



VNIVERSITAT DE VALÈNCIA

FACULTAD DE MEDICINA
PROGRAMA DE DOCTORADO EN MEDICINA

TESIS DOCTORAL

**SOBRECARGA ORAL CON GRASA INSATURADA
Y ESTRÉS OXIDATIVO
EN SUJETOS CON OBESIDAD ABDOMINAL**

M^a Inmaculada Navarro Hidalgo

Licenciada en Medicina

Especialidad en Endocrinología y Nutrición

Dirigida por:

Prof. Rafael Carmena Rodríguez

Dr. Sergio Martínez Hervás

Valencia 2015



VNIVERSITAT E VALÈNCIA

FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA

TESIS DOCTORAL

**SOBRECARGA ORAL CON GRASA INSATURADA
Y ESTRÉS OXIDATIVO
EN SUJETOS CON OBESIDAD ABDOMINAL**

M^a Inmaculada Navarro Hidalgo

Licenciada en Medicina

Especialidad en Endocrinología y Nutrición

Dirigida por:

Prof. Rafael Carmena Rodríguez

Dr. Sergio Martínez Hervás

Valencia 2015



VNIVERSITAT DE VALÈNCIA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA

Rafael Carmena Rodríguez, Doctor en Medicina y Catedrático Emérito de Universidad del Departamento de Medicina de la Universitat de València y Sergio Martínez Hervás, Doctor en Medicina y Profesor Asociado de Universidad del Departamento de Medicina de la Universitat de València.

CERTIFICAN:

Que Dña. M^a Inmaculada Navarro Hidalgo, licenciada en Medicina, ha realizado bajo nuestra dirección la tesis doctoral titulada: “Sobrecarga oral con grasa insaturada y estrés oxidativo en sujetos con obesidad abdominal”, y que reúne todos los requisitos para ser presentada y defendida para optar al Grado de Doctor por la Universitat de València.

Valencia, 15 de Junio de 2015.

Fdo. Dr. Rafael Carmena Rodríguez

Fdo. Dr. Sergio Martínez Hervás

A quien es la razón de mi existencia

A mi familia y amigos

AGRADECIMIENTOS

- Al profesor D. Rafael Carmena por transmitirme su pasión por la Medicina y enseñarme la dignidad y el sentido del acto médico.

- Al profesor D. Juan F. Ascaso, por su disponibilidad y estímulo a la hora de iniciar este proyecto.

- Al Dr. Sergio Martínez Hervás, principal responsable de este trabajo, por su ayuda y esfuerzo incondicional a lo largo de estos años.

- Al Dr. José T. Real por introducirme en el ejercicio de la Medicina y en el mundo de la investigación, transmitiéndome su inquietud por preguntarme el por qué de todas las cosas. Él ha sido el principal maestro y motor en el desarrollo de esta línea de investigación, y quien gracias a su estímulo y ayuda ha hecho posible la realización de este proyecto.

- A Geles y a todo el personal de laboratorio.

- A todas las personas que han hecho posible este trabajo.

ÍNDICE

1. Introducción	13
1.1. Arterioesclerosis y riesgo cardiovascular	13
1.2. Obesidad abdominal	14
1.2.1. Obesidad abdominal y riesgo cardiovascular	15
1.3. Estrés oxidativo	20
1.3.1. Componentes del estrés oxidativo	20
1.3.2. Estrés oxidativo y arterioesclerosis	28
1.3.3. Estrés oxidativo en la obesidad abdominal	29
1.4. Lipemia postprandial	30
1.4.1. Lipemia postprandial, disfunción endotelial y arterioesclerosis ...	31
1.4.2. Posibles tratamientos de la lipemia postprandial	34
1.5. Obesidad abdominal, estrés oxidativo y lipemia postprandial	36
1.6. Figuras	39
2. Hipótesis de trabajo	44
3. Objetivos	46
3.1. General	46
3.2. Específicos	46
4. Sujetos y métodos	47
4.1. Sujetos	47
4.2. Métodos	48
4.3. Diseño	50
4.4. Análisis estadístico	53
5. Resultados	54
6. Discusión	85
7. Conclusiones	97
8. Bibliografía	98

LISTADO DE ABREVIATURAS UTILIZADAS

AGL: ácidos grasos libres	LPL: lipoproteinlipasa
ADN: ácido desoxirribonucleico	LPP: lipemia postprandial
Akt: v-akt murine thymoma viral oncogene	LRP: <i>LDLR</i> -related protein
AMPK: 5-adenosine monophosphate-activated protein kinase	LRT: lipoproteinas ricas en triglicéridos
Apo: apolipoproteína	MAPK: mitogen-activated protein kinase
ASP: acylation stimulating protein	MCP-1: monocyte chemoattractant protein-1
CAMs: celular adhesión molecules	MDA: malonil-di-aldehído
cHDL: colesterol HDL	MUFA: ácidos grasos monoinsaturados
cLDL: colesterol LDL	NF- κ β : factor nuclear κ β
cVLDL:colesterol VLDL	NO: óxido nítrico
ECV: enfermedad cardiovascular	O ₂ ⁻ : anión superóxido
eNOS: sintetasa de óxido nítrico endotelial	PI3K: phosphatidylinositol 3-kinase
8-epi-PGF2: prostaglandina F2-alfa-8 isoprostano	PIP3: phosphatidylinositol 3,4,5-triphosphate
GLUT4: glucose transporter 4	PKB: protein kinase B
GPX: glutation peroxidasa	PUFA: ácidos grasos poliinsaturados
GSH: glutation reducido	QM: quilomicrones
GSSG: glutation oxidado	ROOHs: hidroperóxidos lipídicos.
HSL: hormone sensitive lipase	ROS: reactive oxygen species
ICAM-1: intercelular adhesion molecule-1	SOD: superóxido dismutasa
IL: interleucina	SOG: sobrecarga oral grasa
IR: insulinoreistencia	TBARS: thiobarbituric reactive acid substances
IRS: insulin receptor substrate	TNF- α : tumor necrosis factor α
LDLR: receptor de LDL	VCAM-1: vascular cell adhesión molecule-1

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Arteriosclerosis y riesgo cardiovascular

La enfermedad cardiovascular (ECV) constituye, desde hace años, la principal causa de morbi-mortalidad en los países desarrollados, siendo la responsable del 80% de las muertes en estos países^{1,2}. En España, la ECV es la primera causa de muerte (30.3%) y de hospitalización en la población adulta (Instituto Nacional de Estadística 2013). Por tanto, el impacto socioeconómico de esta enfermedad es muy importante.

La base patogénica de la ECV es la arteriosclerosis, que afecta fundamentalmente a las arterias de mediano y gran calibre. La arteriosclerosis se caracteriza por el endurecimiento y la pérdida de elasticidad de la pared arterial, y la formación de placas de ateroma que conducen al estrechamiento de su lumen; su posterior ruptura y formación de un trombo intraluminal provoca la isquemia y necrosis del territorio dependiente de la arteria ocluida³.

Un factor inicial fundamental en el desarrollo de la placa de ateroma es el acúmulo subendotelial de las partículas oxidadas de colesterol LDL (cLDL). Pero la arteriosclerosis es mucho más que una simple acumulación de lípidos en la pared arterial. Las lesiones arterioscleróticas son consecuencia de una serie de respuestas celulares y moleculares específicas que corresponden a un proceso inflamatorio^{4,5}. Los factores de riesgo, tales como la hipertensión arterial, obesidad abdominal, insulinoresistencia (IR) y la diabetes, generan estrés oxidativo activando diferentes factores de transcripción, que a su vez, activan numerosos genes involucrados en el proceso inflamatorio. Este proceso inflamatorio crónico junto con la generación de estrés oxidativo está presente en el inicio y desarrollo de las complicaciones de la placa de ateroma^{4,6}.

El riesgo de desarrollar arteriosclerosis y sus consecuencias, en forma de ECV, no es uniforme en toda la población y depende de numerosos factores. Un importante factor de riesgo cardiovascular, tanto directamente, como por su asociación con otros factores de riesgo, además de muy prevalente, es la obesidad abdominal, caracterizada por un aumento de los depósitos de grasa en el tejido adiposo intraabdominal⁷.

1.2. Obesidad abdominal

La prevalencia de obesidad ha aumentado de manera dramática en las últimas décadas. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que en todo el mundo hay más de 1000 millones de adultos con sobrepeso⁸. En nuestro medio, entre un 15 y un 20% de la población adulta es obesa, el 40% presenta sobrepeso y hasta el 30% presentan obesidad abdominal, aumentando la prevalencia con la edad^{9,10,11}.

Dadas las proporciones epidémicas que ha alcanzado la obesidad, el conocimiento de los mecanismos que subyacen en la asociación entre obesidad y ECV constituye una prioridad.

La obesidad es un factor de riesgo cardiovascular independiente. Sin embargo, la obesidad definida por el índice de masa corporal sólo informa acerca de un exceso de grasa corporal, presentando la obesidad abdominal (también llamada visceral) mayor trascendencia clínica, ya que se relaciona con las alteraciones metabólicas y cardiovasculares que forman parte del síndrome metabólico o de IR^{12,13}. Además, el tejido adiposo es un órgano endocrino muy importante.

Hasta hace unos años se había considerado al tejido adiposo como un órgano de almacenamiento de energía, pero en los últimos años numerosos estudios han evidenciado que el tejido adiposo es un órgano metabólicamente muy activo^{14,15,16,17,18,19} que produce y secreta una amplia variedad de moléculas biológicamente activas, con actividad tanto paracrina como autocrina¹⁴. Entre éstas, se han identificado las adipoquinas, que son citoquinas liberadas por el tejido adiposo, con influencia sobre las cascadas inflamatorias, procoagulantes, antifibrinolíticas y vasoactivas, lo que sugiere una influencia directa sobre la inflamación^{20,21,22}. La disregulación en la producción de adipoquinas que existe en la obesidad se ha implicado en el desarrollo del síndrome metabólico¹⁶.

La obesidad abdominal se puede determinar fácilmente en la práctica clínica mediante la medición del perímetro de la cintura, ya que diversos estudios clínicos demuestran cómo la grasa visceral, evaluada mediante tomografía computarizada a nivel de L4-L5,

presenta una excelente correlación con el perímetro de la cintura, y que esta correlación no está influida por el sexo ni por el grado de obesidad^{23,24,25}.

Actualmente no existe un acuerdo unánime sobre cuál debe ser el punto de corte para el valor de la circunferencia de cintura a partir del cual el exceso de grasa visceral se acompaña de un aumento del riesgo cardiovascular. Una muestra de ello, son las discrepancias existentes en los distintos criterios antropométricos definidos para la identificación del síndrome metabólico. La primera definición de obesidad central fue propuesta en 1998 por la OMS, que estableció como criterio de obesidad abdominal un índice cintura/cadera igual o superior a 1 en el varón y 0,9 en la mujer²⁶. En el 2001 el panel de expertos en hipercolesterolemia (NCEP-ATP III) estableció como criterio de obesidad abdominal un perímetro de cintura >102 cm en el varón y >88 cm en la mujer²⁷. En 2005, la International Diabetes Federation (IDF) propuso como punto de corte para establecer la obesidad abdominal un perímetro de cintura ≥ 94 cm en el varón y ≥ 80 cm en la mujer²⁸. Asimismo, se han establecido puntos de corte diferentes en distintas poblaciones^{29,30,31,32}.

1.2.1. Obesidad abdominal y riesgo cardiovascular

La obesidad, especialmente la abdominal, es una de las principales causas para el desarrollo de alteraciones metabólicas como IR, diabetes tipo 2, hipertensión arterial y dislipemia mixta, y por tanto, para el riesgo de desarrollar arteriosclerosis y ECV^{7,33}. Por ello, se considera un factor de riesgo cardiovascular independiente^{34,35,36,37,38,39,40,41}. Sin embargo, aproximadamente un 30% de los sujetos con obesidad abdominal no presenta ninguna de estas alteraciones metabólicas comúnmente asociadas, por lo que deben existir otros mecanismos, tanto genéticos, como hormonales o relacionados con el estilo de vida, protectores frente a su desarrollo^{42,43}. Datos recientes sugieren que el depósito de grasa en diferentes regiones abdominales puede ser un factor que explique el diferente riesgo cardiovascular que se observa en sujetos con obesidad abdominal⁴⁴.

La obesidad abdominal se asocia de forma estrecha con el desarrollo de IR. Se han sugerido varias hipótesis para explicar esta asociación (figura 1). La teoría portal plantea que el aumento del depósito graso visceral, muy susceptible a la lipólisis,

conduce al aumento del flujo de ácidos grasos libres (AGL) produciendo esteatosis hepática e IR⁴⁵. Este aumento de AGL reduce la captación de glucosa por el músculo esquelético, estimula la producción hepática de colesterol VLDL (cVLDL) y glucosa, y potencia la secreción aguda de insulina a nivel pancreático, siendo el efecto lipotóxico en las células beta pancreáticas por los AGL de forma crónica el posible nexo entre la obesidad abdominal, la IR y el desarrollo de diabetes tipo 2.

Otra teoría más reciente sobre la relación entre obesidad abdominal e IR plantea la posibilidad que el tejido adiposo visceral sea en sí mismo diabetogénico debido a que los macrófagos que contiene secretan adipoquinas que alteran la sensibilidad a la insulina en el hígado y tejido muscular; algunas citoquinas derivadas de la grasa activarían el factor nuclear $\kappa\beta$ (NF- $\kappa\beta$) en los hepatocitos, y esto conduciría a una situación de IR a través de la generación y acción de citoquinas proinflamatorias que incluyen IL-6 y TNF- α ⁴⁶. Por último, otra posibilidad es que el acúmulo de grasa visceral sea un marcador subrogado de acumulación de grasa ectópica provocando lipotoxicidad de forma paralela en el hígado y en el músculo, produciendo IR en estos tejidos⁴⁷.

Como se ha comentado previamente, la presencia de IR es una situación patológica caracterizada por una disminución de la respuesta fisiológica de los tejidos periféricos y del sistema vascular a la acción de la insulina. Es un factor de riesgo importante para el desarrollo tanto de diabetes tipo 2, como de ECV y es una de las bases fisiopatológicas del síndrome metabólico^{48,49,50}. Nuestro grupo ha trabajado ampliamente en el campo de la IR^{51,52,53}. En un modelo genético de dislipemia mixta con IR, como es la hiperlipemia familiar combinada, hemos demostrado que existe un exceso tanto de marcadores de estrés oxidativo como de inflamación crónica, así como una mayor prevalencia de ECV^{54,55,56,57}. La importancia de la IR radica no sólo en su asociación con otros reconocidos factores de riesgo cardiovascular, sino en que se ha mostrado como un factor de riesgo cardiovascular independiente.

El mecanismo por el que la IR provoca arteriosclerosis y mayor riesgo de ECV no es del todo conocido. Se debe en parte a la alteración del receptor de insulina. En condiciones normales, la unión de la insulina a su receptor provoca su autofosforilación. Esto conduce a un cambio conformacional y a la activación de su

actividad intrínseca tirosinkinasa, que produce la activación de dos vías: la vía PI3K/Akt (PI3K: phosphatidylinositol 3-kinase; Akt: v-akt murine thymoma viral oncogene PKB: proteinkinase B) y la reacción en cascada de las MAPK (mitogen-activated protein kinase) (figura 2). La activación de la vía PI3K/Akt produce la fosforilación del sustrato del receptor de insulina (IRS, insulin receptor substrate), que a su vez provoca la fosforilación de la subunidad p85 y la heterodimerización de las subunidades p85 y p110 de PI3K. La activación de Akt conduce a la generación de PIP3 (phosphatidylinositol 3,4,5-triphosphate), lo cual provoca la activación de PDK1 (phosphoinositide-dependent kinase-1), que a su vez produce la activación de Akt. La activación de Akt/PKB produce la fosforilación del residuo serina y la activación de eNOS (endotelial nitric oxide synthase), Rab-GTPase-activating protein-AS160 (sustrato de Akt de 160 kDa) y la fosforilación del residuo serina de la HSL (hormone sensitive lipase), inhibición de glycogen synthase kinase-3, fosforilación del residuo treonina de S6K (ribosomal protein S6 kinase), y la inducción de la expresión del gen Bcl-x. Todas estas reacciones conducen a la generación de óxido nítrico (NO), aumento de captación de glucosa por la célula a través de la traslocación transmembrana del receptor GLUT4 (glucose transporter 4), inhibición de la lipólisis, estímulo de la síntesis de glucógeno y proteínas y una disminución de la apoptosis⁵⁸. Este conjunto de reacciones conduce a la acción metabólica de la insulina y al resto de acciones pleiotrópicas de la misma.

Sin embargo, la IR provoca una alteración de esta vía de señalización, con lo que se inhibe la producción de NO, se altera la reactividad vascular y disminuye el depósito de insulina y glucosa en los tejidos periféricos. En los estados de IR la vía de señalización de la insulina PI3K/Akt está atenuada, conduciendo a una inactivación de eNOS y a una disminución en la producción de NO en las células endoteliales. La atenuación de esta vía y la alteración de la señalización de la vía dependiente de MAPK (la cual regula la secreción del vasoconstrictor ET-1 (endothelin-1) del endotelio y otras acciones biológicas relacionadas con el crecimiento, la mitogénesis y la diferenciación celular), contribuye a la disfunción endotelial, aceleración del proceso arteriosclerótico y a un mayor riesgo de ECV (figura 3)^{58,59,60}.

Esto explicaría la variabilidad en el riesgo de desarrollar ECV en estos pacientes, y que no puede ser explicado por los factores de riesgo clásicos como la edad, niveles de colesterol, presión arterial, tabaco, etc⁶¹.

En situaciones de IR como es la obesidad abdominal, en la que los efectos vasculares y metabólicos de la insulina están alterados, existe un proceso arteriosclerótico más acelerado y severo, que explica que el riesgo cardiovascular esté aumentado en estos pacientes y que presenten un exceso de mortalidad que no puede ser explicado^{62,63}.

La acción del NO producido por las células endoteliales estimuladas por insulina, no se limita únicamente a la modulación del tono y reactividad vascular, sino que también engloba otras funciones, como la regulación de la migración y crecimiento de las células musculares lisas y otras acciones antiinflamatorias y antitrombóticas relacionadas con la aterogénesis. Los efectos antiinflamatorios del NO incluyen una disminución en la expresión de moléculas de adhesión VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1), ICAM-1 (intercelular adhesion molecule-1), E-selectina y una reducción en la secreción de citoquinas pro inflamatorias MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1) y TNF- α ⁶⁴. Entre los efectos antitrombóticos del NO se incluyen una disminución de la adhesión de las plaquetas y un aumento en la producción de prostaciclina, la cual inhibe la agregación plaquetaria⁶⁵.

El aumento de citoquinas inflamatorias y especies reactivas de oxígeno (ROS) que produce el tejido adiposo visceral conduce a un estado de IR periférica, con un impacto directo sobre el endotelio vascular produciendo disfunción endotelial e inicio de arteriosclerosis⁵⁸.

La insulina es el principal regulador de la lipoproteinlipasa (LPL), activándola para facilitar el aclaramiento de partículas ricas en triglicéridos en situación postprandial. En situaciones de IR, como es la obesidad y sobre todo, la obesidad abdominal, la actividad de la LPL está disminuida, reduciéndose el aclaramiento plasmático de las partículas ricas en triglicéridos. Esta situación incrementa el flujo de AGL, remanentes de quilomicrones (QM) y VLDL ricos en triglicéridos al hígado, contribuyendo así a una mayor lipemia postprandial (LPP)⁶⁶. Por tanto, en estos pacientes existe una alteración y

una disminución en el aclaramiento postprandial de los remanentes lipoproteicos^{67,68,69}. Esto explica que en los pacientes con obesidad abdominal e IR, los efectos deletéreos de la LPP estén ampliados o magnificados⁷⁰. Además, en sujetos con sobrepeso y valores normales en ayuno de triglicéridos, existe una relación positiva entre el grado de IR y la LPP. Halkes et al observaron que las diferencias en los valores de la LPP encontradas entre géneros desaparecen por el efecto de la obesidad⁷¹. Resultados similares hemos encontrado en nuestro grupo al estudiar sujetos con obesidad e IR^{72,73}.

