto, ni que ello perjudique en su calidad asistencial.

Los datos personales de los participantes y las muestras obtenidas durante el estudio se identificaron con un número que comenzó de manera aleatoria y creciente en función del orden de inclusión de los sujetos en el estudio y únicamente el equipo investigador tuvo acceso a ellos, garantizando la confidencialidad de los datos.

#### 5.4 Definición de las variables

Las variables de estudio son:

##### 1. Variables sociodemográficas y antropométricas:

- Sexo
- Edad (años)
- Peso (kg), medido en una báscula GIMA
- Talla (cm)
- Índice de masa corporal, IMC ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ): definido como el cociente entre peso y talla (m) al cuadrado.
- Perímetro de cintura (cm), medido con una cinta milimetrada e inelástica (Gulick II, Country Technology, Inc.) a nivel del punto medio entre la espina iliaca anterosuperior y el último arco costal, paralelo al suelo y en espiración. Realizamos 2 mediciones las cuales deben ser promediadas (202).
- Grado de actividad física: sedentarismo (ninguna actividad o únicamente paseos en el tiempo recreacional a ritmo moderado de  $< 150$  minutos a la semana) o actividad física regular (paseos semanales de  $\geq 150$  minutos o ejercicio físico más intenso).
- Consumo de tabaco: fumador (sujeto que consume tabaco en actualidad) y no fumador.

## 2. Variables clínicas

- Presión arterial sistólica y diastólica (mmHg). Se tomó con el sujeto en sedestación tras 5 minutos de reposo, con un tensiómetro automático validado (OMRON 705 CP). Se realizaron 3 determinaciones, separadas entre sí por 1-2 minutos y se adoptó como presión arterial final la media de las 2 últimas tomas, desechando la primera.
- Presencia de enfermedad cardiovascular (cardiopatía isquémica, insuficiencia cardiaca, aneurisma de aorta, enfermedad cerebrovascular o arteriopatía periférica).
- El diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2 se estableció en base a los antecedentes previos de la enfermedad o un test de tolerancia a la glucosa de 2 h y con 75 g de glucosa.
- Se estimó a un sujeto hipertenso si refería antecedentes previos de hipertensión arterial, tomaba tratamiento antihipertensivo o en el examen físico presentaba valores de  $\geq 140$  y/o  $\geq 90$  mmHg de presión arterial sistólica y/o diastólica, respectivamente, en la media de las dos últimas medidas realizadas.

## 3. Variables analíticas

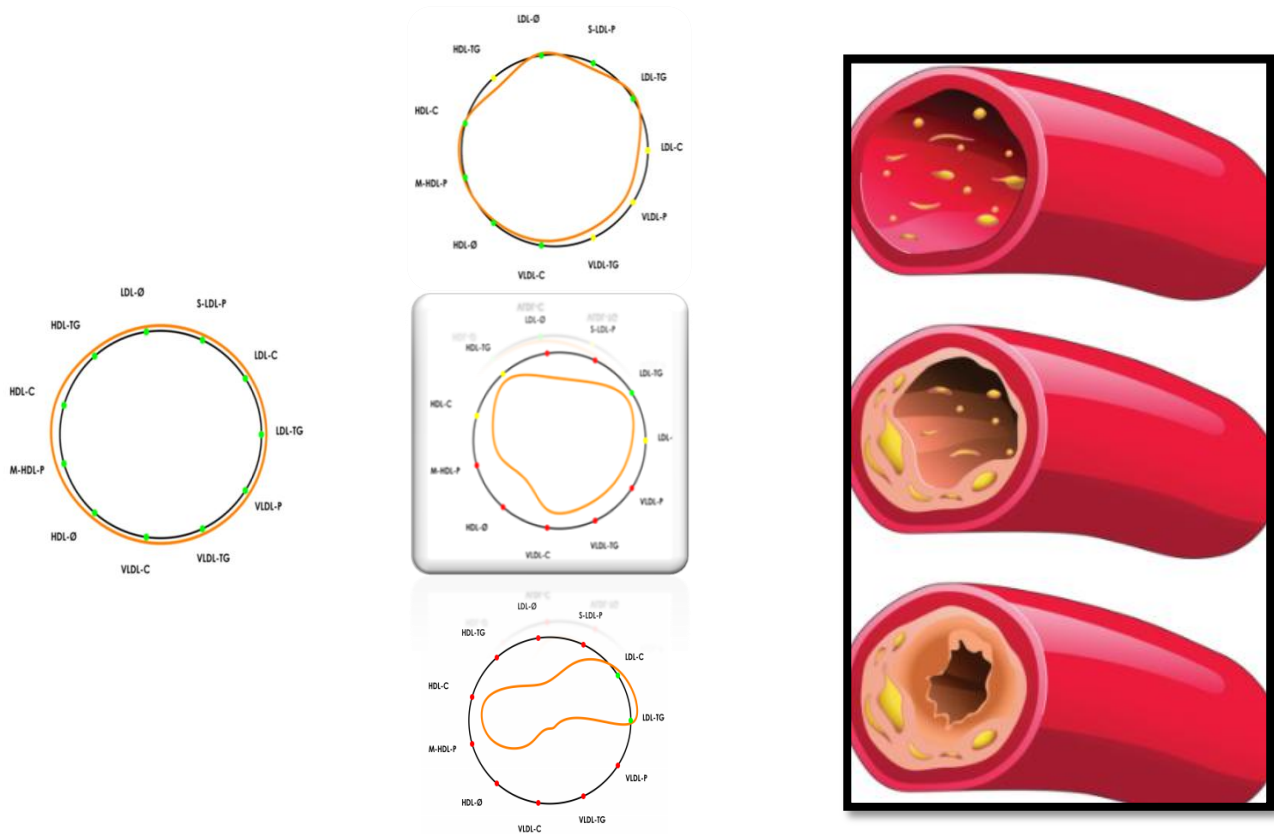
- Glucemia (mg/dL): se determinó mediante el método de la glucosa-oxidasa adaptado a un auto-analizador (*Advia 2400<sup>®</sup>, Siemens Healthineers, Alemania*) y siguiendo las recomendaciones del fabricante.
- HbA1c (%): mediante cromatografía (*Hb9210<sup>®</sup>, Menarini Diagnostics, Italia*)

- Perfil lipídico Convencional:

- Colesterol total (mg/dL): se midió por métodos enzimáticos utilizando equipos comerciales (*Advia 2400®*, *Siemens Healthineers, Alemania*).
- HDL colesterol (mg/dL): se midió por métodos homogéneos de medición directa que no requieren ningún tratamiento preliminar de la muestra (*Advia 2400®*, *Siemens Healthineers, Alemania*).
- LDL colesterol (mg/dL): fue determinado de manera indirecta por la fórmula de Friedewald: Colesterol total – (HDL colesterol + triglicéridos/5), donde todos los factores se expresan en mg/dL.
- Triglicéridos (mg/dL): medidos por métodos enzimáticos utilizando equipos comerciales (*Advia 2400®*, *Siemens Healthineers, Alemania*).

- Perfil lipídico avanzado por <sup>1</sup>H-RMN (Liposcale®): El perfil lipídico avanzado fue medido mediante espectroscopía de resonancia magnética nuclear mediante el test Liposcale® de la empresa *Biosfer Teslab® (Reus, Tarragona)*, siguiendo las indicaciones del fabricante. Este test analiza las concentraciones de VLDL, IDL, LDL y HDL unidas a colesterol y triglicéridos; el número de partículas de VLDL, HDL y LDL y los tamaños grande, mediano y pequeños de estas 3 principales subclases de lipoproteínas. También determina el tamaño medio de las VDL, HDL y LDL así como diversos ratios informativos de aterogenicidad.

Esta metodología nos aporta siluetas lipídicas reflejo de la aterogeneidad de los distintos perfiles lipoproteicos. (Figura. 9)



**Figura 9.** Siliuetas lipídicas

4. Modificación de estilo de vida (MEV): Programa intensivo y personalizado de dieta mediterránea y promoción de ejercicio físico:

a) *Intervención Nutricional.* Se recomendó una dieta mediterránea, basada en el uso de aceite de oliva como principal fuente de grasa visible y el consumo regular de verduras y hortalizas ( $\geq 2$  raciones/día), frutas ( $\geq 3$  porciones/día), legumbres ( $\geq 3$  raciones/semana) y pescado ( $\geq 3$  veces en semana), reduciendo el consumo de carnes rojas o embutidos ( $< 2$  veces en semana) y eliminando (o reduciendo a  $< 1$  vez/semana) el consumo de lácteos, bebidas azucaradas y repostería o bollería industrial. La dieta aportó un déficit calórico de 600 kcal/día, calculado según la ecuación de Harris-Benedict (206).

b) Se realizó a los sujetos una encuesta dietética previo al inicio de la intervención, a los 3 meses (cuestionario de frecuencia de consumo de

alimentos (Anexo II), validado en España y en uso en el ensayo PREDIMED(199) y tras dos años desde el inicio de la intervención.

- c) *Intervención física:* Respecto al programa de actividad física, se recomendó una práctica diaria de ejercicios. Se alentó a los participantes a aumentar gradualmente su nivel de actividad física para alcanzar al menos 45 minutos por día durante el curso del estudio. Este nivel mínimo de actividad definida se basó en el beneficio cardiometabólico demostrado en otros estudios (207). Esto fue evaluado por su entrenador personal mensualmente a lo largo del estudio. Se monitorizó la adherencia a este programa de actividad física mediante un cuestionario de evaluación rápida de la actividad física (RAPA) (200) validado (Anexo III).

Este es un cuestionario validado de 7 elementos. El sedentarismo o actividad física liviana se consideró de 1-3 puntos, moderado 4-5 puntos, vigoroso 6-7 puntos. Dicho cuestionario presenta una sensibilidad del 85%, una especificidad del 69%, un valor predictivo positivo del 77% y un valor predictivo negativo del 75%.

La actividad física se promovió mediante el uso de podómetros (Genoute® Multi Sports ONstep 100), que se usaron en la cintura durante los 2 años del estudio, y un protocolo de ejercicio específico diseñado por un entrenador personal. Una vez al mes durante la intervención, acudieron al centro deportivo con el monitor de actividad física que verificaba si los participantes realizaban la actividad física. Estos registros se entregan al monitor de actividad física para su valoración en las 3 visitas de seguimiento.

Las características de las variables se recogen en la Tabla 6

Variable	Tipo	Valor	Tipo de Variable
Edad	Cuantitativa continua	Numérica	Variables sociodemográficas y antropométricas
Sexo	Cualitativa	Mujer/Hombre	
Peso	Cuantitativa continua	Numérica	
Talla	Cuantitativa continua	Numérica	
IMC	Cuantitativa continua	Numérica	
Perímetro Cintura	Cuantitativa continua	Numérica	
Grado de actividad física	Cuantitativa continua	Numérica	
Consumo de Tabaco	Cualitativa	Fumador/No fumador	Variables clínicas
Presión Arterial	Cuantitativa continua	Numérica	
Presencia de enfermedad cardiovascular	Cualitativa	Cardiopatía isquémica, insuficiencia cardíaca, aneurisma de aorta, enfermedad cerebrovascular o arteriopatía periférica	
Diabetes mellitus tipo 2	Polidicotómica	SI/NO	
Glucemia	Cuantitativa continua	Numérica	
Hemoglobina Glicosilada HbA1c (%)	Cuantitativa continua	Numérica	
Colesterol total	Cuantitativa continua	Numérica	
HDL-c	Cuantitativa continua	Numérica	Variables analíticas
LDL-c	Cuantitativa continua	Numérica	
Triglicéridos	Cuantitativa continua	Numérica	



Perfil lipídico Avanzado <sup>1</sup> H-RMN) Liposcale®	Cuantitativa continua	Numérica	
Intervención Nutricional	Cuantitativa continua	Numérico	Variables Modificación de estilo de vida (MEV)
Cuestionario frecuencia consumo de alimentos			
Cuestionario de actividad física	Polidicotómica	SI/NO	
Protocolo OMS-MONICA	Polidicotómica/Cuantitativa	SI/NO/Otros	
Colocación Podómetro	Dicotómica	SI/NO	Variable Confusora

**Tabla 6.** Resumen de variables

### 5.5 Análisis estadístico

Las variables cuantitativas se expresaron como medias  $\pm$  su desviación estándar (DE) y las cualitativas, como porcentajes. Se utilizó la prueba de t de student para datos apareados para comparar variables cuantitativas, la prueba de Chi cuadrado y el test de Mantel-Haenszel para las variables cualitativas. Todos los intervalos de confianza se calcularon al 95%. Las diferencias se consideraron significativas cuando el valor p fue  $< 0.05$ . Los análisis se realizaron mediante el programa estadístico SPSS, versión 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EE.UU.).

Para los métodos de LDL-C y HDL-C medidos por métodos de rutina y  $^1\text{H-RMN}$ , se calculó una recta de regresión de Deming, utilizando el software estadístico R<sup>®</sup> versión R versión 3.3.2 (2016-10-31) Copyright (C) 2016 The R Foundation for Statistical Computing.

Finalmente, se realizó un análisis tridimensional de la influencia del número de partículas de LDL y HDL con respecto a las dos técnicas; que se compararon mediante un ajuste de curva con el programa estadístico Matlab<sup>®</sup> R2015b (8.6.0.267246).

## CAPÍTULO 6. Resultados

Los resultados obtenidos han sido analizados en tres momentos, al inicio del estudio (basal), a los tres meses de la intervención y a los dos años de la misma (fin del estudio), haciendo distinción entre los parámetros del perfil lipídico convencional y los parámetros del perfil lipídico medido por  $^1\text{H-RMN}$ . Finalmente, este estudio se realizó únicamente en población femenina ya que la población masculina rehusó participar tras 1 mes de iniciada la intervención.

### 6.1 Basal y 3 meses

#### *Descripción de la Población*

Un total de 115 mujeres OMS comenzaron la intervención personalizada sobre el estilo de vida, con dieta mediterránea hipocalórica y promoción de ejercicio físico diario. Sus características antropométricas y clínicas se recogen en la Tabla 7. En resumen, la edad media de las participantes fue de  $44.5 \pm 3.6$  años, las cuales presentaban un IMC medio de  $36.3 \pm 4.7 \text{ kg/m}^2$ , un perímetro medio de cintura de  $111.7 \pm 11.1 \text{ cm}$  y una presión sistólica y diastólica de  $114 \pm 14 / 76 \pm 9 \text{ mmHg}$ , respectivamente. Como son mujeres metabólicamente sanas, ninguna presentaba patologías comúnmente asociadas a obesidad.

Tras tres meses de intervención, 11 participantes (9.6%) decidieron abandonar el programa y completaron la intervención un total de 104 mujeres. Para evaluar los cambios en el perfil lipídico tras la MEV, las participantes se dividieron en tres grupos en función del porcentaje del peso corporal perdido. De esta forma, encontramos que 47 participantes (45.2%) habían perdido  $<5\%$  de su peso corporal, 27 participantes (26.0%) habían perdido entre el  $\geq 5\%$  a  $<10\%$  y, finalmente 30 participantes (28.8%) habían perdido  $\geq 10\%$  de su peso corporal. Durante los primeros 3 meses, la pérdida de peso promedio de las participantes fue de 5.8 kg.

En la tabla 7 se detallan las variables antropométricas y clínicas estudiadas de las participantes agrupadas en función de su pérdida de peso corporal, basal y tras tres meses de MEV.

	Grupos	Basal	Tras 3 meses de MEV	p
Edad (Años)	<5%	43.7 ± 3.4	-----	-----
	≥ 5-<10%	45.0 ± 2.4	-----	-----
	≥10%	45.4 ± 4.5	-----	-----
	TODOS	44.5 ± 3.6	-----	-----
Peso Corporal (Kg)	<5%	91.2 ± 13.8	90.3 ± 13.9	0.01
	≥ 5-<10%	95.0 ± 15.8	87.6 ± 14.8	<0.0001
	≥10%	90.8 ± 12.4	79.5 ± 10.7	<0.0001
	TODOS	92.7 ± 13.8	86.5 ± 14.0	<0.0001
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	<5%	35.5 ± 3.6	35.1 ± 3.6	0.02
	≥ 5-<10%	37.2 ± 5.8	34.2 ± 5.5	<0.0001
	≥10%	36.0 ± 4.5	31.5 ± 3.9	<0.0001
	TODOS	36.3 ± 4.7	33.8 ± 4.4	<0.0001
Perímetro de Cintura (cm)	<5%	111.6 ± 10.8	107.4 ± 10.4	<0.0001
	≥ 5-<10%	116.4 ± 11.4	107.1 ± 9.8	<0.0001
	≥10%	114.7 ± 11.2	102.7 ± 10.1	<0.0001
	TODOS	111.7 ± 11.1	106.0 ± 10.3	<0.0001
PAS / PAD (mmHg)	<5%	113± 15 / 75 ± 9	113± 13 / 76 ± 10	0.8/0.6
	≥ 5-<10%	115±10 / 78 ± 7	109±13 / 74 ± 9	0.1/0.2
	≥10%	110±14 /76 ± 11	116±14 /72 ± 10	0.03/0.04
	TODOS	114 ±14 /76 ± 9	113 ±13 /74 ± 10	0.8/0.6

**Tabla 7.** Características antropométricas y clínicas al inicio del estudio y tras 3 meses de MEV, según el porcentaje de pérdida de peso. Pérdida de peso <5% (n=47), Pérdida de peso ≥ 5-<10% (n= 27), Pérdida de peso ≥10% (n= 30).

- *Determinación del perfil lipídico convencional*

Los niveles detectados mediante las técnicas convencionales del laboratorio de análisis clínicos del perfil lipídico, previos y tras 3 meses de MEV se detallan en la Tabla 8 (37).

Se observó que se tras tres meses de intervención, los niveles de colesterol total disminuyeron significativamente en toda la población ( $194.6 \pm 28.2$  vs  $181.1 \pm 32.8$  mg/dL,  $p < 0.0001$ ). Esta disminución significativa se observó en todos los grupos de pérdida de peso.

Los niveles obtenidos para el LDL-C tras 3 meses de intervención también disminuyeron significativamente en los grupos 1 y 3. Sin embargo, las participantes que perdieron entre  $\geq 5$  -  $< 10\%$  de su peso, grupo 2, se produjo un aumento significativo de los niveles de LDL-C.

En cuanto a los niveles de HDL-C, paradójicamente, aquellas participantes que perdieron  $< 5\%$ , grupo 1, de su peso corporal aumentaron significativamente los niveles de HDL-C tras la intervención. En cambio, las mujeres del grupo 3, disminuyeron significativamente los niveles de HDL-C.

Por otro lado, aunque los niveles circulantes de triglicéridos disminuyeron en toda la población, estos no fueron significativos tras la intervención.

	Grupo	Basal	Tras 3 m de MEV	p
<b>Colesterol Total (mg/dL)</b> VN: <200 mg/dl	<5%	195.1 ± 29.5	186.9 ± 36.8	0.004
	≥ 5-<10%	188.8 ± 29.6	176.6 ± 27.8	0.003
	≥10%	198.8 ± 27.3	175.5 ± 31.1	<0.0001
	TODOS	194.6 ± 28.2	181.1 ± 32.8	<0.0001
<b>LDL colesterol (mg/dL)</b> VN: <130 mg/dl	<5%	120.8 ± 26.6	109.1 ± 28.7	<0.0001
	≥ 5-<10%	111.7 ± 24.2	132.2 ± 148.4	0.01
	≥10%	119.1 ± 30.6	106.2 ± 27.6	0.003
	TODOS	117.8 ± 26.5	113.9 ± 77.3	<0.0001
<b>HDL colesterol (mg/dL)</b> VN: >50 mg/dl	<5%	54.4 ± 12.2	57.6 ± 13.5	0.001
	≥ 5-<10%	58.9 ± 11.0	55.6 ± 11.2	0.05
	≥10%	59.6 ± 12.4	52.8 ± 9.9	0.01
	TODOS	57.3 ± 12.1	55.6 ± 12.1	0.2
<b>Triglicéridos (mg/dL)</b> VN: <150 mg/dl	<5%	87.0 (67.0 – 114.0)	75.0 (64.0 – 132.0)	1.0
	≥ 5-<10%	78.0 (58.2 – 123.0)	78.0 (65.0 – 113.5)	0.8
	≥10%	82.0 (61.0 – 104.5)	76.0 (61.5 – 96.0 )	0.9
	TODOS	84.0 (66.0–112.0)	95.5 ± 48.5	0.9

**Tabla 8.** Perfil de lípidos al inicio del estudio y tras 3 meses de MEV, de acuerdo con el porcentaje de peso corporal perdido (Perfil lipídico medido por técnicas convencionales). Pérdida de peso <5% (n=47); Pérdida de peso ≥ 5-<10% (n= 27); Pérdida de peso ≥10% (n= 30)

- *Determinación del perfil lipídico avanzado mediante Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear (<sup>1</sup>H-RMN)*

Con el fin de ahondar más en el conocimiento de los niveles lipídicos de nuestras participantes, se separaron por tipo y tamaño, así como se cuantificaron, las diferentes lipoproteínas (VLDL, IDL, HDL y LDL), tanto unidas a colesterol como unidas a triglicéridos mediante espectroscopía de resonancia magnética nuclear (<sup>1</sup>H-RMN), lo cual constituye el perfil lipídico avanzado de nuestras participantes. Los resultados obtenidos se detallan en la Tabla 9.

	Grupo	Basal	Tras 3 m de MEV	p
<b>VLDL Colesterol (mg/dL)</b>	<5%	12.1 ± 9.6	12.8 ± 12.8	0.64
	≥ 5-<10%	10.2 ± 8.1	11.0 ± 8.7	0.61
	≥10%	9.0 ± 6.6	9.4 ± 5.0	0.45
	TODOS	10.7 ± 8.4	11.3 ± 10.0	0.17
<b>IDL Colesterol (mg/dL)</b>	<5%	8.0 ± 4.4	7.9 ± 4.8	0.78
	≥ 5-<10%	6.7 ± 3.2	7.0 ± 4.0	0.53
	≥10%	7.3 ± 3.6	8.1 ± 2.8	0.04
	TODOS	7.4 ± 3.9	7.7 ± 4.1	0.05
<b>LDL Colesterol (mg/dL)</b>	<5%	116 ± 25.7	111.4 ± 28.1	0.01
	≥ 5-<10%	108.3 ± 20.9	102.3 ± 22.7	0.03
	≥10%	117.6 ± 21.3	107.8 ± 23.9	0.001
	TODOS	114.5 ± 23.3	108.0 ± 25.6	0.0001
<b>HDL Colesterol (mg/dL)</b>	<5%	55.0 ± 13.8	55.4 ± 13.9	0.55
	≥ 5-<10%	58.2 ± 11.2	53.9 ± 12.7	0.01
	≥10%	57.4 ± 11.5	50.3 ± 8.6	<0.0001
	TODOS	56.5 ± 12.5	53.7 ± 12.5	0.002

**Tabla 9 A**

	Grupo		p	
	Basal	Tras 3 m de MEV		
<b>VLDL TG (mg/dL)</b>	<5%	56.8 ± 32.9	57.4 ± 38.1	0.81
	≥ 5-<10%	51.4 ± 27.9	53.2 ± 29.6	0.71
	≥10%	44.6 ± 23.4	44.3 ± 23.2	0.76
	TODOS	51.8 ± 29.3	52.5 ± 32.4	0.46
<b>IDL TG (mg/dL)</b>	<5%	9.9 ± 3.9	10.1 ± 3.8	0.42
	≥ 5-<10%	9.0 ± 2.8	9.0 ± 3.4	0.52
	≥10%	9.1 ± 3.0	9.4 ± 2.4	0.21
	TODOS	9.4 ± 3.4	9.6 ± 3.4	0.18
<b>LDL TG (mg/dL)</b>	<5%	17.0 ± 5.3	16.9 ± 5.5	0.69
	≥ 5-<10%	14.7 ± 3.5	15.3 ± 4.6	0.37
	≥10%	16.4 ± 4.6	16.8 ± 3.9	0.33
	TODOS	16.2 ± 4.7	16.4 ± 4.8	0.12
<b>HDL TG (mg/L)</b>	<5%	12.2 ± 6.6	12.5 ± 6.2	0.42
	≥ 5-<10%	10.2 ± 4.0	10.9 ± 5.6	0.54
	≥10%	10.0 ± 4.6	9.6 ± 3.9	0.61
	TODOS	11.0 ± 5.5	11.2 ± 5.5	0.34

**Tabla 9 B**

Número de Partícula	Grupos		p	
	Basal	Tras 3 m de MEV		
<b>VLDL (nmol/L)</b>	<5%	37.7 ± 23.8	38.5 ± 28.8	0.81
	≥ 5-<10%	34.0 ± 20.3	35.1 ± 21.7	0.77
	≥10%	29.2 ± 17.0	28.6 ± 15.7	0.95
	TODOS	34.2 ± 21.2	34.7 ± 24.0	0.51
<b>LDL (nmol/L)</b>	<5%	832.6 ± 188.5	802.8 ± 206.2	0.04
	≥ 5-<10%	766.4 ± 149.3	735.2 ± 167.5	0.13
	≥10%	828.4 ± 148.1	774.8 ± 163.8	0.001
	TODOS	814.1 ± 168.6	776.9 ± 185.2	0.0008
<b>HDL (µmol/L)</b>	<5%	28.4 ± 6.5	28.8 ± 6.3	0.66
	≥ 5-<10%	28.8 ± 5.1	27.3 ± 6.5	0.03
	≥10%	28.3 ± 5.5	25.1 ± 4.4	<0.0001
	TODOS	28.5 ± 5.8	27.3 ± 6.0	0.01

**Tabla 9 C**



Grupo		Basal	Tras 3 m de MEV	p
<b>Número de Partícula Grande VLDL (nmol/L)</b>	<5%	1.2 ± 0.7	1.2 ± 0.8	0.80
	≥ 5-<10%	1.1 ± 0.6	1.2 ± 0.6	0.29
	≥10%	1.0 ± 0.5	1.1 ± 0.4	0.31
	TODOS	1.1 ± 0.6	1.2 ± 0.6	0.15
<b>Número de Partícula Mediana VLDL (nmol/L)</b>	<5%	5.9 ± 3.5	6.0 ± 4.1	0.61
	≥ 5-<10%	5.2 ± 3.0	5.5 ± 3.1	0.70
	≥10%	4.5 ± 2.4	4.7 ± 2.3	0.29
	TODOS	5.3 ± 3.1	5.5 ± 3.4	0.15
<b>Número de Partícula pequeña VLDL (nmol/L)</b>	<5%	30.5 ± 19.6	31.2 ± 24.0	0.82
	≥ 5-<10%	27.7 ± 16.8	28.5 ± 18.1	0.79
	≥10%	23.7 ± 14.1	22.9 ± 13.1	0.87
	TODOS	27.8 ± 17.5	28.1 ± 20.0	0.63

**Tabla 9 D**

Grupo		Basal	Tras 3 m de MEV	p
<b>Número de Partícula Grande LDL (nmol/L)</b>	<5%	116.9 ± 24.8	112.9 ± 31.9	0.07
	≥ 5-<10%	110.6 ± 21.4	105.0 ± 19.5	0.25
	≥10%	121.0 ± 22.8	111.5 ± 25.9	0.001
	TODOS	116.4 ± 23.5	110.5 ± 27.4	0.0006
<b>Número de Partícula Mediana LDL (nmol/L)</b>	<5%	308.9 ± 74.2	297.1 ± 70.9	0.08
	≥ 5-<10%	282.7 ± 57.9	269.7 ± 63.0	0.07
	≥10%	314.2 ± 64.1	289.1 ± 62.2	<0.0001
	TODOS	303.6 ± 67.9	287.6 ± 66.7	0.0002
<b>Número de Partícula Pequeña LDL (nmol/L)</b>	<5%	406.9 ± 96.7	392.7 ± 109.5	0.07
	≥ 5-<10%	373.1 ± 75.8	360.5 ± 89.3	0.24
	≥10%	393.2 ± 68.1	374.1 ± 81.8	0.06
	TODOS	394.0 ± 84.2	378.9 ± 97.0	0.01

**Tabla 9 E**

	Grupo		p	
	Basal	Tras 3 m de MEV		
<b>Número de Partícula Grande HDL (µmol/L)</b>	<5%	0.2 ± 0.2	0.2 ± 0.1	0.35
	≥ 5-<10%	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.69
	≥10%	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.1	<0.0001
	TODOS	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.10
<b>Número de Partícula Mediana HDL (µmol/L)</b>	<5%	8.8 ± 2.5	9.0 ± 2.4	0.43
	≥ 5-<10%	9.2 ± 1.9	8.7 ± 2.4	0.04
	≥10%	9.0 ± 2.1	8.1 ± 1.6	0.01
	TODOS	8.9 ± 2.2	8.6 ± 2.2	0.06
<b>Número de Partícula Pequeña HDL (µmol/L)</b>	<5%	19.4 ± 4.2	19.7 ± 4.1	0.81
	≥ 5-<10%	19.4 ± 3.3	18.4 ± 4.2	0.03
	≥10%	19.2 ± 3.5	16.9 ± 3.0	0.001
	TODOS	19.4 ± 3.8	18.5 ± 4.0	0.003

**Tabla 9 F**

	Grupo		Basal	Tras 3 m de MEV	p
	<5%	≥ 5-<10%			
<b>Tamaño de Partícula VLDL (Å)</b>	<5%	42.8 ± 0.4	42.9 ± 0.4	0.38	
	≥ 5-<10%	42.7 ± 0.5	42.9 ± 0.4	0.27	
	≥10%	42.8 ± 0.4	43.2 ± 0.4	<0.0001	
	TODOS	42.8 ± 0.4	43.0 ± 0.4	0.002	
<b>Tamaño de Partícula LDL (Å)</b>	<5%	21.2 ± 0.1	21.2 ± 0.1	0.98	
	≥ 5-<10%	21.2 ± 0.1	21.2 ± 0.1	0.67	
	≥10%	21.2 ± 0.1	21.2 ± 0.1	0.10	
	TODOS	21.2 ± 0.1	21.2 ± 0.1	0.18	
<b>Tamaño de Partícula HDL (Å)</b>	<5%	8.2 ± 0.0	8.2 ± 0.0	0.88	
	≥ 5-<10%	8.2 ± 0.0	8.2 ± 0.0	0.67	
	≥10%	8.2 ± 0.0	8.2 ± 0.0	0.11	
	TODOS	8.2 ± 0.0	8.2 ± 0.0	0.23	
<b>Número de Partícula no-HDL (nmol/L)</b>	<5%	841.9 ± 196.6	812.5 ± 217.7	0.06	
	≥ 5-<10%	771.6 ± 159.3	743.1 ± 177.8	0.14	
	≥10%	829.3 ± 152.1	778.3 ± 165.2	0.02	
	TODOS	819.8 ± 176.0	784.3 ± 193.8	0.002	
<b>Ratio Total Número de Partícula / Número de Partícula HDL</b>	<5%	32.1 ± 10.2	30.6 ± 10.7	0.09	
	≥ 5-<10%	28.8 ± 8.5	30.0 ± 10.3	0.14	
	≥10%	31.4 ± 8.6	32.7 ± 8.1	0.28	
	TODOS	31.1 ± 9.4	31.1 ± 9.8	0.87	
<b>Ratio Número de Partícula LDL / Número de Partícula HDL</b>	<5%	30.7 ± 9.8	29.2 ± 10.1	0.11	
	≥ 5-<10%	27.6 ± 8.0	28.7 ± 9.9	0.25	
	≥10%	30.4 ± 8.4	31.5 ± 8.0	0.31	
	TODOS	29.8 ± 9.0	29.8 ± 9.5	0.89	

**Tabla 9 G**

**Tabla 9.** Caracterización del perfil de lípidos por técnica de espectroscopía de resonancia magnética nuclear ( $^1\text{H-RMN}$ ) al inicio del estudio y tras 3 meses de MEV, según el porcentaje de pérdida de peso. Pérdida de peso <5% (n=47); Pérdida de peso  $\geq 5$ -<10% (n= 27); Pérdida de peso  $\geq 10\%$  (n= 30). **A.** Concentración de lipoproteínas unidas a colesterol. **B.** Concentración de lipoproteínas unidas a triglicéridos. **C.** Número de partículas totales de lipoproteínas. **D.** Número de partículas en tamaños de VLDL. **E.** Número de partículas en tamaños de LDL. **F.** Número de partículas en tamaños de HDL. **G.** Tamaños de partículas medios y Ratios.

Se observa, los niveles plasmáticos de lipopartículas de LDL ligadas al colesterol disminuyeron significativamente en los grupos 1,2 y 3 de estudio, independientemente del porcentaje de peso corporal perdido ( $116 \pm 25.7$  vs  $111.4 \pm 28.1$  mg / dL,  $p = 0.01$ ;  $108.3 \pm 20.9$  vs  $102.3 \pm 22.7$  mg / dL,  $p = 0.03$ , y  $117.6 \pm 21.3$  vs  $107.8 \pm 23.9$  mg / dL,  $p = 0.001$ ; respectivamente).

En cuanto al HDL vemos disminución en el 2º y 3º grupo de pérdida de peso, disminuyendo ( $58.2 \pm 11.2$  vs  $53.9 \pm 12.7$  7 mg / dL,  $p = 0.01$  ; y  $57.4 \pm 11.5$  vs  $50.3 \pm 8.6$  7 mg / dL,  $p < 0.0001$  respectivamente).

Las partículas de IDL unidas a colesterol sólo aumentaron en OMS con pérdidas de peso >10 % ( $7.3 \pm 3.6$  vs  $8.1 \pm 2.8$  mg / dL,  $p = 0.04$ ).

En cuanto a los niveles plasmáticos de lipopartículas unidas a triglicéridos; se observa que las partículas de LDL no se produce una disminución significativa en ninguno de los 3 grupos.

En cuanto al número de partículas de las diferentes lipoproteínas, se visualiza que en las de LDL hubo una reducción significativa de los grupos 1 y 3 y por tanto aportando una disminución en conjunto significativa ( $832.6 \pm 188.5$  vs  $802.8 \pm 206.2$  nmol / L,

$p = 0.04$ ;  $828.4 \pm 148.1$  vs  $774.8 \pm 163.8$  nmol / L,  $p = 0.001$  y  $814.1 \pm 168.6$  vs  $776.9 \pm 185.2$ , nmol / L,  $p = 0.0008$  respectivamente).

En cuanto al número de partículas de HDL disminuyó después de la intervención en los grupos que perdieron más del 5 % de su peso corporal, tal y como se habíamos observado previamente en otros estudios sobre métodos convencionales para determinar lípidos.

Al analizar los diferentes tamaños de lipoproteínas no observamos ningún cambio significativo en las VLDL.

Las partículas de LDL, aunque el pequeño y denso fue el que más concentración abundaba en los 3 grupos de estudio y se redujeron tras la intervención; no hubo un descenso significativo. Sin embargo sí que hubo una disminución general significativa de las partículas de LDL en toda la población a los tres meses ( $394.0 \pm 84.2$  vs  $378.9 \pm 97.0$  nmol / L,  $p = 0.01$ ). Por el contrario, cuando las participantes perdieron más del 10% de su peso corporal, grupo 3, las concentraciones de partículas medianas y grandes mostraron una disminución significativa ( $314.2 \pm 64.1$  vs  $289.1 \pm 62.2$  nmol / L,  $p < 0.0001$ ,  $121.0 \pm 22.8$  vs  $111.5 \pm 25.9$  nmol / L,  $p = 0.001$ , respectivamente).

En las lipoproteínas de HDL, se determinó que las partículas pequeñas son las más abundantes en este tipo de población. Las participantes que redujeron su peso corporal en más del 5%, mostraron una disminución significativa de las partículas pequeñas y medianas de HDL. Sin embargo, las participantes que perdieron más del 10% de su peso corporal también mostraron una disminución significativa de las partículas grandes después de la intervención ( $0.2 \pm 0.1$  vs  $0.1 \pm 0.1$   $\mu\text{mol} / \text{L}$ ,  $p < 0.0001$ ).

Por lo tanto, el único cambio significativo metabólicamente en el perfil lipídico en mujeres OMS, se observa en los niveles de IDL-C y LDL-C. Sin embargo, los niveles de HDL-C disminuyen en las mujeres que pierdan más del 5% de su peso corporal.

Del mismo modo, los niveles de todas las partículas LDL y HDL (pequeñas, medianas y grandes) disminuyeron en todos grupos de estudio.

## 6.2 2 años de Intervención

### *Descripción de la Población*

El estudio de la dieta baja en calorías y el ejercicio físico en mujeres OMS comenzó con 115 participantes mujeres OMS. Después de 2 años de intervención, hubo 48 participantes (41.7%) fueron consideradas pérdidas debido a no quisieron continuar con el estudio, no tenían adherencia al programa o no asistían a las revisiones clínicas. Por lo tanto, el estudio finalizó con un total de 67 mujeres con OMS (edad:  $44.5 \pm 3.7$  años e IMC:  $36.3 \pm 4.7$  kg/m<sup>2</sup>). De éstas, 23 participantes (34.2%) habían perdido <5% de su peso corporal inicial (Grupo 1) y 22 participantes perdieron  $\geq 5\%$  - <10% (Grupo 2) y  $\geq 10\%$  del peso corporal basal (Grupo 3), es decir, 22 participantes (32.8%) en cada uno de estos grupos.

La Tabla 10 muestra las variables antropométricas y clínicas al comienzo y al final del estudio.

	Pérdida	Basal	2 años	p
	Peso			
<b>Edad (Años)</b>	<5%	43.7 ± 3.4	-----	-----
	≥ 5-<10%	45.0 ± 2.4	-----	-----
	≥10%	45.4 ± 4.5	-----	-----
	TODOS	44.5 ± 3.6	46.5 ± 3.6	-----
<b>Peso Corporal (Kg)</b>	<5%	91.2 ± 13.8	86.7 ± 10.3	0.7
	≥ 5-<10%	95.0 ± 15.8	86.3 ± 17.8	0.003
	≥10%	90.8 ± 12.4	79.1 ± 12.4	<0.0001
	TODOS	92.7 ± 13.8	83.8 ± 13.4	<0.0001
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	<5%	35.5 ± 3.6	34.3 ± 3.2	0.7
	≥ 5-<10%	37.2 ± 5.8	34.4 ± 6.5	0.005
	≥10%	36.0 ± 4.5	31.5 ± 4.6	<0.0001
	TODOS	36.3 ± 4.7	33.3 ± 4.8	<0.0001

	Pérdida	Basal	2 años	p
	Peso			
<b>Perímetro Cintura (cm)</b>	<5%	111.6 ± 10.8	108.1 ± 9.5	0.8
	≥ 5-<10%	116.4 ± 11.4	108.8 ± 15.5	0.002
	≥10%	114.7 ± 11.2	100.9 ± 13.1	<0.0001
	TODOS	111.7 ± 11.1	105.6 ± 12.8	<0.0001
<b>PAS / PAD (mmHg)</b>	<5%	113 ± 15 / 75 ± 9	114 ± 14 / 73 ± 12	0.3/0.3
	≥ 5-<10%	115 ± 10 / 78 ± 7	115 ± 12 / 76 ± 11	0.5/0.3
	≥10%	110 ± 14 / 76±11	118 ± 20 / 74 ± 11	0.5/0.4
	TODOS	114 ± 14 / 76 ± 9	116 ± 16 / 74 ± 11	0.5/0.2

**Tabla 10.** Parámetros al inicio vs pérdida de peso después de 2 años para los 3 grupos estudiados

Grupo 1.- Pérdida de peso <5% (n = 23)

Grupo 2.- Pérdida de peso ≥ 5- <10% (n = 22)

Grupo 3.- Pérdida de peso ≥10% (n = 22).

Las mujeres que perdieron más del 5% de su peso corporal redujeron significativamente su la pérdida de Kg de peso y en consecuencia se observó un idéntico comportamiento como cabe esperar en el IMC.

En cuanto al perímetro de cintura, se determinó que para que hubiera una disminución significativa del mismo, se produjo a partir de la pérdida superior al 5% del peso corporal de las participantes.

Sin embargo a pesar de toda la intervención no observamos ningún cambio significativo en cuanto a presión arterial.

Tras este período de 3 meses desde el inicio de la intervención, la pérdida de peso fue más gradual: 1.9 kg más durante el primer año y 0.9 kg más durante el segundo año. La pérdida media total de peso al final del estudio fue de 8.3 kg. En la figura 10 se recogen la evolución de pérdida de peso (A) e IMC (B) por grupos.

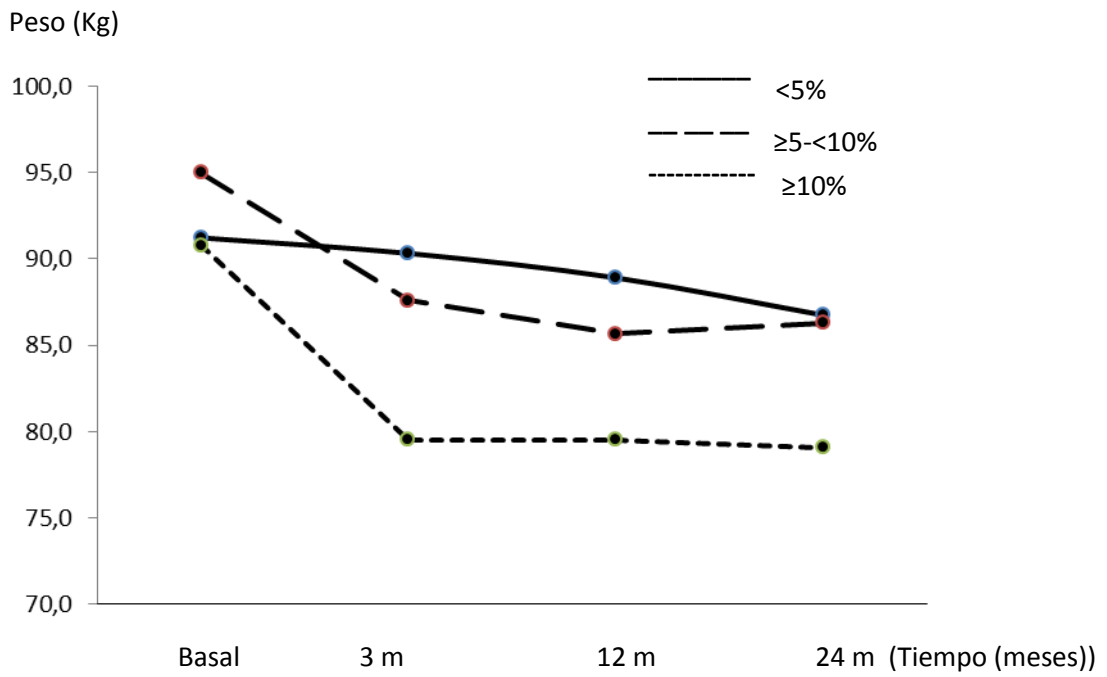
El grupo 1 pierde menos peso y por tanto menos IMC al principio, pero lo hace de manera más gradual y constante, apreciándose un descenso más pronunciado en el último tramo del programa.

El grupo 2, pierde mucho peso e IMC en los primeros 3 meses de la intervención; estabilizándose al año y llega a igualarse al final del estudio con el grupo 1.

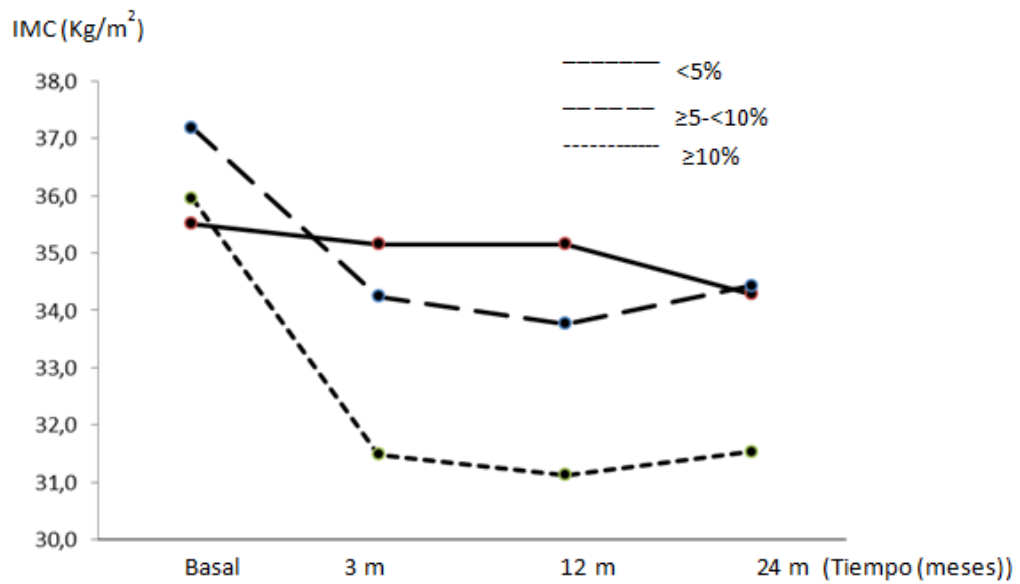
Por último el grupo 3, es el que más peso e IMC pierde de todas las participantes. A los 3 meses de comienzo el descenso es el más pronunciado, sin embargo a los 12 y 24 meses se estabiliza y no se produce casi ninguna modificación más en el cambio de peso e IMC.

Finalmente apreciamos en ambas figuras que la pérdida de peso e IMC en el grupo 1 y 2 es prácticamente la misma a los 24 meses de la intervención y sobre todo en el grupo 3 apreciamos que el máximo descenso de peso se produce en los 3 primeros meses del programa.

**A**



**B**



**Figura 10.** Evolución de la pérdida de peso corporal (A) and del IMC (B) según los diferentes grupos de población OMS



## INTERVENCION.

Cuando la adherencia a la intervención prescrita, existe una asociación positiva entre la adherencia a la dieta mediterránea y la cantidad de peso perdido. Al inicio del estudio, todos los grupos (<5%, ≥5% - <10% y ≥10%) mostraron niveles moderados de adherencia a la dieta mediterránea sin diferencias significativas entre ellos ( $8.0 \pm 2.2$ ,  $7.0 \pm 1.8$  y  $7.2 \pm 2.3$  puntos, respectivamente,  $p = 0.1$ ), sin embargo, después de dos años, la adherencia varió de acuerdo con el nivel de pérdida de peso. Los grupos con mayor pérdida de peso presentaban una adherencia a la dieta mayor que el grupo con menor pérdida de peso (pérdida de peso <5%:  $8.8 \pm 1.8$  puntos; pérdida de peso ≥5% - <10%:  $9.5 \pm 1.4$  puntos; pérdida de peso ≥10%:  $10.7 \pm 2.0$  puntos;  $p = 0.004$ , entre la pérdida de peso <5%: y la pérdida de peso ≥10%).

Por otro lado, al comienzo del estudio, las participantes realizaban actividad física ligera (53.6% de las participantes), moderada (30.4%) y vigorosa (16.1%). Sin embargo, tras 2 años de entrenamiento con el monitor, estos niveles de actividad física cambiaron, el 16.0% de los participantes realizaban actividad ligera, el 42.9%, actividad moderada y el 41.1%, actividad vigorosa. Esta actividad física, en los diferentes grupos de pérdida de peso durante el estudio se resume en la Tabla 11.

	Todos Basal	Todos 2 años	p	Grupo Pérdida peso	Basal	2 Años	p
<b>Sedentarismo o Nivel Ligero (%)</b> RAPA=1-3 puntos	53.5	16.0	0.001	<5%	50.0	22.7	0.01
				≥ 5-<10%	55.6	23.1	0.002
				≥10%	56.7	4.8	<0.0001
<b>Nivel Moderado (%)</b> RAPA=4-5 puntos	30.4	42.9	0.002	<5%	34.8	54.5	0.006
				≥ 5-<10%	29.6	38.5	0.07
				≥10%	20.0	33.3	0.01
<b>Nivel Alto (%)</b> RAPA=6-7 puntos	16.1	41.1	0.003	<5%	15.2	22.7	0.01
				≥ 5-<10%	14.8	38.5	0.006
				≥10%	23.3	61.9	<0.0001

**Tabla 11.** Niveles de actividad física, basal y después de 2 años con intervención dietética según el porcentaje de pérdida de peso. Grupo 1.- Pérdida de peso <5% (n = 23); Grupo 2.- Pérdida de peso ≥ 5- <10% (n = 22); Grupo 3.- Pérdida de peso ≥10% (n = 22).

En cuanto a los niveles lipoproteicos encontramos que tras 2 años de intervención, la concentración de VLDL-C, IDL-C y LDL-C disminuyeron significativamente. La concentración de VLDL-C disminuyó significativamente en las participantes del grupo 2 y grupo 3 ( $10.2 \pm 8.1$  vs  $3.4 \pm 3.8$  mg / dL,  $p = 0.001$ ; y  $9.0 \pm 6.6$  vs  $5.2 \pm 5.3$  mg / dL,  $p = 0.03$ ; respectivamente). La concentración de IDL-C se vio disminuida ( $7.4 \pm 3.9$  vs  $6.1 \pm 3.3$  mg / dL,  $p < 0.0008$ ), sin embargo esto sólo ocurrió en las participantes perdieron peso de forma moderada, es decir en los grupos 1 y 2 ( $8.0 \pm 4.4$  vs  $6.7 \pm 3.9$  mg / dL,  $p = 0.006$ ; y  $6.7 \pm 3.2$  vs  $4.0 \pm 2.5$  mg / dL,  $p = 0.007$ ; respectivamente). A pesar de estos resultados, el LDL-C en las mujeres que perdieron menos de un 5% de su peso corporal aumento una pequeñísima cantidad ( $116.0 \pm 25.7$  vs.  $116.3 \pm 28.5$  mg / dL,  $p = 0.01$ ). No obstante en el conjunto de todas las participantes bajó la concentración de LDL-C de forma significativa ( $114.5 \pm 23.3$  vs.  $112.3 \pm 23.1$  mg / dL,  $p = 0.01$ ).

Por último, el HDL unido al colesterol disminuyó sólo en el primer grupo ( $55.0 \pm 13.8$  vs.  $53.2 \pm 9.6$  mg / dL,  $p = 0.04$ ).

Por otro lado en cuanto a las fracciones lipoproteicas unidas a triglicéridos, se contempló que se produjo una importante disminución significativa en la fracción de IDL ( $9.4 \pm 3.4$  vs.  $8.6 \pm 2.5$  mg / dL,  $p = 0.01$ ); siendo los 2 primeros grupos en los cuales se produjo disminución de esta fracción ( $9.9 \pm 3.9$  vs  $9.1 \pm 2.9$  mg / dL,  $p = 0.02$ ; y  $9.0 \pm 2.8$  vs  $6.9 \pm 2.2$  mg / dL,  $p = 0.007$ ; respectivamente). La fracción de LDL se vió afectada sólo en los dos primeros grupos, produciéndose descensos de las mismas ( $17.0 \pm 5.3$  vs.  $14.1 \pm 5.5$  mg / dL,  $p = <0.0001$ ; y  $14.7 \pm 3.5$  vs.  $11.3 \pm 2.1$  mg / dL,  $p = 0.002$  respectivamente). La fracción de HDL disminuyó de forma importante en los 3 grupos de participantes ( $12.2 \pm 6.6$  vs  $8.0 \pm 4.8$  mg / dL,  $p = 0.0001$ ;  $10.2 \pm 4.0$  vs  $4.0 \pm 2.7$  mg / dL,  $p = 0.001$ ; y  $10.0 \pm 4.6$  vs  $7.8 \pm 3.4$  mg / dL,  $p = 0.04$ ; respectivamente). No obstante esto no se observó en el conjunto global de HDL unido a triglicéridos.