Existen otros mecanismos que también contribuyen a que la LPP se encuentre alterada en los sujetos con obesidad abdominal e IR. En el tejido adiposo la insulina disminuye la liberación de AGL a través de la vía PI3K/Akt, provocando una inhibición de la HSL (su acción consiste en hidrolizar los triglicéridos en AGL)⁷⁴. Sin embargo, en situación de IR se produce una alteración de esta vía que conduce a un aumento en plasma de AGL y una mayor lipotoxicidad. De esta forma el músculo esquelético y el sistema vascular de los pacientes con IR están constantemente expuestos a elevadas concentraciones de AGL.

Los mecanismos por los que el aumento de los niveles plasmáticos de AGL contribuyen a la IR incluyen: la inhibición del transportador de glucosa GLUT4 y de la actividad hexoquinasa provocando una disminución de la síntesis de glucógeno y un aumento de la glucemia plasmática; la activación del factor de transcripción NF- κ B, relacionado con el desarrollo de IR, el aumento en la producción de ROS, y una alteración de la vía de señalización de la insulina PI3K/PDK1/Akt/eNOS en las células endoteliales^{75,76,77,78}. La alteración de la LPP en pacientes con obesidad abdominal se ha relacionado, no sólo con la IR asociada a la obesidad, sino también por la propia obesidad abdominal. Esto podría ser debido a que el tejido adiposo visceral es un tejido metabólicamente activo que puede producir AGL, adipoquinas y distintas moléculas de tipo inflamatorio, implicadas todas ellas en la patogénesis de la LPP⁷⁹. La variabilidad individual en la respuesta de la LPP excede a la que se produce en la lipemia en ayuno, debido a que existen numerosos factores genéticos y ambientales que contribuyen a la LPP⁸⁰. La obesidad abdominal y el tipo de alimentación de las personas han sido ampliamente

demostrados, sin embargo, existen pocos datos acerca de la influencia de una dieta rica en ácidos grasos insaturados sobre la LPP.

1.3. Estrés oxidativo

1.3.1. Componentes del estrés oxidativo

Los radicales libres son aquellas especies capaces de contener uno o más electrones desapareados. Son moléculas altamente reactivas que tienden a reaccionar con otras moléculas para alcanzar la estabilización. La estabilidad se consigue tanto por la captación (radical que se reduce) como por la donación (radical que se oxida) de un electrón. Este proceso produce una reacción en cadena de formación de radicales que continúa hasta que termina la reacción. Esto ocurre cuando dos radicales reaccionan entre sí y se inactivan, o lo hacen mediante la reacción del radical con una molécula antioxidante. Por ello el organismo ha desarrollado un complejo sistema de defensa antioxidante formado por compuestos exógenos y endógenos, como mecanismo para neutralizar el impacto deletéreo de la exposición a los radicales libres⁸¹.

La instauración del proceso de estrés oxidativo ocurre por la existencia de un desequilibrio entre los procesos de oxidación (pérdida de electrones) y reducción (ganancia de los mismos), de forma que la producción de ROS supera la capacidad orgánica antioxidante. Las ROS son una familia de moléculas que se producen en todas las células aerobias, muchas de las cuales tienen electrones desapareados y se comportan como radicales libres.

La producción de ROS es un proceso necesario y altamente regulado en los seres vivos. En condiciones normales, existe un equilibrio entre la producción y degradación de radicales libres, principalmente derivados de oxígeno, funcionando incluso como señales celulares imprescindibles para la actividad celular como la síntesis proteica, la activación enzimática, la regulación del ciclo celular y la respuesta inmune/inflamatoria, entre otros^{82,83,84}.

El estrés oxidativo se genera como resultado de un incremento de la producción de ROS, de una disminución de la capacidad de los sistemas antioxidantes o una

combinación de ambos. El estrés oxidativo induce daños celulares a diferentes niveles (lípidos de membranas, ADN (ácido desoxirribonucleico) y proteínas), así como toda una serie de reacciones de oxidación de diferentes componentes sanguíneos (oxidación de lipoproteínas, eliminación del NO circulante, etc)⁸⁵. Esta oxidación de biomoléculas conduce a la pérdida de sus funciones biológicas, al descontrol homeostático y al potencial daño oxidativo contra las células y tejidos, produciendo un estado inflamatorio crónico, responsable de la patogénesis y desarrollo de arteriosclerosis, ECV, diabetes mellitus tipo 2, obesidad abdominal, IR, síndrome metabólico (figura 4), trastornos neurodegenerativos, enfermedades respiratorias y cáncer^{6,83,86,87,88,89,90,91,92,93}.

Los principales agentes oxidantes implicados en la arteriosclerosis son las ROS⁹⁴. Estas moléculas, además, interaccionan con los mecanismos de señalización vascular, lo cual parece tener un papel fundamental en el control de la función endotelial. Dentro de las ROS se incluyen moléculas tales como el anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$), el grupo hidroxilo (OH^{\cdot}) y radicales lipídicos. Otras ROS, como peróxido de hidrógeno (H_2O_2), peroxinitritos ($ONOO^-$) y ácido hipocloroso no son radicales libres per se, pero tienen efecto oxidativo que también contribuye al incremento del estrés oxidativo⁸⁵.

El anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$) es convertido a peróxido de hidrógeno (H_2O_2) a través de la enzima superóxido dismutasa (SOD). Por otro lado la enzima catalasa, localizada en los peroxisomas, es la principal enzima detoxificante de H_2O_2 ⁹⁵. Las ROS también pueden ser eliminadas o inactivadas por varias moléculas endógenas como el ácido úrico o la albúmina, o por antioxidantes exógenos procedentes de la dieta (como el ácido ascórbico o la vitamina E)⁹⁶. La capacidad antioxidante del organismo es la suma de los sistemas antioxidantes exógenos y endógenos.

Cuando la producción de radicales libres y/o especies reactivas supera la capacidad de acción de los antioxidantes, se favorece la oxidación de biomoléculas, generando metabolitos específicos, marcadores del estrés oxidativo, que pueden ser identificados y cuantificados. Se basan, sobre todo, en productos resultantes de la oxidación de lípidos, proteínas y del ADN, siendo los primeros los de mayor expresión.

Otro efecto importante de las ROS es la activación de vías intracelulares proinflamatorias y proaterogénicas a través de NF- κ B, las cinasas Jun NH2-terminal/protein-cinasas activadas por estrés (JNK/SAPK), las hexosaminas, la proteína-cinasa C (PK) y MAPK^{97,98,99,100}. La activación de estas vías conduce a la proliferación de las células musculares lisas vasculares, la liberación de factores de crecimiento y la migración celular, así como al desarrollo de las complicaciones que darán lugar a diabetes, IR y la disfunción de la célula β pancreática¹⁰¹.

Por último, existen numerosos sistemas enzimáticos que potencialmente pueden producir ROS en la pared vascular, aunque 3 predominan sobre los demás: xantina oxidasa, NADH/NADPH oxidasa y NO sintasa⁸⁵. La tabla 1 resume sus actividades y acción enzimática.

Tabla 1. Descripción de algunos marcadores de estrés oxidativo y enzimas relacionadas con el estrés oxidativo.

<i>Marcadores</i>	Descripción
<i>Basados en la oxidación de lípidos</i>	
MDA	Aldehídos: productos de la oxidación de lípidos, el más abundante, el MDA, resulta de la oxidación de los ácidos grasos AA, EPA y DHA.
TBARS	Medida de la formación de MDA.
8-epiPGF ₂	F ² -isoprostanos: derivados del AA, el más representativo es el 8-epiPGF ₂ .
Etano y pentano	Hidrocarburos volátiles, productos de la oxidación del los ácidos grasos n-3 y n-6.
LDL-ox	Daño oxidativo a la molécula transportadora de colesterol.
<i>Basados en la oxidación de proteínas</i>	

Carbonilos	Resultado de la acción de las especies reactivas sobre las cadenas laterales de los aminoácidos.
------------	--

3-Nitrotirosina	Resultado de la acción de las ERONs sobre las proteínas.
-----------------	--

Basados en la oxidación de ADN

8-oxo-dG	Resultado de la oxidación del ácido nucleico, guanina.
----------	--

5-HM-dU	Resultado de la oxidación del ácido nucleico, tiamina.
---------	--

Capacidad antioxidante

TAS	Antioxidantes totales presentes en la muestra.
-----	--

FRAP	Antioxidantes que no contienen ligaciones S-H.
------	--

ORAC	Antioxidante específico, evaluado por medio de pruebas de fluorescencia.
------	--

ADMA	Inhibidor de la acción de la NOS.
------	-----------------------------------

Enzimas oxidantes

NADH/NADPH oxidasa

eNOS	Generan O ₂ [•] , y pueden conducir a la disfunción endotelial por reducción de la biodisponibilidad de NO.
------	---

XO

5-HMdU: 5-Hidroximetil-2'-Desoxiuridina, **8-epiPGF₂**: Prostaglandina F2-Alpha-8 Isoprostano, **8-oxo-dG:** 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina, **AA:** Ácido Araquidónico (C20:4), **ADMA:** Dimetilarginina Asimétrica, **DHA:** Ácido Docosahexaenoico (C22:6), **EPA:** Ácido Eicosapentaenoico (C20:5), **ERON's:** Especies Reactivas de Oxígeno y Nitrógeno, **FRAP:** Ferric Reducing Ability of Plasma, **LDL-ox:** LDL oxidadas, **MDA:** Malonil-di-aldehído, **n-3:** Ácidos grasos de la serie Omega 3, **n-6:** Ácidos grasos de la serie Omega 6, **NOS:** Sintasa de óxido nítrico, **ORAC:** Oxygen-Radical AbsorbanceCapacity, **S-H:** ligación hidrógeno sulfuro, **TAS:** Total Antioxidant Status, **TBARS:** Thiobarbituric Reactive AcidSubstances, **XO:** xantín-oxidasa, **eNOS:** sintetasa endotelial de NO, **Cu:** Cobre, **Mn:** Manganeseo, **Se:** Selenio, **Zn:** Zinc.

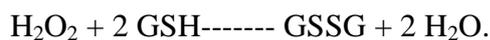
De entre las ROS destacamos por su importancia en nuestro estudio, el malonil-di-aldehído (MDA), uno de los cetoaldehídos más abundantes, resultantes de la peroxidación de los ácidos araquidónico, eicosapentaenoico y docosahexaenoico. El

exceso de MDA producido como resultado del daño tisular puede combinarse con grupos amino libres de las proteínas, generando modificaciones en las mismas, alterando sus propiedades biológicas y haciéndolas inmunogénicas. En algunos estudios, los autoanticuerpos generados contra ellas se han asociado con procesos arterioscleróticos¹⁰². Además, desempeñan un papel principal en la modificación de las LDL y su metabolización por los macrófagos¹⁰³. El estrés oxidativo induce la oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados de las LDL. Esta peroxidación lipídica produce compuestos aldehídos como el MDA. Éstos, a su vez, son capaces de reaccionar con los residuos lisina de la apolipoproteína (apo)B y modificarla. La afinidad de las LDL modificadas por el receptor apo B/E disminuye a mayor modificación de apo B, de modo que las LDL oxidadas con alteración de apo B son captadas por los receptores *scavenger* de los macrófagos, los cuales, al cargarse de ésteres de colesterol se transformarán en células espumosas, iniciando el proceso de la arteriosclerosis¹⁰⁴.

Actualmente existe evidencia de que las LDL oxidadas están presentes in vivo en las placas de ateroma arteriales. Las modificaciones oxidativas de las partículas de LDL pueden producirse en el espacio subendotelial de la pared arterial, pudiendo pasar posteriormente una pequeña cantidad de LDL oxidadas a la circulación^{103,105}. Cuando las LDL “completamente oxidadas” entran en la circulación en pequeñas cantidades serán rápidamente eliminadas por el sistema retículo endotelial, principalmente a nivel hepático, o bien serán neutralizadas por autoanticuerpos circulantes frente a LDL oxidadas¹⁰⁶. Por el contrario, las LDL “mínimamente modificadas”, en las que los cambios oxidativos no han sido suficientes para que sean reconocidas por los receptores *scavenger*, son las que encontraremos en la circulación¹⁰⁷. Las LDL oxidadas se han relacionado con enfermedad arterial coronaria, incluso con arteriosclerosis subclínica en población sana^{91,108,109,110}. Además, la presencia de niveles elevados en plasma y en la placa de ateroma de LDL oxidadas se ha relacionado con la vulnerabilidad de las placas¹⁰⁵. Por otro lado, las defensas antioxidantes tienen la función de inactivar las ROS y/o radicales libres, y como consecuencia, proteger contra los daños oxidativos. Estas acciones pueden ser llevadas a cabo por medio de distintos mecanismos: impidiendo la formación de los radicales libres y/o especies reactivas (sistema de prevención), inhibiendo la acción de éstos (sistema barredor) y favoreciendo la

reparación y reconstitución de las estructuras biológicas dañadas (sistema de reparación)¹¹¹. Las defensas antioxidantes son clasificadas principalmente en enzimáticas y no enzimáticas. Los sistemas antioxidantes enzimáticos limitan el acúmulo intra y extracelular de las ROS¹¹². Estos sistemas incluyen, entre otros: SOD, que convierte O₂[·] en H₂O₂ para prevenir la reacción de O₂[·] con NO, evitando así la formación de peroxinitritos; catalasa, que reduce H₂O₂ a agua directamente; glutathion peroxidasa (GPX) que reduce H₂O₂ a agua, y peróxidos lipídicos a alcoholes lipídicos, mediante la oxidación de otros sustratos; glutathion reductasa, que reduce glutathion; y glutathion-s-transferasa (GSS), que detoxifica oxidantes.

El glutathion es un tripéptido constituido por tres aminoácidos: glicina, cisteína y ácido glutámico. Es el principal antioxidante intracelular, para lo cual usa el grupo tiol de la cisteína como agente reductor. Actúa reduciendo ROS como H₂O₂ gracias a la enzima GPX, la cual cataliza la siguiente reacción:



El glutathion reducido (GSH) actúa no sólo como un agente reductor y principal agente antioxidante intracelular, manteniendo un estrecho control del estado redox, sino que también es un mediador de múltiples reacciones fisiológicas, como la señalización celular (participando en la regulación del ciclo celular, proliferación y apoptosis), el metabolismo de xenobióticos, las reacciones de intercambio de grupos tiol y como reservorio de cisteína. Estas propiedades biológicas han hecho que el papel de GSH se haya estudiado en múltiples enfermedades incluyendo el cáncer, enfermedades neurodegenerativas, envejecimiento, isquemia y en enfermedades metabólicas (diabetes y obesidad)¹¹³.

Bioquímicamente, el sistema redox GSH/GSSG disminuye la oxidación lipídica mediante la reducción de hidroperóxidos lipídicos (ROOHs) en alcoholes, suprimiendo de esta forma su producción¹¹⁴. Además, una disminución del cociente GSH/GSSG puede producir una glutathionilación proteica y una alteración de este sistema redox que se asocia con la expresión de genes que conducen a la apoptosis. Estas modificaciones se han visto relacionadas con el desarrollo de arteriosclerosis¹¹⁵.

El glutatión se produce intracelularmente en todos los órganos y tipos celulares, siendo más abundante en hígado y pulmón. Las concentraciones plasmáticas de GSH son bajas (~ 0,01mM), debido a su rápido catabolismo. A nivel intracelular, GSH puede existir como monómero en su forma reducida o como un dímero disulfuro debido a su oxidación (GSSG), el cual constituye en condiciones normales menos del 1% del contenido intracelular de glutatión. Los aumentos de GSSG son contrarrestados rápidamente al ser reducido por la glutatión reductasa. Sin embargo, en condiciones de un aumento del estrés oxidativo, se puede alterar la actividad de la glutatión reductasa, produciéndose un aumento en la concentración de GSSG intracelular, que pasará al compartimento extracelular mediante receptores específicos¹¹³. La síntesis de glutatión de novo está mediada por las actividades de los enzimas gamma-glutamilcistein sintetasa (γ -GCT) y la glutatión sintetasa. El glutatión formado se distribuye libremente en el citosol alcanzando concentraciones de hasta 10 mM, y puede compartimentalizarse (hasta un 15%) en la mitocondria, retículo endoplásmico y núcleo, para cumplir sus procesos biológicos¹¹⁶. El glutatión también puede sintetizarse por otras vías que incluyen su catabolismo. El catabolismo del glutatión está mediado por la gamma-glutamil transpeptidasa (γ -GT), que se expresa en la superficie celular. No solo participa en el catabolismo de GSH sino también de GSSG y GSH-conjugados (tioésteres, mercaptanos...). La gamma-glutamil transpeptidasa retira la fracción gamma-glutamil de GSH y los compuestos de GSH-conjugados y la transfiere a otros aminoácidos y péptidos, produciendo así gamma-glutamil-aminoácidos y péptidoscisteín-glicina (Cys-gly). Éstos últimos son hidrolizados por dipeptidasas y transportados al interior de la célula por receptores específicos para regenerar el GSH.

Como GSH constituye la principal defensa antioxidante intracelular, su depleción puede ser una causa para la generación de ROS, el cual podría desencadenar una amplia gama de respuestas celulares adversas.

Por tanto, unos biomarcadores empleados para evaluar el estrés oxidativo en humanos son el GSH, glutatión oxidado (GSSG) y su cociente (GSSG/GSH), que informan del nivel de estrés oxidativo en la circulación y a nivel intracelular^{117,118}.

Las GPX son una familia de enzimas tetraméricas que requieren moléculas, tales como el GSH para reducir H_2O_2 y peróxidos lipídicos, a sus correspondientes alcoholes, junto con la producción de glutatión oxidado. Se han descrito 4 isoformas de GPX: GPX-1 (GPX celular), que es ubiquitaria, y reduce H_2O_2 así como peróxidos de ácidos grasos libres, pero no peróxidos de lípidos esterificados, ya que éstos son reducidos por GPX-4, localizada en la membrana. La GPX-1 es la enzima antioxidante clave en la mayoría de células. La GPX-2 (GPX gastrointestinal) está localizada en las células del epitelio gastrointestinal, donde es útil para reducir los peróxidos de la dieta; y GPX-3 (GPX extracelular), que es el único miembro de la familia de GPX, que se encuentra a nivel extracelular, y se cree que es el enzima antioxidante extracelular más importante en los mamíferos¹¹⁹.

En humanos y en modelos animales, la obesidad está asociada con un aumento en los marcadores de estrés oxidativo en el tejido adiposo y en la circulación general^{90,120,121}. Este aumento de los marcadores de estrés oxidativo en pacientes con obesidad abdominal es independiente de la presencia de otros factores de riesgo cardiovascular. El aumento de ROS en el tejido adiposo ha sido asociado con el aumento en la expresión de NADPH oxidasa y una reducción en la expresión de enzimas antioxidantes como SOD y catalasa⁹¹.

De entre los factores que pueden aumentar el estrés oxidativo, en los últimos años se ha prestado especial atención al inducido por la ingesta, lo que se ha denominado estrés oxidativo postprandial que ocurre tanto en individuos sanos como en aquellos con obesidad abdominal y que se produce tras la ingesta de cualquier macronutriente, tanto de forma aislada como conjuntamente, tras una comida mixta, siendo mucho mayor tras una ingesta de grasa saturada^{122,123,124,125,126,127,128}. El aumento del estrés oxidativo que se produce tras la ingesta se denomina estrés oxidativo postprandial, y provoca una cascada de reacciones que producen inflamación, disfunción endotelial, hipercoagulabilidad y aumento de la actividad del sistema nervioso simpático¹²⁹. La severidad del estrés oxidativo postprandial parece estar relacionada con la magnitud de la respuesta de la glucemia y la hipertrigliceridemia^{130,131,132}. A su vez, las ROS podrían

mediar la asociación entre la hiperglucemia y la hipertrigliceridemia postprandial, con la IR, diabetes y ECV (figura 5).