En el número de partículas de las diferentes lipoproteínas, se visualizó que en las de VLDL en el grupo 2 se observó una disminución significativa ( $34.0 \pm 20.3$  vs  $24.2 \pm 13.1$  nmol / L,  $p = 0.007$ )

Por otro lado, el LDL plasmático se redujo significativamente después de dos años de intervención en la población de estudio en general ( $814.1 \pm 168.6$  nmol / L vs.  $792.7 \pm 172.2$  nmol / L,  $p = 0.004$ ), en particular en mujeres OMS que perdieron  $<5\%$  y  $\geq 5\%$  -  $<10\%$  del peso corporal (grupo 1 y 2) ( $832.6 \pm 188.5$  nmol / L vs.  $823.2 \pm 213.7$  nmol / L,  $p = 0.004$ ;  $766.4 \pm 149.3$  nmol / L vs.  $722.0 \pm 108.8$  nmol / L,  $p = 0.01$ , respectivamente).

Paradójicamente, a pesar de esta disminución en el número de partículas aterogénicas, no hubo cambios en las partículas pequeñas de LDL que aumentan el riesgo cardiovascular, incluso en las mujeres OMS que perdieron más peso.

Al analizar el número de partículas de HDL, se observó que el tamaño de las partículas de HDL se redujo significativamente en toda la población de estudio ( $28.5 \pm 5.8 \mu\text{mol} / \text{L}$  vs.  $27.0 \pm 4.6 \mu\text{mol} / \text{L}$ ,  $p = 0.004$ ) y particularmente en las participantes del grupo 1 ( $28.4 \pm 6.5$  vs  $26.0 \pm 3.7 \mu\text{mol} / \text{L}$ ,  $p = 0.0004$ ).

Los tamaños de partículas también fueron analizados. Para la fracción de lipoproteína VLDL, solo las mujeres OMS del grupo 2 experimentaron una disminución significativa de VLDL, no solo en el número de partículas sino también en partículas de VLDL grandes, medianas y pequeñas ( $1.1 \pm 0.6$  vs  $0.7 \pm 0.3 \text{ nmol} / \text{L}$ ,  $p = 0.002$ ;  $5.2 \pm 3.0$  vs  $3.6 \pm 1.9 \text{ nmol} / \text{L}$ ,  $p = 0.005$ ; y  $27.7 \pm 16.8$  vs  $19.9 \pm 10.9 \text{ nmol} / \text{L}$ ,  $p = 0.007$ ; respectivamente).

Las partículas de VLDL medianas y grandes disminuyeron significativamente en la población total del estudio ( $5.3 \pm 3.1$  vs.  $4.9 \pm 3.4 \text{ nmol} / \text{L}$ ,  $p = 0.01$ ,  $1.1 \pm 0.6$  vs.  $0.9 \pm 0.6 \text{ nmol} / \text{L}$ ,  $p = 0.001$ , respectivamente).

En cuanto la fracción de LDL, solo disminuyeron de forma significativa en las partículas de tamaño medio, sin embargo esto se vio reflejado en los 3 grupos de pérdida de peso ( $308.9 \pm 74.2$  vs  $277.5 \pm 75.7 \text{ nmol} / \text{L}$ ,  $p = 0.0006$ ;  $282.7 \pm 57.9$  vs  $251.7 \pm 36.6 \text{ nmol} / \text{L}$ ,  $p = 0.003$ ; y  $314.2 \pm 64.1$  vs  $287.0 \pm 57.8 \text{ nmol} / \text{L}$ ,  $p = 0.04$ ; respectivamente).

En las lipoproteínas de HDL, notamos una disminución significativa en la concentración total de partículas de HDL medianas, ( $8,9 \pm 2,2$  vs.  $8,6 \pm 1,8$   $\mu\text{mol} / \text{L}$ ,  $p = 0.01$ ); mientras que la concentración total de partículas pequeñas de HDL, disminuyeron significativamente ( $19.4 \pm 3.8$   $\mu\text{mol} / \text{L}$  vs.  $18.3 \pm 2.9$   $\mu\text{mol} / \text{L}$ ,  $p = 0.004$ ).

Sólo descendió el HDL en las participantes del grupo 1 tanto en las partículas de tamaño mediano como pequeño ( $8.8 \pm 2.5$  vs  $8.0 \pm 1.7$   $\mu\text{mol} / \text{L}$ ,  $p = 0.0006$ ;  $19.4 \pm 4.2$  vs  $17.8 \pm 2.4$   $\mu\text{mol} / \text{L}$ ,  $p = 0.001$ ; respectivamente)

	Grupo		2 Años		p
	<5%	≥ 5-<10%	Basal	2 Años	
<b>VLDL TG (mg/dL)</b>	<5%	≥ 5-<10%	56.8 ± 32.9	67.0 ± 41.9	0.49
	≥ 5-<10%	≥ 10%	51.4 ± 27.9	40.0 ± 19.5	0.007
	≥ 10%	TODOS	44.6 ± 23.4	42.1 ± 19.8	0.59
	TODOS		51.8 ± 29.3	51.4 ± 32.5	0.17
<b>IDL TG (mg/dL)</b>	<5%	≥ 5-<10%	9.9 ± 3.9	9.1 ± 2.9	0.02
	≥ 5-<10%	≥ 10%	9.0 ± 2.8	6.9 ± 2.2	0.007
	≥ 10%	TODOS	9.1 ± 3.0	9.1 ± 1.9	0.41
	TODOS		9.4 ± 3.4	8.6 ± 2.5	0.01
<b>LDL TG (mg/dL)</b>	<5%	≥ 5-<10%	17.0 ± 5.3	14.1 ± 5.5	<0.0001
	≥ 5-<10%	≥ 10%	14.7 ± 3.5	11.3 ± 2.1	0.002
	≥ 10%	TODOS	16.4 ± 4.6	15.4 ± 3.9	0.41
	TODOS		16.2 ± 4.7	13.9 ± 4.5	1.34
<b>HDL TG (mg/dL)</b>	<5%	≥ 5-<10%	12.2 ± 6.6	8.0 ± 4.8	0.0001
	≥ 5-<10%	≥ 10%	10.2 ± 4.0	4.0 ± 2.7	0.001
	≥ 10%	TODOS	10.0 ± 4.6	7.8 ± 3.4	0.04
	TODOS		11.0 ± 5.5	7.0 ± 4.1	5.67

Tabla 12 A

	Grupo		2 Años		p
	<5%	≥ 5-<10%	Basal	2 Años	
<b>VLDL Colesterol (mg/dL)</b>	<5%	≥ 5-<10%	12.1 ± 9.6	10.6 ± 10.8	0.07
	≥ 5-<10%	≥ 10%	10.2 ± 8.1	3.4 ± 3.8	0.001
	≥ 10%	TODOS	9.0 ± 6.6	5.2 ± 5.3	0.03
	TODOS		10.7 ± 8.4	6.9 ± 8.2	<0.0001
<b>IDL Colesterol (mg/dL)</b>	<5%	≥ 5-<10%	8.0 ± 4.4	6.7 ± 3.9	0.006
	≥ 5-<10%	≥ 10%	6.7 ± 3.2	4.0 ± 2.5	0.007
	≥ 10%	TODOS	7.3 ± 3.6	6.7 ± 2.6	0.8
	TODOS		7.4 ± 3.9	6.1 ± 3.3	<0.0008
<b>LDL Colesterol (mg/dL)</b>	<5%	≥ 5-<10%	116 ± 25.7	116.3 ± 28.5	0.01
	≥ 5-<10%	≥ 10%	108.3 ± 20.9	103.9 ± 15.3	0.06
	≥ 10%	TODOS	117.6 ± 21.3	113.3 ± 20.2	0.91
	TODOS		114.5 ± 23.3	112.3 ± 23.1	0.01
<b>HDL Colesterol (mg/dL)</b>	<5%	≥ 5-<10%	55.0 ± 13.8	53.2 ± 9.6	0.04
	≥ 5-<10%	≥ 10%	58.2 ± 11.2	61.0 ± 10.9	0.07
	≥ 10%	TODOS	57.4 ± 11.5	59.0 ± 11.1	0.36
	TODOS		56.5 ± 12.5	57.2 ± 10.8	0.71

Tabla 12 B

Tabla 12 C

Número de Partícula	Grupo		p	
	Basal	Tras 2 Años de MEV		
<b>VLDL (nmol/L)</b>	<5%	37.7 ± 23.8	43.9 ± 29.8	0.61
	≥ 5-<10%	34.0 ± 20.3	24.2 ± 13.1	0.007
	≥10%	29.2 ± 17.0	26.0 ± 14.1	0.32
	TODOS	34.2 ± 21.2	32.6 ± 23.1	0.07
<b>LDL (nmol/L)</b>	<5%	832.6 ± 188.5	823.2 ± 213.7	0.004
	≥ 5-<10%	766.4 ± 149.3	722.0 ± 108.8	0.01
	≥10%	828.4 ± 148.1	804.3 ± 148.6	0.82
	TODOS	814.1 ± 168.6	792.7 ± 172.2	0.004
<b>HDL (µmol/L)</b>	<5%	28.4 ± 6.5	26.0 ± 3.7	0.0004
	≥ 5-<10%	28.8 ± 5.1	27.3 ± 4.6	0.22
	≥10%	28.3 ± 5.5	27.9 ± 5.3	0.82
	TODOS	28.5 ± 5.8	27.0 ± 4.6	0.004

Número de partículas	Grupo		p	
	Basal	Tras 2 Años de MEV		
<b>Número de partículas Grandes LDL (nmol/L)</b>	<5%	116.9 ± 24.8	121.4 ± 31.7	0.36
	≥ 5-<10%	110.6 ± 21.4	107.4 ± 15.2	0.38
	≥10%	121.0 ± 22.8	118.0 ± 19.9	0.66
	TODOS	116.4 ± 23.5	116.9 ± 24.7	0.50
<b>Número de partículas Medianas LDL (nmol/L)</b>	<5%	308.9 ± 74.2	277.5 ± 75.7	0.0006
	≥ 5-<10%	282.7 ± 57.9	251.7 ± 36.6	0.003
	≥10%	314.2 ± 64.1	287.0 ± 57.8	0.04
	TODOS	303.6 ± 67.9	275.1 ± 62.3	<0.0001
<b>Número de partículas Pequeñas LDL (nmol/L)</b>	<5%	406.9 ± 96.7	424.3 ± 122.7	0.53
	≥ 5-<10%	373.1 ± 75.8	362.9 ± 62.2	0.22
	≥10%	393.2 ± 68.1	399.3 ± 76.1	0.11
	TODOS	394.0 ± 84.2	400.7 ± 91.4	0.96

Número de partículas	Grupo		p	
	Basal	Tras 2 Años de MEV		
<b>Número de partículas Grandes VLDL (nmol/L)</b>	<5%	1.2 ± 0.7	1.2 ± 0.7	0.15
	≥ 5-<10%	1.1 ± 0.6	0.7 ± 0.3	0.002
	≥10%	1.0 ± 0.5	0.8 ± 0.4	0.22
	TODOS	1.1 ± 0.6	0.9 ± 0.6	0.001
<b>Número de partículas Medianas VLDL (nmol/L)</b>	<5%	5.9 ± 3.5	6.4 ± 4.4	0.75
	≥ 5-<10%	5.2 ± 3.0	3.6 ± 1.9	0.005
	≥10%	4.5 ± 2.4	4.0 ± 2.1	0.35
	TODOS	5.3 ± 3.1	4.9 ± 3.4	0.01
<b>Número de partículas Pequeñas VLDL (nmol/L)</b>	<5%	30.5 ± 19.6	36.4 ± 24.7	0.45
	≥ 5-<10%	27.7 ± 16.8	19.9 ± 10.9	0.007
	≥10%	23.7 ± 14.1	21.1 ± 11.6	0.32
	TODOS	27.8 ± 17.5	26.8 ± 19.2	0.10

Tabla 12 E

Grupo	Basal	2 Años de MEV		p
		Basal	Tras	
Número de partículas Grandes HDL (µmol/L)	<5%	0.2 ± 0.2	0.2 ± 0.1	0.91
	≥ 5-<10%	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.01
	≥10%	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.50
	TODOS	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.16
Número de partículas Medianas HDL (µmol/L)	<5%	8.8 ± 2.5	8.0 ± 1.7	0.0006
	≥ 5-<10%	9.2 ± 1.9	8.8 ± 1.6	0.27
	≥10%	9.0 ± 2.1	9.1 ± 2.0	0.86
	TODOS	8.9 ± 2.2	8.6 ± 1.8	0.01
Número de partículas Pequeñas HDL (µmol/L)	<5%	19.4 ± 4.2	17.8 ± 2.4	0.001
	≥ 5-<10%	19.4 ± 3.3	18.4 ± 3.1	0.17
	≥10%	19.2 ± 3.5	18.7 ± 3.4	0.93
	TODOS	19.4 ± 3.8	18.3 ± 2.9	0.004

Tabla 12 F

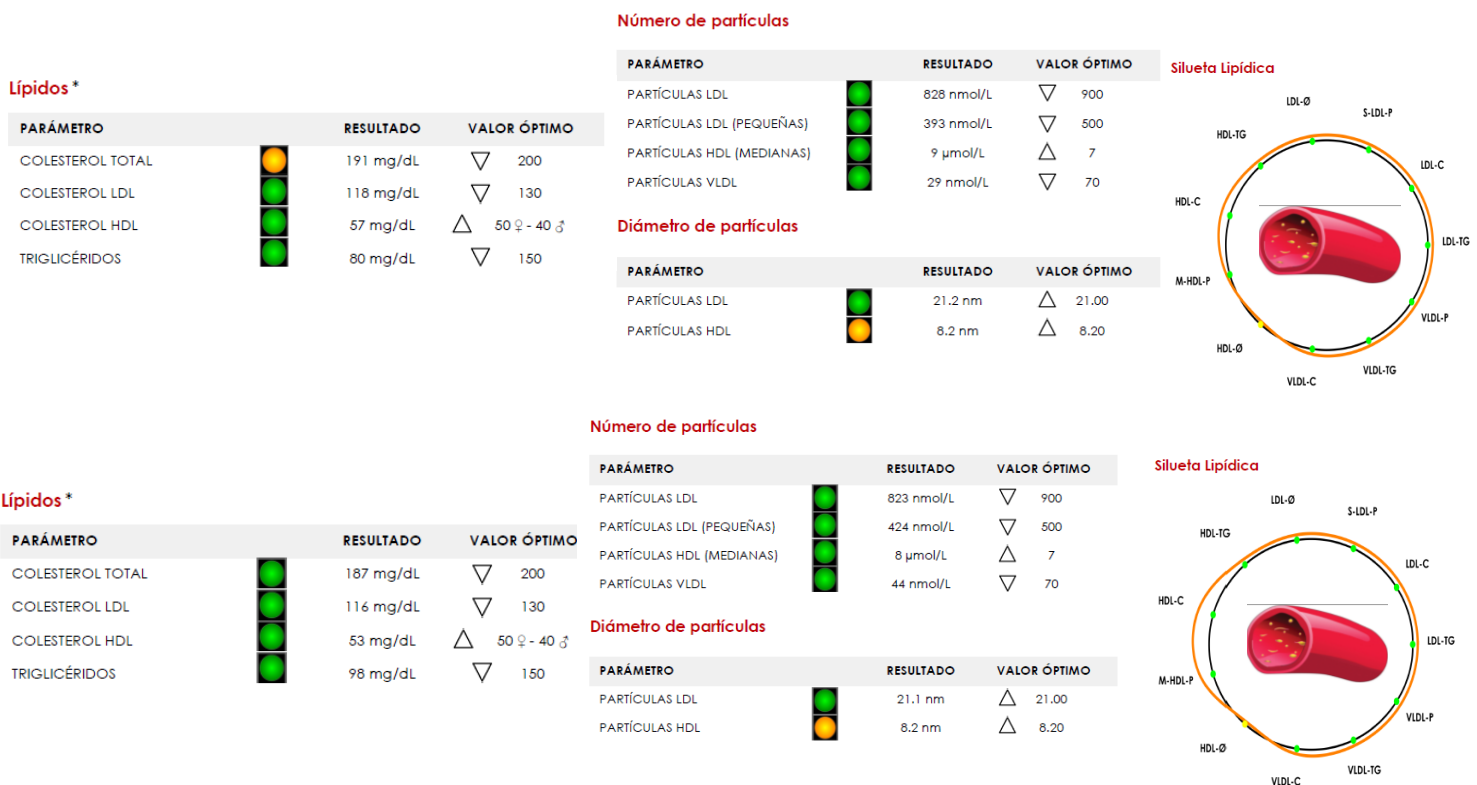
Grupo	Basal	2 Años de MEV		p
		Basal	Tras	
Tamaño VLDL (Å)	<5%	42.8 ± 0.4	42.3 ± 0.2	0.91
	≥ 5-<10%	42.7 ± 0.5	42.5 ± 0.3	0.50
	≥10%	42.8 ± 0.4	42.7 ± 0.4	0.50
	TODOS	42.8 ± 0.4	42.5 ± 0.4	0.0001
Tamaño LDL (Å)	<5%	21.2 ± 0.1	21.1 ± 0.1	0.0001
	≥ 5-<10%	21.2 ± 0.1	21.2 ± 0.1	0.51
	≥10%	21.2 ± 0.1	21.2 ± 0.1	0.35
	TODOS	21.2 ± 0.1	21.2 ± 0.1	0.003
Tamaño HDL (Å)	<5%	8.2 ± 0.0	8.2 ± 0.0	0.06
	≥ 5-<10%	8.2 ± 0.0	8.2 ± 0.0	0.15
	≥10%	8.2 ± 0.0	8.2 ± 0.0	0.008
	TODOS	8.2 ± 0.0	8.2 ± 0.0	0.79
Número de Partícula No-HDL (nmol/L)	<5%	841.9 ± 196.6	841.2 ± 223.0	0.004
	≥ 5-<10%	771.6 ± 159.3	719.0 ± 117.6	0.01
	≥10%	829.3 ± 152.1	802.3 ± 150.9	0.98
	TODOS	819.8 ± 76.0	798.3 ± 180.3	0.001
Ratio Total Número Partículas/Número de Partícula HDL	<5%	32.1 ± 10.2	34.3 ± 10.7	0.07
	≥ 5-<10%	28.8 ± 8.5	28.1 ± 6.8	0.57
	≥10%	31.4 ± 8.6	30.5 ± 6.6	0.78
	TODOS	31.1 ± 9.4	31.4 ± 8.7	0.35
Ratio Número particular LDL /Número Partícula HDL	<5%	30.7 ± 9.8	32.5 ± 10.1	0.07
	≥ 5-<10%	27.6 ± 8.0	27.2 ± 6.4	0.97
	≥10%	30.4 ± 8.4	29.5 ± 6.4	0.94
	TODOS	29.8 ± 9.0	30.2 ± 8.2	0.33

Tabla 12 G

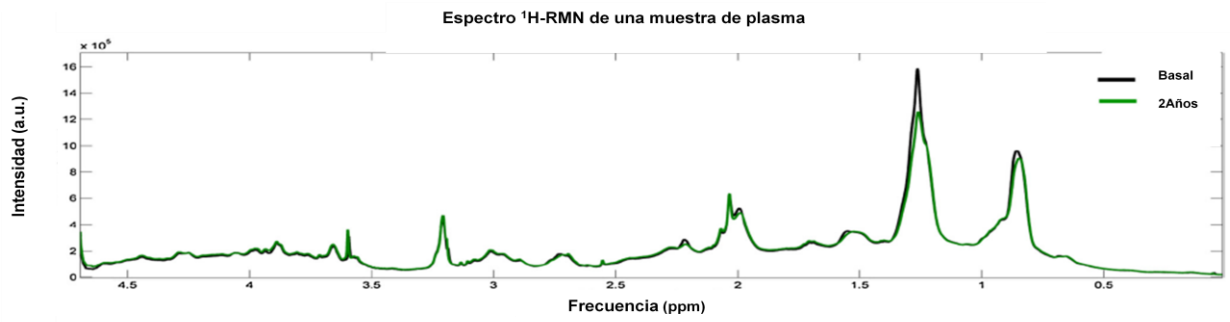


**Tabla 12.** Caracterización del perfil lipídico por espectroscopía de resonancia magnética nuclear (<sup>1</sup>H-RMN), basal y después de 2 años con intervención dietética según el porcentaje de pérdida de peso. Grupo 1. Pérdida de peso <5% (n = 23), Grupo 2. Pérdida de peso ≥ 5- <10% (n = 22), Grupo 3. Pérdida de peso ≥10% (n = 22). **A.** Concentración de lipoproteínas unidas a triglicéridos. **B.** Concentración de lipoproteínas unidas a colesterol. **C.** Número de partículas totales de lipoproteínas. **D.** Número de partículas en tamaños de LDL. **E.** Número de partículas en tamaños de VLDL. **F.** Número de partículas en tamaños de HDL. **G.** Tamaños de partículas medios y Ratios.

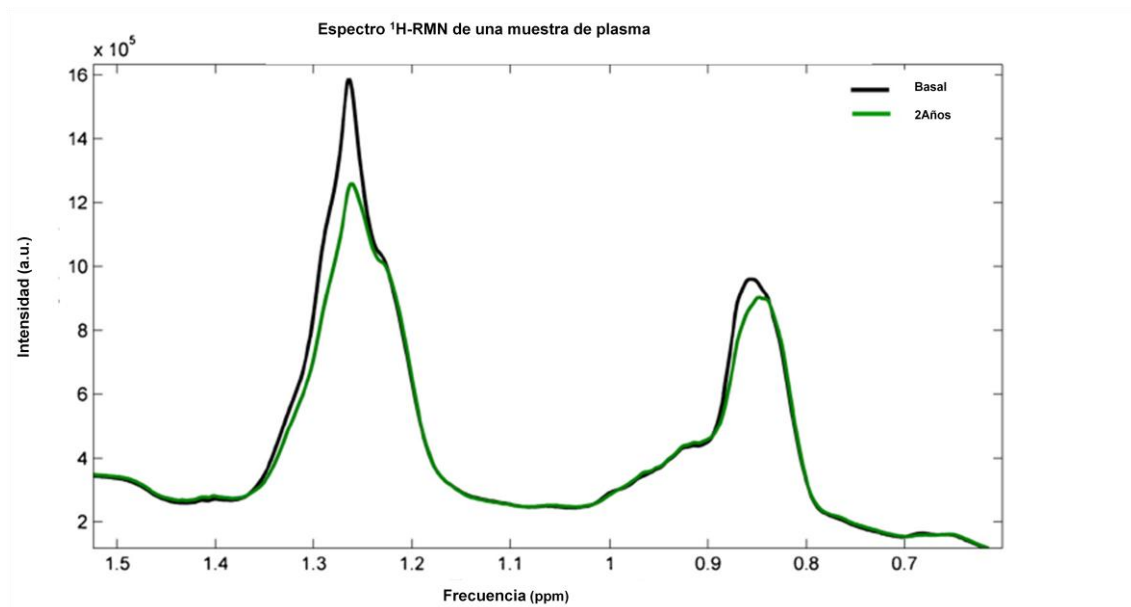
Tras finalizar la intervención sobre la modificación de estilo de vida en nuestra población de mujeres OMS y tras obtener las siluetas lipídicas, observamos que todas las participantes mantienen niveles lipoproteicos dentro del rango de la normalidad (Figura 11.A)



**Figura 11.A** Siluetas lipídicas y espectros mostrando los niveles lipoproteicos obtenidos por espectroscopía de resonancia magnética nuclear (<sup>1</sup>H-RMN)



**Figura 11.B** Espectro mostrando los niveles lipoproteicos obtenidos por espectroscopía de resonancia magnética nuclear ( $^1\text{H}$ -RMN) a los 2 años de intervención



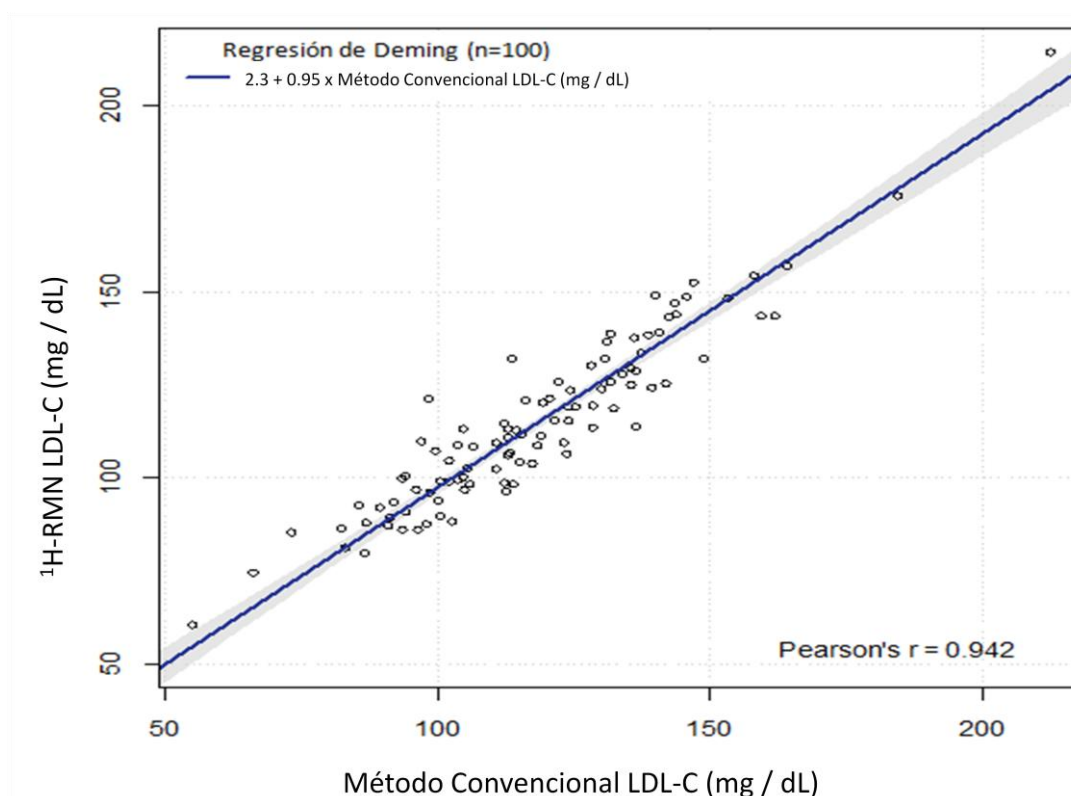
**Figura 11.B** Espectro ampliado de la región de lipoproteínas mostrando los niveles lipoproteicos obtenidos por espectroscopía de resonancia magnética nuclear ( $^1\text{H}$ -RMN) a los 2 años de intervención.

### 6.3 Comparación de técnicas mediante perfil convencional y perfil avanzando de lipoproteínas mediante $^1\text{H-RMN}$ .

Otro de los objetivos de este trabajo fue comparar un nuevo método de medida del perfil lipídico,  $^1\text{H-RMN}$ , frente a los métodos convencionales. Esta comparativa se llevó a cabo tanto a los 3 meses desde el inicio de la MEV como al final el estudio a los 2 años.

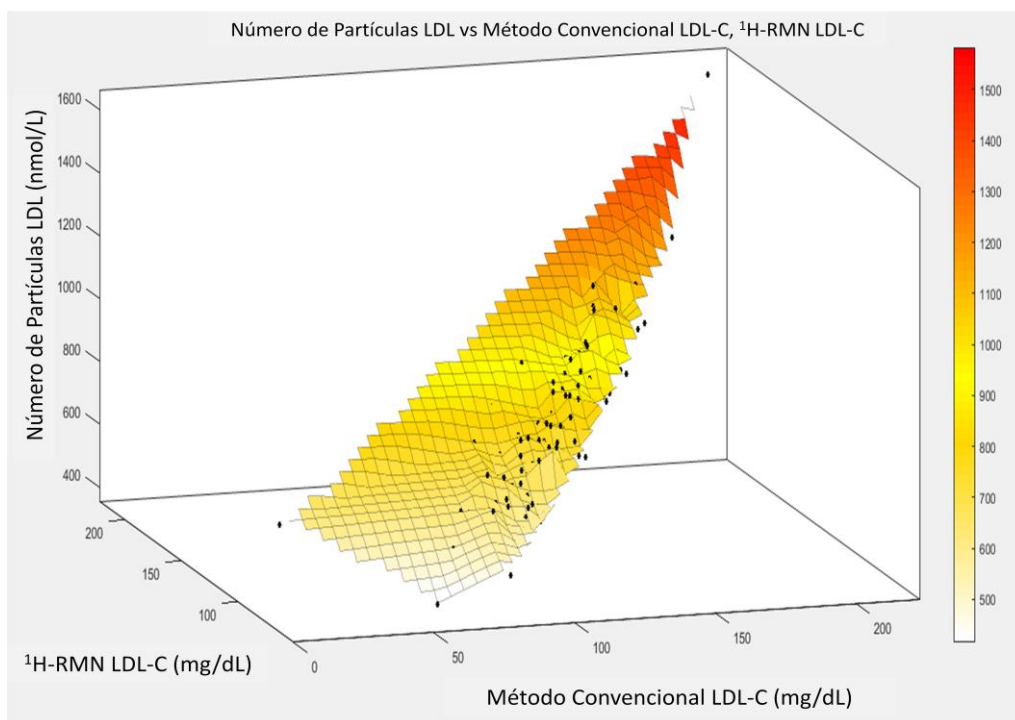
#### 6.3.1 Perfil de lipídico convencional frente a $^1\text{H-RMN}$ al inicio del estudio

La línea de regresión de Deming es un modelo estadístico que intenta de ajustar de la mejor forma posible datos de 2 variables, por tanto se considera un caso particular del modelo de mínimos cuadrados. En la Figura 12, se comparó la correlación de ambas técnicas calculando una línea recta ( $2.3 + 0.95 \times \text{Método Convencional LDL-C}$  (mg / dL)) y un coeficiente de correlación de Pearson;  $r = 0.942$

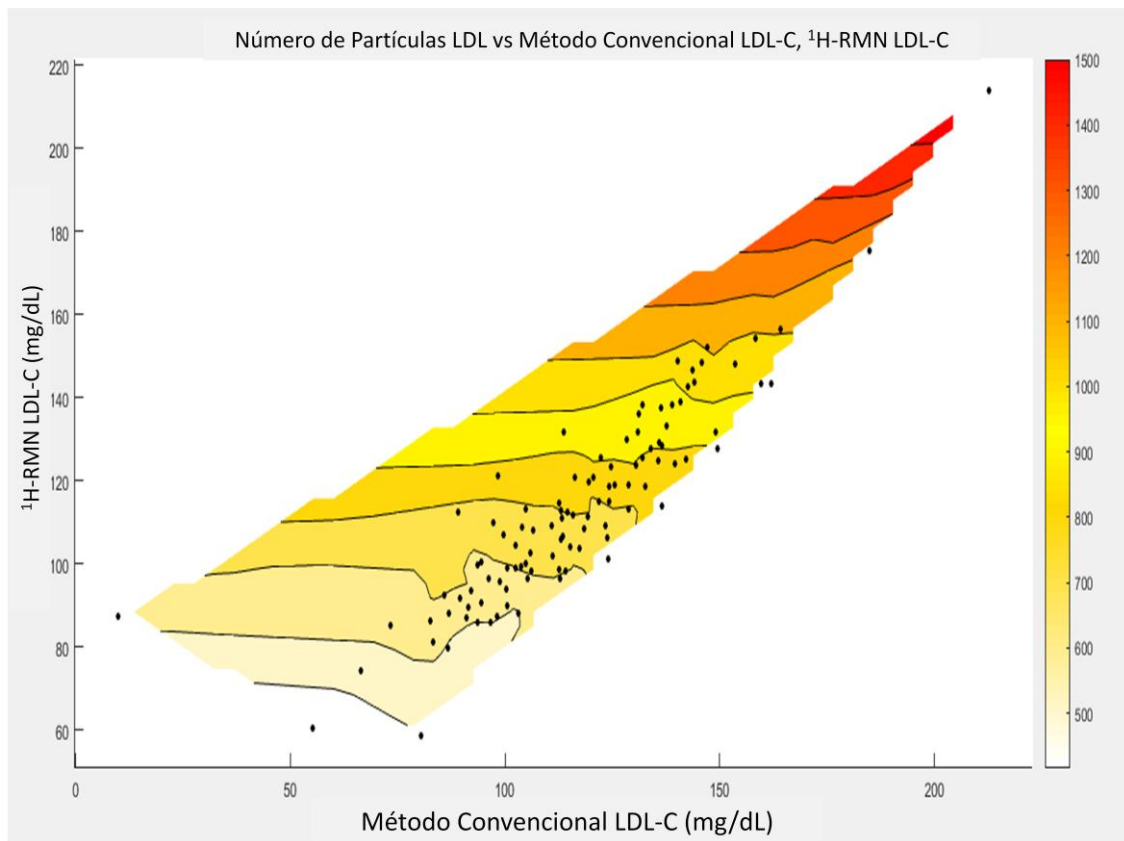


**Figura 12.** Regresión basal Deming LDL-C

Las Figuras 13 A y 13 B muestran las diferencias del método con respecto al número de partículas de LDL calculadas en nmol/l.



**Figura 13 A.** Visión Tridimensional Basal entre el Número de Partícula LDL, por <sup>1</sup>H-RMN y método convencional de LDL-C



**Figura 13 B.** Visión aplanada Tridimensional Basal entre el Número de Partícula LDL, por  $^1\text{H-RMN}$  y método convencional de LDL-C.

Para las partículas de HDL, el análisis de Deming calculó la línea recta  $(-3.34 + 1.05 \times \text{Método convencional HDL})$  y un coeficiente de correlación  $r$  de Pearson = 0.909 (Figura 14).

### Regresión de Deming

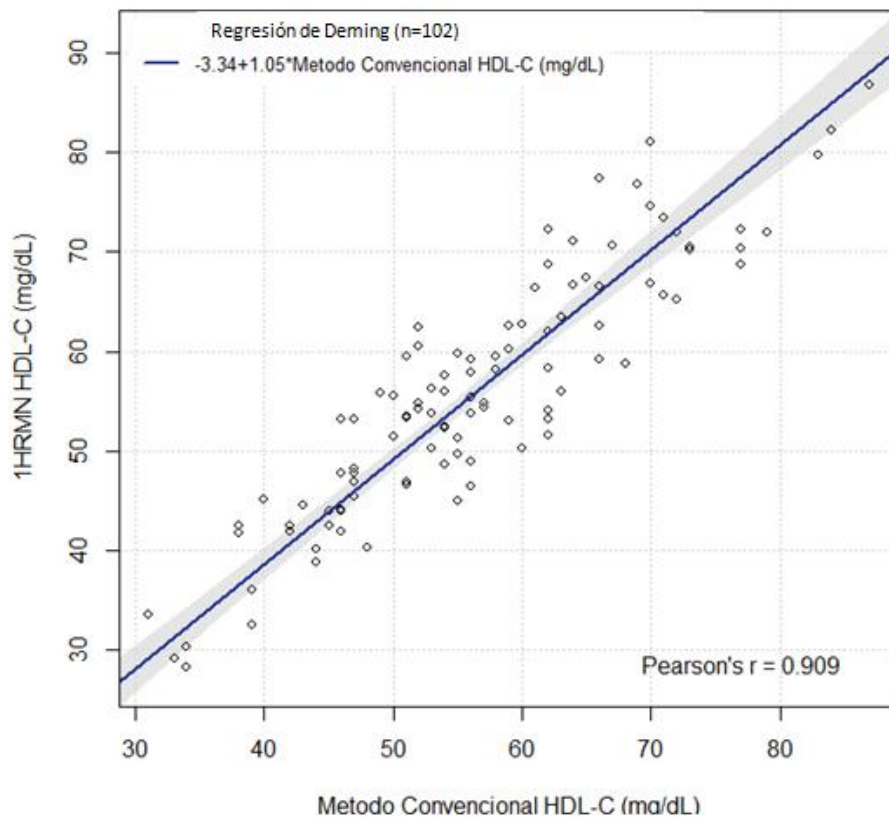
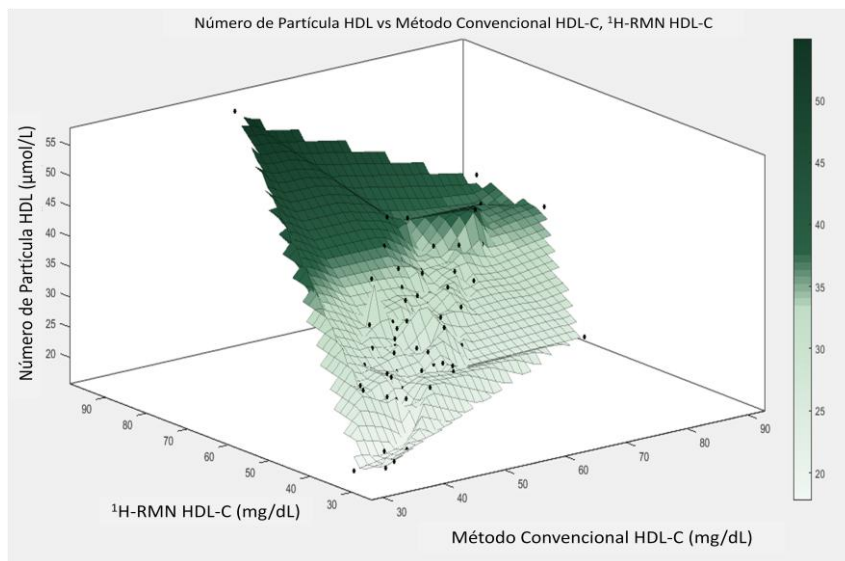
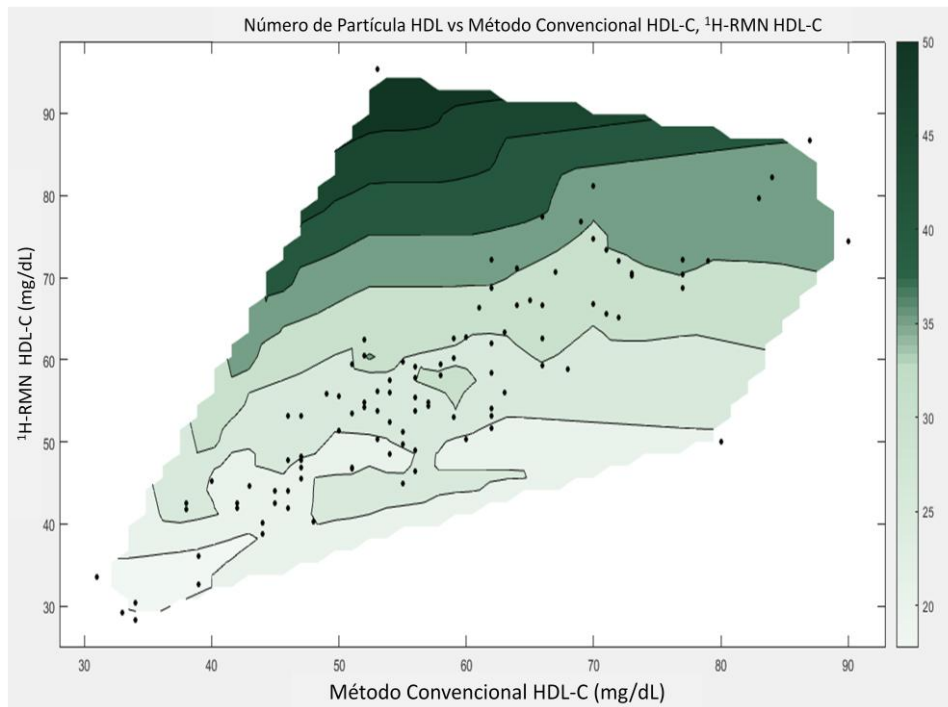


Figura 14. Regresión basal Deming HDL-C

Las Figuras 15 A y 15 B muestran las diferencias del método con respecto al número de partículas de HDL calculadas en  $\mu\text{mol} / \text{L}$ .



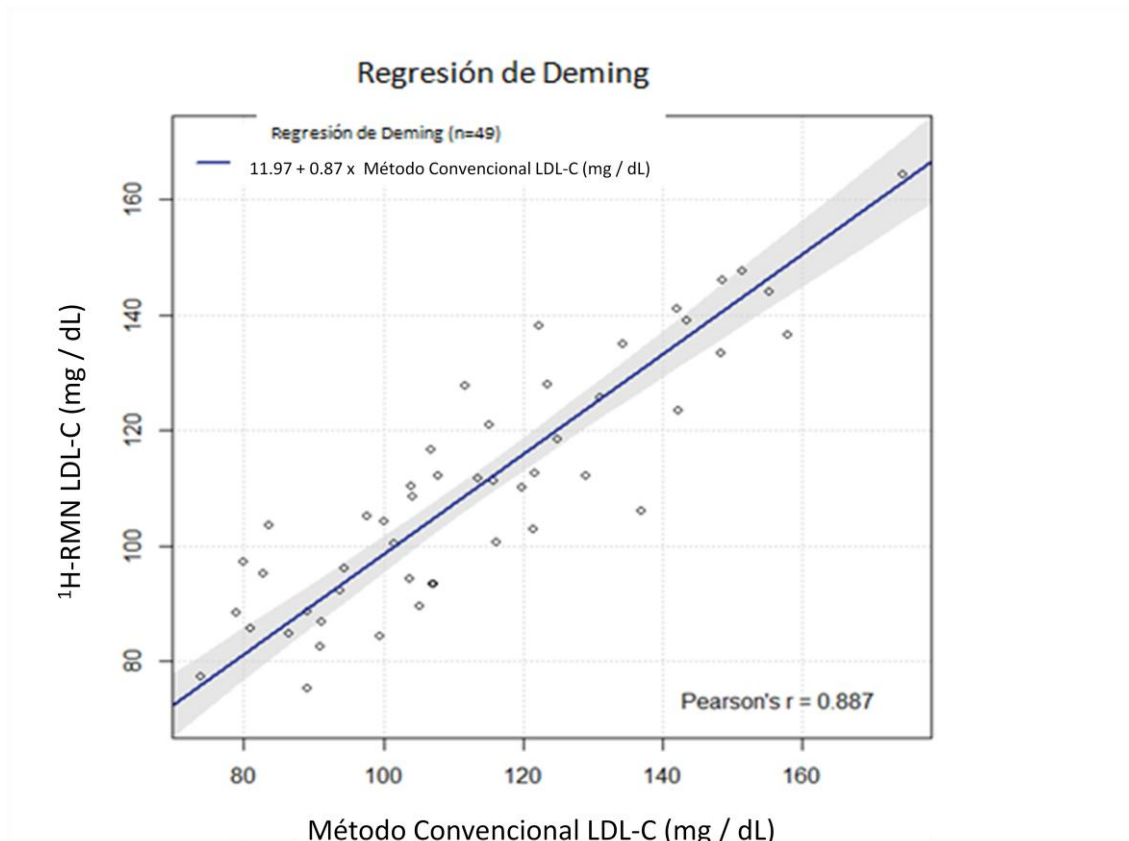
**Figura 15 A.** Visión Tridimensional Basal entre el Número de Partícula HDL, por <sup>1</sup>H-RMN y método convencional de HDL-C.



**Figura 15 B.** Visión aplanada Tridimensional Basal entre el Número de Partícula HDL, por <sup>1</sup>H-RMN y método convencional de HDL-C

### 6.3.2 Perfil lipídico convencional frente a <sup>1</sup>H-NMR tras 2 años de modificación de estilo de vida

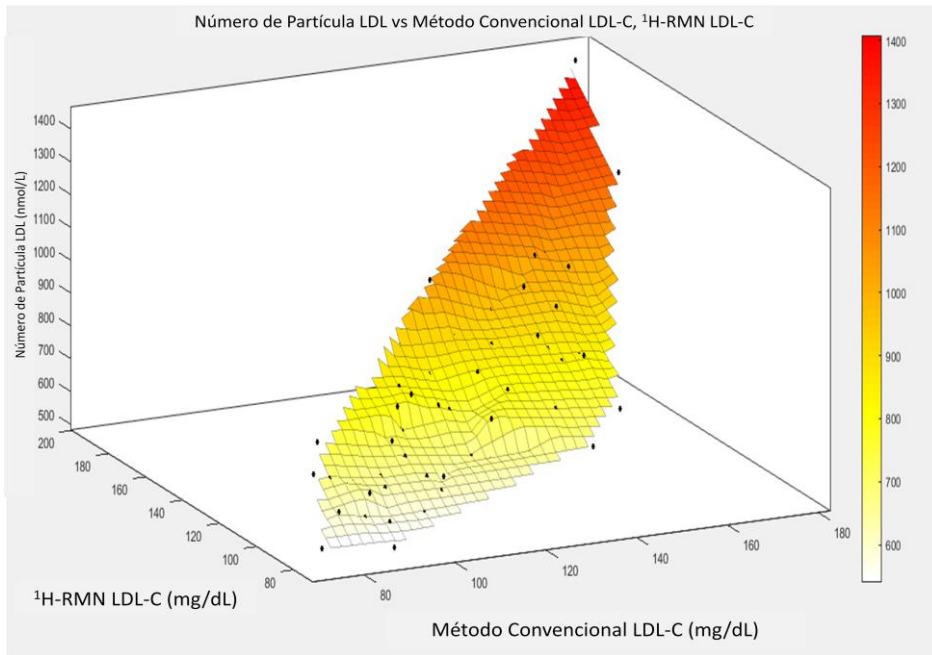
La línea de regresión de Deming se calculó para lipoproteínas de baja densidad ( $11.97 + 0.87 \times \text{Método Convencional LDL-C}$ ) y un coeficiente de correlación de Pearson  $r = 0.887$  (Figura 16).



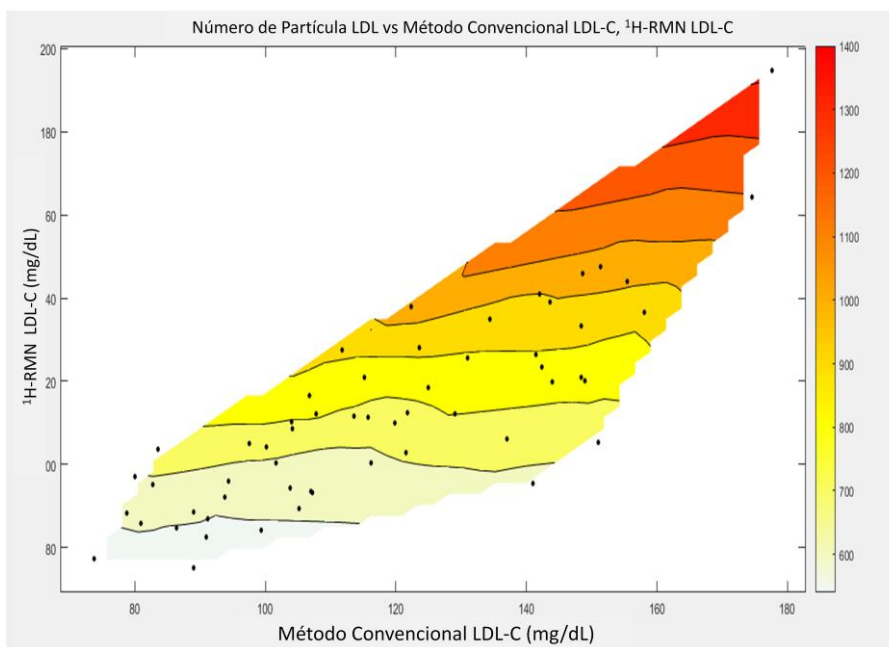
**Figura 16.** Regresión basal Deming LDL-C

En la Figura 17 A y B, las diferencias del método se trazaron contra el cálculo del número de partículas de LDL medidas en nmol / l tras 2 años de intervención.



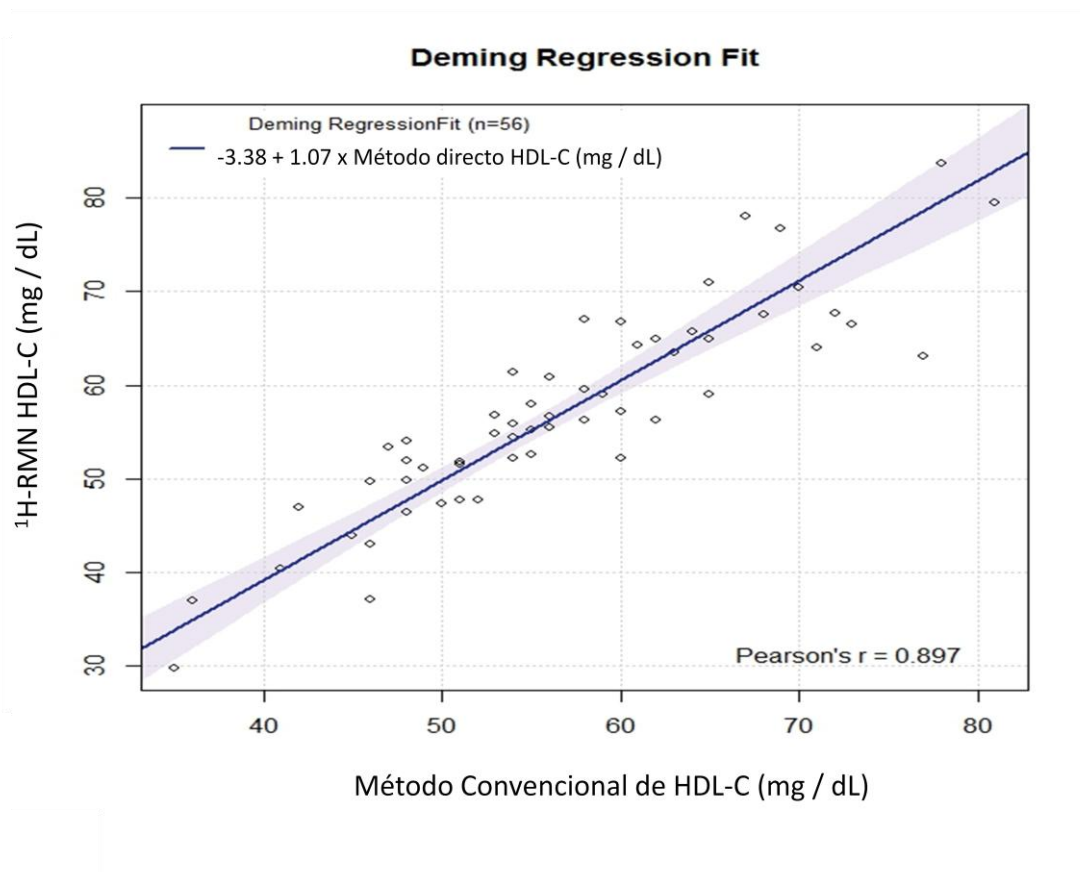


**Figura 17 A.** Visión Tridimensional tras 2 años de MEV entre el Número de Partícula, LDL por  $^1\text{H-RMN}$  y método convencional de LDL-C



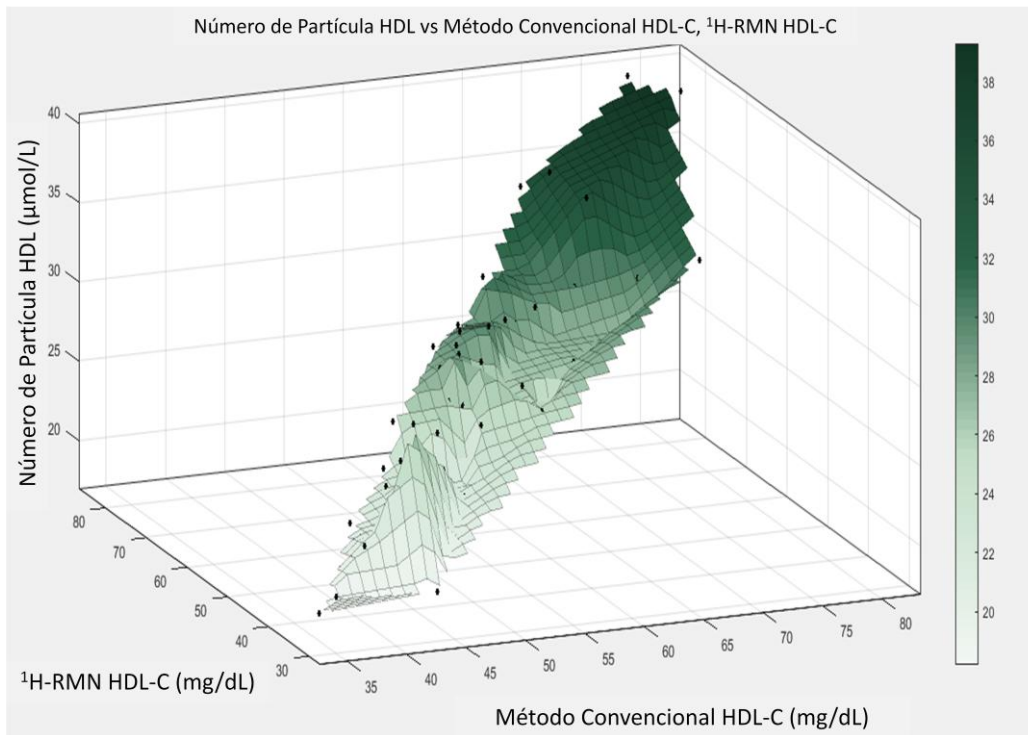
**Figura 17 B.** Visión Aplanada tras 2 años de MEV entre el Número de Partícula LDL, por  $^1\text{H-RMN}$  y método convencional de LDL-C

Por otro lado la línea de regresión de Deming para HDL colesterol mostró la correlación ( $-3.38 + 1.07 \times \text{Método directo HDL-C (mg / dL)}$ ) y un coeficiente de Pearson,  $r = 0.897$  (Figura 18).