Estos efectos estuvieron directamente relacionados con una disminución de la sensibilidad a la insulina tras la ingesta, evaluada mediante el estado de fosforilación de la vía de señalización de insulina Akt¹²⁶.

Se cree que la producción inicial de ROS en el estado postprandial, resulta de la excesiva acumulación de sustratos oxidables en la circulación y en los tejidos periféricos⁹¹. Esto desencadena una cascada de reacciones con aumento de los productos de estrés oxidativo en la circulación, induciendo inflamación, disfunción endotelial, hipercoagulabilidad e hiperreactividad simpática; todo ello promueve mayor producción de ROS y más daño oxidativo^{129,131}. El estado postprandial es un periodo fundamental en el desarrollo de la oxidación lipídica. Varios estudios apoyan la idea que diferentes parámetros de estrés oxidativo aumentan en el periodo postprandial, incluidos, por ejemplo, ROOHs, MDA, radicales libres, nitrotirosina y thiobarbituric reactive acid substances (TBARS). A las dos horas de una ingesta se ha encontrado una disminución de los sistemas antioxidantes con un aumento de la oxidación de LDL¹³³. Adicionalmente, la hipertrigliceridemia postprandial puede conducir a una disfunción endotelial asociada con un aumento de la producción de O₂[·] de origen vascular, resultando en una disminución de los niveles de NO¹³⁴. Las lipoproteínas postprandiales inducen la generación de radicales libres en la superficie del endotelio que reaccionan con el NO reduciendo su biodisponibilidad¹³⁵. Estas lipoproteínas postprandiales también pueden atravesar la barrera endotelial provocando citotoxicidad y daño endotelial¹³⁶.

Estos datos evidencian la íntima relación existente entre el estrés oxidativo y la LPP.

1.3.2. Estrés oxidativo y arteriosclerosis

Los factores de riesgo cardiovascular que predisponen a la arteriosclerosis están asociados con el estrés oxidativo (figura 6). Éste puede iniciar una amplia gama de respuestas celulares, como la inactivación de NO, modificaciones oxidativas del ADN y proteínas, oxidación lipídica, aumento de la mitogenicidad y apoptosis en células

vasculares y la activación o represión de genes sensibles al estrés oxidativo, tales como el receptor para las LDL oxidadas, citoquinas proinflamatorias y reguladores del ciclo celular; además las ROS están implicadas en el proceso de migración y adhesión de monocitos/macrófagos, proliferación de células del tejido liso muscular y fibroblastos y el remodelamiento de la matriz extracelular, conduciendo al desarrollo de arteriosclerosis y a la aparición de ECV¹³⁷. Factores de riesgo cardiovascular como la hipertensión, la hipercolesterolemia, la diabetes mellitus y el tabaco, se han relacionado con el estrés oxidativo y la alteración en la expresión y actividad de enzimas oxidantes y antioxidantes. Los efectos anteriormente descritos de ROS y la alteración en el NO de las células vasculares contribuyen al desarrollo y progresión de la arteriosclerosis en todos los estadios de la enfermedad¹³⁸.

Tanto en la pared arterial dañada como en la placa de ateroma se han encontrado niveles elevados de ROS. Varios estudios han demostrado una actividad aumentada de NADPH oxidasa en lesiones arterioscleróticas en animales y humanos tras una lesión vascular^{139,140}. También se han descrito actividades aumentadas de xantina-oxidasa y disminución de SOD en arterias coronarias y en plasma de pacientes con enfermedad coronaria¹⁴¹. Blankenberg et al encontraron que una concentración plasmática baja de GPX1 constituía un factor de riesgo independiente de enfermedad coronaria, incluso se ha encontrado una baja actividad GPX en placas de carótidas arterioscleróticas^{142,143,144}. Resultados previos de nuestro grupo han demostrado que en sujetos de alto riesgo cardiovascular existe en situación basal un incremento de los niveles de estrés oxidativo, así como un descenso de los enzimas antioxidantes^{55,56,57,145,146}.

Todos estos datos apuntan que la modulación de enzimas oxidantes y antioxidantes, que determinan el nivel de estrés oxidativo, juega un papel importante en la patogénesis de la arteriosclerosis. Por tanto es importante investigar medidas terapéuticas que actúen sobre los mecanismos de estrés oxidativo.

1.3.3. Estrés oxidativo en la obesidad abdominal

La obesidad abdominal se asocia de forma estrecha con el desarrollo de IR. A su vez, la presencia de IR se asocia con un incremento de estrés oxidativo tanto en situación basal como postprandial¹⁴⁷.

Estudios previos de nuestro grupo, en sujetos con hiperlipemia familiar combinada, como modelo genético de dislipemia primaria con IR y alto riesgo cardiovascular, han mostrado que la presencia de IR se relaciona de forma independiente con la presencia de un exceso de estrés oxidativo en situación de ayuno, que podría relacionarse, junto con otros factores, con el incremento de riesgo cardiovascular que presentan estos pacientes^{55,56,57}. Tanto en modelos humanos como animales de obesidad se han evidenciado la existencia de alteraciones en los mecanismos antioxidantes, lo que indica la importancia del tejido adiposo en la producción de ROS. De forma que el aumento de las ROS en el tejido adiposo se ha asociado con un aumento en la expresión de NADPH oxidasa y una disminución en la expresión de enzimas antioxidantes como SOD, catalasa y GPX⁹⁰. Por tanto, en sujetos con obesidad abdominal existe un mayor grado de estrés oxidativo que en sujetos normales debido a un desequilibrio entre la producción y degradación de radicales libres, a favor de los primeros^{120,148}.

1.4. Lipemia postprandial

Desde hace más de tres décadas se considera la arteriosclerosis como un fenómeno postprandial¹⁴⁹. La LPP es un factor de riesgo cardiovascular independiente¹⁵⁰. Más de la mitad de los episodios cardiovasculares ocurren en individuos con cifras de colesterol relativamente normales, estando ampliamente aceptado que una reducción adicional del riesgo cardiovascular podría conseguirse con la modificación de otros factores, tanto lipídicos como no lipídicos^{151,152,153}.

Uno de los factores implicados en el riesgo de desarrollar ECV son las alteraciones en la LPP, entendida como el acúmulo en plasma de partículas lipoproteicas ricas en triglicéridos, QM, cVLDL, sus remanentes y también de los AGL, hasta aproximadamente 6-10 horas después de una comida grasa^{154,155,156}.

En situación de ayuno, los triglicéridos se transportan en la circulación principalmente en las VLDL, que contienen la apo B100. En el torrente sanguíneo, las VLDL se

convierten en IDL (lipoproteína de densidad intermedia) por la acción de la LPL de las células endoteliales¹⁵⁷. La apo CII, presente en la superficie de las VLDL (y QM), es un cofactor necesario para la hidrólisis de los triglicéridos por la LPL. En la circulación, los remanentes de VLDL se enriquecen con apo E, el ligando preferente del *LDLR* (receptor de LDL) y LRP (*LDLR*-related protein). En condiciones fisiológicas, las IDL son captadas por los *LDLR* hepáticos; las lipoproteínas son degradadas y el colesterol pasa a formar parte de las secreciones biliares siendo eliminado del organismo. Otra parte de estas IDL, se convierten en LDL por la acción de diversas enzimas localizadas en los sinusoides hepáticos, tales como la lipasa de triglicéridos hepática (HTGL). En el periodo postprandial, VLDL y QM (con apo B100 y apo B48, respectivamente como proteínas estructurales) contribuirán a la LPP¹⁵⁸. Los QM son lipoproteínas ricas en triglicéridos que se sintetizan y secretan por los enterocitos para transportar la grasa de la dieta a los tejidos periféricos. Una vez en el torrente sanguíneo, existe también una transferencia de apo CII desde las HDL, que actúa como cofactor de la LPL, y facilita la unión de los QM en la superficie endotelial para descargar su contenido de triglicéridos a los tejidos periféricos. Tras esta hidrólisis parcial, los QM adquieren el tamaño adecuado para ser captados por los receptores hepáticos dependientes de apo E. Estos lípidos podrán ser almacenados o pasar nuevamente a circulación en forma de VLDL.

1.4.1. Lipemia postprandial, disfunción endotelial y arteriosclerosis

La LPP se considera un factor de riesgo cardiovascular independiente. Comidas ricas en grasa producen diversos efectos en las concentraciones postprandiales de triglicéridos y sus remanentes plasmáticos, variando estos efectos en función del tipo de grasa consumida¹²⁷. Actualmente se considera la hipertrigliceridemia, tanto basal como postprandial, un factor de riesgo independiente de arteriosclerosis y de ECV, tanto en sujetos sanos como en aquellos con IR^{150,159,160}.

El estudio Framingham ya mostró una correlación entre los factores de riesgo cardiovasculares y los triglicéridos contenidos en las VLDL¹⁶¹. Además, metaanálisis posteriores han demostrado la contribución de los triglicéridos en los procesos arterioscleróticos independientemente del colesterol HDL (cHDL) y otros parámetros¹⁶².

Estos resultados son relevantes dado que la mayor parte del día (se ha estimado que aproximadamente 20 horas) el sujeto lo pasa en situación postprandial. Por ello, la determinación de triglicéridos en ayunas infravalora la carga total de triglicéridos circulantes a la que un individuo está expuesto. Existen pruebas de que aproximadamente el 40% de los casos de arteriosclerosis afectan a sujetos normolipidémicos en ayunas¹⁶³. Por tanto, la LPP podría explicar, en parte, la heterogeneidad en el riesgo cardiovascular observado en los pacientes con dislipemia con o sin obesidad abdominal^{164,165}.

La implicación de la LPP en el desarrollo de ECV es conocida desde hace tiempo. Ya en 1952, Schwartz et al estudiaron el efecto y la duración de una comida rica en grasa en pacientes con cardiopatía isquémica y en controles sanos, encontrando un incremento significativo de la LPP entre 5 y 7 horas después de dicha comida, en el grupo de sujetos con enfermedad coronaria previa¹⁶⁶.

Resultados similares fueron encontrados por Barrit et al¹⁶⁷. Posteriormente, a finales de la década de los 70, Zilversmit define la arteriosclerosis como un fenómeno postprandial, sugiriendo que la interacción de las lipoproteínas postprandiales con la LPL arterial constituye un fenómeno aterogénico¹⁴⁹. Estudios posteriores, realizados por distintos grupos, han demostrado que la LPP está asociada con el desarrollo precoz de arteriosclerosis, siendo un factor de riesgo cardiovascular encubierto aun en ausencia de hipertrigliceridemia en ayunas^{66,162,168,169}. Bouquist et al demostraron que el grosor íntima-media carotídeo se correlacionaba con algunas medidas postprandiales. Estudios epidemiológicos han contribuido a verificar esta hipótesis¹⁷⁰. En el Physicians Health Study, la trigliceridemia a las 3-4 horas tras una comida distinguía mejor entre el desarrollo de cardiopatía isquémica que la trigliceridemia en ayunas¹⁷¹. Recientemente, dos estudios prospectivos han evidenciado que los valores de triglicéridos postprandiales se relacionaban de forma independiente con episodios de cardiopatía isquémica y mortalidad^{172,173}.

Diversos estudios han mostrado que la LPP es un mejor predictor de ECV que la lipemia en ayunas¹⁷⁴. Los mecanismos por los que la LPP conduce al desarrollo de arteriosclerosis no son totalmente conocidos, implican necesariamente al estrés

oxidativo y la inflamación^{175,176}. La relación entre el estrés oxidativo y el desarrollo de arteriosclerosis se ha estudiado fundamentalmente en situación basal, sin embargo existen pocos datos del estrés oxidativo postprandial. La ingestión de comida crearía un estado prooxidante que se acompaña de un incremento de los biomarcadores de inflamación, moléculas de adhesión celular y disfunción endotelial, estando todos estos factores implicados en la génesis de la arteriosclerosis (figura 7)^{83,91,133,177,178,179}.

En situación postprandial se produce un aumento del estrés oxidativo con un incremento del desarrollo de la oxidación lipídica lo que conduce a un aumento de diferentes marcadores, como son: LDL oxidadas, ROOHs, MDA, y TBARS^{133,178,179}. Además, las lipoproteínas postprandiales, particularmente QM y VLDL, inducen la generación de radicales de oxígeno en la superficie endotelial que reaccionan con el NO, reduciendo su biodisponibilidad¹⁸⁰. Además, estas lipoproteínas postprandiales pueden penetrar y atravesar el endotelio causando citotoxicidad y daño celular^{136,181}.

Por otro lado, existe una clara relación entre los triglicéridos y los AGL con los principales parámetros de estrés oxidativo. Tinahones et al demostraron que en sujetos obesos con IR, el aumento de triglicéridos tras una comida rica en grasa provoca un aumento de los marcadores de estrés oxidativo, que a su vez, se relacionaba con el grado de IR¹⁴⁷. Este efecto puede ser debido a la liberación de aniones superóxido y al aumento en la concentración de peróxidos lipídicos^{178,179}. Esto tiene especial relevancia ya que la elevación plasmática de triglicéridos se asemeja al estado postprandial existente durante la mayor parte del día, con lo que podría contribuir a aumentar las enfermedades asociadas a la obesidad como la arteriosclerosis, diabetes mellitus o hipertensión arterial. De hecho, existe suficiente evidencia que relaciona el estado postprandial con la arteriosclerosis¹⁸².

En nuestro grupo, hemos estudiado el efecto de la IR en la LPP, tanto en sujetos con hiperlipemia familiar combinada, como en sujetos con obesidad, mediante la determinación de trigliceridemia capilar, y hemos observado que existen diferencias significativas respecto a los controles^{72,73}. En situación postprandial, la producción de AGL procedente de las lipoproteínas ricas en triglicéridos (LRT) depende de la actividad de la LPL en los capilares de tejido adiposo¹⁸³. Los AGL generados pueden

ser reesterificados en el tejido adiposo para convertirse en triglicéridos de reserva o entrar en la circulación general¹⁸⁴. Este paso crítico en el metabolismo postprandial es poco conocido y depende básicamente del efecto de la insulina y de la proteína estimuladora de la acilación (ASP)^{140,184}. Ambas facilitan la entrada de AGL, su esterificación y almacenamiento en forma de triglicéridos en el tejido adiposo. En situaciones de IR (como es el caso de los pacientes con obesidad abdominal), se produce una alteración del metabolismo postprandial de las lipoproteínas con un defecto evidente de ASP, de modo que circula una cantidad inadecuada de AGL lo cual induce una reducción de la sensibilidad a la insulina y acentúa la LPP, produciéndose de esta forma un círculo vicioso¹⁸⁴.

En la figura 8 se muestra la respuesta a nivel de estrés oxidativo determinado mediante la actividad de diferentes enzimas antioxidantes tras la administración de diversos tipos de grasas en un modelo de IR como es el síndrome metabólico.

1.4.2. Posibles tratamientos de la LPP

Existen factores ambientales y genéticos que modifican la LPP, entre los que se encuentran el grado de actividad física, el consumo de alcohol y tabaco, el estado hormonal de la mujer y el tipo de alimentación habitual¹⁸⁵. Éste último es especialmente relevante por ser modificable. Estudios epidemiológicos han confirmado que el patrón de alimentación influye en el riesgo cardiovascular. Dietas ricas en grasa saturada se han asociado a un perfil de riesgo cardiovascular adverso, con mayores niveles de colesterol, glucemia y presión arterial, frente a poblaciones con ingestas ricas en ácidos grasos monoinsaturados (MUFA) y ácidos grasos poliinsaturados (PUFA)¹⁸⁶. Además, la dieta mediterránea, rica en aceite de oliva, ha demostrado reducir los marcadores de estrés oxidativo y el riesgo cardiovascular independientemente de los factores de riesgo clásicos^{187,188,189,190}. Este efecto beneficioso puede ser producido, en parte, por la modificación sobre la LPP que muestran las dietas ricas en MUFA¹⁹¹. Recientemente, el estudio PREDIMED demostró que el seguimiento de una dieta mediterránea, rica en aceite de oliva o en nueces, disminuía los niveles de LDL oxidadas y MDA frente a una dieta con bajo contenido en grasa^{192,193}. Además, en sujetos con alto riesgo cardiovascular, el consumo de frutas, cereales, aceite de oliva y nueces se ha asociado a

una disminución de los niveles de marcadores inflamatorios séricos relacionados con la disfunción endotelial, tales como la proteína C reactiva, IL-6, ICAM y VCAM¹⁹⁴. El beneficio de estos alimentos ricos en MUFA y PUFA podría estar mediado por una variedad de mecanismos que incluyen una mayor protección antioxidante y una regulación de los procesos inflamatorios y trombogénicos¹⁹⁵.

Pérez-Martínez et al mostraron el efecto beneficioso de una dieta mediterránea, sobre los niveles de estrés oxidativo, mediante la comparación de cuatro tipos de dietas: una dieta rica en MUFA, otra rica en saturados, otra baja en grasas/rica en carbohidratos y otra baja en grasas/rica en carbohidratos pero con un 16% de ácidos grasos poliinsaturados ω -3¹²⁷. La dieta rica en MUFA produjo un aumento postprandial de los niveles de GSH y GSH/GSSG comparado con los otros tipos de dieta^{127,187}. Estos datos apoyan la hipótesis que los MUFA pueden producir un aumento de GSH y GSH/GSSG junto con la reducción de GSSG mediante la estimulación de la actividad de glutathion reductasa. Los niveles de GSH pueden regenerar compuestos antioxidantes muy importantes para el organismo como el ácido ascórbico y la vitamina E, entre otros. Esta situación puede explicar que el mayor efecto antioxidante de los MUFA sobre el estrés oxidativo esté caracterizado por una reducción en los niveles de peróxidos lipídicos, proteínas carboniladas y niveles de peróxido de hidrógeno. Pérez-Martínez et al mostraron a través de los resultados de su estudio que un posible mecanismo para explicar el aumento en plasma del cociente GSH/GSSG observado después de la toma de MUFA podría deberse a la disminución de la concentración de GSSG y un aumento de los niveles de GSH¹²⁷. Inicialmente GSH es oxidado a GSSG por la enzima GPX, en este proceso GSH neutraliza peróxidos. GSSG revierte a GSH por la vía de la glutathion reductasa con la oxidación concomitante de NADPH. Diversos nutrientes y biofactores de los alimentos incluidos en la dieta mediterránea pueden proveer NADPH y regular de forma positiva la actividad de la glutathion reductasa, la cual puede conducir a una disminución de GSSG aumentando el cociente GSH/GSSG. Las dietas ricas en PUFA suprimen la transcripción de genes que codifican para enzimas lipogénicas (ácido graso sintasa, acetil-CoA carboxilasa y esteril-CoA desaturasa) en el tejido adiposo y el hígado^{196,197,198}.

Por tanto, existe cada vez más evidencia acerca del papel de los MUFA en la reducción del riesgo de desarrollar ECV, diabetes mellitus, obesidad abdominal, hipertensión arterial, síndrome metabólico y enfermedades neurodegenerativas^{199,200}. Esto es consecuencia tanto de la mejoría de los factores de riesgo cardiovascular como del perfil lipídico, el nivel de inflamación, la presión arterial, la LPP, la disfunción endotelial, el estrés oxidativo y el perfil antitrombótico.

Estudios previos de nuestro grupo han mostrado que las mujeres sanas normolipémicas no diabéticas presentaban una menor LPP que los hombres, probablemente por el efecto de los estrógenos sobre el metabolismo lipídico. También se vio que la obesidad ejercía un efecto negativo sobre la LPP, tanto en sujetos sanos como en sujetos con hiperlipemia familiar combinada⁷³. Por tanto, tiene un amplio interés estudiar la fisiopatología de la LPP, y su relación con el estrés oxidativo y la IR, así como la forma de modificarlos para reducir el desarrollo de ECV.