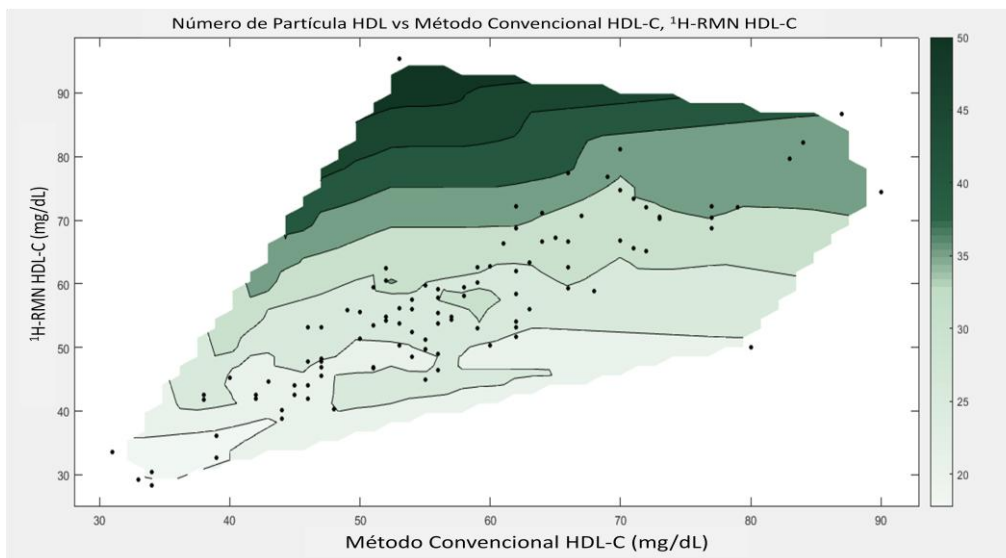


**Figura 18.** Regresión de Deming HDL-C después de 2 años de MEV

La Figura 19 A y B muestra las diferencias entre los dos métodos en comparación con el cálculo del número de partículas de HDL en  $\mu\text{mol / L}$ .



**Figura 19 A.** Visión Tridimensional tras 2 años de MEV entre el Número de Partícula, HDL por  $^1\text{H-RMN}$  y método convencional de HDL-C



**Figura 19 B.** Visión Aplanada tras 2 años de MEV entre el Número de Partícula HDL, por  $^1\text{H-RMN}$  y método convencional de HDL-C

## CAPÍTULO 7. DISCUSIÓN

Nuestros resultados muestran que una intervención personalizada con dieta mediterránea y ejercicio físico en población femenina con obesidad y metabólicamente sana contribuyen a la pérdida de peso corporal y por ende al IMC, pero el perfil lipídico a pesar de disminuir sus niveles circulantes se mantiene dentro de los valores normales, siendo éste evaluado tanto por técnicas convencionales de rutina como por técnicas más avanzadas mediante análisis más precisos como es la  $^1\text{H-RMN}$ . Estos resultados de amplia gama de fenotipos de lipoproteínas favorables concuerdan con los hallazgos de Phillips et al (42).

A los 3 meses de la intervención con MEV, encontramos concentraciones plasmáticas más bajas de LDL y de HDL. No obstante, estas diferencias no se encontraron significativas en las VLDL en cuanto a concentración, número de partículas o diferencias en los tamaños de las mismas.

A pesar de la disminución de LDL, los niveles de IDL aumentaron en mujeres OMS que perdieron >10% de su peso corporal.

Las partículas de IDL son inestables. Son moléculas transitorias que cambian con mayor frecuencia entre otras subclases de lipoproteínas. Este aumento de IDL puede relacionarse con una redistribución de la grasa corporal.

La ausencia de criterios estandarizados para la definición del fenotipo OMS constituye la principal limitación para realizar un análisis comparativo entre los diferentes estudios, habiéndose recogido en la literatura la existencia de hasta 15 definiciones diferentes (208).

Las definiciones de OMS que se utilizan para clasificar a un individuo como tal y fenotiparlo, no incluyen los perfiles de las diferentes lipoproteínas (42). No obstante, a pesar de la inclusión de perfiles lipídicos en la mayoría de definiciones de OMS, no existen suficientes datos y en su mayoría están muy limitados sobre los diferentes

fenotipos de lipoproteínas en OMS, aun habiéndose analizado las diferentes subclases de lipoproteínas (133, 205–207).

Nuestros participantes tenían concentraciones bajas de partículas pequeñas de LDL aunque estas son las más abundantes y además tenían un tamaño de partícula de similar, independientemente del porcentaje de peso perdido. Por otro lado, encontramos que los valores de dichas LDL se encontraban dentro de los valores de normalidad.

El tamaño de las partículas de LDL tiene una alta influencia sobre el riesgo cardiovascular, especialmente las partículas pequeñas de LDL (70,128,146,212).

A los 3 meses de intervención se observa que disminuye el número de partículas de LDL en las participantes del grupo 1 y 3. No obstante solamente se observa que disminuyan los niveles de LDL tanto de partículas grandes y medianas en las participantes que más peso pierden (grupo 3).

Nuestros resultados son coincidentes con los de Phillips et al. (42) que han reportado un menor número de partículas de LDL entre sujetos OMS.

En cuanto la concentración de VLDL, no podemos discernir ninguna conclusión debido que los resultados que hemos obtenido no son significativos a los 3 meses del estudio.

Paradójicamente, la concentración de HDL debería aumentar consecuencia de la dieta hipocalórica y el ejercicio físico, como se ha reportado científicamente (214). Sin embargo se encontró disminuido el número de partícula a los tres meses a nivel global y además se observó que disminuyó en mayor medida en los grupos que perdieron mayor cantidad de peso corporal. Observamos que la concentración de HDL pequeñas disminuyó sobre todo en los grupos que pierden  $\geq 5\%$ , corroborando los resultados de Phillips et al.(42).

Se sabe que las partículas de HDL pequeñas son las más aterogénicas y tienen una correlación positiva con el riesgo cardiovascular; mientras que las partículas medianas y grandes tienen una correlación inversa (37,69,145,148,156,215,216). También se ha demostrado que las partículas pequeñas de HDL son menos protectoras contra el proceso de oxidación de las LDL o puede ser también indicativo de una sobreproducción de VLDL (145).

Estos hallazgos son consistentes en todas las definiciones de OMS, independientemente del IMC e independientemente de los factores de confusión, incluidos los marcadores de grasa hepática.

Por otra parte, desde el punto de vista dietético, una de las posibles causas del aumento de los niveles de HDL después de una dieta intensa puede ser el aumento de la fibra. Este no sólo reduce la absorción intestinal de colesterol y grasas saturadas sino también de las grasas no saturadas. Esto haría reducir la concentración de colesterol en sangre. Sin embargo se ha descrito la paradoja en el ejercicio físico en individuos OMS, que causan una disminución en las concentraciones de HDL (217–219). Nuestros resultados al cabo de 3 meses respaldan este hallazgo (37). No obstante, la <sup>1</sup>H-RMN muestra que aunque los niveles totales de HDL disminuyen el perfil aterogénico mejora, ya que se produce una reducción de partículas pequeñas de HDL.

Tras dos años de la intervención, nuestro estudio muestra que hay una disminución en el número de partículas aterogénicas, aún estando dentro de los valores de normalidad. Encontramos una disminución general en las fracciones de VLDL-C, IDL-C y LDL-C a nivel global de todas las participantes. No obstante, la disminución en la fracción de LDL solo se observó en el grupo 1. Damasceno et al. (173), también describen este fenómeno observado en personas obesas siguiendo una dieta mediterránea basada en frutos secos y siguiendo un régimen de ejercicio físico. Explican esta ligera disminución de LDL en pacientes que no perdieron peso o

perdieron poco peso (<5%) por el hecho de que al realizar actividad física, se produce una redistribución de los depósitos de grasa del compartimento esplénico y, como tal, el hígado es suministrado con una menor cantidad de triglicéridos para la síntesis y secreción de VLDL, cuya lipólisis produce principalmente LDL pequeñas que circulan en la sangre durante un período más prolongado (220). Nuestros resultados concuerdan con los obtenidos por Damasceno et al. (173) y se basan en la hipótesis de Berneis (220).

Por otro lado, observamos que en nuestra población existen disminuciones en las fracciones de lipoproteínas unidas a triglicéridos en mujeres que pierden <10% de su peso corporal debido a su adherencia a la dieta mediterránea (que incluye el consumo de frutos secos) y al programa de ejercicio físico. En este sentido, los resultados de Achilike et al. (221) demuestran que esta disminución en los niveles de lipoproteínas unidas a triglicéridos prevendrían el fenotipo obeso metabólicamente enfermo, como ocurre en nuestra población que presentan un perfil lipídico favorable (222–224).

El número de partículas de VLDL en nuestra población general no disminuyeron, aunque el grupo 2 experimentó una pequeña disminución. A pesar de esto, nuestros resultados mostraron una disminución en el tamaño de las partículas de VLDL, tanto grandes, medianas como pequeñas principalmente, en las participantes del grupo 2.

Según lo descrito por Wang et al. (225) y en lo referido a estudios clínicos recientes (226–229), el número de partículas de LDL y las pequeñas partículas de LDL son mejores predictores del riesgo cardiovascular que otros métodos de medición de LDL. En nuestro estudio observamos tras dos años de intervención; una disminución en el número total de partículas de LDL aterogénicas. También esperaríamos encontrar esta disminución en los 3 subgrupos de pérdida de peso, pero paradójicamente, encontramos que esto no es así; esta disminución solo ocurre en grupos que perdieron una cantidad moderada de peso, <10% del peso corporal inicial. Al estudiar el perfil aterogénico de las mujeres OMS, encontramos que solo las partículas de LDL

medianas experimentan cambios: disminuyen en la población de estudio en su conjunto y en cada uno de los 3 grupos. Sin embargo, a diferencia de Damasceno et al. (173), no observamos ningún cambio en las partículas pequeñas o grandes, ya sea en la población de estudio como un todo o en cualquiera de los grupos de pérdida de peso estudiados. Las partículas pequeñas, que son más aterogénicas y que tradicionalmente han sido el objetivo de los tratamientos hipolipemiantes (228), no se ven afectadas en este tipo de individuos después de dos años de intervención con un bajo dieta mediterránea calórica y ejercicio físico. También debemos tener en cuenta que, utilizando esta técnica, pudimos corroborar los hallazgos utilizando un análisis mucho más profundo del perfil lipídico de estas mujeres OMS, notando que no hubo mejoría en el riesgo cardiovascular de mujeres OMS (181).

Con estos hallazgos, podemos confirmar que la dieta y el ejercicio mejoraron ligeramente la cantidad de colesterol transportado por las partículas de baja densidad, pero no se produjeron cambios en la estrategia metabólica del cuerpo con respecto al transporte de colesterol en partículas grandes, en lugar de pequeñas.

Como se ha demostrado en la literatura, el HDL desempeña una importante función de ateroprotección (156,230–233). Desde el inicio de la intervención, observamos que hubo una disminución en el número de partículas de HDL a los 3 meses. Después de 2 años de dieta y ejercicio, podemos confirmar que, una vez más, la reducción del número total de partículas de alta densidad que transportan colesterol a nivel de los 3 grupos de pérdida de peso. Este fenómeno debe analizarse con mayor profundidad. En la actualidad, el papel de los diferentes tamaños de HDL (157,234) no se comprende completamente, aunque es bien sabido que las partículas pequeñas son partículas de HDL no funcionales y tienen una capacidad de carga de colesterol mucho menor; como tal, no sería el más adecuado para evaluar este fenómeno (157).



Las partículas de tamaño medio y grande tienen mayor capacidad para transportar colesterol (157). En nuestra población de estudio, las partículas de tamaño mediano son aquellas que son ateroprotectoras. Sin embargo, paradójicamente encontramos que hubo una disminución en las partículas de tamaño mediano, a pesar de seguir una dieta y, especialmente, un régimen de ejercicio. Sin embargo, más específicamente, esta disminución en estas partículas solo se observó en mujeres que perdieron <5% de su peso; no se observó una disminución en aquellos que perdieron más peso. Los valores de partículas grandes no experimentaron ningún cambio en la intervención, mientras que los niveles globales de partículas pequeñas y medianas de HDL disminuyeron.

Es de destacar que aunque no observó ningún cambio en los grupos 2 y 3 en cuanto a las partículas pequeñas no funcionales de HDL, sí que se produjo un descenso de las mismas en el grupo 1.

Después de observar el cambio en la distribución de lipoproteínas, encontramos que después de la dieta hipocalórica y la intervención de ejercicio físico, el sólo el diámetro de VLDL disminuyó muy sutilmente.

Ante la falta de consenso entre los investigadores a la hora de definir a los sujetos OMS sobre todo en el perfil lipídico, la <sup>1</sup>H-RMN podría ser una buena herramienta como otro posible criterio para clasificar y poder diagnosticar a este tipo de población e incluirlo en la práctica clínica habitual. Sobre todo la utilidad radicaría además del posible diagnóstico, en el seguimiento y posible tratamiento de los mismos. Como se ha comentado en esta tesis doctoral al identificarse los distintos tamaños de las lipoproteínas, el tratamiento podría variar de un sujeto OMS a otro.

En cuanto al perfil lipídico de los sujetos OMS, hemos visto que tanto la concentración como el número de partículas de las diferentes lipoproteínas así como sus tamaños se mantienen dentro un rango. Por este motivo el perfil lipídico medido por <sup>1</sup>H-RMN junto con los otros parámetros propuesto por los investigadores podría arrojar algoritmos

diagnósticos para identificar a los individuos OMS así como establecer rangos de referencias para su posible diagnóstico y posterior seguimiento clínico.

La práctica clínica habitual se beneficiaría mediante un único análisis de un estudio mucho más detallado y ahorraría recursos al sistema, ya que permitiría identificar a esta población de OMS desde el debut y tratarla de manera adecuada. Esto supondría una importante mejora en la gestión de los recursos sanitarios. Permitiría dar un tratamiento personalizado a los sujetos OMS diferenciándolos de las dislipemias convencionales así como de otros trastornos del metabolismo lipídico.

En cuanto a la comparación del perfil lipídico mediante técnicas convencionales vs espectroscopía de resonancia magnética nuclear, nuestro estudio muestra que existen diferencias entre las técnicas de medición del perfil lipídico en mujeres OMS. Al comienzo del estudio, analizamos una gran población que contenía valores de LDL-C y HDL-C dentro de los valores normales, medidos por los dos métodos. Sin embargo, al comparar ambas técnicas, encontramos que había un 5 % en LDL-C que no podía explicarse por la medición de la concentración de estas lipoproteínas. Estas diferencias pueden explicarse debido a que la  $^1\text{H}$ -RMN mide con precisión las fracciones exactas de las lipoproteínas y las compara sin necesidad de ultracentrifugación, con las densidades exactas de cada lipoproteína, por lo que estamos haciendo una aproximación mucho más real de lo que estamos midiendo (235).

Sin embargo, al realizar las estimaciones de LDL-C y HDL-C por métodos indirectos, ya sea mediante cálculos con una fórmula en el primer caso y siendo esta fórmula influenciada por reacciones enzimáticas; o a través de métodos directos en el segundo caso, no estamos midiendo con tanta precisión como  $^1\text{H}$ -RMN. Por lo tanto, en las técnicas enzimáticas como directas existe un porcentaje importante que corresponde a otras fracciones de lipoproteínas que interfieren en nuestros resultados y la posterior interpretación de las mismas (100).

En el caso del LDL-C, encontramos que a bajas concentraciones, los valores medidos a través de la fórmula de Friedewald (Métodos Convencionales) son mayores que cuando medimos el mismo valor en  $^1\text{H-NMR}$ . Por el contrario, observamos que a medida que aumenta la concentración de LDL en el método convencional, este sesgo se reduce. Por lo tanto, esto significa que para un valor de una mujer OMS cuando lo analizamos en un laboratorio de rutina estamos sobreestimando el valor de esta LDL que indica que estamos midiendo otras fracciones de lipoproteínas no LDL y que podemos saber qué fracción es tratada con el test Liposcale<sup>®</sup>.

Podemos notar, que hay determinadas mujeres OMS que se encuentran en una zona límite en términos de la concentración medida a través de la fórmula de Friedewald, pero no obstante, al calcular el número de partículas y comparlas con LDL medido por  $^1\text{H-RMN}$  no lo son. Esto se debe a que, como hemos comentado, las técnicas convencionales miden otras fracciones de lipoproteínas y también están influidas por el tamaño de las mismas, siendo por tanto más precisas para medir el perfil de lipoproteínas mediante  $^1\text{H-RMN}$  que por técnicas convencionales.

Con respecto a la HDL, podemos observar que el grado de semejanza es casi perfecto entre ambas técnicas, pero existen diferencias en el comportamiento de ambas técnicas a medida que aumenta la concentración. Observamos que los valores bajos de HDL-C medidos por métodos directos obtuvieron valores más altos que los medidos por  $^1\text{H-RMN}$ .

Sin embargo, a medida que aumenta la concentración de HDL, la tendencia cambia y para el mismo valor de HDL medido por técnicas de rutina, la prueba de  $^1\text{H-RMN}$  mide valores más altos. Al comienzo del estudio encontramos un porcentaje que tiene valores de HDL bastante bajos, por lo que, de hecho, si consideramos que HDL evalúa el riesgo cardiovascular de mujeres OMS, lo estamos sobrestimando. También podemos corroborar que las mujeres que tienen una menor concentración de HDL

tienen un menor número de partículas de la misma y, por lo tanto, aumentaron su riesgo cardiovascular (157).

Al finalizar la intervención analizamos el LDL y observamos que se comporta de manera muy similar a cuando comenzamos el estudio, es decir, a bajas concentraciones las técnicas convencionales miden más colesterol LDL que <sup>1</sup>H-RMN. Sin embargo, notamos que existe un 13 % de discrepancia entre ambas técnicas y que la correlación disminuye. Esto es debido a que existe un menor número de datos de participantes y por lo tanto aumenta la dispersión de los datos al no medirse exactamente las mismas fracciones de lipoproteínas como ya hemos comentado anteriormente.

Por otro lado, se observa que la concentración de LDL calculada por la fórmula de Friedewald (Métodos convencionales) corresponde a una menor concentración de LDL medida por <sup>1</sup>H-RMN y también corresponde a un riesgo cardiovascular más bajo medido a través del número de partículas de LDL.

En cuanto a HDL, podemos corroborar que ambas técnicas miden prácticamente lo mismo al terminar el estudio, ya que la pendiente es de 1.0. Al igual que sucede con el LDL la correlación entre las dos técnicas no es del todo buena debido a que disminuyó número de participantes que terminaron el estudio. Sin embargo, no se observan cambios con respecto al comienzo del estudio, ya que HDL se comporta exactamente igual que al comienzo del estudio. Por lo tanto, si consideramos el HDL al definir a las mujeres OMS y como hemos podido verificar, tenemos un HDL bajo; estamos sobrestimando el riesgo cardiovascular de alguno de estos individuos si lo medimos mediante pruebas directas, como las que se utilizan en los laboratorios de rutina, ya que también tienen un menor número de partículas de HDL para transportar el colesterol.

Al comparar ambas técnicas entre sí, hemos podido comprobar que la  $^1\text{H-RMN}$ , da una visión mucho más adecuada a la realidad en cuanto a la determinación de lípidos, ya que actualmente mediante las técnicas de análisis de rutina sólo podemos medir la fracción de LDL y HDL del colesterol. Sin embargo mediante la  $^1\text{H-RMN}$ , podemos diferenciar las distintas fracciones de colesterol tanto de LDL como HDL y además incluir otro tipo de fracciones igualmente de importantes como son las IDL y VLDL. Todas estas determinaciones nos permiten conocer si están unidas a colesterol o a triglicéridos.

También hay que destacar de forma especialmente importante que la  $^1\text{H-RMN}$  nos informa del número de partículas de las distintas fracciones lipoproteicas que es transportada por la sangre y de su concentración así como del tamaño de las mismas. Esto es especialmente importante ya que dependiendo de esto último podría variar el tipo de tratamiento.

A día de hoy, nos encontramos ante un problema adaptacional para poder aplicar la  $^1\text{H-RMN}$  de forma rutinaria, ya que para poder realizar esta técnica necesitamos un equipamiento adecuado. Para ello es necesario disponer de una sala aislada y lo suficientemente grande como para poder albergar el instrumento que contiene el imán en su interior. Cuanto más grande es el imán más potencia tiene y mayor poder de resolución de los espectros tendremos. A día de hoy albergar este instrumento como tal en un laboratorio de análisis clínicos no es viable aún en nuestro país, debido entre otras cosas al desconocimiento del mismo. Sin embargo en otros países como Estados Unidos, han desarrollado un analizador de  $^1\text{H-RMN}$  que permite evaluar el perfil lipídico así como otras técnicas de rutina en un laboratorio, lo cual permite en una misma muestra realizar determinaciones varias y disminuir el volumen de muestra así como costes. Este analizador es viable tenerlo por cuestiones económicas y de espacio en cualquier laboratorio de tamaño mediano-grande de nuestro país y no necesitaría ningún tipo de sala especial, siendo tratado como cualquier otro analizador

de rutina de un laboratorio clínico y pudiéndose integrar en las cadenas y flujos de trabajo de cualquier hospital.

## CAPÍTULO 8. Fortalezas y Debilidades

En primer lugar hay que destacar que esta tesis utiliza un tamaño muestral que no es muy grande, debido en parte a la duración del estudio (2 años) de forma ininterrumpida a base de dieta hipocalórica y ejercicio físico. Por ello a lo largo de este periodo de tiempo se produjeron bastantes pérdidas en cuanto al número total de participantes.

Este hecho influye mucho sobre todo en los resultados de los 2 años, en la potencia estadística de los resultados. El hecho de que hubiéramos podido tener más resultados podría habernos reportado una menor dispersión de los datos a la hora de comparar ambos métodos. También podría haber influenciado de una manera aumentando la significación (p) de los resultados estadísticos obtenidos tanto a los 3 meses como a los dos años.

También hay que remarcar que en esta tesis doctoral no se ha empleado un grupo control a fin de descartar el posible efecto placebo de la intervención, debido fundamentalmente que es un estudio longitudinal y el objetivo de la misma no es probar el tratamiento. No obstante se ha empleado el tiempo basal antes de comenzar la intervención como control para poder valorar los diferentes momentos del estudio frente al momento inicial.

Por otro lado hay que añadirle que en este estudio de OMS sólo participan mujeres. En principio el estudio se planteó para que participaran hombres y mujeres; sin embargo en el proceso de reclutamiento de pacientes sólo conseguimos 2 hombres. Ante este hecho no podemos extraer ninguna conclusión y por tanto decidimos hacerlo sólo con mujeres OMS. Este hecho hace concluir que entre los sujetos OMS, las mujeres tienen una mayor predisposición tanto a participar en este tipo de estudios, así como una mayor predisposición y fuerza de voluntad a la hora de someterse a una dieta y ejercicio físico durante un largo periodo de tiempo.

Los resultados de adherencia a la dieta mediterránea así como de actividad física sólo fueron tomados al inicio del estudio y al final del estudio (2 años de intervención). Se decidió no obtener dichos resultados a los 3 meses de la intervención debido a tediosidad de los cuestionarios y la cantidad de participantes en ese momento.

Otro aspecto a tener en cuenta es que los resultados y conclusiones que hemos extraído a través de este estudio sólo pueden trasladarse a población con hábitos de vida compatibles con población mediterránea ya que se ha estudiado en este medio.



## CAPÍTULO 9. Conclusiones

1. Tras una modificación de estilo de vida en población con obesidad pero metabólicamente sana que conlleva pérdida de peso, encontramos que los niveles lipoproteicos se mantienen estables dentro de los rangos de normalidad aunque disminuye la cantidad de colesterol transportado por las LDL y de lipoproteínas pequeñas y no funcionales de HDL, mejorando el perfil y el riesgo cardiovascular en este tipo de población.
2. Mejora la cantidad de colesterol transportado por lipoproteínas de baja densidad aunque no esto no se vio acompañado en un cambio de lipoproteínas pequeñas por grandes.
3. El número de partículas ateroprotectoras de HDL se redujeron. No obstante podemos concluir que esta reducción se produjo a costa de las partículas pequeñas, no funcionales, de HDL disminuyeron y eso hace que se favorezca el grado de ateroprotección.
4. Mediante la técnica de  $^1\text{H}$ -RMN podemos obtener un perfil lipídico avanzado respecto al obtenido con las técnicas convencionales que nos proporciona información más precisa y detallada del riesgo cardiovascular para poder evaluar el perfil lipídico en la práctica clínica habitual.
5. El perfil lipídico (LDL, HDL, IDL, VLDL y triglicéridos) medido mediante  $^1\text{H}$ -RMN podría ayudar a definir a los sujetos OMS junto con el resto de parámetros ya establecidos por el resto de investigadores.

## CAPÍTULO 10. Competencias adquiridas

La realización de esta tesis doctoral, ha supuesto una gran oportunidad de desarrollo tanto profesional como personal. Es un paso definitivo hacia la excelencia de todo investigador. En mi caso supone la culminación de un gran ciclo que comenzó en el año 2013 cuando llegué a Málaga para convertirme posteriormente en el año 2017 en especialista en Análisis Clínicos y durante este periodo poder disfrutar de la realización de esta tesis, y proyectos derivados. Esto hecho ha permitido repasar toda mi trayectoria personal y profesional en estos años y es un orgullo poder culminarlo con la lectura de este trabajo.

La realización de esta tesis, me ha permitido adquirir muchos conocimientos que son fundamentales para el desempeño tanto clínico como investigador de un especialista.

Adquirí las competencias necesarias en la realización de un Máster de investigación de esta Universidad así como a lo largo del desarrollo del trabajo de fin de máster. He podido aprender y perfeccionar las técnicas de búsquedas bibliográficas, hacer revisiones bibliográficas, tratamiento estadístico de datos, redacción científica, etc.

La realización de esta tesis ha permitido que haya podido desarrollar enormemente la capacidad de lectura de artículos científicos en inglés así como la generación de mis primeros artículos en revistas con factor de impacto.

Asimismo ha permitido que pudiera participar en proyectos de investigación como investigador en varios grupos de esta ciudad. También me ha permitido la generación de mis propios proyectos.

Otro aspecto que me ha permitido evolucionar ha sido la adquisición de competencias para establecer relaciones con otros grupos de investigación así como investigadores tanto a nivel local, regional como nacional.

En cuanto a la producción científica, además de los papers publicados, ha supuesto la asistencia a numerosos congresos científicos a nivel regional, nacional e internacional. En este sentido he podido presentar pósters, casos clínicos, comunicaciones orales y ponencias en cursos. Esto hizo que mi producción científica despegara por completo; llegando a compartir trabajos en congresos internacionales con auténticos expertos de la materia.

Toda esta producción científica me ha permitido también ser ponente de congresos y cursos realizados sobre la materia.

En definitiva, la realización de esta tesis doctoral, me ha permitido alcanzar un nivel profesional con metas que creía inalcanzables y que gracias a ella he podido culminar con mucho trabajo, esfuerzo, constancia y mucha mucha mucha ilusión.

## Characterization of lipid profile by nuclear magnetic resonance spectroscopy (<sup>1</sup>H NMR) of metabolically healthy obese women after weight loss with Mediterranean diet and physical exercise

Enrique Rodriguez-Garcia, BSc<sup>a</sup>, Josefina Ruiz-Nava, BSc<sup>b</sup>, Sonia Santamaria-Fernandez, MD, PhD<sup>c</sup>, Jose Carlos Fernandez-Garcia, MD, PhD<sup>b,d</sup>, Antonio Vargas-Candela, MLT<sup>e</sup>, Raquel Yahyaoui, MD, PhD<sup>a</sup>, Francisco J. Tinahones, MD, PhD<sup>b,d</sup>, Maria Rosa Bernal-Lopez, PhD<sup>c,d,\*</sup>, Ricardo Gomez-Huelgas, MD, PhD<sup>c,d</sup>

### Abstract

Obesity is associated with an atherogenic lipid profile. No data exists on lipoprotein particle profiles in metabolically healthy obese (MHO) individuals. Our aim is to characterize lipoprotein size, particle, and subclass concentrations in MHO women after 3 months of weight loss through dietary restriction and physical exercise.

A total of 115 nondiabetic women (aged 35–55 years) with a body mass index (BMI) of 30 to 40 kg/m<sup>2</sup> and ≤1 of the following criteria: blood pressure ≤135/85 mmHg, fasting plasma glucose ≤100 mg/dL, HDL-cholesterol ≤50 mg/dL, and triglycerides ≤150 mg/dL were included. After 3 months of intensive lifestyle modification (Mediterranean diet and physical exercise), they were classified according to their weight loss: <5%, ≥5% to <10%, and ≥10%. Lipoprotein size, particle, and subclass concentrations were measured using <sup>1</sup>H NMR.

The final sample, after dropouts, comprised 104 women (age: 44.4 ± 3.7 years, BMI: 36.3 ± 4.7 kg/m<sup>2</sup>), of whom 47 (45.2%), 27 (26%), and 30 (28.8%) lost <5%, ≥5% to <10%, and ≥10% of baseline body weight, respectively. All participants experienced significant weight loss and decreases in BMI. The lipid profiles showed an increase in small, medium, and large very low density lipoprotein (VLDL) particles in all groups of study with the exception of small VLDL particles in women with ≥10% of weight loss, in which it decreased. The number of VLDL particles decreased in women who had ≥10% weight loss. On the other hand, we detected a decrease in all low density lipoprotein (cLDL) and high density lipoprotein (cHDL) concentrations.

These results indicate that intensive lifestyle modification alters lipid profiles. In particular, it decreases small LDL and HDL particle numbers and does not increase medium or large HDL particle numbers.

**Abbreviations:** <sup>1</sup>H NMR = nuclear magnetic resonance spectroscopy, cHDL = high density lipoproteins bound to cholesterol, cLDL = low density lipoproteins bound to cholesterol, CVD = cardiovascular disease, CVR = cardiovascular risk, IDL = intermediate density lipoprotein, MHO = metabolically healthy obese, VLDL = very low density lipoprotein.

**Keywords:** lipid profile, Mediterranean diet, metabolically healthy obese, nuclear magnetic resonance spectroscopy, physical exercise

Editor: Deqiang Zhang

ER-G and MRB-L contributed equally to this work.

Funding/support: This work was supported by grants from the Instituto de Salud Carlos III, cofinanced by the Fondo Europeo de Desarrollo Regional-FEDER (P112/01373 and "Centros de Investigación En Red" (CIBER, CB06/03/0018)), and M Rosa Bernal-Lopez was supported by "Miguel Servet Type I" program (CP15/00028) from the ISCIII-Madrid (Spain), cofinanced by the Fondo Europeo de Desarrollo Regional-FEDER.

The authors have no conflicts of interest to disclose.

<sup>a</sup> Department of Clinical Analysis, Institute of Biomedical Research in Málaga (IBIMA), Regional University Hospital of Málaga (Carlos Haya Hospital), Universidad de Málaga, <sup>b</sup> Department of Endocrinology and Nutrition, Institute of Biomedical Research in Málaga (IBIMA), Regional University Hospital of Málaga (Virgen de la Victoria Hospital), <sup>c</sup> Department of Internal Medicine, Institute of Biomedical Research in Málaga (IBIMA), Regional University Hospital of Málaga (Carlos Haya Hospital), <sup>d</sup> CIBER/Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain.

\* Correspondence: Maria Rosa Bernal-Lopez, Department of Internal Medicine, Institute of Biomedical Research in Málaga (IBIMA), Regional University Hospital of Málaga, Avda. Hospital Civil, s/n. 29009 Málaga, Spain (e-mail: robelb@jruyahoe.es).

Copyright © 2017 the Author(s). Published by Wolters Kluwer Health, Inc.

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial-No Derivatives License 4.0 (CCBY-NC-ND), where it is permissible to download and share the work provided it is properly cited. The work cannot be changed in any way or used commercially without permission from the journal.

Medicine (2017) 96:27(e7040)

Received: 14 February 2017 / Received in final form: 20 April 2017 / Accepted: 10 May 2017

<http://dx.doi.org/10.1097/MD.00000000000007040>



Contents lists available at ScienceDirect

Chemistry and Physics of Lipids

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/chemphyslip](http://www.elsevier.com/locate/chemphyslip)

## Implications of the Mediterranean diet and physical exercise on the lipid profile of metabolically healthy obese women as measured by nuclear magnetic resonance spectroscopy ( $^1\text{H}$ NMR)

Enrique Rodríguez-García<sup>a,b,c,1</sup>, Josefina Ruiz-Nava<sup>b,d,g</sup>, Sonia Santamaría-Fernández<sup>b,c</sup>,  
Jose Carlos Fernández-García<sup>b,c,d,g</sup>, Antonio Vargas-Candela<sup>b,c,d,g</sup>, Raquel Yahyaoui<sup>b</sup>,  
Francisco J. Tinahones<sup>b,d,g</sup>, M Rosa Bernal-López<sup>b,c,g,h,1</sup>, Ricardo Gómez-Huelgas<sup>b,c,g</sup>

<sup>a</sup> Clinical Laboratory, Regional University Hospital of Málaga, Málaga, Spain

<sup>b</sup> Institute of Biomedical Research in Málaga (IBIMA), Málaga, Spain

<sup>c</sup> University of Málaga (UMA), Spain

<sup>d</sup> Endocrinology and Nutrition Department, Regional University Hospital of Málaga (Virgen de la Victoria Hospital), Spain

<sup>e</sup> Internal Medicine Department, Regional University Hospital of Málaga (Carlos Haya Hospital), Spain

<sup>f</sup> Faculty of Education Sciences, Málaga, Spain

<sup>g</sup> CIBER: Physiología de la Obesidad y la Nutrición, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain



## ARTICLE INFO

## Keywords:

Lipid profile

Nuclear magnetic resonance spectroscopy

Lifestyle modification

Metabolically healthy obese

## ABSTRACT

**Objective:** There is a lack of consensus when it comes to establishing the biochemical parameters that define metabolically healthy obese (MHO) subjects. Indeed, most studies do not include subjects' lipid profiles. Our objective was to characterize lipoprotein size, particle and subclass concentration using  $^1\text{H}$  NMR in MHO women after two years of weight loss with a hypocaloric Mediterranean diet and physical exercise.

**Methods:** 115 non-diabetic women (aged 35–55 years) with a body mass index (BMI) of 30–40 kg/m<sup>2</sup> and <1 of the following criteria: blood pressure  $\geq 135/85$  mmHg, fasting plasma glucose  $\geq 100$  mg/dL, HDL cholesterol  $\leq 50$  mg/dL and triglycerides  $\geq 150$  mg/dL were included. After two years of intensive lifestyle modification (Mediterranean diet and physical exercise), they were classified according to their weight loss: < 5%,  $\geq 5\%$ –< 10% and  $\geq 10\%$ . Lipoprotein size, particle and subclass concentrations were measured using  $^1\text{H}$  NMR.

**Results:** The final population, after dropouts, were 67 women (age: 44.5  $\pm$  3.7 years, BMI: 36.3  $\pm$  4.7 kg/m<sup>2</sup>), of whom 23 (38.3%) lost < 5%, and 22 (36.7%) lost  $\geq 5\%$  to < 10% and  $\geq 10\%$  of baseline body weight, respectively. The lipid profile showed no significant changes after intervention, especially in small LDL particles or in production of HDL. The diameter of LDL and HDL particles did not change after two years of a Mediterranean diet and physical exercise.

**Conclusion:** These results indicate that intensive lifestyle modification does not produce significant changes in the lipid profile of MHO women. Levels of more atherogenic or atheroprotective particles did not change after two years, despite the intervention.

## 1. Introduction

Nowadays, obesity is considered to be a worldwide public health problem and is classified as an epidemic (Phillips, 2017). It is believed that a high body mass index (BMI) is closely related to being at high risk for some type of cardiovascular event (CVE) and is a cause of premature death (Phillips, 2017). However, there are individuals who have an elevated BMI who do not have an altered clinical and/or biochemical

status. This subgroup is called the metabolically healthy obese (MHO) (Navarro-González et al., 2016; Guo and Garvey, 2016).

Worldwide, the MHO population is estimated to be 30–40% of the obese population; the rate is higher in women (Stelmach-Mardas and Walkowiak, 2016; Wildman et al., 2008; Sorriquer et al., 2013). In Spain, its prevalence is 28.5% of the general population and represents 51% of the adult obese population (Sorriquer et al., 2013).

Although the MHO phenotype has been studied, there is

\* Corresponding author at: Internal Medicine Department, Institute of Biomedical Research in Málaga (IBIMA), Regional University Hospital of Málaga (Carlos Haya Hospital), Avda. Hospital Civil, s/n. 29009, Málaga, Spain.

E-mail address: [enriquerodriguez@ibima.com](mailto:enriquerodriguez@ibima.com) (E.R. Rodríguez-García).

<sup>1</sup> These authors have contributed equally to this manuscript.

<https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2018.03.007>

Received 12 January 2018; Received in revised form 8 March 2018; Accepted 22 March 2018

Available online 23 March 2018

0009-3084/© 2018 Elsevier B.V. All rights reserved.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. OMS | Obesidad. WHO. World Health Organization; 2016
2. WHO :: Global Database on Body Mass Index
3. Romero-Corral A, Somers VK, Sierra-Johnson J, Thomas RJ, Collazo-Clavell ML, Korinek J, et al. Accuracy of body mass index in diagnosing obesity in the adult general population. *Int J Obes (Lond)* 2008; 32(6):959–66.
4. Deurenberg P, Yap M, van Staveren WA. Body mass index and percent body fat: a meta analysis among different ethnic groups. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1998;22(12):1164–71.
5. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Bautista L, Franzosi MG, Commerford P, et al. Obesity and the risk of myocardial infarction in 27,000 participants from 52 countries: a case-control study. *Lancet* (London, England). 2005;366(9497):1640–9.
6. Vazquez G, Duval S, Jacobs DR, Silventoinen K. Comparison of body mass index, waist circumference, and waist/hip ratio in predicting incident diabetes: a meta-analysis. *Epidemiol Rev.* 2007; 29(1):115–28.
7. Huxley R, James WPT, Barzi F, Patel J V, Lear SA, Suriyawongpaisal P, et al. Ethnic comparisons of the cross-sectional relationships between measures of body size with diabetes and hypertension. *Obes Rev.* 2008;9 Suppl 1(s1):53–61.
8. Stolk RP, Rosmalen JGM, Postma DS, de Boer RA, Navis G, Slaets JPJ, et al. Universal risk factors for multifactorial diseases: LifeLines: a three-generation population-based study. *Eur J Epidemiol.* 2008; 23(1):67–74.

9. Ferrannini E, Natali A, Bell P, Cavallo-Perin P, Lalic N, Mingrone G. Insulin resistance and hypersecretion in obesity. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *J Clin Invest*. 1997;100(5):1166–73.
10. Calori G, Lattuada G, Piemonti L, Garancini MP, Ragogna F, Villa M, et al. Prevalence, metabolic features, and prognosis of metabolically healthy obese Italian individuals: the Cremona Study. *Diabetes Care*. 2011;34(1):210–5.
11. Yu Z, Han S, Cao X, Zhu C, Wang X, Guo X. Genetic polymorphisms in adipokine genes and the risk of obesity: a systematic review and meta-analysis. *Obesity (Silver Spring)*. 2012;20(2):396–406.
12. Grantham JP, Henneberg M. The Estrogen Hypothesis of Obesity. Rosenfeld CS, editor. *PLoS One*. 2014;9(6):e99776.
13. Lee EB, Mattson MP. The neuropathology of obesity: insights from human disease. *Acta Neuropathol* 2014;127(1):3–28. A
14. Wyatt SB, Winters KP, Dubbert PM. Overweight and obesity: prevalence, consequences, and causes of a growing public health problem. *Am J Med Sci*. 2006;331(4):166–74.
15. Lee JH, Han K Do, Jung HM, Youn YH, Lee JY, Park YG, et al. Association Between Obesity, Abdominal Obesity, and Adiposity and the Prevalence of Atopic Dermatitis in Young Korean Adults: the Korea National Health and Nutrition Examination Survey 2008-2010. *Allergy Asthma Immunol Res*. 2016;8(2):107–14.
16. Xu W, Zhang H, Paillard-Borg S, Zhu H, Qi X, Rizzuto D. Prevalence of Overweight and Obesity among Chinese Adults: Role of Adiposity Indicators and Age. *Obes Facts*. 2016;9(1):17–28.



17. Bandera E V, Maskarinec G, Romieu I, John EM. Racial and ethnic disparities in the impact of obesity on breast cancer risk and survival: a global perspective. *Adv Nutr.* 2015;6(6):803–19.
18. Phillips CM. Metabolically healthy obesity across the life course: epidemiology, determinants, and implications. *Ann N Y Acad Sci.* 2017;1391(1):85–100.
19. Soriquer F, Gutiérrez-Repiso C, Rubio-Martín E, García-Fuentes E, Almaraz MC, Colomo N, et al. Metabolically healthy but obese, a matter of time? Findings from the prospective Pizarra study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(6):2318–25.
20. Wildman RP, Muntner P, Reynolds K, McGinn AP, Rajpathak S, Wylie-Rosett J, et al. The obese without cardiometabolic risk factor clustering and the normal weight with cardiometabolic risk factor clustering: prevalence and correlates of 2 phenotypes among the US population (NHANES 1999-2004). *Arch Intern Med.* 2008;168(15):1617–24.
21. Stelmach-Mardas M, Walkowiak J. Dietary Interventions and Changes in Cardio-Metabolic Parameters in Metabolically Healthy Obese Subjects: A Systematic Review with Meta-Analysis. *Nutrients.* 2016;8(8):455.
22. Obara-Gołębiowska M, Brycz H, Lipowska M, Lipowski M. The Role of Motivation to Reduce Obesity among Elderly People: Response to Priming Temptation in Obese Individuals. *Int J Environ Res Public Health.* 2018;15(2):244.
23. Eurostat undefined. Sustainable Development in the European Union:... Monitoring Report of the EU Sustainable Development Strategy. 2009.



24. Xia Q, Grant SFA. The genetics of human obesity. *Ann N Y Acad Sci.* 2013 Apr;1281(1):178–90.
25. Jou C. The biology and genetics of obesity--a century of inquiries. *N Engl J Med.* 2014;370(20):1874–7.
26. Wang X, Pan Y, Zhu H, Hao G, Huang Y, Barnes V, et al. An epigenome-wide study of obesity in African American youth and young adults: novel findings, replication in neutrophils, and relationship with gene expression. *Clin Epigenetics* 2018;10(1):3.
27. Wehby GL, Domingue BW, Ullrich F, Wolinsky FD. Genetic Predisposition to Obesity and Medicare Expenditures. *Journals Gerontol Ser A.* 2018 73(1):66–72.
28. Kotnik P, Knapič E, Kokošar J, Kovač J, Jerala R, Battelino T, et al. Identification of novel alleles associated with insulin resistance in childhood obesity using pooled-DNA genome wide association study approach. *Int J Obes* 2017
29. Mao L, Fang Y, Campbell M, Southerland WM. Population differentiation in allele frequencies of obesity-associated SNPs. *BMC Genomics.* 2017;18(1):861.
30. Barczyk A, Kutkowska-Kaźmierczak A, Castañeda J, Obersztyn E. [The genetics of obesity - pathogenetic, clinical and diagnostic aspects]. *Dev period Med.* 2017;21(3):186–202.
31. Cha E, Akazawa MK, Kim KH, Dawkins CR, Lerner HM, Umpierrez G, et al. Lifestyle habits and obesity progression in overweight and obese American young adults: Lessons for promoting cardiometabolic health. *Nurs Health Sci.* 2015;17(4):467–75.
32. Franks PW, Ravussin E, Hanson RL, Harper IT, Allison DB, Knowler WC, et al. Habitual physical activity in children: the role of genes and the environment. *Am J Clin Nutr.* 2005;82(4):901–8.

33. Sociedad Española de Nutrición Parenteral y Enteral. S, Rodríguez-Martín A, Novalbos Ruiz JP, Martínez Nieto JM, Lechuga Campoy JL. Nutrición hospitalaria : organo oficial de la Sociedad Española de Nutrición Parenteral y Enteral.. Vol. 25, Nutrición Hospitalaria. Jarpyo Editores; 2010. 823-831 p.
34. Moore LL, Lombardi DA, White MJ, Campbell JL, Oliveria SA, Ellison RC. Influence of parents' physical activity levels on activity levels of young children. *J Pediatr.* 1991;118(2):215–9.
35. Zheng W, McLerran DF, Rolland B, Zhang X, Inoue M, Matsuo K, et al. Association between body-mass index and risk of death in more than 1 million Asians. *N Engl J Med.* 2011;364(8):719–29.
36. Phillips CM. Metabolically healthy obesity across the life course: epidemiology, determinants, and implications. *Ann N Y Acad Sci.* 2017 Mar;1391(1):85–100.
37. Rodriguez-Garcia E, Ruiz-Nava J, Santamaria-Fernandez S, Fernandez-Garcia JC, Vargas-Candela A, Yahyaoui R, et al. Characterization of lipid profile by nuclear magnetic resonance spectroscopy (1H NMR) of metabolically healthy obese women after weight loss with Mediterranean diet and physical exercise. *Medicine (Baltimore).* 2017;96(27):e7040.
38. Karelis AD, Faraj M, Bastard J-P, St-Pierre DH, Brochu M, Prud'homme D, et al. The metabolically healthy but obese individual presents a favorable inflammation profile. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90(7):4145–50.
39. Seo MH, Rhee EJ. Metabolic and cardiovascular implications of a metabolically healthy obesity phenotype. *Endocrinol Metab (Seoul, Korea).* 2014;29(4):427–34.
40. Guo F, Garvey WT. Cardiometabolic disease risk in metabolically healthy and unhealthy obesity: Stability of metabolic health status in adults. *Obesity (Silver Spring).* 2016;24(2):516–25.

41. Navarro-González D, Sánchez-Íñigo L, Fernández-Montero A, Pastrana-Delgado J, Alfredo Martínez J. Are all metabolically healthy individuals with obesity at the same risk of diabetes onset? *Obesity (Silver Spring)* 2016;24(12):2615–23.
42. Phillips CM, Perry IJ. Lipoprotein particle subclass profiles among metabolically healthy and unhealthy obese and non-obese adults: does size matter? *Atherosclerosis* 2015;242(2):399–406.
43. Karelis AD, Messier V, Brochu M, Rabasa-Lhoret R. Metabolically healthy but obese women: effect of an energy-restricted diet. *Diabetologia* 2008;51(9):1752–4
44. Seo MH, Rhee EJ. Metabolic and cardiovascular implications of a metabolically healthy obesity phenotype. *Endocrinol Metab (Seoul, Korea)*. 2014;29(4):427–34.
45. Kim JY, Tfayli H, Michaliszyn SF, Lee S, Arslanian S. Distinguishing characteristics of metabolically healthy versus metabolically unhealthy obese adolescent girls with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2016 Jun ;105(6):1603–11.
46. Karelis AD, Faraj M, Bastard J-P, St-Pierre DH, Brochu M, Prud'homme D, et al. The metabolically healthy but obese individual presents a favorable inflammation profile. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90(7):4145–50.
47. Koster A, Stenholm S, Alley DE, Kim LJ, Simonsick EM, Kanaya AM, et al. Body Fat Distribution and Inflammation Among Obese Older Adults With and Without Metabolic Syndrome. *Obesity*. 2010;18(12):2354–61.

48. Marques-Vidal P, Velho S, Waterworth D, Waeber G, von Känel R, Vollenweider P. The association between inflammatory biomarkers and metabolically healthy obesity depends of the definition used. *Eur J Clin Nutr.* 2012 Apr 28;66(4):426–35.
49. Shin M-J, Hyun YJ, Kim OY, Kim JY, Jang Y, Lee JH. Weight loss effect on inflammation and LDL oxidation in metabolically healthy but obese (MHO) individuals: low inflammation and LDL oxidation in MHO women. *Int J Obes (Lond)* 2006;30(10):1529–34.
50. Soriquer F, Gutiérrez-Repiso C, Rubio-Martín E, García-Fuentes E, Almaraz MC, Colomo N, et al. Metabolically healthy but obese, a matter of time? Findings from the prospective Pizarra study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(6):2318–25.
51. Primeau V, Coderre L, Karelis AD, Brochu M, Lavoie M-E, Messier V, et al. Characterizing the profile of obese patients who are metabolically healthy. *Int J Obes.* 2011 26;35(7):971–81.
52. Phillips CM. Metabolically healthy obesity across the life course: epidemiology, determinants, and implications. *Ann N Y Acad Sci.* 2017;1391(1):85–100.
53. Adiels M, Taskinen M-R, Packard C, Caslake MJ, Soro-Paavonen A, Westerbacka J, et al. Overproduction of large VLDL particles is driven by increased liver fat content in man. *Diabetologia* 2006;49(4):755–65.
54. Després JP. The insulin resistance-dyslipidemic syndrome of visceral obesity: effect on patients' risk. *Obes Res* 1998;6 Suppl 1:8S–17S.
55. Hwang J-H, Stein DT, Barzilai N, Cui M-H, Tonelli J, Kishore P, et al. Increased intrahepatic triglyceride is associated with peripheral insulin resistance: in vivo MR imaging and spectroscopy studies. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007;293(6):E1663-9.

56. Jakobsen M, Berentzen T, Sorensen T, Overvad K. Abdominal Obesity and Fatty Liver. *Epidemiol Rev.* 2007;29(1):77–87.
57. Korenblat KM, Fabbrini E, Mohammed BS, Klein S. Liver, muscle, and adipose tissue insulin action is directly related to intrahepatic triglyceride content in obese subjects. *Gastroenterology.* 2008;134(5):1369–75.
58. McMorrow AM, Connaughton RM, Lithander FE, Roche HM. Adipose tissue dysregulation and metabolic consequences in childhood and adolescent obesity: potential impact of dietary fat quality. *Proc Nutr Soc.* 2015;74(1):67–82.
59. O’Connell J, Lynch L, Hogan A, Cawood TJ, O’Shea D. Preadipocyte factor-1 is associated with metabolic profile in severe obesity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(4):E680-4.
60. Phillips CM, Perry IJ. Does inflammation determine metabolic health status in obese and nonobese adults? *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(10):E1610-9.
61. Blüher M, Klöting N, Wueest S, Schoenle EJ, Schön MR, Dietrich A, et al. Fas and *FasL* Expression in Human Adipose Tissue Is Related to Obesity, Insulin Resistance, and Type 2 Diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;99(1):E36–44.
62. Stienstra R, Stefan N. Tipping the inflammatory balance: inflammasome activation distinguishes metabolically unhealthy from healthy obesity. *Diabetologia.* 2013;56(11):2343–6.
63. Karelis AD, Rabasa-Lhoret R. Inclusion of C-reactive protein in the identification of metabolically healthy but obese (MHO) individuals. *Diabetes Metab.* 2008;34(2):183–4.
64. Meigs JB, Wilson PWF, Fox CS, Vasan RS, Nathan DM, Sullivan LM, et al. Body mass index, metabolic syndrome, and risk of type 2 diabetes or cardiovascular disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91(8):2906–12.