1.5. Obesidad abdominal, estrés oxidativo y lipemia postprandial

Se ha demostrado que en los estados de IR, como son la obesidad abdominal, el síndrome metabólico y la diabetes tipo 2, existe una alteración de la LPP debido a un inadecuado aclaramiento postprandial de las partículas ricas en triglicéridos, y que la LPP se asocia con el desarrollo de arteriosclerosis precoz^{67,68,69,162}. Sin embargo, ha sido poco estudiado qué ocurre con otros factores a nivel postprandial. En este sentido, un factor emergente es el nivel de estrés oxidativo.

El estrés oxidativo y numerosos productos a los que da lugar se han relacionado con la ECV y el inicio y desarrollo de arteriosclerosis. Así, diferentes modelos animales de estrés oxidativo apoyan la idea de que los productos de estrés oxidativo tienen un efecto causal en la arteriosclerosis⁶. Cuando existe un exceso de producción de moléculas relacionadas con el estrés oxidativo, se origina a nivel celular, una serie de respuestas mediadas por diferentes factores y moléculas que suponen la activación o represión de numerosos genes⁸². De interés para nuestro estudio es el sistema glutatión (glutatión-s-transferasa, glutatión reductasa y GPX). Estos sistemas regulan el grado de estrés oxidativo compensando la producción de radicales libres y de O₂. Se consideran

sistemas antioxidantes. Por otro lado, estudiaremos un sistema de estrés oxidativo como es GSSG/GSH.

Además, recientemente en modelos animales y humanos, la inflamación crónica y el grado de estrés oxidativo se han relacionado con la obesidad y el desarrollo de IR^{46,201}.

Asimismo, la IR se ha relacionado con la alteración del estado postprandial que activa el estrés oxidativo y da lugar a disfunción endotelial, habiéndose demostrado un exceso de marcadores de estrés oxidativo en situación postprandial en estados de IR como son la obesidad abdominal, el síndrome metabólico y la diabetes tipo 2^{128,156,202,203,204}.

Como ya se ha comentado, además de las alteraciones lipídicas, en el estado postprandial se ha demostrado que los productos de oxidación están aumentados en comparación con los controles, tras una sobrecarga oral grasa (SOG) con ácidos grasos saturados, atribuyendo a este exceso de oxidación, un posible papel en cuanto al desarrollo de arteriosclerosis y ECV^{91,205}. Además, se ha estudiado el efecto de diferentes fármacos sobre la LPP, con el objetivo de reducir dichas alteraciones postprandiales, y así reducir la posibilidad de desarrollo de ECV. Diversos estudios han evaluado el efecto de diferentes fármacos y modificaciones dietéticas sobre los parámetros de oxidación en estado postprandial, mostrando algunos de ellos un descenso de los productos de oxidación, si bien los resultados no son homogéneos, por lo que tiene importancia evaluar el efecto de los ácidos grasos insaturados sobre el estrés oxidativo postprandial, ya que se ha observado que en los estados de IR existe una alteración de la LPP y de los fenómenos de estrés oxidativo^{91,206}.

Datos de nuestro grupo muestran una alteración de los niveles de estrés oxidativo relacionados de forma independiente con la IR en pacientes con hiperlipemia familiar combinada, como modelo humano de dislipemia primaria con IR y arteriosclerosis precoz^{55,56,57}.

En otro modelo de arteriosclerosis como es la hipercolesterolemia familiar, hemos observado que en estado basal, los parámetros de oxidación están incrementados respecto a los sujetos control^{145,146}. Además, en estos mismos sujetos hemos observado en estado basal que los niveles de expresión de diferentes genes implicados en el desarrollo de estrés oxidativo están aumentados, de forma que podría ser un buen indicador de la situación del sistema circulatorio, principalmente de las células

circulantes, respecto de la situación de estrés que soporta y la respuesta que éste origina²⁰⁷. Por otro lado, cuando sometemos a un grupo de sujetos con hipercolesterolemia familiar a una SOG estandarizada con ácidos grasos insaturados, especialmente MUFA, observamos que los niveles de oxidación se modifican de forma saludable, aumentando los parámetros antioxidantes, y reduciéndose los marcadores de oxidación²⁰⁸. Estos datos son los que nos han hecho plantearnos el presente proyecto, debido a que en nuestra población existe una elevada prevalencia de sujetos con obesidad abdominal, en los que existe un mayor riesgo de desarrollo de arteriosclerosis. Dichos sujetos presentan de forma basal un incremento de los parámetros de estrés oxidativo, empeorando dicha situación en estado postprandial, lo que podría explicar parte de la variabilidad en la incidencia y prevalencia de la ECV. Teniendo en cuenta que la mayor parte del tiempo diurno se podría considerar un estado postprandial debido a las sucesivas ingestas de alimentos durante el día, tiene enorme interés el estudiar la relación de la IR en un modelo humano muy prevalente como es la obesidad abdominal, con el grado de estrés oxidativo, en estado basal, y la posible modificación de dichos parámetros de forma saludable en estado postprandial, tras la ingesta de una SOG estandarizada con ácidos grasos insaturados. Esto abre las puertas a una nueva estrategia terapéutica respecto a las recomendaciones dietéticas, donde tradicionalmente se ha recomendado reducir la ingesta de grasas de forma global. Sin embargo, si la SOG con grasa preferentemente MUFA mejora estos fenómenos a nivel postprandial, tendría importantes implicaciones en la práctica clínica, ya que los factores de oxidación son marcadores anteriores al proceso final de la arteriosclerosis. Por tanto, las recomendaciones serían mantener las proporciones de grasa insaturada en la dieta de estos pacientes, incluso en las dietas hipocalóricas. Además, todavía no se ha estudiado si esta modificación de parámetros de oxidación, es debida a la activación o represión de numerosos genes de diferente forma en distintos tipos celulares y tejidos, y si está mediada por cambios a nivel genético. Por tanto, en un grupo de sujetos con elevado riesgo cardiovascular, además de muy prevalente, como son los pacientes con obesidad abdominal, el estudio de la LPP podría aportar datos importantes que ayudarían a conocer mejor la variabilidad en el riesgo de desarrollar ECV que presentan estos individuos.

1.6. Figuras

Figura 1. Esquema que resume las cuatro teorías que relacionan la obesidad abdominal con la insulinoresistencia. Tomado de: Hardy OT, Czech MP, Corvera S. What causes the insulinresistance underlying obesity? *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2012 Apr;19(2):81–7.

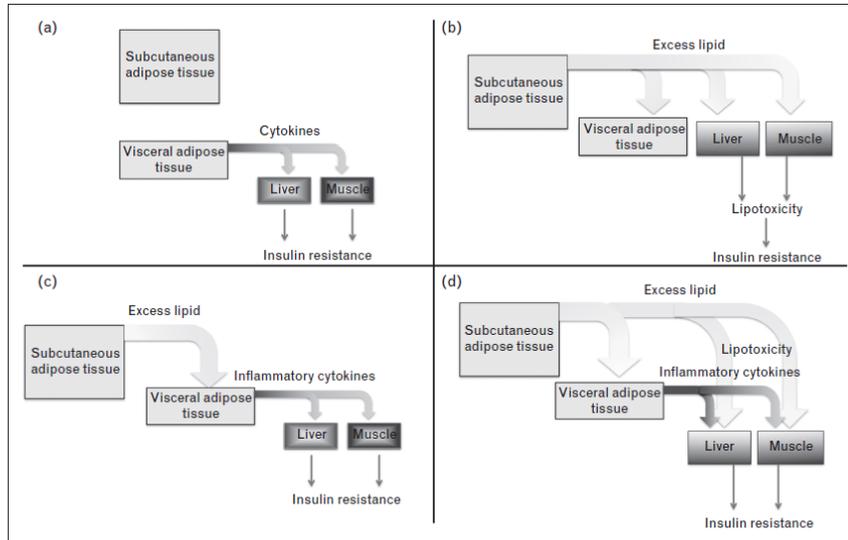
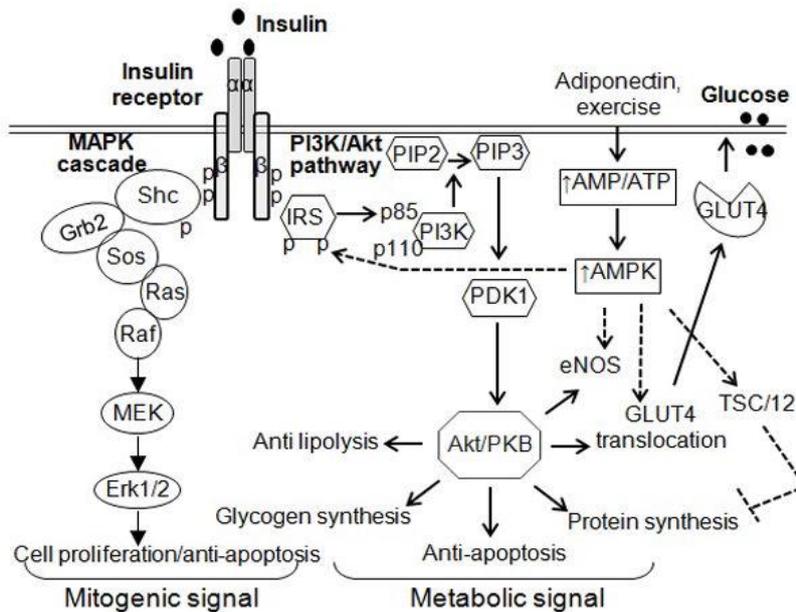
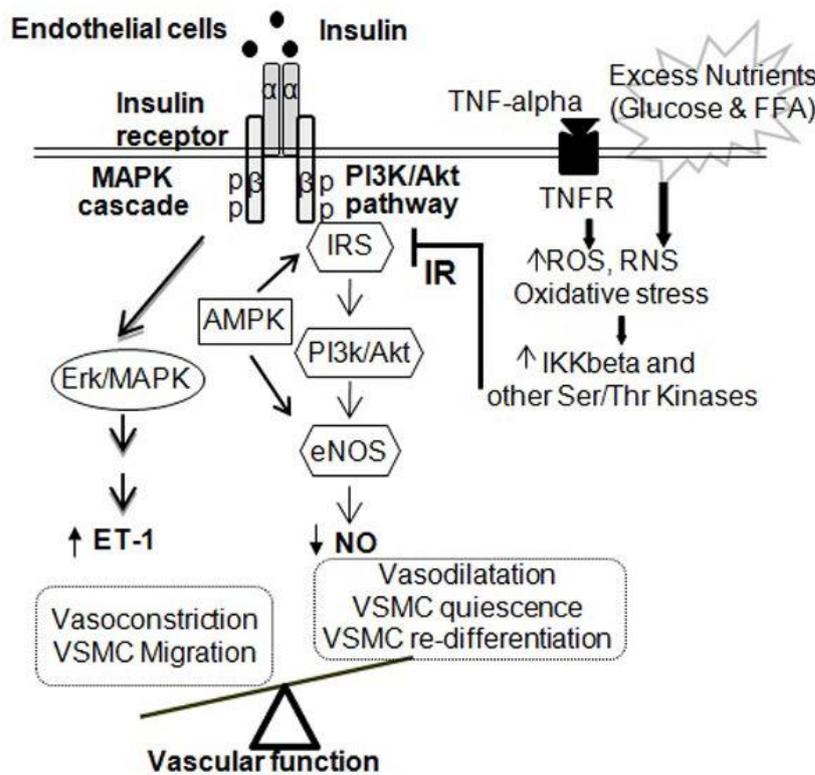


Figura 2. Vías de activación tras la unión de la insulina a su receptor. Tomado de: Pansuria M, Xi H, Li L, Yang X-F, Wang H. *Insulinresistance, metabolic stress, and atherosclerosis.* *Front BiosciSch Ed.* 2012;4:916–31.



IRS: insulin receptorsubstrate, PIP2: phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate, PIP3: phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate, PDK1: phosphoinositide-dependent kinase-1, PI3K: phosphatidylinositol 3-kinase, PKB: protein kinase B, eNOS: endothelial nitric oxide synthase, AS160: Akt substrate of 160 kDa, HSL: hormone sensitive lipase, S6K: ribosomal protein S6 kinase, NO: nitric oxide, GLUT4: glucose transporter 4, AMP: adenosine monophosphate, ATP:adenosine triphosphate, AMPK: 5'-adenosine monophosphate-activated protein kinase,TSC1/2: tuberous sclerosis protein 1 and 2-tumor suppressor, Shc: sh2 domain-containing alpha-2 collagen-related protein, Grb2: growth factor receptor-bound protein 2, Sos: son of sevenless, MAPK: mitogen-activated protein kinase, MEK: mitogen-activated protein kinasekinase, Erk1/2: extracelular signal-regulated kinase1/2.

Figura 3. Consecuencias de la alteración de la vía PI3K/Akt (phosphatidylinositol 3-kinase; Akt: v-aktmurinethymoma viral oncogen PKB: proteinkinase B) que se produce en el estado de insulinoresistencia y disfunción vascular. Tomado de: Pansuria M, Xi H, Li L, Yang X-F, Wang H. *Insulinresistance, metabolic stress, and atherosclerosis. Front BiosciSch Ed. 2012;4:916–31.*



IR: insulin resistance, IRS: insulin receptor substrate, PI3K:phosphatidylinositol 3-kinase, eNOS: endothelial nitric oxide synthase, NO: nitric oxide, MAPK: mitogen-activated protein kinase, Erk1/2: extracelular signal-regulated kinase1/2, ET-1: endothelin-1, FFA: free fatty acid, ROS: reactive oxygen species, RNS: reactive nitrogen species, TNF-alpha: tumor necrosis factor-alpha, IKKbeta: inhibitor of nuclear factor kappa B kinase beta subunit, Ser/Thr: Serine/Threonine, VSMCs: vascular smooth muscle cells, AMPK: 5'adenosine monophosphate-activated protein kinase.

Figura 4. Relación entre estrés oxidativo en pacientes con obesidad abdominal y el desarrollo de insulinoresistencia, diabetes y arteriosclerosis. Tomado de: Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, et al. *Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome.* J Clin Invest. 2004 Dec;114(12):1752–61.

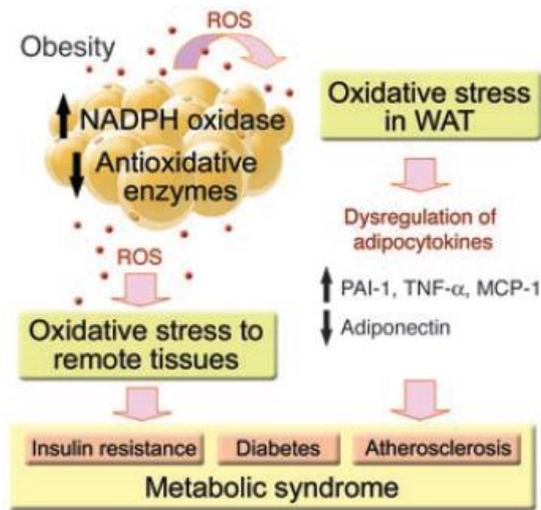


Figura 5. Esquema que expone la relación entre hiperglucemia e hipertrigliceridemia con la aparición de diabetes tipo 2 y enfermedad cardiovascular mediada por el estrés oxidativo. Tomado de: Sies H, Stahl W, Sevanian A. *Nutritional, dietary and postprandial oxidative stress.* J Nutr. 2005 May;135(5):969–72.

Postprandial Oxidative Stress

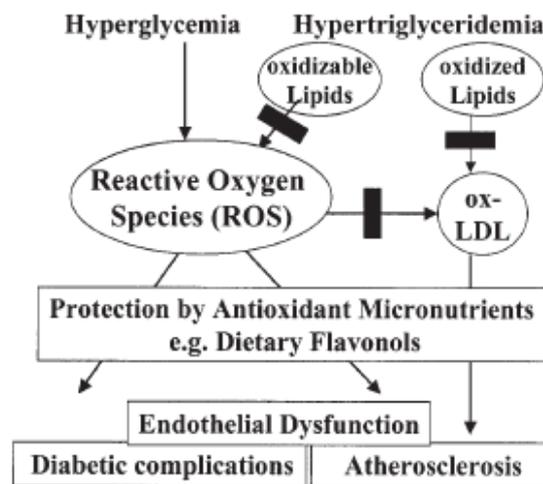


Figura 6. Fisiopatología del estrés oxidativo y relevancia en la enfermedad cardiovascular. Tomado de: Wassman S, Wassman K, Nickenig G. Modulation of oxidant and antioxidant enzyme expression and function in vascular cells. *Hypertension*. 2004 Oct;44(4):381-6.

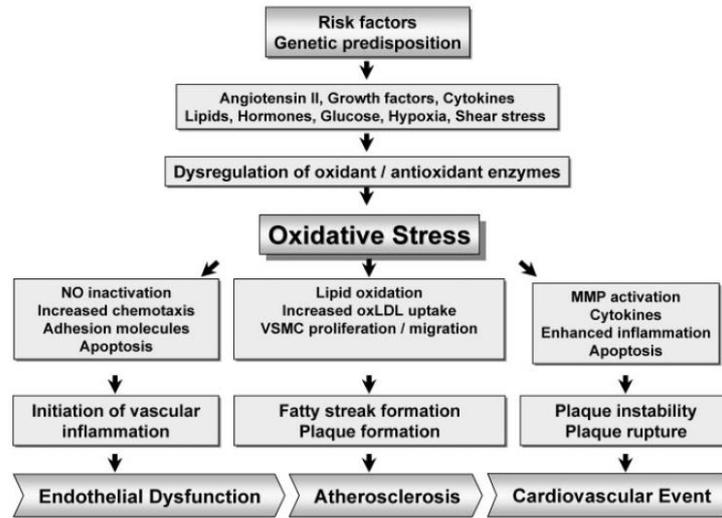
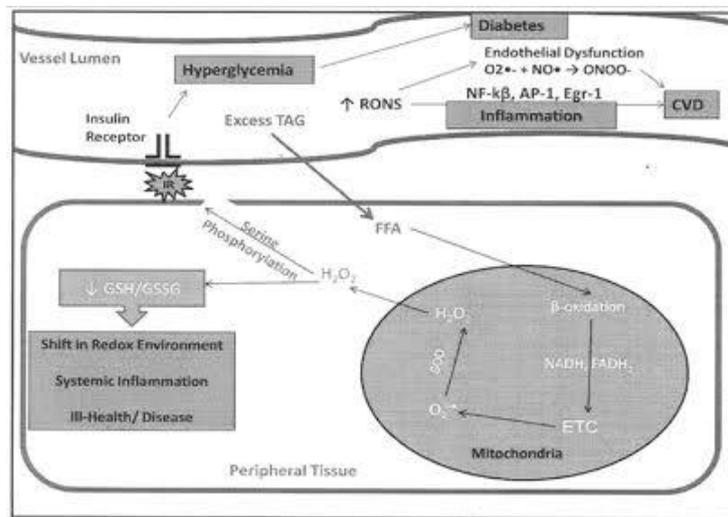
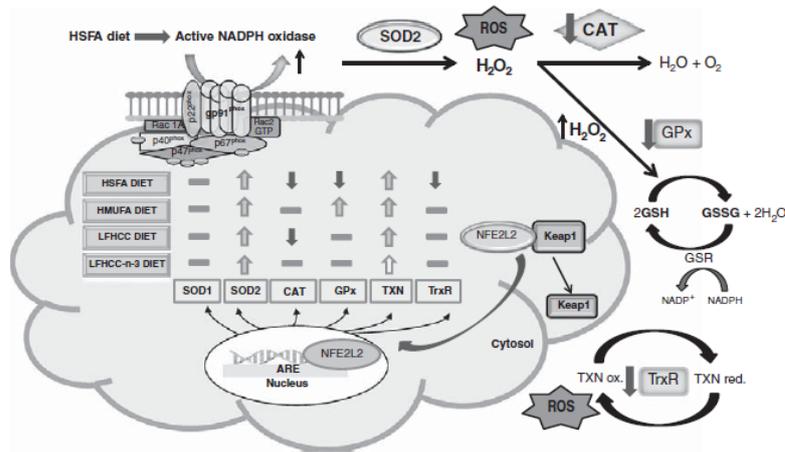


Figura 7. Mecanismos que relacionan una ingesta rica en grasa con el desarrollo de arterioesclerosis y enfermedad cardiovascular. Tomado de: Fisher-Wellman K, Bloomer RJ. Macronutrient specific postprandial oxidative stress: relevance to the development of insulin resistance. *Curr Diabetes Rev*. 2009 Nov;5(4):228-38.