65. Aguilar-Salinas CA, García EG, Robles L, Riaño D, Ruiz-Gomez DG, García-Ulloa AC, et al. High adiponectin concentrations are associated with the metabolically healthy obese phenotype. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(10):4075–9.
66. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA.* 2001;285(19):2486–97.
67. Mallol R, Rodriguez MA, Brezmes J, Masana L, Correig X. Human serum/plasma lipoprotein analysis by NMR: application to the study of diabetic dyslipidemia. *Prog Nucl Magn Reson Spectrosc.* 2013;70:1–24.
68. Mallol R, Amigó N, Rodríguez MA, Heras M, Vinaixa M, Plana N, et al. Liposcale: a novel advanced lipoprotein test based on 2D diffusion-ordered 1H NMR spectroscopy. *J Lipid Res* 2015;56(3):737–46.
69. Otvos JD, Mora S, Shalaurava I, Greenland P, Mackey RH, Goff DC. Clinical implications of discordance between low-density lipoprotein cholesterol and particle number. *J Clin Lipidol.* 2011;5(2):105–13.
70. El Harchaoui K, Arsenault BJ, Franssen R, Després J-P, Hovingh GK, Stroes ESG, et al. High-density lipoprotein particle size and concentration and coronary risk. *Ann Intern Med.* 2009;150(2):84–93.
71. El Harchaoui K, van der Steeg WA, Stroes ESG, Kuivenhoven JA, Otvos JD, Wareham NJ, et al. Value of Low-Density Lipoprotein Particle Number and Size as Predictors of Coronary Artery Disease in Apparently Healthy Men and Women: The EPIC-Norfolk Prospective Population Study. *J Am Coll Cardiol.* 2007;49(5):547–53.

72. Chang TI, Streja E, Moradi H. Could high-density lipoprotein cholesterol predict increased cardiovascular risk? *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2017;24(2):140–7.
73. Lehninger. Principios de bioquímica. Omega, editor. Barcelona; 2009.
74. Devlin TM. Bioquímica. 4.<sup>a</sup> edición. Reverté, editor. Barcelona;
75. De Sanidad M, Consumo Y. Guía del Paciente con Trastornos Lipídicos.
76. Thompson GR. Is good cholesterol always good? *BMJ*. 2004;329(7464):471–2.
77. Asociación Costarricense de Medicina Forense. C, Medicina legal de Costa Rica.. Vol. 31, Medicina Legal de Costa Rica. Asociación Costarricense de Medicina Forense; 2014 88-94 p.
78. Hussain MM, Rava P, Walsh M, Rana M, Iqbal J. Multiple functions of microsomal triglyceride transfer protein. *Nutr Metab (Lond)* 2012;9(1):14.
79. Yazdanyar A, Yeang C, Jiang X-C. Role of phospholipid transfer protein in high-density lipoprotein- mediated reverse cholesterol transport. *Curr Atheroscler Rep*. 2011;13(3):242–8.
80. Hesse D, Jaschke A, Chung B, Schürmann A. Trans-Golgi proteins participate in the control of lipid droplet and chylomicron formation. *Biosci Rep*. 2013;33(1):1–9.
81. Vaziri ND. Causes of dysregulation of lipid metabolism in chronic renal failure. *Semin Dial*. 2009;22(6):644–51. A
82. Rousset X, Vaisman B, Amar M, Sethi AA, Remaley AT. Lecithin: cholesterol acyltransferase--from biochemistry to role in cardiovascular disease. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2009;16(2):163–71.

83. Gonzales JC, Gordts PLSM, Foley EM, Esko JD. Apolipoproteins E and AV mediate lipoprotein clearance by hepatic proteoglycans. *J Clin Invest.* 2013;123(6):2742–51.
84. Mahley RW, Huang Y. Apolipoprotein (apo) E4 and Alzheimer's disease: unique conformational and biophysical properties of apoE4 can modulate neuropathology. *Acta Neurol Scand Suppl.* 2006;185:8–14.
85. Tomkin GH, Owens D. The chylomicron: relationship to atherosclerosis. *Int J Vasc Med.* 2012;2012:784536.
86. Choi SH, Ginsberg HN. Increased very low density lipoprotein (VLDL) secretion, hepatic steatosis, and insulin resistance. *Trends Endocrinol Metab.* 2011;22(9):353–63.
87. Tiwari S, Siddiqi SA. Intracellular trafficking and secretion of VLDL. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2012;32(5):1079–86.
88. Sundaram M, Yao Z. Recent progress in understanding protein and lipid factors affecting hepatic VLDL assembly and secretion. *Nutr Metab (Lond).* 2010;7(1):35.
89. Jiang ZG, Robson SC, Yao Z. Lipoprotein metabolism in nonalcoholic fatty liver disease. *J Biomed Res.* 2013;27(1):1–13.
90. Kita T, Brown MS, Bilheimer DW, Goldstein JL. Delayed clearance of very low density and intermediate density lipoproteins with enhanced conversion to low density lipoprotein in WHHL rabbits. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1982;79(18):5693–7.
91. Fitzgerald ML, Mujawar Z, Tamehiro N. ABC transporters, atherosclerosis and inflammation. *Atherosclerosis.* 2010;211(2):361–70.



92. Harrison et al. Trastornos del metabolismo de lipoproteínas | Harrison. Principios de Medicina Interna, 18e | HarrisonMedicina | McGraw-Hill Medical.
93. Go G-W, Mani A. Low-density lipoprotein receptor (LDLR) family orchestrates cholesterol homeostasis. *Yale J Biol Med.* 2012;85(1):19–28.
94. Fon Tacer K, Rozman D. Nonalcoholic Fatty liver disease: focus on lipoprotein and lipid deregulation. *J Lipids.* 2011;2011:783976.
95. Carmena R, Duriez P, Fruchart J-C. Atherogenic Lipoprotein Particles in Atherosclerosis.
96. Sung K-C, Ryu S, Cheong ES, Kim BS, Kim BJ, Kim Y-B, et al. All-Cause and Cardiovascular Mortality Among Koreans: Effects of Obesity and Metabolic Health. *Am J Prev Med.* 2015;49(1):62–71.
97. Norata GD. Established and emerging approaches for the management of dyslipidaemia. *Scientifica (Cairo).* 2012;2012:482423.
98. Young SG, Zechner R. Biochemistry and pathophysiology of intravascular and intracellular lipolysis. *Genes Dev.* 2013 Mar 1;27(5):459–84.
99. Korzun WJ, Nilsson G, Bachmann LM, Myers GL, Sakurabayashi I, Nakajima K, et al. Difference in bias approach for commutability assessment: application to frozen pools of human serum measured by 8 direct methods for HDL and LDL cholesterol. *Clin Chem.* 2015;61(8):1107–13.
100. Choi H, Shim J-S, Lee MH, Yoon YM, Choi DP, Kim HC. Comparison of Formulas for Calculating Low-density Lipoprotein Cholesterol in General Population and High-risk Patients with Cardiovascular Disease. *Korean Circ J.* 2016;46(5):688–98.

101. Bachorik PS, Ross JW. National Cholesterol Education Program recommendations for measurement of low-density lipoprotein cholesterol: executive summary. The National Cholesterol Education Program Working Group on Lipoprotein Measurement. Clin Chem. 1995;41(10):1414–20.
102. for Disease Control C. Cholesterol Reference Method Laboratory Network for the National Reference System for Cholesterol Certification Protocol for Clinical Laboratories Cholesterol Reference Method Laboratory Network Clinical Laboratory Certification Protocol General Information. 2004.
103. ABEL LL, LEVY BB, BRODIE BB, KENDALL FE. A simplified method for the estimation of total cholesterol in serum and demonstration of its specificity. J Biol Chem. 1952;195(1):357–66.
104. Edwards SH, Kimberly MM, Pyatt SD, Stribling SL, Dobbin KD, Myers GL. Proposed serum cholesterol reference measurement procedure by gas chromatography-isotope dilution mass spectrometry. Clin Chem 2011 Apr 1;57(4):614–22.
105. Warnick GR, Wood PD. National Cholesterol Education Program recommendations for measurement of high-density lipoprotein cholesterol: executive summary. The National Cholesterol Education Program Working Group on Lipoprotein Measurement. Clin Chem. 1995;41(10):1427–33.
106. Instrucciones de uso. 2011;
107. Burtis CA, Burtis CA, Bruns DE, Sawyer BG, Tietz NW. Tietz fundamentals of clinical chemistry and molecular diagnostics.
108. Richmond W. Preparation and properties of a cholesterol oxidase from *Nocardia* sp. and its application to the enzymatic assay of total cholesterol in serum. Clin Chem. 1973;19(12):1350–6.

109. Roeschlau P, Bernt E, Gruber W. Enzymatic determination of total cholesterol in serum. *Z Klin Chem Klin Biochem.* 1974;12(5):226.
110. Allain CC, Poon LS, Chan CS, Richmond W, Fu PC. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin Chem.* 1974;20(4):470–5.
111. Trinder P. Determination of Glucose in Blood Using Glucose Oxidase with an Alternative Oxygen Acceptor. *Ann Clin Biochem An Int J Biochem Lab Med.* 1969;6(1):24–7.
112. Chen Y, Liu Q, Yong S, Teo HL, Lee TK. An improved reference measurement procedure for triglycerides and total glycerides in human serum by isotope dilution gas chromatography-mass spectrometry. *Clin Chim Acta.* 2014 20;428:20–5.
113. Edwards SH, Stribling SL, Pyatt SD, Kimberly MM. Reference measurement procedure for total glycerides by isotope dilution GC-MS. *Clin Chem.* 2012;58(4):768–76.
114. Fossati P, Prencipe L. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clin Chem.* 1982;28(10):2077–80. A
115. Oliveira MJA, van Deventer HE, Bachmann LM, Warnick GR, Nakajima K, Nakamura M, et al. Evaluation of four different equations for calculating LDL-C with eight different direct HDL-C assays. *Clin Chim Acta.* 2013;423:135–40.
116. Miller WG, Myers GL, Sakurabayashi I, Bachmann LM, Caudill SP, Dziekonski A, et al. Seven direct methods for measuring HDL and LDL cholesterol compared with ultracentrifugation reference measurement procedures. *Clin Chem.* 2010;56(6):977–86.
117. Okamoto Y, Tanaka S, Nakano H. Direct measurement of HDL cholesterol preferable to precipitation method. *Clin Chem* 1995;41(12 Pt 1):1784.

118. Izawa S, Okada M, Matsui H et al. No Title. *Med Pharm Sci*. 1997;37:1385–8.
119. McNamara JR, Leary ET, Ceriotti F, Boersma-Cobbaert CM, Cole TG, Hassemer DJ, et al. Point: status of lipid and lipoprotein standardization. *Clin Chem* . 1997;43(8 Pt 1):1306–10.
120. Meeusen JW, Lueke AJ, Jaffe AS, Saenger AK. Validation of a proposed novel equation for estimating LDL cholesterol. *Clin Chem*. 2014;60(12):1519–23.
121. Warnick GR, Kimberly MM, Waymack PP, Leary ET, Myers GL. Standardization of Measurements for Cholesterol, Triglycerides, and Major Lipoproteins. *Lab Med*. 2008;
122. van Deventer HE, Miller WG, Myers GL, Sakurabayashi I, Bachmann LM, Caudill SP, et al. Non-HDL cholesterol shows improved accuracy for cardiovascular risk score classification compared to direct or calculated LDL cholesterol in a dyslipidemic population. *Clin Chem*. 2011;57(3):490–501.
123. Contois JH, Warnick GR, Sniderman AD. Reliability of low-density lipoprotein cholesterol, non-high-density lipoprotein cholesterol, and apolipoprotein B measurement. *J Clin Lipidol*. 2011;5(4):264–72.
124. Stein EA. Measuring LDL cholesterol: for old and new calculations, is there an optimal formula? *Clin Chem*. 2014;60(12):1466–8.
125. Barbosa BS, Martins LG, Costa TBBC, Cruz G, Tasic L. Qualitative and Quantitative NMR Approaches in Blood Serum Lipidomics. In: *Methods in molecular biology* (Clifton, NJ). 2018. p. 365–79.
126. Barrilero R, Gil M, Amigó N, Dias CB, Wood LG, Garg ML, et al. LipSpin: A New Bioinformatics Tool for Quantitative <sup>1</sup> H NMR Lipid Profiling. *Anal Chem* 2018;90(3):2031–40.

127. Hämäläinen P, Saltevo J, Kautiainen H, Mäntyselkä P, Vanhala M. Hemoglobin level and lipoprotein particle size. *Lipids Health Dis.* 2018;17(1):10.
128. Mallol R, Rodriguez MA, Brezmes J, Masana L, Correig X. Human serum/plasma lipoprotein analysis by NMR: application to the study of diabetic dyslipidemia. *Prog Nucl Magn Reson Spectrosc.* 2013;70:1–24.
129. Kaess B, Fischer M, Baessler A, Stark K, Huber F, Kremer W, et al. The lipoprotein subfraction profile: heritability and identification of quantitative trait loci. *J Lipid Res.* 2008;49(4):715–23.
130. Jeyarajah EJ, Cromwell WC, Otvos JD. Lipoprotein Particle Analysis by Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. *Clin Lab Med.* 2006;26(4):847–70.
131. Soininen P, Kangas AJ, Würtz P, Tukiainen T, Tynkkynen T, Laatikainen R, et al. High-throughput serum NMR metabolomics for cost-effective holistic studies on systemic metabolism. *Analyst.* 2009;134(9):1781–5.
132. Johnson Jr C. Diffusion ordered nuclear magnetic resonance spectroscopy: principles and applications.;
133. Mallol R, Amigó N, Rodríguez MA, Heras M, Vinaixa M, Plana N, et al. Liposcale: a novel advanced lipoprotein test based on 2D diffusion-ordered <sup>1</sup>H NMR spectroscopy. *J Lipid Res.* 2015;56(3):737–46.
134. Otvos J, Jeyarajah E, of WC-AJ, 2002 undefined. Measurement issues related to lipoprotein heterogeneity. [ajconline.org](http://ajconline.org).
135. Otvos JD, Jeyarajah EJ, Cromwell WC. Measurement issues related to lipoprotein heterogeneity. *Am J Cardiol.* 2002;90(8A):22i–29i.
136. Basu A, Jenkins AJ, Zhang Y, Stoner JA, Klein RL, Lopes-Virella MF, et al. Nuclear magnetic resonance-determined lipoprotein subclasses and carotid intima-media thickness in type 1 diabetes. *Atherosclerosis* 2016 Jan;244:93–100.

137. Havel RJ. Role of triglyceride-rich lipoproteins in progression of atherosclerosis. *Circulation*. 1990;81(2):694–6.
138. Freedman DS, Otvos JD, Jeyarajah EJ, Barboriak JJ, Anderson AJ, Walker JA. Relation of lipoprotein subclasses as measured by proton nuclear magnetic resonance spectroscopy to coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1998;18(7):1046–53.
139. Hodis HN, Mack WJ. Triglyceride-rich lipoproteins and the progression of coronary artery disease. *Curr Opin Lipidol*. 1995;6(4):209–14.
140. Mack W, Krauss R, Arteriosclerosis HH-, thrombosis undefined, and undefined, 1996 undefined. Lipoprotein subclasses in the Monitored Atherosclerosis Regression Study (MARS): treatment effects and relation to coronary angiographic progression. *Am Hear Assoc*.
141. Grundy S, medicine GV-A of internal, 1992 undefined. Two different views of the relationship of hypertriglyceridemia to coronary heart disease: implications for treatment.
142. Karpe F, Bell M, Björkegren J, Hamsten A. Quantification of postprandial triglyceride-rich lipoproteins in healthy men by retinyl ester labeling and simultaneous measurement of apolipoproteins B-48 and B-100. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1995;15(2):199–207.
143. Patsch JR, Miesenböck G, Hopferwieser T, Mühlberger V, Knapp E, Dunn JK, et al. Relation of triglyceride metabolism and coronary artery disease. Studies in the postprandial state. *Arterioscler Thromb a J Vasc Biol*. 1992;12(11):1336–45.
144. Weintraub M, Grosskopf I, Rassin T, Bmj HM-, 1996 undefined. Clearance of chylomicron remnants in normolipidaemic patients with coronary artery disease: case control study over three years. *bmj.com*

145. Rosenson RS, Otvos JD, Freedman DS. Relations of lipoprotein subclass levels and low-density lipoprotein size to progression of coronary artery disease in the Pravastatin Limitation of Atherosclerosis in the Coronary Arteries (PLAC-I) trial. *Am J Cardiol.* 2002;90(2):89–94.
146. Mora S, Szklo M, Otvos JD, Greenland P, Psaty BM, Goff DC, et al. LDL particle subclasses, LDL particle size, and carotid atherosclerosis in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Atherosclerosis.* 2007;192(1):211–7.
147. Cromwell WC, Otvos JD. Low-density lipoprotein particle number and risk for cardiovascular disease. *Curr Atheroscler Rep.* 2004;6(5):381–7.
148. Kuller L, Arnold A, Tracy R, Otvos J, Burke G, Psaty B, et al. Nuclear magnetic resonance spectroscopy of lipoproteins and risk of coronary heart disease in the cardiovascular health study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002 22(7):1175–80.
149. Packard CJ, Shepherd J. Lipoprotein heterogeneity and apolipoprotein B metabolism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17(12):3542–56.
150. Camont L, Chapman MJ, Kontush A. Biological activities of HDL subpopulations and their relevance to cardiovascular disease. *Trends Mol Med* 2011;17(10):594–603.
151. Kontush A. HDL particle number and size as predictors of cardiovascular disease. *Front Pharmacol.* 2015;6:218.
152. Festa A, Williams K, Hanley A, Otvos J, Circulation DG-, 2005 undefined. Nuclear magnetic resonance lipoprotein abnormalities in prediabetic subjects in the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Am Hear Assoc*
153. Goff D, D'Agostino R, ... SH-M-C, 2005 undefined. Insulin resistance and adiposity influence lipoprotein size and subclass concentrations. Results from the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *metabolismjournal.com.*

154. Kathiresan S, Otvos J, Sullivan L, Circulation MK-, 2006 undefined. Increased small low-density lipoprotein particle number: a prominent feature of the metabolic syndrome in the Framingham Heart Study. *Am Hear Assoc.*
155. Jeyarajah EJ, Cromwell WC, Otvos JD. Lipoprotein Particle Analysis by Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. *Clin Lab Med.* 2006;26(4):847–70.
156. Harchaoui K EI, ... BA-A of internal, 2009 undefined. High-density lipoprotein particle size and concentration and coronary risk. *Am Coll Physicians*
157. Mutharasan RK, Thaxton CS, Berry J, Daviglius ML, Yuan C, Sun J, et al. HDL efflux capacity, HDL particle size, and high-risk carotid atherosclerosis in a cohort of asymptomatic older adults: the Chicago Healthy Aging Study. *J Lipid Res.* 2017;58(3):600–6.
158. Trichopoulou A, Costacou T, Bamia C, Trichopoulos D. Adherence to a Mediterranean Diet and Survival in a Greek Population. *N Engl J Med* 2003;348(26):2599–608.
159. Glade MJ. Food, nutrition, and the prevention of cancer: a global perspective. American Institute for Cancer Research/World Cancer Research Fund, American Institute for Cancer Research, 1997. *Nutrition.* 1999;15(6):523–6.
160. Nube M, Kok FJ, Vandenbroucke JP, van der Heide-Wessel C, van der Heide RM. Scoring of prudent dietary habits and its relation to 25-year survival. *J Am Diet Assoc.* 1987;87(2):171–5.
161. Osler M, Heitmann BL, Gerdes LU, Jørgensen LM, Schroll M. Dietary patterns and mortality in Danish men and women: a prospective observational study. *Br J Nutr.* 2001 Feb;85(2):219–25.
162. Michels KB, Wolk A. A prospective study of variety of healthy foods and mortality in women. *Int J Epidemiol* 2002;31(4):847–54.



163. Kant AK, Schatzkin A, Harris TB, Ziegler RG, Block G. Dietary diversity and subsequent mortality in the First National Health and Nutrition Examination Survey Epidemiologic Follow-up Study. *Am J Clin Nutr.* 1993;57(3):434–40.
164. Farchi G, Fidanza F, Grossi P, Lancia A, Mariotti S, Menotti A. Relationship between eating patterns meeting recommendations and subsequent mortality in 20 years. *Eur J Clin Nutr.* 1995 J;49(6):408–19.
165. Kouris-Blazos A, Gnardellis C, Wahlqvist ML, Trichopoulos D, Lukito W, Trichopoulou A. Are the advantages of the Mediterranean diet transferable to other populations? A cohort study in Melbourne, Australia. *Br J Nutr* 1999;82(1):57–61.
166. Huijbregts P, Feskens E, Räsänen L, Fidanza F, Nissinen A, Menotti A, et al. Dietary pattern and 20 year mortality in elderly men in Finland, Italy, and The Netherlands: longitudinal cohort study. *BMJ.* 1997;315(7099):13–7.
167. Kumagai S, Shibata H, Watanabe S, Suzuki T, Haga H. Effect of food intake pattern on all-cause mortality in the community elderly: a 7-year longitudinal study. *J Nutr Health Aging.* 1999;3(1):29–33.
168. Osler M, Schroll M. Diet and mortality in a cohort of elderly people in a north European community. *Int J Epidemiol.* 1997;26(1):155–9.
169. Kant AK, Schatzkin A, Graubard BI, Schairer C. A prospective study of diet quality and mortality in women. *JAMA.* 2000;283(16):2109–15.
170. Lasheras C, Fernandez S, Patterson AM. Mediterranean diet and age with respect to overall survival in institutionalized, nonsmoking elderly people. *Am J Clin Nutr.* 2000;71(4):987–92.
171. Keys A. Seven countries: a multivariate analysis of death and coronary heart disease. Harvard University Press; 1980. 381 p.

172. Willett WC, Sacks F, Trichopoulos A, Drescher G, Ferro-Luzzi A, Helsing E, et al. Mediterranean diet pyramid: a cultural model for healthy eating. *Am J Clin Nutr* 1995;61(6 Suppl):1402S–1406S.
173. Damasceno NRT, Sala-Vila A, Cofán M, Pérez-Heras AM, Fitó M, Ruiz-Gutiérrez V, et al. Mediterranean diet supplemented with nuts reduces waist circumference and shifts lipoprotein subfractions to a less atherogenic pattern in subjects at high cardiovascular risk. *Atherosclerosis* 2013;230(2):347–53.
174. 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;92(5):1189–96.
175. Mentz A, de Koning L, Shannon HS, Anand SS. A Systematic Review of the Evidence Supporting a Causal Link Between Dietary Factors and Coronary Heart Disease. *Arch Intern Med*. 2009;169(7):659.
176. Estruch R, Ros E, Salas-Salvadó J, Covas M-I, Corella D, Arós F, et al. Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet. *N Engl J Med*. 2013;368(14):1279–90.
177. Urpi-Sarda M, Casas R, Chiva-Blanch G, Romero-Mamani ES, Valderas-Martínez P, Arranz S, et al. Virgin olive oil and nuts as key foods of the Mediterranean diet effects on inflammatory biomarkers related to atherosclerosis. *Pharmacol Res*. 2012;65(6):577–83.
178. Stelmach-Mardas M, Walkowiak J. Dietary Interventions and Changes in Cardio-Metabolic Parameters in Metabolically Healthy Obese Subjects: A Systematic Review with Meta-Analysis. *Nutrients* 2016 ;8(8):455.

179. Rondanelli M, Klersy C, Perna S, Faliva MA, Montorfano G, Roderi P, et al. Effects of two-months balanced diet in metabolically healthy obesity: lipid correlations with gender and BMI-related differences. *Lipids Health Dis.* 2015;14(1):139.
180. Ruiz JR, Ortega FB, Labayen I. A weight loss diet intervention has a similar beneficial effect on both metabolically abnormal obese and metabolically healthy but obese premenopausal women. *Ann Nutr Metab.* 2013;62(3):223–30.
181. Kantartzis K, Machann J, Schick F, Rittig K, Machicao F, Fritsche A, et al. Effects of a lifestyle intervention in metabolically benign and malign obesity. *Diabetologia* 2011;54(4):864–8.
182. Janiszewski PM, Ross R. Effects of weight loss among metabolically healthy obese men and women. *Diabetes Care.* 2010;33(9):1957–9.
183. Liu RH, Wharton S, Sharma AM, Ardern CI, Kuk JL. Influence of a clinical lifestyle-based weight loss program on the metabolic risk profile of metabolically normal and abnormal obese adults. *Obesity (Silver Spring)* 2013;21(8):1533–9.
184. Foster GD, Wyatt HR, Hill JO, Makris AP, Rosenbaum DL, Brill C, et al. Weight and metabolic outcomes after 2 years on a low-carbohydrate versus low-fat diet: a randomized trial. *Ann Intern Med* 2010;153(3):147–57.
185. Christiansen T, Paulsen SK, Bruun JM, Pedersen SB, Richelsen B. Exercise training versus diet-induced weight-loss on metabolic risk factors and inflammatory markers in obese subjects: a 12-week randomized intervention study. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2010 ;298(4):E824-31.
186. Pate RR, O'Neill JR, Lobelo F. The Evolving Definition of 'Sedentary'. *Exerc Sport Sci Rev* 2008;36(4):173–8.