AP-1: factor de transcripción AP-1; FFA: ácidos grasos libres; CVD: enfermedad cardiovascular; Egr-1: factor de transcripción de respuesta temprana de crecimiento-1; ETC: cadena transportadora de electrones; GSH/GSSG: ratio glutatión reducido/glutatión oxidado; H₂O₂: peróxido de hidrógeno; NF-κβ: factor de transcripción nuclear κβ; NO: óxido nítrico; ONOO: peroxinitritos; O₂^{•-}: anión superóxido; RONS: especies reactivas de oxígeno y nitrógeno; SOD: superóxidodismutasa; TAG: triglicéridos

Figura 8. Respuesta a nivel de estrés oxidativo determinado mediante la actividad de diferentes enzimas antioxidantes tras la administración de diversos tipos de grasas en un modelo de insulinoreistencia como es el síndrome metabólico. Tomado de: Peña-Orihuela P, Camargo A, Rangel-Zuñiga OA, Pérez-Martínez P, Cruz-Teno C, Delgado-Lista J, et al. Antioxidant system response is modified by dietary fat in adipose tissue of metabolic syndrome patients. *J NutrBiochem.* 2013 Oct;24(10):1717–23.



HSFA: dieta rica en ácidos grasos saturados, HMUFA: dieta rica en ácidos grasos monoinsaturados, LFHCC: dieta rica en hidratos de carbono y baja en grasas, LFHCC n-3: dieta rica en hidratos de carbono, baja en grasas, suplementada con n-3, SOD:superóxido dismutasa, CAT:catalasa, GPx: glutationperoxidasa, GSSG:glutation oxidado, GSH:glutation reducido, GSR:glutation reductasa, GPx:glutation peroxidasa, TXN:tiorredoxina, TrXR:tiorredoxina reductasa, ROS:especies reactivas de oxígeno, NFE2L2: nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2, KEAP1:kelch-like, ECH-associated protein 1.

2. HIPÓTESIS DE TRABAJO

Las enfermedades cardiovasculares son la primera causa de morbi-mortalidad en el mundo desarrollado, suponiendo en España aproximadamente el 40% de la mortalidad en la edad adulta, y constituyen un importante gasto socio-sanitario. Su base patogénica es la arteriosclerosis. El riesgo de desarrollar arteriosclerosis y sus consecuencias, en forma de ECV, no es uniforme en toda la población y depende de numerosos factores. La obesidad abdominal, caracterizada por un aumento de los depósitos de grasa en el tejido adiposo intraabdominal, es un importante factor de riesgo cardiovascular, tanto directamente, como por su asociación con otros factores de riesgo⁷.

Sin embargo, el daño orgánico y el inicio y desarrollo de la ECV es heterogéneo en este grupo de pacientes, lo que indica que necesariamente deben existir otros factores de riesgo que justifiquen esta variabilidad, y que no queda totalmente explicado por los factores de riesgo asociados. En este sentido, un factor no completamente conocido es la LPP, entendiendo como tal la acumulación de partículas lipoproteicas ricas en triglicéridos (QM, VLDL y sus remanentes) en plasma aproximadamente 6-10 horas después de una comida grasa. Los remanentes de QM son particularmente aterogénicos debido a que inducen disfunción endotelial y liberación de colesterol al espacio subendotelial. Se ha demostrado que los remanentes de QM procedentes de la dieta gracias a su reducido tamaño atraviesan el endotelio vascular, donde son fagocitados por los macrófagos. De esta forma contribuyen al inicio del proceso de arteriosclerosis con formación de estrías grasas en la íntima del vaso. Los conocimientos actuales sobre la LPP en la obesidad abdominal son todavía incompletos, lo que justifica llevar a cabo nuevos estudios. De hecho, la LPP podría explicar la heterogeneidad en el riesgo cardiovascular observado entre los pacientes con obesidad abdominal y puede ser un factor de riesgo cardiovascular encubierto y precoz, aún en ausencia de hipertrigliceridemia en ayunas.

Pensamos que la obesidad abdominal con IR y alteración de la LPP es un importante factor de riesgo cardiovascular. La obesidad abdominal, tras la SOG, es un inductor de estrés oxidativo, relacionado con la arteriosclerosis. Dicha situación podría constituir un

factor de riesgo cardiovascular encubierto y podría explicar en parte la variabilidad en la incidencia y prevalencia de enfermedades cardiovasculares de estos pacientes. Por tanto, una reducción del estrés oxidativo podría reducir la incidencia y prevalencia de la ECV.

En este sentido, nuestra hipótesis de trabajo es:

Los sujetos con obesidad abdominal tienen, en situación postprandial, una lipemia alterada y un aumento de los marcadores de estrés oxidativo, con la consiguiente elevación del riesgo cardiovascular. La sobrecarga oral con grasa insaturada provocará modificaciones beneficiosas, tanto en los marcadores de estrés oxidativo como de IR, y por tanto podría contribuir a reducir el riesgo cardiovascular.

3. OBJETIVOS

3.1. Generales

Conocer el nivel de estrés oxidativo y el grado de IR en fase de ayuno, y sus modificaciones tras SOG con ácidos grasos insaturados en sujetos control y sujetos con obesidad abdominal.

3.2. Específicos

3.2.1. Estudiar el nivel de estrés oxidativo mediante la determinación en plasma de los niveles de GSH, GSSG, GSSG/GSH y MDA, en estado basal y tras SOG con ácidos grasos insaturados.

3.2.2. Estudiar el grado de IR en ayunas, y su modificación tras una SOG con ácidos grasos insaturados en sujetos con obesidad abdominal y en controles sanos mediante la determinación de glucemia, insulinemia y HOMA.

4. SUJETOS Y METODOS

4.1. Sujetos

Se estudiaron sujetos con obesidad abdominal procedentes de las Consultas Externas del Servicio de Endocrinología y Nutrición de nuestro hospital por el método oportunístico. Los controles procedían de investigadores, trabajadores del centro y estudiantes en prácticas de nuestro servicio, apareando los sujetos por edad y sexo.

- Criterios diagnósticos de obesidad abdominal:

- Perímetro de cintura >102 cm en el varón y >88 cm en la mujer.

- Criterios de sujetos control:

- Perímetro de cintura inferior a 102 cm en el varón y 88 cm en la mujer.

- CT <200 mg/dl, triglicéridos <150 mg/dl y apo B <100 mg/dl.

- Ausencia de antecedentes personales o familiares de dislipemia, cardiopatía isquémica precoz, hipertensión arterial ni diabetes (glucemia en ayuno <126 mg/dl) o alteración de la glucemia en ayunas (glucemia en ayuno <100 mg/dl).

- Criterios de inclusión en el estudio:

- Edad: 18-65 años.

- Ambos sexos.

- Criterios de control sano.

- Criterios diagnósticos de obesidad abdominal.

- Genotipo E3/E3 de apo E.

- Criterios de exclusión:

- Variaciones ponderales $>10\%$ del peso corporal total en los últimos tres meses.

- Medicación que interfiera con los parámetros estudiados (fármacos hipolipemiantes, antihipertensivos, antidiabéticos orales, AINES y suplementos nutricionales) y no pueda ser retirada 6 semanas antes del estudio.

- Cualquier proceso de tipo infeccioso, inflamatorio o alérgico que acontezca en el momento del estudio o durante las 6 semanas previas.

- Seguimiento de dietas hipocalóricas para la reducción de peso en el momento del estudio o en las 6 semanas previas.

- Obesidad grave (IMC >35 kg/m²).

- Ingesta de alcohol >30 g/día.

- Fumador activo, independientemente del número de cigarrillos/día, o exfumador desde hace menos de 6 meses.

- Diabetes mellitus.

- HTA.

- Embarazo-lactancia (hasta los tres meses posteriores).

- Enfermedad neoplásica.

- Antecedentes personales de ECV.

- GOT y/o GPT y/o GGT x 2 veces la normalidad.

- Insuficiencia hepática o cirrosis hepática.

- TSH >10 mU/ml.

- Creatinina >1,5 mg/dl.

4.2. Métodos

Los sujetos fueron seleccionados mediante el método oportunístico en las Consultas Externas del Servicio de Endocrinología y Nutrición de nuestro hospital. Tras comprobar que cumplían todos los criterios de inclusión y ninguno de exclusión y

firmar el consentimiento informado se determinaron los siguientes parámetros en situación basal.

4.2.1. Parámetros clínicos

-Registro del hábito tabáquico con recogida de nº de cigarrillos/día. En caso de ser exfumador se registró el nº de cigarrillos/día fumados, el nº de años en que se mantuvo el hábito y el año en que se abandonó el consumo.

- Consumo de alcohol con registro de gramos/día.

- Ejercicio físico reflejando los minutos/semana realizados.

- Fármacos de uso habitual u ocasional que coincidieron con el periodo del estudio.

- Procesos de tipo inflamatorio, infeccioso o alérgico padecidos.

- Problemas cardiovasculares presentados hasta la fecha de inclusión.

- Determinación de la presión arterial con esfigmomanómetro de mercurio tras 10 minutos de reposo en decúbito supino, utilizando el valor medio de 3 mediciones separadas 5 minutos.

4.2.2. Parámetros antropométricos

- Peso en kilogramos (kg).

- Talla en metros (m).

- Índice de masa corporal (IMC) en kg/m^2 .

- Perímetro de la cintura determinada en el punto medio entre el borde costal inferior y la cresta ilíaca, expresada en centímetros (cm).

4.2.3. Parámetros bioquímicos

- Hemograma y bioquímica estándar.

- CT y triglicéridos por método colorimétrico en situación de 12 horas de ayuno.

- cHDL tras precipitación con polianiones.
- cLDL mediante la fórmula de Friedewald ($CT - (cHDL + cVLDL)$).
- Apoproteínas B y AI por inmunoturbimetría.
- Glucemia por método de glucosa oxidasa.
- Insulinemia por ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA).
- Cálculo del índice HOMA ($\text{insulina(mU/ml)} \times [\text{glucosa(mmol/l)}/22,5]$).
- Medición de GSH, GSSG, mediante cromatografía de alta presión (HPLC) y detección UV.
- MDA por HPLC.

4.3. Diseño

4.3.1. Estudio transversal

Una vez explicado el estudio, sus objetivos y habiendo firmado el sujeto su consentimiento, se determinaron los parámetros clínico-biológicos comentados sin la toma de medicación 6 semanas antes del inicio del estudio.

El tamaño muestral fue de 20 controles y 20 sujetos con obesidad abdominal.

4.3.2. Estudio de intervención con SOG

A los individuos participantes en el estudio se les explicó el estudio de intervención dietética (semana -6). Una vez que aceptaron participar en el estudio se retiró la medicación (periodo de lavado de 6 semanas). Posteriormente volvieron a la Unidad Metabólica para la recogida de los datos clínicos y biológicos comentados basales (0).

1. Periodo de lavado S(-6) a S(-1).

A los pacientes que cumplían los criterios de inclusión y ninguno de exclusión, tras aceptar participar en el estudio y firmar el consentimiento informado se les realizó una

anamnesis y exploración física completas e interrumpieron durante seis semanas el tratamiento médico seguido hasta entonces, en caso de que lo llevaran. Durante esas 6 semanas consumieron una dieta hipocolesterolemia estandarizada tipo NCEP-II. El consumo de calorías totales fue similar al que realizaron antes de entrar en el estudio (dieta isocalórica). Los sujetos fueron instruidos para realizar ejercicio físico y mantener un estilo de vida similar durante el estudio. Se realizaron 2 análisis, uno en el momento de la inclusión en el estudio, y otro tras la retirada del tratamiento (en los sujetos con obesidad abdominal, en el caso de que se encontraran en tratamiento).

2. Intervención S(0).

En S(0) tras 12 horas de ayuno se determinaron los parámetros clínicos y biológicos basales. A continuación, los pacientes se sometieron a una SOG estandarizada con ácidos grasos insaturados (80%), especialmente monoinsaturados (60% del total), y se determinaron las variables biológicas de interés (lípidos y parámetros de IR y estrés oxidativo) a las 0, 2, 4, 6 y 8 horas después de la SOG. La SOG se realizó con Supracal (modulo nutricional lipídico comercializado) a razón de 50 g/m² de superficie corporal (Tabla 2)

Parámetros a determinar durante el estudio

Semana	-6	-1	0					
Clínicos	X	X	X					
Hemograma	X	X						
Química	X	X	X					
Lípidos	X	X						
Genotipo de apo E	X							
Sobrecarga (horas)		0 h	2 h	4 h	6 h	8 h		

Recuento y formula	X	X	X	X	X
Lípidos cuantitativo y cualitativo	X	X	X	X	X
Glucosa, insulina	X	X	X	X	X
Estrés oxidativo	X	X	X	X	X

Tabla 2. Composición Supracal[®] sabor neutro.

Supracal [®] : SHS international Ltd.	
Módulo nutricional lipídico de triglicéridos de cadena larga (LCT) en forma de emulsión 50%.	
Composición: por 100 ml (fuente: aceites vegetales)	
-Kcal:	450
-Lípidos g:	50: saturados g: 9,6; monoinsaturados g: 28,2; poliinsaturados g: 10
-% LCT:	100%
-relación $\omega 6$: $\omega 3$	>20:1
-Na g:	<10
Perfil de ácidos grasos: g por 100g de ácidos grasos	
-Láurico (C ₁₂)	<1
-Mirístico (C ₁₄)	<1
-Palmítico (C ₁₆)	10
-Esteárico (C ₁₈)	3
-Oleico (C _{18:1})	58
-Linoleico (C _{18:2})	20
- α -linoleico (C _{18:3})	<1
-Araquidónico (C ₂₀)	1
-Eicosaenoico (C _{20:1})	1
-Behénico (C ₂₂)	3
-Lignocérico (C ₂₄)	1

4.4. Análisis estadístico

La población a estudio se seleccionó de pacientes asistidos en el Servicio de Endocrinología y Nutrición de nuestro centro. El tamaño muestral para el estudio se calculó teniendo en cuenta un error alfa estándar del 5%, un error beta del 20%, y para detectar diferencias clínicamente relevantes entre proporciones superiores al 20% y modificaciones de las variables críticas de estrés oxidativo superiores al 20% entre controles y sujetos con criterios diagnósticos de obesidad abdominal. Para ello se estimó un mínimo de 10 sujetos control y 10 sujetos con obesidad abdominal apareados por edad, sexo, IMC y perímetro de cintura. Esto es debido a que la situación postprandial debería duplicar las diferencias estimadas en situación de ayuno (alrededor del 20%).

El estudio estadístico se realizó con el programa informatizado Statistical Package for Social Sciences (SPSS) software (version 15, SPSS, Chicago, IL, USA). Debido al tamaño de la muestra, se utilizaron tests no paramétricos (U de Mann-Whitney para comparar dos variables independientes, y el test de Wilcoxon para variables apareadas). Para determinar el grado de relación entre dos variables cuantitativas, utilizamos el coeficiente de correlación de Spearman. Además, el área bajo la curva (AUC) se calculó mediante el programa StatsGraphic.

5. RESULTADOS

1. Comparación de los parámetros analizados en ayunas en el grupo completo: controles frente a sujetos con obesidad abdominal

En las tablas y figuras que se exponen a continuación comparamos las características generales, antropométricas y bioquímicas, así como parámetros de IR y oxidación del grupo de controles frente al de obesidad abdominal.

1.1. Características generales

En la tabla 1 se muestran las características generales del grupo completo. Se observan diferencias estadísticamente significativas en el peso, IMC, perímetro de cintura y tensión arterial diastólica.

Tabla 1. Características generales del grupo completo.

	Controles (n=20)	Obesidad abdominal (n=20)
Edad (años)	38,9 ± 10,1	41,0 ± 12,0
Sexo Hombre/Mujer (n)	11/9	7/13
Peso (kg)	70,5 ± 11,1	89,9 ± 15,5**
Talla (cm)	169,9 ± 7,4	166,0 ± 8,7
IMC (kg/m ²)	24,4 ± 2,9	32,5 ± 4,1**
Cintura (cm)	86,7 ± 8,9	105,8 ± 11,2**
Tensión arterial sistólica (mmHg)	117,0 ± 13,3	121,3 ± 14,9
Tensión arterial diastólica (mmHg)	70,5 ± 9,3	81,0 ± 10,8*

Los datos se expresan como media (desviación estándar)

*p<0,05; **p<0,001

1.2. Datos bioquímicos en ayunas

En la tabla 2 se presentan los principales resultados bioquímicos en ayunas del grupo completo. Se observan niveles significativamente superiores de insulina, HOMA,

CT, triglicéridos, cLDL, apo B, GSSG, GSSG/GSH y MDA en el grupo de sujetos con obesidad abdominal.

Tabla 2. Datos bioquímicos basales del grupo completo.

	Controles (n=20)	Obesidad abdominal (n=20)
Glucosa (mg/dl)	91,5 ± 8,3	92,8 ± 8,6
Insulina (μU/ml)	5,2 ± 2,8	19,8 ± 14,2 ^{**}
HOMA	1,1 ± 0,6	4,6 ± 4,0 [*]
CT (mg/dl)	178,3 ± 28,0	213,1 ± 24,9 [*]
Triglicéridos (mg/dl)	68,7 ± 21,4	132,9 ± 64,7 [*]
cHDL (mg/dl)	60,3 ± 11,3	55,0 ± 10,4
cLDL (mg/dl)	105,5 ± 23,2	133,5 ± 18,6 [*]
Apo B (mg/dl)	79,2 ± 17,6	97,5 ± 13,1 [*]
GSSG (nmol/mg proteína)	0,4 ± 0,1	0,7 ± 0,1 ^{**}
GSH (nmol/mg proteína)	20,1 ± 2,3	10,8 ± 3,1 ^{**}
GSSG/GSH (GSSG/GSH %)	0,02 ± 0,01	0,07 ± 0,02 ^{**}
MDA (U/g de proteína)	0,4 ± 0,1	0,5 ± 0,1 ^{**}

*p<0,05; **p<0,001

1.3. Correlaciones del grupo completo

1.3.1. Determinantes del metabolismo lipídico

En la tabla 3 se muestran las correlaciones (correlación de Pearson) entre los parámetros del metabolismo lipídico a nivel basal y las variables antropométricas del grupo completo.

Se encontraron correlaciones estadísticamente significativas entre los diferentes parámetros incluidos en la definición de síndrome metabólico. No hubo correlación significativa con la edad en ninguno de los parámetros.

Tabla 3. Correlación de Pearson entre los parámetros del metabolismo lipídico basales y las variables antropométricas del grupo completo.

	CT (mg/dl)	cHDL (mg/dl)	cLDL (mg/dl)	Trigliceridemia (mg/dl)	Apo B (mg/dl)
Edad (años)	-0,047	0,007	-0,096	0,009	-0,048
IMC (kg/m ²)	0,568**	-0,322*	0,646**	0,501**	0,619**
Cintura (cm)	0,437**	-0,258	0,398*	0,574**	0,378*
Tensión arterial sistólica (mmHg)	0,270	-0,328*	0,332*	0,382*	0,422**
Tensión arterial diastólica (mmHg)	0,439**	-0,253	0,479**	0,447**	0,463**

*p<0,05; **p<0,001

Los resultados fueron similares al dividir al grupo en función de la categoría (control y obesidad abdominal).

1.3.2. Determinantes de los marcadores del metabolismo hidrocarbonado

En la tabla 4 se muestran las correlaciones (correlación de Pearson) a nivel basal, entre los marcadores del metabolismo hidrocarbonado e IR (determinado mediante el HOMA) y las variables antropométricas del grupo completo.

De nuevo, no se encontraron asociaciones con la edad, pero sí con los parámetros del metabolismo hidrocarbonado y los parámetros antropométricos. La significación estadística aumenta cuando se analiza exclusivamente a los sujetos con obesidad abdominal.

Tabla 4. Correlación de Pearson entre los marcadores del metabolismo hidrocarbonado a nivel basal y las variables antropométricas del grupo completo.

	Glucosa (mg/dl)	Insulina (μU/ml)	HOMA
Edad (años)	0,058	-0,124	-0,099

IMC (kg/m ²)	0,335*	0,838**	0,827**
Cintura (cm)	0,186	0,620**	0,579**
Tensión arterial sistólica (mmHg)	0,372*	0,468*	0,468*
Tensión arterial diastólica (mmHg)	0,368*	0,594**	0,594**

*p<0,05; **p<0,001

1.3.3. Determinantes de los marcadores de estrés oxidativo

En la tabla 5 se muestran las correlaciones (correlación de Pearson) a nivel basal entre los marcadores de estrés oxidativo y las variables antropométricas del grupo completo. Se observa una correlación significativa positiva entre el IMC y el perímetro de la cintura con los niveles de GSSG, GSSG/GSH y MDA, y de forma negativa con los niveles de GSH. Se observa una relación significativa positiva entre la tensión arterial diastólica y GSSG/GSH, y negativa con los niveles de GSH.

Tabla 5. Correlación de Pearson entre los entre los marcadores de estrés oxidativo y las variables antropométricas del grupo completo.

	GSSG (nmol/mg proteína)	GSH (nmol/mg proteína)	GSSG/GSH (GSSG/GSH %)	MDA (U/g de proteína)
Edad (años)	0,238	-0,026	-0,011	0,042
IMC (kg/m ²)	0,534**	-0,669**	0,673**	0,440**
Cintura (cm)	0,489**	-0,545**	0,472**	0,372*
Tensión arterial sistólica (mmHg)	0,092	-0,193	0,227	0,127
Tensión arterial diastólica (mmHg)	0,301	-0,454**	0,464**	0,218

*p<0,05; **p<0,001

Al analizar de forma separada a los controles y a los sujetos con obesidad abdominal, se observan resultados similares al del grupo completo, pero no alcanzaron la significación estadística.

1.3.4. Relación entre estrés oxidativo e IR

Para determinar si existe relación entre los diferentes marcadores de estrés oxidativo y la IR (determinada mediante el HOMA) a nivel basal en el grupo completo, se ha evaluado el coeficiente de correlación de Pearson entre dichos parámetros.

En la tabla 6 se observa una relación significativa positiva entre los niveles de insulina y HOMA con respecto GSSG, GSSG/GSH y MDA; y una correlación inversa de forma significativa con GSH.

Tabla 6. Correlación de Pearson entre el nivel de IR y el estrés oxidativo en el grupo completo a nivel basal.

	GSSG (nmol/mg proteína)	GSH (nmol/mg proteína)	GSSG/GSH (GSSG/GSH %)	MDA (U/g de proteína)
Glucosa (mg/dl)	0,091	-0,080	0,088	0,055
Insulina (μ U/ml)	0,424**	-0,570**	0,542**	0,346**
HOMA	0,398*	-0,504**	0,502**	0,313*

*p<0,05; **p<0,001

Al analizar por separado a los controles y a los sujetos con obesidad abdominal, se obtienen resultados similares al del grupo completo.

2. Comparación de los parámetros analizados en el grupo completo a nivel postprandial: controles frente a los sujetos con obesidad abdominal

En las tablas y figuras que se exponen a continuación se comparan los parámetros del metabolismo lipídico, IR y oxidación a nivel basal y a las 2, 4, 6 y 8 horas tras la SOG del grupo de controles frente al de sujetos con obesidad abdominal.

2.1. Efecto de la SOG sobre los parámetros del metabolismo lipídico

2.1.1. Comparación entre grupos de los parámetros lipídicos durante la SOG

En las tablas 7 y 8, y en las figuras 1 a 5, quedan reflejados los valores de lípidos del grupo completo antes y después de la SOG y el área bajo la curva (AUC) de los triglicéridos en ambos grupos. Los niveles de CT, cLDL, triglicéridos y apo B se mantuvieron superiores en los sujetos con obesidad abdominal frente a los controles de forma significativa en todos los puntos de la SOG. No se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos en ningún punto de la sobrecarga en los valores de cHDL.

Tabla 7. Parámetros lipídicos basales y a las 2, 4, 6 y 8 horas tras la SOG, en el grupo control y en los sujetos con obesidad abdominal.

	Tiempo (horas)	0	2	4	6	8
CT (mg/dl)	Controles (n=20)	178,3± 28,0	177,9± 28,6	176,7± 26,1	177,7± 28,5	182,2± 26,8
	Obesidad abdominal (n=20)	213,1± 24,9*	211,1± 23,8*	211,8± 22,8*	210,3± 22,8*	212,3± 36,7*
cHDL (mg/dl)	Controles (n=20)	60,3± 11,3	57,2± 10,3	56,8± 11,3	57,3± 11,3	60,1± 11,3
	Obesidad abdominal (n=20)	55,0± 10,4	52,7± 9,4	51,7± 9,9	51,8± 9,4	53,0± 9,5
cLDL (mg/dl)	Controles (n=20)	105,5± 23,2	100,5± 22,9	97,0± 20,2	102,6± 24,2	110,2± 24,4
	Obesidad abdominal (n=20)	133,5± 18,6*	127,2± 19,7*	122,1± 20,4*	131,2± 19,6*	139,1± 31,9*
Triglicéridos (mg/dl)	Controles (n=20)	68,7± 21,4	107,9± 49,1	122,0± 59,4	95,1± 66,4	65,6± 20,4
	Obesidad abdominal (n=20)	132,9± 64,7*	178,3± 67,9*	216,0± 73,6*	148,4± 49,0*	111,5± 36,4*

Apo B (mg/dl)	Controles (n=20)	79,2± 17,6	77,0± 16,4	77,5± 15,5	76,7± 16,6	79,7± 23,1
	Obesidad abdominal (n=20)	97,5± 13,1*	95,3± 12,6*	95,0± 12,1*	94,9± 12,1*	94,9± 12,7*

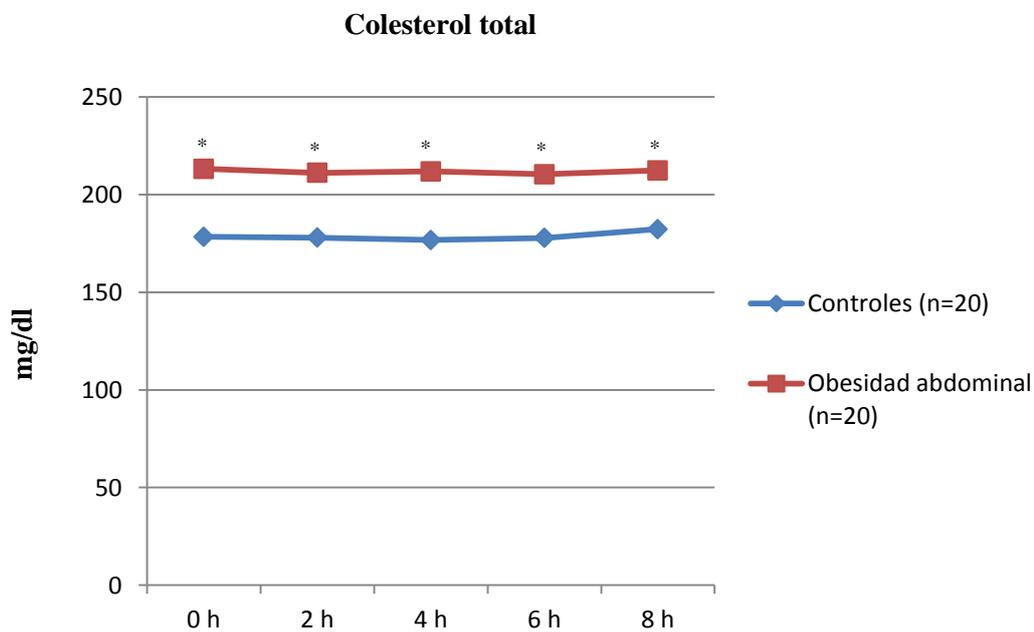
*p<0,05: comparado con el grupo control en cada punto de la sobrecarga

Tabla 8. Área bajo la curva de los niveles de triglicéridos en ambos grupos.

	Controles (n=20)	Obesidad abdominal (n=20)
AUC Triglicéridos (mg/dl)	784,1 ± 330,5	1329,5 ± 438,4**

**p<0,001

Figura 1. Comparación de los niveles de colesterol plasmático en cada punto de la sobrecarga oral grasa entre controles y sujetos con obesidad abdominal.



*p<0,05

Figura 2. Comparación de los niveles de cHDL plasmáticos en cada punto de la sobrecarga oral grasa entre controles y sujetos con obesidad abdominal.

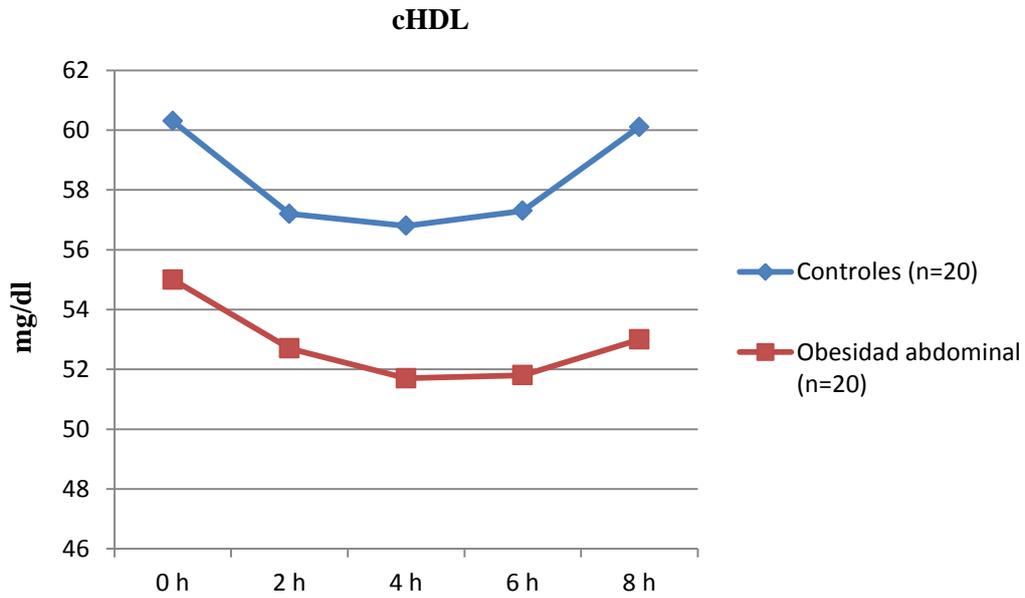
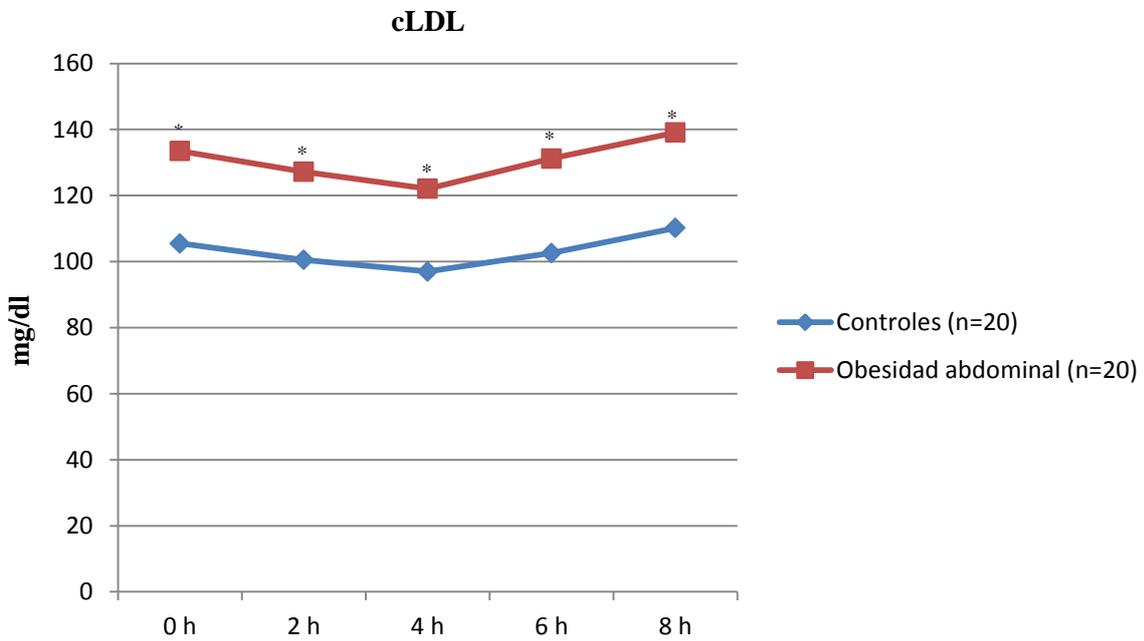
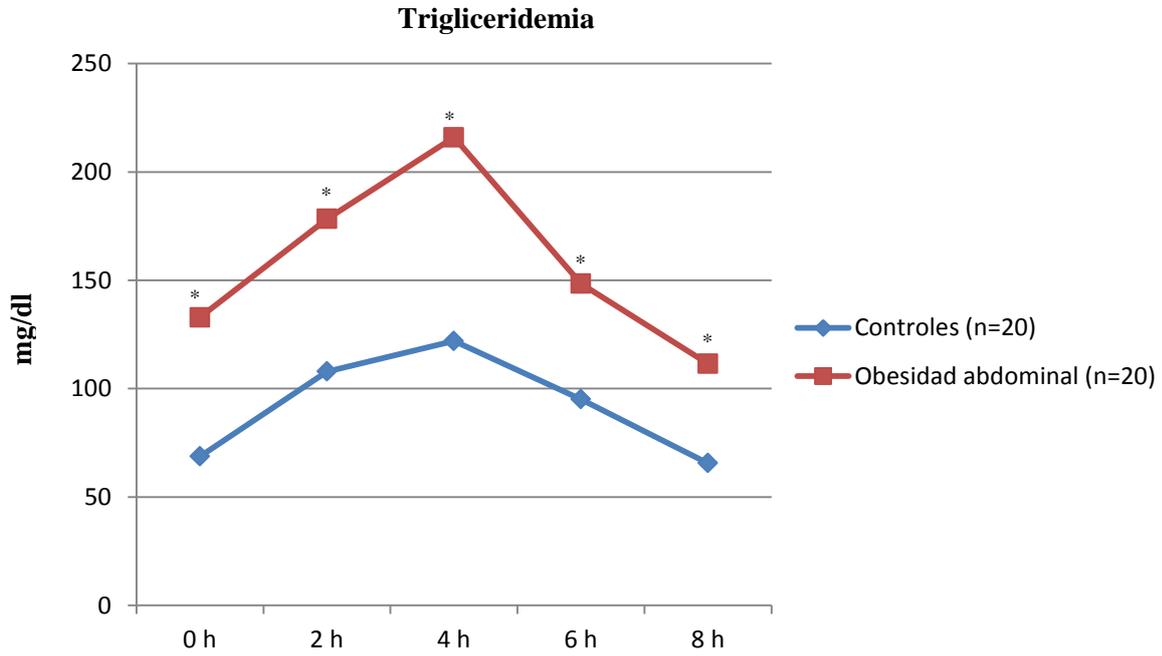


Figura 3. Comparación de los niveles de cLDL plasmáticos en cada punto de la sobrecarga oral grasa entre controles y sujetos con obesidad abdominal.



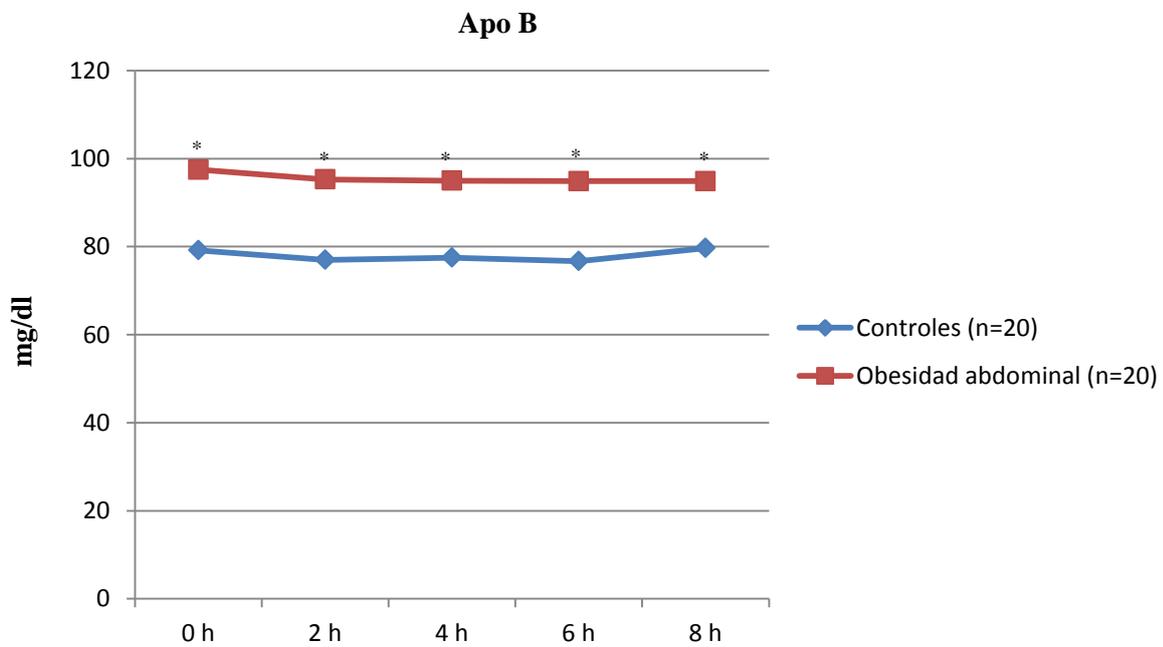
*p<0,05

Figura 4. Comparación de los niveles de triglicéridos plasmáticos en cada punto de la sobrecarga oral grasa entre controles y sujetos con obesidad abdominal.



*p<0,05

Figura 5. Comparación de los niveles de apo B plasmáticos en cada punto de la sobrecarga oral grasa entre controles y sujetos con obesidad abdominal.