187. Bankoski A, Harris TB, McClain JJ, Brychta RJ, Caserotti P, Chen KY, et al. Sedentary activity associated with metabolic syndrome independent of physical activity. *Diabetes Care*. 2011;34(2):497–503.
188. Lakka TA, Laaksonen DE. Physical activity in prevention and treatment of the metabolic syndrome. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2007;32(1):76–88.
189. de Rooij BH, van der Berg JD, van der Kallen CJH, Schram MT, Savelberg HHCM, Schaper NC, et al. Physical Activity and Sedentary Behavior in Metabolically Healthy versus Unhealthy Obese and Non-Obese Individuals – The Maastricht Study. Eckel J, editor. *PLoS One*. 2016;11(5):e0154358.
190. Poelkens F, Eijsvogels TMH, Brussee P, Verheggen RJHM, Tack CJ, Hopman MTE. Physical fitness can partly explain the metabolically healthy obese phenotype in women. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2014;122(2):87–91.
191. Bell JA, Hamer M, van Hees VT, Singh-Manoux A, Kivimäki M, Sabia S. Healthy obesity and objective physical activity<sup>1–3</sup>. *Am J Clin Nutr*. 2015;102(2):268–75.
192. Phillips CM, Dillon C, Harrington JM, McCarthy VJC, Kearney PM, Fitzgerald AP, et al. Defining metabolically healthy obesity: role of dietary and lifestyle factors. *PLoS One* 2013;8(10):e76188.
193. Arsenault BJ, Côté M, Cartier A, Lemieux I, Després J-P, Ross R, et al. Effect of exercise training on cardiometabolic risk markers among sedentary, but metabolically healthy overweight or obese post-menopausal women with elevated blood pressure. *Atherosclerosis* 2009;207(2):530–3.
194. Gomez-Huelgas R, Narankiewicz D, Villalobos A, Wärnberg J, Mancera-Romero J, Cuesta AL, et al. Prevalence of metabolically discordant phenotypes in a mediterranean population-The IMAP study. *Endocr Pract* 2013 19(5):758–68.

195. Alberti KGMM, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation*. 2009;120(16):1640–5.
196. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes--2014. *Diabetes Care*. 2014;37 Suppl 1(Supplement\_1):S14-80.
197. Baena-Díez JM, Alzamora-Sas MT, Grau M, Subirana I, Vila J, Torán P, et al. [Validity of the MONICA cardiovascular questionnaire compared with clinical records]. *Gac Sanit* 2009;23(6):519–25.
198. Trichopoulou A, Costacou T, Bamia C, Trichopoulos D. Adherence to a Mediterranean Diet and Survival in a Greek Population. *N Engl J Med* 2003;348(26):2599–608.
199. Estruch R, Ros E, Salas-Salvadó J, Covas M-I, Corella D, Arós F, et al. Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet. *N Engl J Med*. 368(14):1279–90.
200. Topolski TD, LoGerfo J, Patrick DL, Williams B, Walwick J, Patrick MB. The Rapid Assessment of Physical Activity (RAPA) among older adults. *Prev Chronic Dis*. 2006;3(4):A118.
201. Estrella L, Castañeda C, Sánchez J, Zaharia M. [New version of the Declaration of Helsinki: shortcomings to resolve]. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. [cited 2018;31(4):803–4.
202. Hellmann F, Verdi M, Schlemper BR, Caponi S. 50th anniversary of the Declaration of Helsinki: the double standard was introduced. *Arch Med Res* 2014;45(7):600–1.

203. Castelein S, de Kort SJ, van der Moolen AEGM, Houtjes W, Roodbol PF, van Meijel B, et al. [Good clinical practice and the maintenance of ethical standards in medical research: advice for junior researchers working in mental health care]. *Tijdschr Psychiatr.* 2014;56(8):533–8.
204. Oakley J. Good medical ethics, from the inside out--and back again. *J Med Ethics.* 2015;41(1):48–51.
205. Pantoja T, Soto M. [Clinical practice guidelines development and implementation: an introduction]. *Rev Med Chil.* 2014;142(1):98–104.
206. Harris JA, Benedict FG. A Biometric Study of Human Basal Metabolism. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1918;4(12):370–3.
207. Knowler WC, Barrett-Connor E, Fowler SE, Hamman RF, Lachin JM, Walker EA, et al. Reduction in the Incidence of Type 2 Diabetes with Lifestyle Intervention or Metformin. *N Engl J Med.* 2002;346(6):393–403.
208. Plourde G, Karelis AD. Current issues in the identification and treatment of metabolically healthy but obese individuals. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2014;24(5):455–9.
209. Iacobellis G, Ribaldo MC, Zappaterreno A, Iannucci CV, Leonetti F. Small, dense low-density lipoprotein and C-reactive protein in obese subjects with and without other criteria for the metabolic syndrome. *J Clin Lipidol.* 2007;1(6):599–604.
210. Kim S, Lee H, Lee D-C, Lee H-S, Lee J-W. Predominance of small dense LDL differentiates metabolically unhealthy from metabolically healthy overweight adults in Korea. *Metabolism.* 2014;63(3):415–21.

211. Kim M, Paik JK, Kang R, Kim SY, Lee S-H, Lee JH. Increased oxidative stress in normal-weight postmenopausal women with metabolic syndrome compared with metabolically healthy overweight/obese individuals. *Metabolism*. 2013;62(4):554–60.
212. Mackey RH, McTigue KM, Chang YF, Barinas-Mitchell E, Evans RW, Tinker LF, et al. Lipoprotein particles and size, total and high molecular weight adiponectin, and leptin in relation to incident coronary heart disease among severely obese postmenopausal women: The Women's Health Initiative Observational Study. *BBA Clin*. 2015;3:243–50.
213. Tehrani DM, Zhao Y, Blaha MJ, Mora S, Mackey RH, Michos ED, et al. Discordance of Low-Density Lipoprotein and High-Density Lipoprotein Cholesterol Particle Versus Cholesterol Concentration for the Prediction of Cardiovascular Disease in Patients With Metabolic Syndrome and Diabetes Mellitus (from the Multi-Ethnic Study o. *Am J Cardiol*. 2016;117(12):1921–7.
214. Méndez González J, Martín Campos J, Ordóñez Llanos J. El laboratorio clínico y las dislipemias. *Endocrinol y Nutr* 2008;55(2):89–96.
215. Kontush A. HDL particle number and size as predictors of cardiovascular disease. *Front Pharmacol*. 2015;6:218.
216. Ala-Korpela M, Soininen P, Savolainen MJ. Letter by Ala-Korpela et al regarding article, "Lipoprotein particle profiles by nuclear magnetic resonance compared with standard lipids and apolipoproteins in predicting incident cardiovascular disease in women"; *Circulation*. 2009;120(17):e149; author reply e150.
217. Huang X-L, Pan J-H, Chen D, Chen J, Chen F, Hu T-T. Efficacy of lifestyle interventions in patients with type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Intern Med*. 2016;27:37–47.

218. Maillard F, Rousset S, Pereira B, Traore A, de Pradel Del Amaze P, Boirie Y, et al. High-intensity interval training reduces abdominal fat mass in postmenopausal women with type 2 diabetes. *Diabetes Metab.* 2016;42(6):433–41.
219. Al-Eisa ES, Alghadir AH, Gabr SA. Correlation between vitamin D levels and muscle fatigue risk factors based on physical activity in healthy older adults. *Clin Interv Aging.* 2016;11:513–22.
220. Berneis KK, Krauss RM. Metabolic origins and clinical significance of LDL heterogeneity. *J Lipid Res.* 2002;43(9):1363–79.
221. Achilike I, Hazuda HP, Fowler SP, Aung K, Lorenzo C. Predicting the development of the metabolically healthy obese phenotype. *Int J Obes* 2015;39(2):228–34.
222. Wildman RP, Muntner P, Reynolds K, McGinn AP, Rajpathak S, Wylie-Rosett J, et al. The obese without cardiometabolic risk factor clustering and the normal weight with cardiometabolic risk factor clustering: prevalence and correlates of 2 phenotypes among the US population (NHANES 1999-2004). *Arch Intern Med.* 2008;168(15):1617–24.
223. Pajunen P, Kotronen A, Korpi-Hyövälti E, Keinänen-Kiukaanniemi S, Oksa H, Niskanen L, et al. Metabolically healthy and unhealthy obesity phenotypes in the general population: the FIN-D2D Survey. *BMC Public Health* 2011;11(1):754.
224. Karelis AD, Brochu M, Rabasa-Lhoret R, Garrel D, Poehlman ET. Clinical markers for the identification of metabolically healthy but obese individuals. *Diabetes, Obes Metab.* 2004;6(6):456–7.



225. Wang L, Bordi PL, Fleming JA, Hill AM, Kris-Etherton PM. Effect of a moderate fat diet with and without avocados on lipoprotein particle number, size and subclasses in overweight and obese adults: a randomized, controlled trial. *J Am Heart Assoc* 2015;4(1):e001355.
226. Hoogeveen RC, Gaubatz JW, Sun W, Dodge RC, Crosby JR, Jiang J, et al. Small dense low-density lipoprotein-cholesterol concentrations predict risk for coronary heart disease: the Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2014;34(5):1069–77.
227. Tsai MY, Georgopoulos A, Otvos JD, Ordovas JM, Hanson NQ, Peacock JM, et al. Comparison of ultracentrifugation and nuclear magnetic resonance spectroscopy in the quantification of triglyceride-rich lipoproteins after an oral fat load. *Clin Chem* 2004;50(7):1201–4.
228. Catapano AL, Graham I, De Backer G, Wiklund O, Chapman MJ, Drexel H, et al. Wytyczne ESC/EAS dotyczące leczenia zaburzeń lipidowych w 2016 roku. *Kardiol Pol*. 2016;74(11):1234–318.
229. Cromwell WC, Otvos JD, Keyes MJ, Pencina MJ, Sullivan L, Vasan RS, et al. LDL Particle Number and Risk of Future Cardiovascular Disease in the Framingham Offspring Study - Implications for LDL Management. *J Clin Lipidol*. 2007;1(6):583–92.
230. Mora S, Glynn RJ, Ridker PM. Response to letter regarding article, “High-density lipoprotein cholesterol, size, particle number, and residual vascular risk after potent statin therapy”. *Circulation* 2014 29 129(17):e481.
231. Mora S, Glynn RJ, Ridker PM. High-density lipoprotein cholesterol, size, particle number, and residual vascular risk after potent statin therapy. *Circulation*. 2013;128(11):1189–97.

232. Hafiane A, Genest J. High density lipoproteins: Measurement techniques and potential biomarkers of cardiovascular risk. *BBA Clin.* 2015;3:175–88.
233. Garcia-Rios A, Nikolic D, Perez-Martinez P, Lopez-Miranda J, Rizzo M, Hoogeveen RC. LDL and HDL subfractions, dysfunctional HDL: treatment options. *Curr Pharm Des.* 2014;20(40):6249–55.
234. Chang TI, Streja E, Moradi H. Could high-density lipoprotein cholesterol predict increased cardiovascular risk? *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2017;24(2):140–7.
235. Urbina EM, McCoy CE, Gao Z, Khoury PR, Shah AS, Dolan LM, et al. Lipoprotein particle number and size predict vascular structure and function better than traditional lipids in adolescents and young adults. *J Clin Lipidol.* 2017;11(4):1023–31.
236. Estruch R, Ros E, Martínez-González MA. Mediterranean Diet for Primary Prevention of Cardiovascular Disease. *N Engl J Med* . 2013;369(7):672–7.
237. Topolski TD, LoGerfo J, Patrick DL, Williams B, Walwick J, Patrick MB. The Rapid Assessment of Physical Activity (RAPA) among older adults. *Prev Chronic Dis* 2006 3(4):A118.

## ANEXO

### I. Cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos (197).

VARIABLES SOCIODEMOGRÁFICAS						
Lugar de Nacimiento:						
<input type="checkbox"/> Galicia	<input type="checkbox"/> La Rioja	<input type="checkbox"/> Murcia	<input type="checkbox"/> Castilla la Mancha			
<input type="checkbox"/> Asturias	<input type="checkbox"/> Aragón	<input type="checkbox"/> Madrid	<input type="checkbox"/> Andalucía			
<input type="checkbox"/> Cantabria	<input type="checkbox"/> Cataluña	<input type="checkbox"/> Castilla-León	<input type="checkbox"/> Canarias			
<input type="checkbox"/> País Vasco	<input type="checkbox"/> Comunidad Valenciana	<input type="checkbox"/> Extremadura	<input type="checkbox"/> Baleares			
<input type="checkbox"/> Navarra	<input type="checkbox"/> Ceuta-Melilla					
<input type="checkbox"/> Extranjeros (indicar país):	solo rellenar en caso de extranjeros					
Estado civil	<input type="checkbox"/> Soltero/a	<input type="checkbox"/> Casado/a	<input type="checkbox"/> Viudo/a	<input type="checkbox"/> Divorciado/a	<input type="checkbox"/> Separado/a	<input type="checkbox"/> Religioso
¿CUÁL ES EL NIVEL MÁS ALTO DE ESCOLARIZACIÓN QUE HA COMPLETADO?						
<input type="checkbox"/> Titulado Superior o similares	<input type="checkbox"/> Técnico Escuela Universitaria	<input type="checkbox"/> Escuela secundaria o Bachiller				
<input type="checkbox"/> Escuela primaria	<input type="checkbox"/> No sabe leer ni escribir	<input type="checkbox"/> Datos insuficientes				
Número de personas con las que comparte el hogar:	<input type="text"/>	<input type="text"/>				
¿Se considera una persona tensa y/o agresiva? Puntarse de 0 (más relajado) a 10 (más competitivo)	<input type="text"/>	<input type="text"/>				
¿CUÁL ES SU SITUACIÓN LABORAL ACTUAL?						
<input type="checkbox"/> Está trabajando	<input type="checkbox"/> Incapacidad permanente	<input type="checkbox"/> Ama de casa				
<input type="checkbox"/> Estudiante	<input type="checkbox"/> Jubilado/a	<input type="checkbox"/> Datos insuficientes				
<input type="checkbox"/> Trabaja pero tiene una baja laboral de más de tres meses	<input type="checkbox"/> Paro con subsidio					
<input type="checkbox"/> Paro sin subsidio	<input type="checkbox"/> Datos insuficientes					
¿Qué trabajo concreto hace o hacía?	<input type="text"/>					
¿Qué trabajo concreto hace o hacía el/la cabeza de familia?	<input type="text"/>					
¿ALGÚN FAMILIAR DIRECTO (PADRES, HERMANOS, HIJOS, ETC...) HA FALLECIDO POR CAUSAS CARDÍACAS, O HA TENIDO ALGÚN PROBLEMA CARDÍACO?						

- Sí, antes de los 55 años (varones) / 65 años (mujeres)
- Sí, después de los 55 años (varones) / 65 años (mujeres)
- No
- Datos insuficientes

¿ALGÚN FAMILIAR DIRECTO (PADRES, HERMANOS, HIJOS...) HA TENIDO ALGÚN ACCIDENTE VASCULAR CEREBRAL?

- Sí, antes de los 55 años
- Sí, después de los 55 años
- No
- Datos insuficientes

¿ALGÚN FAMILIAR DIRECTO (PADRES, HERMANOS, HIJOS...) TIENE EL COLESTEROL ELEVADO?

- Sí, antes de los 55 años
- Sí, después de los 55 años
- No
- Datos insuficientes

¿ALGÚN FAMILIAR DIRECTO (PADRES, HERMANOS, HIJOS...) TIENE LA TENSIÓN ARTERIAL ALTA?

- Sí, antes de los 55 años
- Sí, después de los 55 años
- No
- Datos insuficientes

¿ALGÚN MÉDICO LE HA DIAGNOSTICADO DE ALGUNA DE ESTAS ENFERMEDADES? PUEDE HABER MÁS DE UNA RESPUESTA.

- Embolia pulmonar
- Aneurisma de aorta
- Insuficiencia cardíaca izquierda
- Trombosis venosa profunda
- Bronquitis crónica - Enfisema
- Fracturas óseas osteoporóticas
- Retinopatía
- Cardiopatía - vasculopatía
- Nefropatía
- Bronquitis crónica - Enfisema
- Colelitiasis
- Crisis gotosa

Edad del diagnóstico

		Años
		Años
		Años
		Años
		Años
		Años
		Años
		Años
		Años
		Años
		Años
		Años

- Depresión
- Cataratas
- Apneas del sueño
- Demencia
- Enfermedad de Parkinson
- Cáncer o tumores

Edad del diagnóstico

		Años
		Años
		Años
		Años
		Años
		Años
		Años

Especificar tipo de cáncer o tumor:

---

---

---

SOLO MUJERES: ¿QUÉ EDAD TENÍA CUANDO INICIÓ LA MENOPAUSIA?:

--	--

¿LE HA MOLESTADO A UD. ALGUNA VEZ LA GENTE CRITICÁNDOLE SU FORMA DE BEBER?

- Sí
- No
- Datos insuficientes

¿HA TENIDO UD. LA IMPRESIÓN DE QUE DEBERÍA BEBER MENOS?

- Sí
- No
- Datos insuficientes

<b>¿SE HA SENTIDO ALGUNA VEZ MAL O CULPABLE POR SU COSTUMBRE DE BEBER?</b>		
<input type="checkbox"/>	Sí	
<input type="checkbox"/>	No	
<input type="checkbox"/>	Datos insuficientes	
<b>¿ALGUNA VEZ LO PRIMERO QUE HA HECHO POR LA MAÑANA HA SIDO BEBER PARA CALMAR LOS NERVIOS O PARA LIBRARSE DE UNA RESACA?</b>		
<input type="checkbox"/>	Sí	
<input type="checkbox"/>	No	
<input type="checkbox"/>	Datos insuficientes	
<b>¿HA REALIZADO ALGUNA VEZ DIETA ESTRICTA PARA PERDER PESO?</b>		
<input type="checkbox"/>	Sí	
<input type="checkbox"/>	No	
<input type="checkbox"/>	Datos insuficientes	
<b>¿A QUE EDAD USTED EMPEZÓ A TENER SOBREPESO?</b>		
<input type="checkbox"/>	Desde la infancia	
<input type="checkbox"/>	En la adolescencia	
<input type="checkbox"/>	En la edad adulta	
<input type="checkbox"/>	En la menopausia	
<b>¿CUÁL HA SIDO EL MÁXIMO PESO ALCANZADO EN SU VIDA?</b>		
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	Peso en kg	
	PESO HABITUAL:	FUMADOR/A:

II. Cuestionario de adhesión a la dieta mediterránea hipocalórica (198)

**CUESTIONARIO DE 16 ÍTEMS DE ADHESIÓN A LA DIETA MEDITERRÁNEA HIPOCALÓRICA**

- |  |  |                          |
|--|--|--------------------------|
| 1. ¿Usa usted el aceite de oliva virgen extra como principal grasa para cocinar?   | Sí= 1 punto  | <input type="checkbox"/> |
| 2. ¿Cuántas raciones de verdura u hortalizas consume al día?<br>(las guarniciones o acompañamientos = 1/2 ración) 1 ración = 200g.                   | 2 o más (al menos una de ellas en ensalada o crudas) = 1 punto | <input type="checkbox"/> |
| 3. ¿Cuántas piezas de fruta (incluyendo zumo natural) consume al día?  | 2 o más al día= 1 punto  | <input type="checkbox"/> |
| 4. ¿Cuántas raciones de carnes rojas, hamburguesas, salchichas, jamón o embutidos consume a la semana? (ración: 100 - 150 g)                         | Menos de 1 a la semana = 1 punto                               | <input type="checkbox"/> |
| 5. ¿Cuántas raciones de mantequilla, margarina o nata consume a la semana? (porción individual: 12 g)  | Menos de 1 a la semana = 1 punto                               | <input type="checkbox"/> |
| 6. ¿Cuántas bebidas azucaradas (refrescos, colas, tónicas, bitter, zumos de fruta con azúcar añadido) consume a la semana?                           | Menos de 1 a la semana = 1 punto                               | <input type="checkbox"/> |
| 7. ¿Cuántas raciones de legumbre consume a la semana?<br>(1 plato o ración de 150 g)   | 3 o más a la semana= 1 punto                                   | <input type="checkbox"/> |
| 8. ¿Cuántas raciones de pescado o mariscos consume a la semana?<br>(1 plato, pieza o ración: 100 – 150 g de pescado o 4-5 piezas o 200 g de marisco) | 3 o más a la semana= 1 punto                                   | <input type="checkbox"/> |
| 9. ¿Cuántas veces consume repostería comercial (no casera) como galletas, flanes, dulces o pasteles a la semana?                                     | Menos de 3 a la semana = 1 punto                               | <input type="checkbox"/> |
| 10. ¿Cuántas veces consume frutos secos a la semana? (ración 30 g)   | 1 o más a la semana= 1 punto                                   | <input type="checkbox"/> |
| 11. ¿Consume usted preferentemente carne de pollo, pavo o conejo en vez de ternera, cerdo, hamburguesas o salchichas? (carne                         | Sí= 1 punto  | <input type="checkbox"/> |

de pollo: 1 pieza o ración de 100 - 150 g)

12. ¿Cuántas veces a la semana consume los vegetales cocinados, la

pasta, arroz u otros platos aderezados con salsa de tomate, ajo, cebolla

o puerro elaborada a fuego lento con aceite de oliva (sofrito)?

3 o más a la semana= 1 punto

13. ¿Añade usted azúcar a las bebidas (café, té)?

No/ No, utilizo edulcorantes acalóricos= 1 punto

14. ¿Cuántas raciones de pan blanco consume al día? (1 ración = 75g)

1 o menos al día = 1 punto

15. ¿Cuántas raciones de cereales y alimentos integrales (pan, arroz, pasta) consume a la semana?

5 o más a la semana = 1 punto

16. ¿Cuántas raciones de pan, arroz y/o pasta refinados consume a la semana?

Menos de 3 a la semana = 1 punto



III. Cuestionario de Actividad Física (199,200)

Nunca o casi nunca hago actividades físicas.	Sí <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
Hago algunas actividades físicas ligeras y/o moderadas, pero no cada semana.	Sí <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
Hago algunas actividades físicas ligeras cada semana.	Sí <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
Hago actividades físicas moderadas cada semana, pero menos de cinco días a la semana, o menos de 30 minutos diarios en esos días.	Sí <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
Hago actividades físicas vigorosas cada semana, pero menos de tres días por semana, o menos de 20 minutos diarios en esos días.	Sí <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
Hago 30 minutos o más de actividades físicas moderadas por día, 5 o más días por semana.	Sí <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
Hago 20 minutos o más de actividades físicas vigorosas por día, 3 o más días por semana.	Sí <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1 Hago actividades para aumentar la fuerza muscular, como levantamiento de pesas, una o más veces por semana.	Sí <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
2 Hago actividades para mejorar la flexibilidad, como ejercicios de elasticidad, una o más veces por semana.	Sí <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>

Número de identificación : \_\_\_\_\_

Fecha : \_\_\_\_\_

## APÉNDICE

### I. Nota informativa



Servicio Andaluz de Salud  
CONSEJERÍA DE SALUD

Estimado Sr/Sra:

El servicio de Medicina Interna del Hospital Carlos Haya, en colaboración con el servicio de Endocrinología del Hospital Clínico Virgen de la Victoria y de 4 centros de salud de Málaga capital (Ciudad Jardín, Puerta Blanca, Tiro Pichón y Victoria) están realizando un estudio en pacientes con obesidad que en el momento actual no presentan alteraciones metabólicas ni otros problemas de salud importantes.

La obesidad es un problema de salud muy frecuente. Sabemos que la obesidad (especialmente la obesidad abdominal) suele asociarse a otros factores de riesgo (hipertensión, diabetes, alteraciones de la grasa en la sangre) que predisponen al desarrollo de enfermedades vasculares.

Sin embargo, hemos comprobado que alrededor del 10% de la población obesa, los llamados “obesos sanos”, no presenta ningún problema metabólico añadido. Está muy discutido cuál es el riesgo de estas personas de desarrollar diabetes y enfermedades cardiovasculares. Tampoco está bien estudiado si la pérdida de peso en estos individuos ayuda a prevenir estos procesos.

Nuestro objetivo es comprobar, mediante un programa supervisado de dieta mediterránea y ejercicio físico, la efectividad de la pérdida de peso en un periodo de tiempo de 3 meses con el fin de mejorar el riesgo cardiovascular.

Ha sido usted seleccionado para participar en el estudio porque reúne estas características (obesidad sin alteraciones metabólicas ni cardiovasculares). Su participación es totalmente voluntaria. Si no acepta participar, o si decide



retirarse del estudio, su futura asistencia médica queda por supuesto totalmente garantizada.

Si acepta colaborar, su participación no representa ningún riesgo para su salud y se le garantizará el cumplimiento de todas las garantías de confidencialidad que exige la ley.

A los participantes en el estudio se les propondrá un tratamiento basado en la dieta (dieta mediterránea baja en calorías) y en un incremento de la actividad física (mediante un programa de ejercicio supervisado e individualizado), con el objetivo de perder peso moderadamente. La duración prevista del estudio es de 2 años.

Durante este tiempo, los participantes en el estudio serán revisados periódicamente por un endocrinólogo y un médico internista. Se les controlará la presión arterial, el peso y se les medirá la cintura y la cadera. Se les facilitará un podómetro para conocer la distancia (número de pasos) que camina en un día. Además, se les realizará analíticas de sangre. La analítica de sangre incluirá determinación del perfil lipídico convencional y el perfil lipídico mediante  $^1\text{H-RMN}$ .

Finalmente, se les realizará diversas encuestas para conocer su tipo de alimentación, el grado de actividad física.

Pensamos que este estudio puede ser importante para mejorar su salud, ya que un estilo de vida más saludable le ayudará a prevenir las enfermedades cardiovasculares.

Muchas gracias por su atención.

Dr. Enrique Rodríguez García

Especialista Interno Residente de Análisis Clínicos. Hospital Regional  
Universitario de Málaga.

Investigador del estudio

II. Modelo de consentimiento informado



Servicio Andaluz de Salud  
**CONSEJERÍA DE SALUD**

### CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del estudio:

**Caracterización de biomarcadores del metabolismo basal de Obesos Metabólicamente Sanos (OMS)**

Yo,.....

He leído la hoja de información que se me ha entregado,

he podido hacer preguntas sobre el estudio,

he recibido suficiente información sobre el estudio,

he hablado con: .....(nombre del investigador)

comprendo que mi participación es voluntaria,

comprendo que puedo retirarme del estudio:

1. Cuando quiera.
2. Sin tener que dar explicaciones.
3. Sin que esto repercuta en mis cuidados o atención sanitaria.

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

En Málaga, a .....de ..... de 2013

Firma del participante