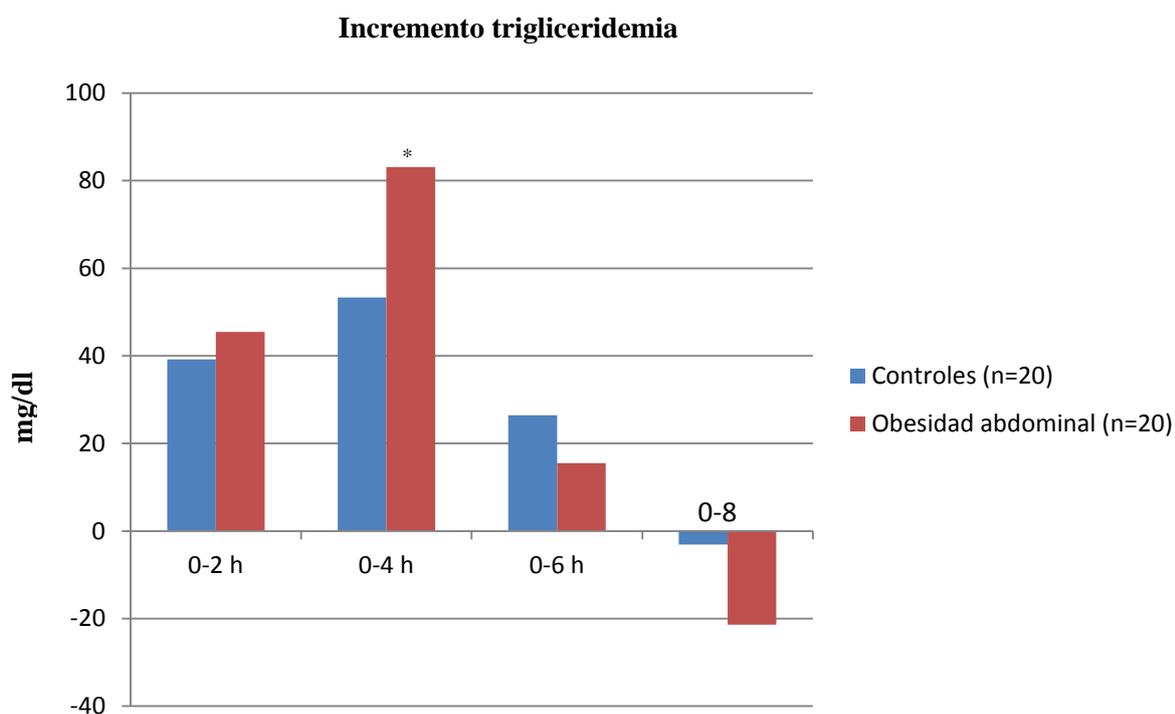


*p<0,05

2.1.2. Comparación del incremento de los parámetros lipídicos del grupo completo en cada punto de la sobrecarga con respecto al valor basal

En la figura 6 se muestra el incremento de los triglicéridos plasmáticos en cada punto de la SOG con respecto al valor basal en los controles y en los sujetos con obesidad abdominal. Los niveles de triglicéridos aumentan en ambos grupos alcanzando el pico máximo a las cuatro horas, siendo este aumento significativamente mayor en los sujetos con obesidad abdominal. Posteriormente se produce un descenso de la trigliceridemia, alcanzando niveles similares a los previos a la realización de la SOG. El resto de parámetros lipídicos no presentaron un incremento significativo.

Figura 6. Incremento de la trigliceridemia con respecto al valor basal a las 2, 4, 6 y 8 h de la sobrecarga oral grasa, en los controles y en los sujetos con obesidad abdominal.



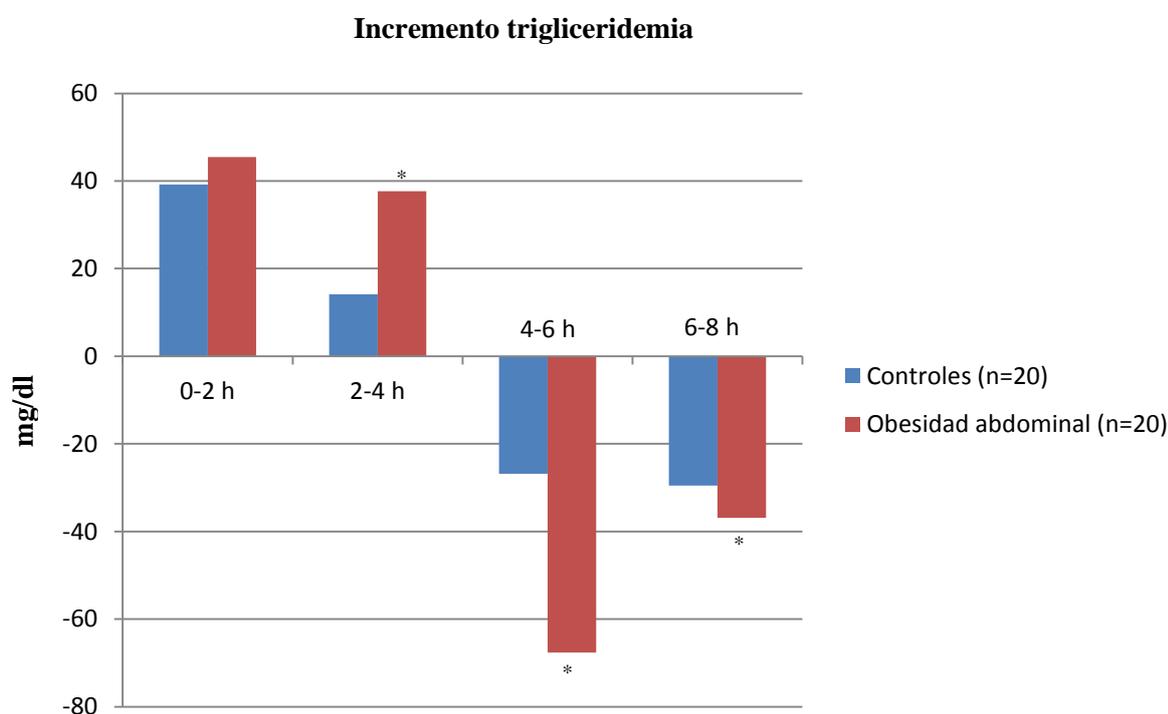
*p<0,05

2.1.3. Comparación del incremento de los parámetros lipídicos con respecto al valor previo, a las 2, 4, 6 y 8 h de la SOG, en los controles y en los sujetos con obesidad abdominal

En la figura 7 se muestra el incremento de los triglicéridos plasmáticos con respecto al valor previo, a las 2, 4, 6 y 8 h de la SOG, en los controles y en los sujetos con obesidad abdominal.

Se observa un incremento progresivo hasta las 4 horas, siendo significativo entre las 2 y las 4 horas. A partir de las 4 horas se produce un decremento significativo hasta las 8 horas, siendo el decremento mayor el alcanzado entre las 4 y las 6 horas.

Figura 7. Incremento de la trigliceridemia con respecto al valor previo, a las 2, 4, 6 y 8 h de la sobrecarga oral grasa, en los controles y en los sujetos con obesidad abdominal.



*p<0,05

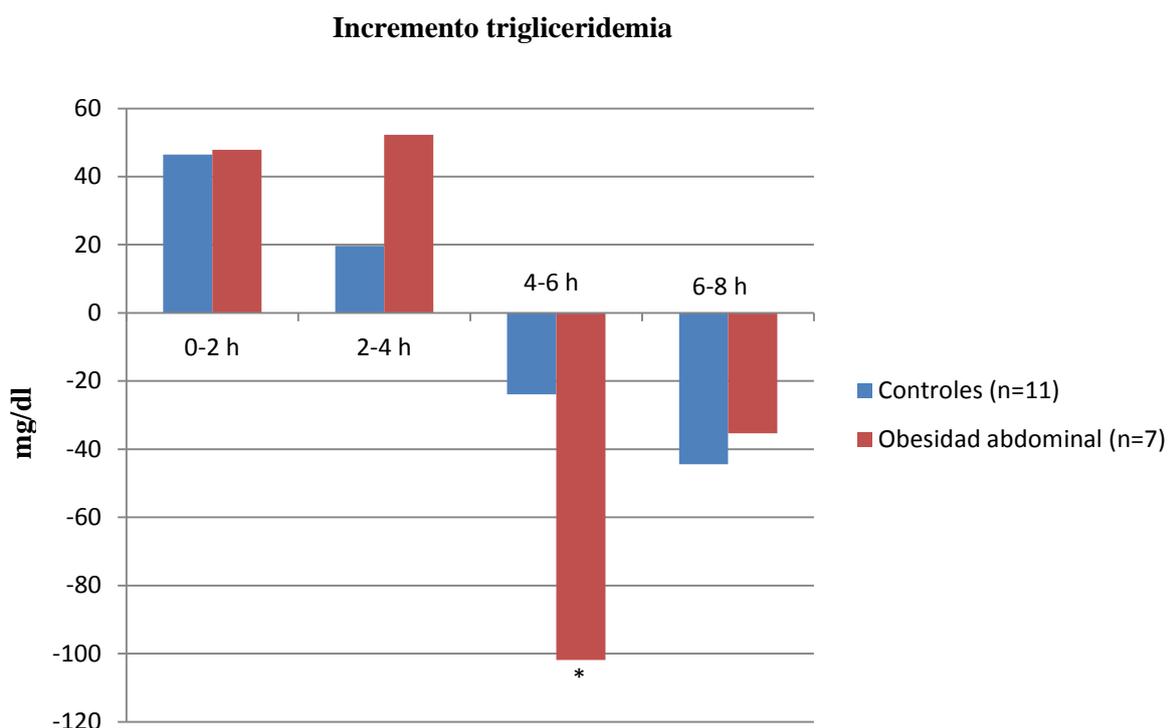
2.1.4. Comparación del incremento de los parámetros lipídicos en cada punto de la sobrecarga con respecto al valor previo en el grupo de los varones, controles frente a los varones con obesidad abdominal

En la figura 8 se muestra el incremento de los triglicéridos plasmáticos en cada punto de la sobrecarga con respecto al valor previo en el grupo de los varones, controles frente a los varones con obesidad abdominal.

Se observa un decremento significativo entre las 4 y las 6 horas, mayor que el obtenido en el grupo completo y mayor que el incremento observado en este grupo hasta las 4 horas.

El resto de parámetros lipídicos no presentaron un incremento significativo.

Figura 8. Incremento de la trigliceridemia en cada punto de la sobrecarga con respecto al valor previo en el grupo de varones, controles frente a los varones con obesidad abdominal.



*p<0,05

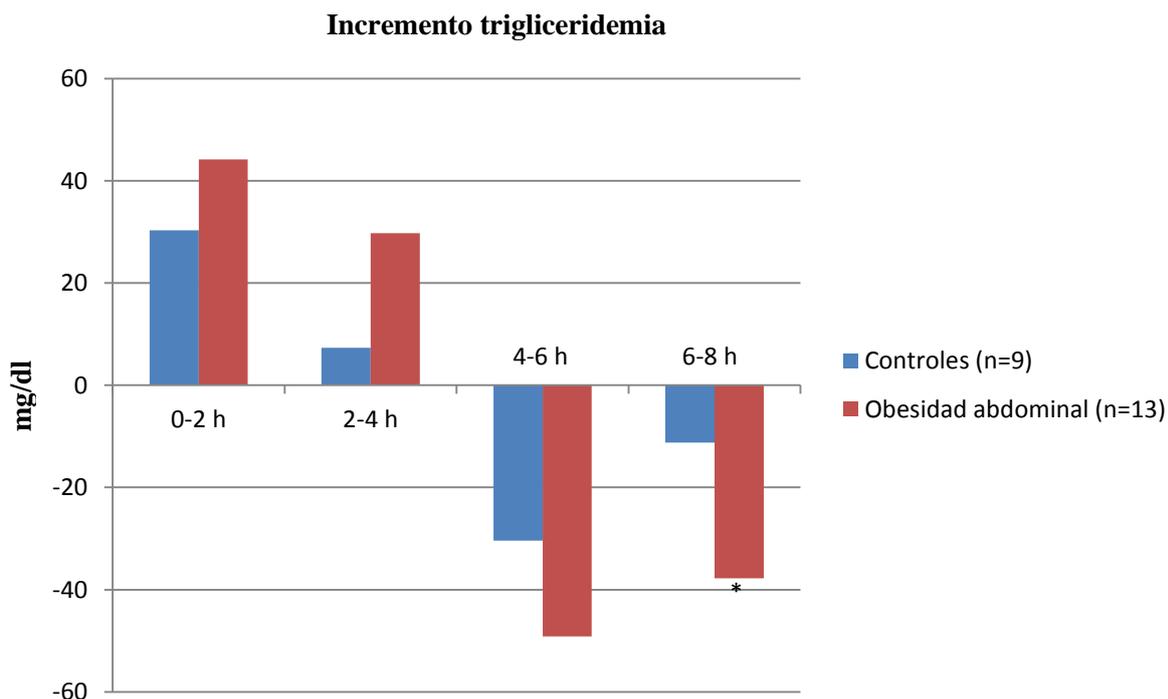
2.1.5. Comparación del incremento de los parámetros lipídicos en cada punto de la sobrecarga con respecto al valor previo en el grupo de las mujeres, controles frente a las mujeres con obesidad abdominal

En la figura 9 se muestra el incremento de los triglicéridos plasmáticos en cada punto de la sobrecarga con respecto al valor previo en el grupo de las mujeres, controles frente a las mujeres con obesidad abdominal.

Se observa un decremento significativo entre las 6 y las 8 horas, de un valor similar al objetivado en el grupo completo.

El resto de parámetros lipídicos no presentaron un incremento significativo.

Figura 9. Incremento de la trigliceridemia en cada punto de la sobrecarga con respecto al valor previo en el grupo de las mujeres, controles frente a las mujeres con obesidad abdominal.



*p<0,05

2.2. Efecto de la SOG sobre los parámetros del metabolismo hidrocarbonado

2.2.1. Comparación entre grupos de los parámetros del metabolismo hidrocarbonado durante la SOG

En las tablas 9 y 10, y en las figuras 10 a 12 se exponen los datos del metabolismo hidrocarbonado. Los sujetos con obesidad abdominal presentan valores de glucemia, insulina y HOMA superiores a los del grupo control en todos los puntos de la sobrecarga, siendo estos valores significativos en todos los puntos de la SOG para la insulina y el HOMA. Las concentraciones de los tres parámetros descienden

progresivamente a lo largo de la SOG en los sujetos con obesidad abdominal, alcanzando los valores mínimos a las 8 horas, siendo dichos valores inferiores a los considerados como diagnóstico de IR.

Tabla 9. Parámetros del metabolismo hidrocarbonado del grupo control frente al de sujetos con obesidad abdominal basales y a las 2, 4, 6 y 8 horas tras la SOG.

	Tiempo (horas)	0	2	4	6	8
Glucosa (mg/dl)	Controles (n=20)	91,5 ± 8,3	87,1 ± 7,1	86,1 ± 7,8	84,3 ± 5,4	84,1 ± 6,6
	Obesidad abdominal (n=20)	92,8 ± 8,6	92,3 ± 6,8	90,6 ± 8,5	87,4 ± 7,1	86,7 ± 5,2
Insulina (μU/ml)	Controles (n=20)	5,2 ± 2,8	5,1 ± 2,7	4,4 ± 2,4	3,6 ± 2,8	3,1 ± 2,0
	Obesidad abdominal (n=20)	19,8 ± 14,2 ^{**}	15,9 ± 8,0 ^{**}	13,5 ± 9,3 [*]	9,5 ± 7,3 [*]	8,2 ± 6,0 [*]
HOMA	Controles (n=20)	1,1 ± 0,6	1,3 ± 0,7	0,9 ± 0,7	0,7 ± 0,7	0,7 ± 0,6
	Obesidad abdominal (n=20)	4,6 ± 4,0 [*]	3,7 ± 1,9 ^{**}	3,2 ± 2,3 [*]	2,1 ± 1,8 [*]	1,7 ± 1,3 [*]

*p<0,05; **p<0,001: comparado con el grupo control en cada punto de la sobrecarga

Tabla 10. Área bajo la curva de los parámetros del metabolismo hidrocarbonado.

	Controles (n=20)	Obesidad abdominal (n=20)
AUC Glucosa (mg/dl)	690,6 ± 49,5	720,0 ± 50,6 [*]
AUC Insulina (μU/ml)	34,4 ± 16,4	105,8 ± 61,7 ^{**}
AUC HOMA	10,5 ± 14,9	21,6 ± 10,9 ^{**}

*p<0,05; **p<0,001

Figura 10. Niveles de glucemia del grupo control frente al de sujetos con obesidad abdominal en todos los puntos de la sobrecarga oral grasa.

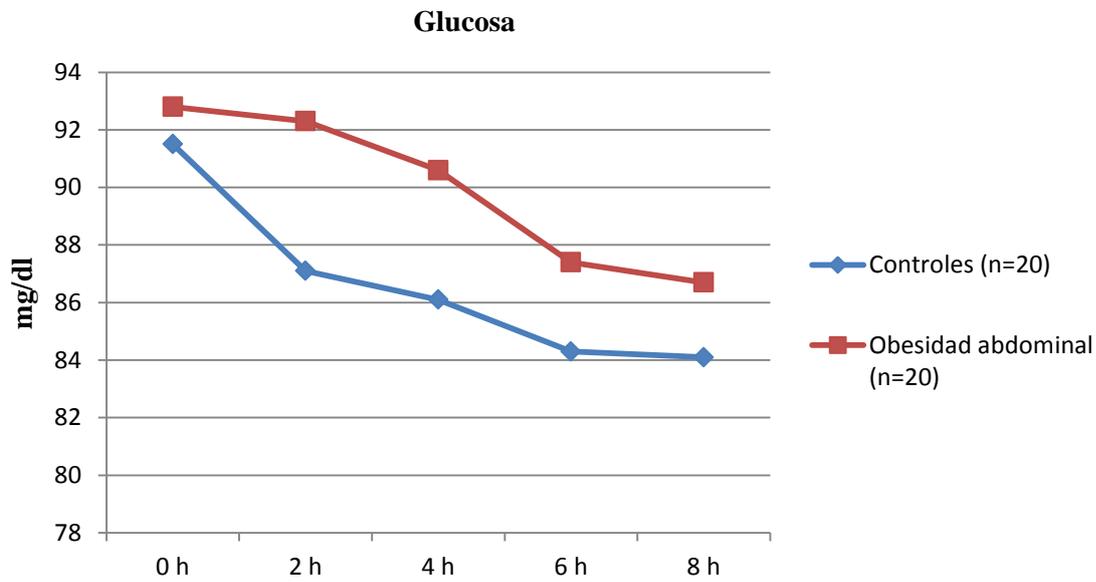
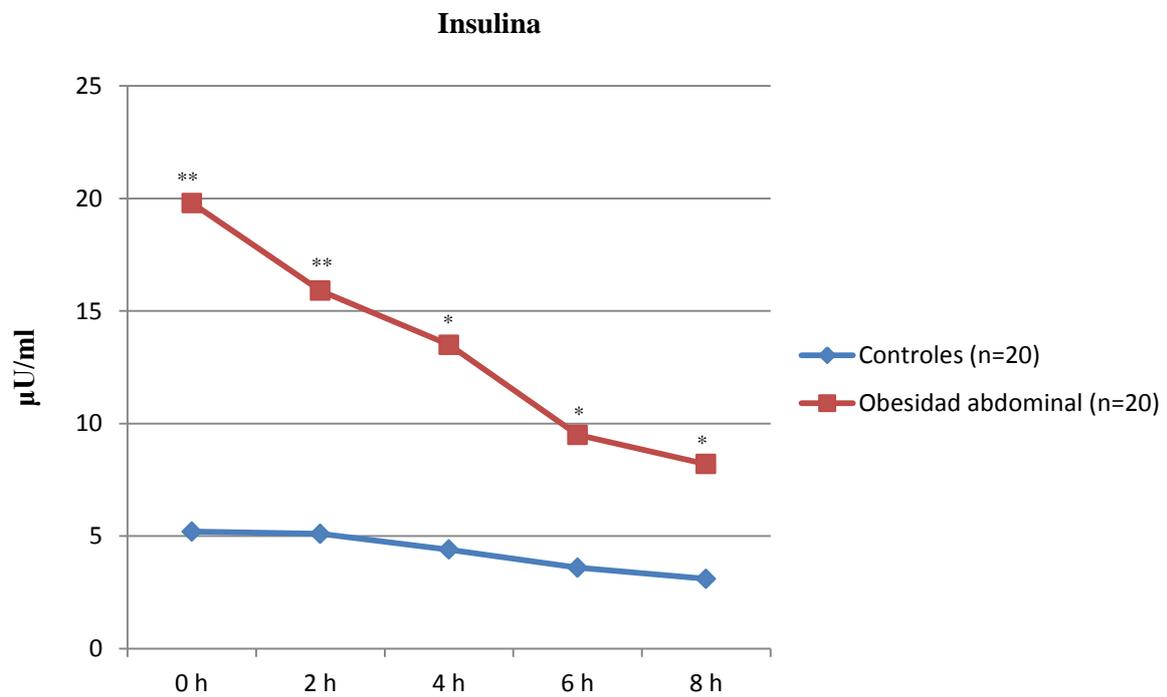
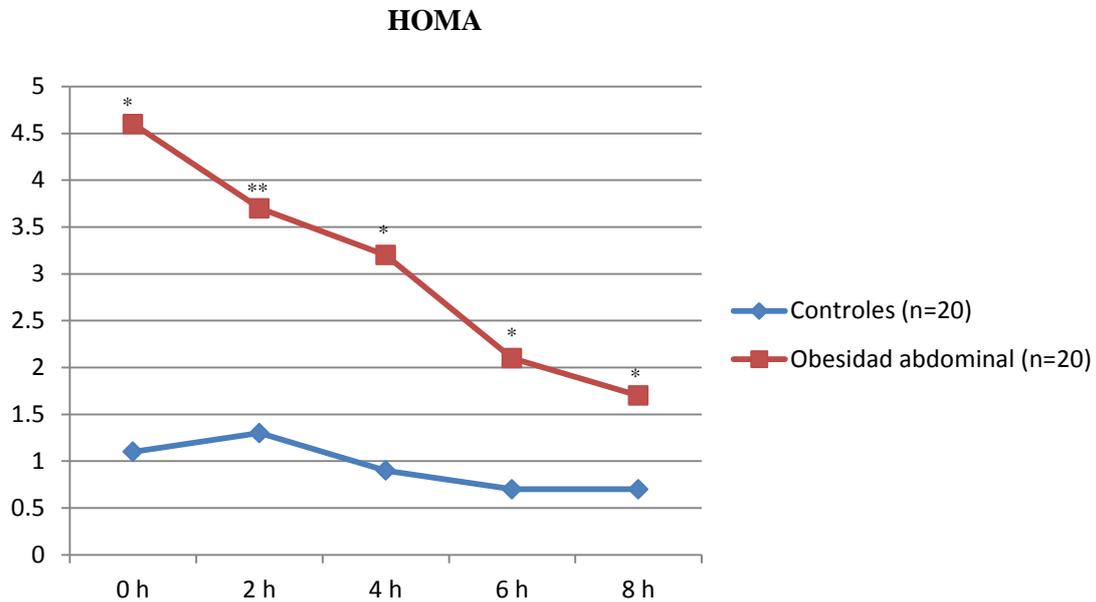


Figura 11. Niveles de insulina del grupo control frente al de sujetos con obesidad abdominal en todos los puntos de la sobrecarga oral grasa.



*p<0,05; **p<0,001

Figura 12. Niveles de HOMA del grupo control frente al de sujetos con obesidad abdominal en todos los puntos de la sobrecarga oral grasa.

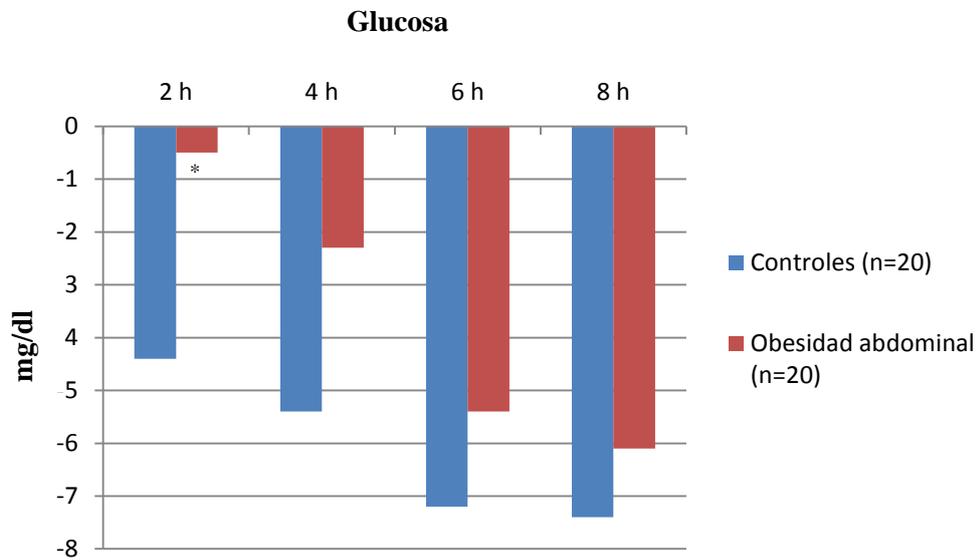


*p<0,05; **p<0,001

2.2.2. Comparación del incremento de los parámetros del metabolismo hidrocarbonado en todos los puntos de la sobrecarga con respecto al valor basal en ambos grupos

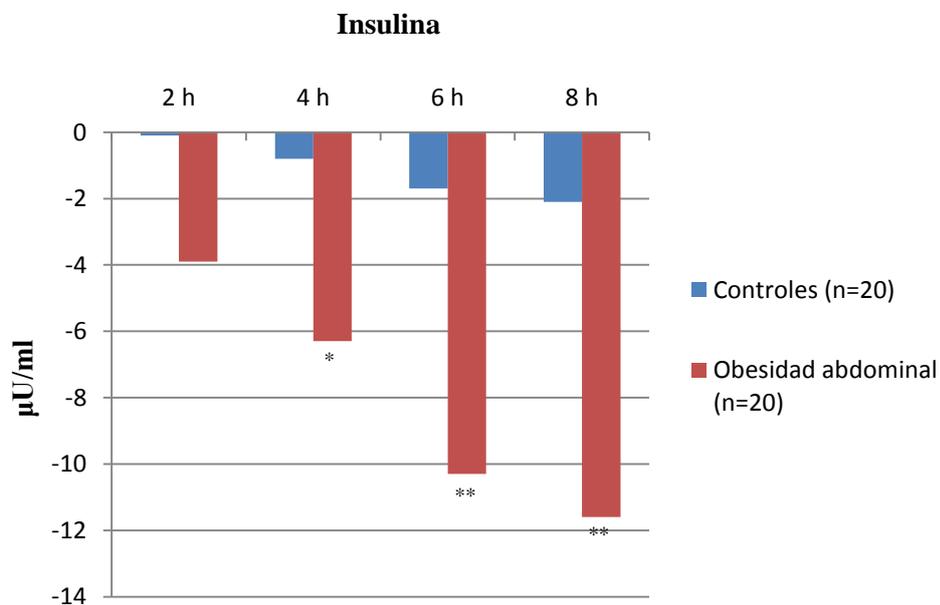
En las figuras 13 a 15 se exponen los incrementos de glucosa, insulina y HOMA en cada punto de la SOG con respecto al valor basal. Las concentraciones de los tres parámetros descienden progresivamente a lo largo de la SOG, alcanzando los valores mínimos a las 8 horas. Tras la SOG existen diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos a las 2 horas para la glucemia; a las 4, 6 y 8 horas tras la SOG para la insulina y a las 6 y 8 horas para el HOMA.

Figura 13. Incremento de los niveles de glucemia plasmática en los controles y en los sujetos con obesidad abdominal en cada punto de la sobrecarga oral grasa con respecto al valor basal.



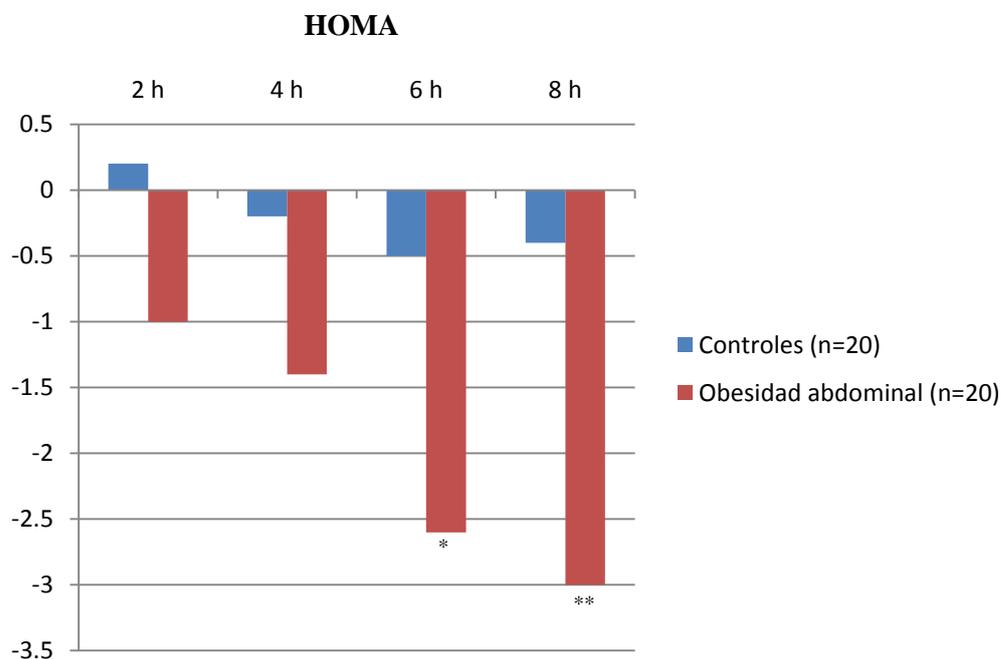
*p<0,05

Figura 14. Incremento de los niveles de insulina en los controles y en los sujetos con obesidad abdominal en cada punto de la sobrecarga oral grasa con respecto al valor basal.



*p<0,05; **p<0,001

Figura 15. Incremento de los niveles de HOMA en los controles y en los sujetos con obesidad abdominal en cada punto de la sobrecarga oral grasa con respecto al valor basal.



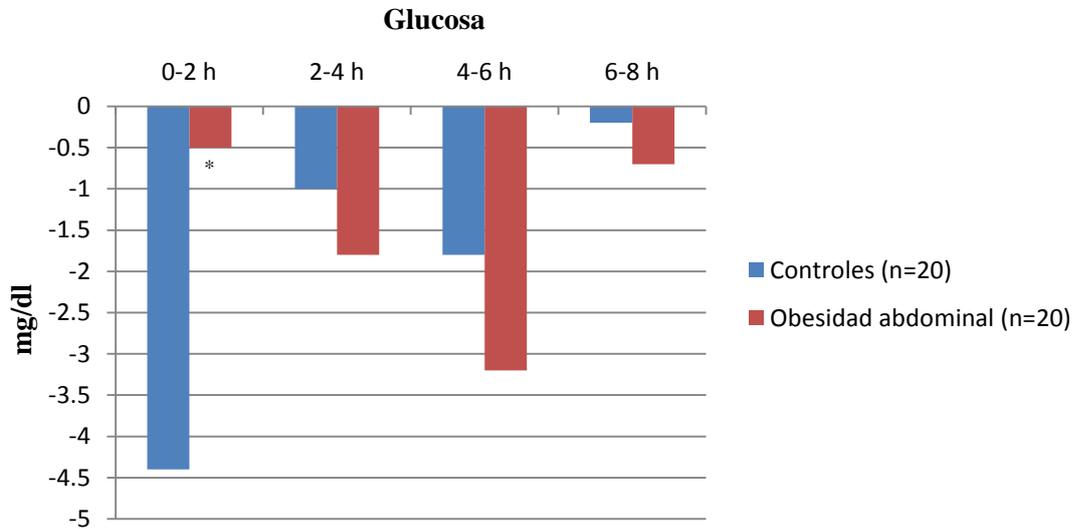
*p<0,05; **p<0,001

2.2.3. Comparación del incremento de los parámetros del metabolismo hidrocarbonado con respecto al valor previo, a las 2, 4, 6 y 8 h de la SOG, en los controles y en los sujetos con obesidad abdominal

En las figuras 16 a 18 se muestra el incremento de los parámetros del metabolismo hidrocarbonado en cada punto de la SOG con respecto al valor previo en los controles y en los sujetos con obesidad abdominal.

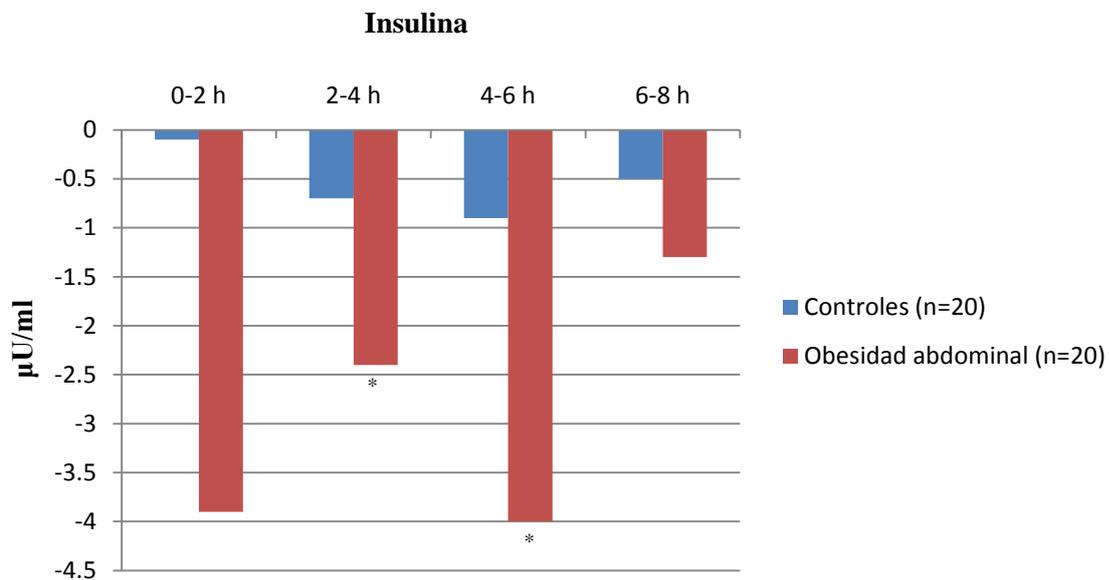
Se observa un decremento en los niveles de glucemia, insulina y HOMA durante toda la sobrecarga en los sujetos con obesidad abdominal, siendo estadísticamente significativo este descenso con respecto el punto previo, para los niveles glucemia a las 2 horas, para la insulina a las 4 y 6 horas, y para el HOMA a las 6 horas.

Figura 16. Cambio de los niveles de glucemia en todos los puntos de la sobrecarga oral grasa con respecto al valor previo, a las 2, 4, 6 y 8 h en los controles y en los sujetos con obesidad abdominal.



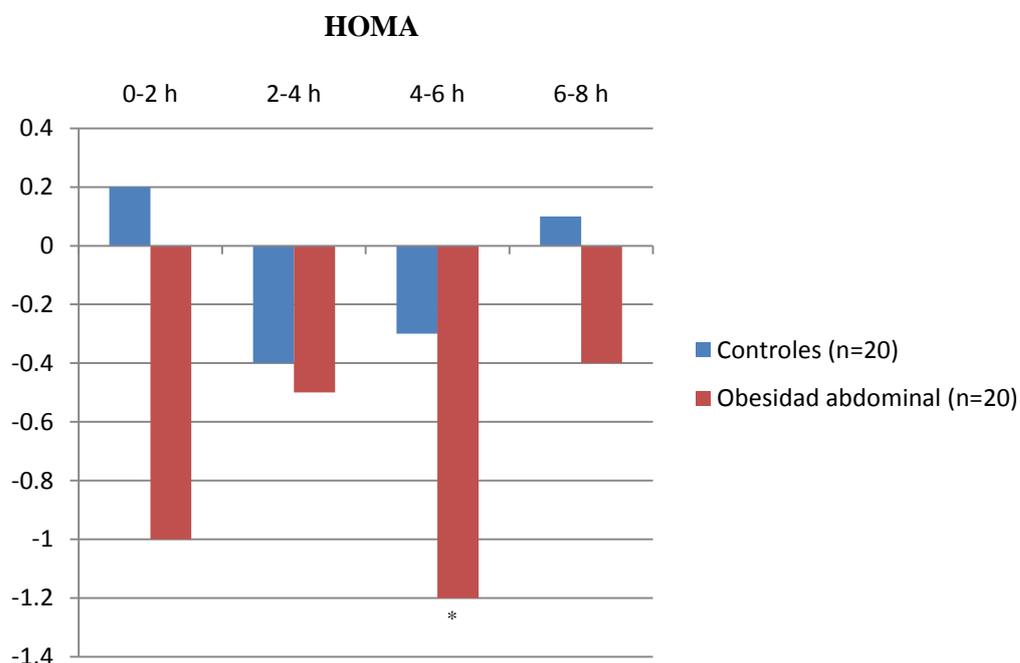
*p<0,05

Figura 17. Cambio de los niveles de insulina en todos los puntos de la sobrecarga oral grasa con respecto al valor previo, a las 2, 4, 6 y 8 h, en los controles y en los sujetos con obesidad abdominal.



*p<0,05

Figura 18. Cambio de los niveles de HOMA en todos los puntos de la sobrecarga oral grasa con respecto al valor previo, a las 2, 4, 6 y 8 h, en los controles y en los sujetos con obesidad abdominal.



*p<0,05

2.3. Efecto de la SOG sobre los parámetros del estrés oxidativo

2.3.1. Comparación de los marcadores de estrés oxidativo en todos los puntos de la SOG en los sujetos controles y en los sujetos con obesidad abdominal

En las tablas 11 y 12, y las figuras 19 a 22 se muestran los parámetros de oxidación en todos los puntos de la SOG en el grupo control con respecto al de los pacientes con obesidad abdominal y el área bajo la curva de ambos grupos. En los sujetos con obesidad abdominal se observa un descenso progresivo significativo del cociente GSSG/GSH en todos los puntos de la sobrecarga y una disminución significativa de MDA con respecto el valor basal a las 6 y 8 horas de la SOG.

Tabla 11. Marcadores de estrés oxidativo basales y a las 2, 4, 6 y 8 horas tras la SOG, en el grupo control y en los sujetos con obesidad abdominal.

	Tiempo (horas)	0	2	4	6	8
GSSG (nmol/mg proteína)	Controles (n=20)	0,45 ± 0,09	0,37 ± 0,07	0,32 ± 0,07	0,29 ± 0,05	0,24 ± 0,05
	Obesidad abdominal (n=20)	0,69 ± 0,10**	0,44 ± 0,09	0,39 ± 0,08*	0,33 ± 0,80**	0,26 ± 0,80
GSH (nmol/mg proteína)	Controles (n=20)	20,1 ± 2,3	22,3 ± 1,8	23,3 ± 2,0	24,3 ± 1,7	25,4 ± 1,8
	Obesidad abdominal (n=20)	10,8 ± 3,1**	12,5 ± 2,8	14,1 ± 3,0	15,7 ± 3,8*	17,1 ± 3,6*
GSSG/GSH (GSSG/GSH %)	Controles (n=20)	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
	Obesidad abdominal (n=20)	0,07 ± 0,02**	0,04 ± 0,01*	0,03 ± 0,01*	0,02 ± 0,05**	0,02 ± 0,04**
MDA (U/g de proteína)	Controles (n=20)	0,38 ± 0,07	0,35 ± 0,04	0,31 ± 0,07	0,23 ± 0,06	0,23 ± 0,06
	Obesidad abdominal (n=20)	0,54 ± 0,13**	0,34 ± 0,05	0,25 ± 0,09	0,19 ± 0,04*	0,19 ± 0,02**

*p<0,05; **p<0,001: comparado con el grupo control en cada punto de la sobrecarga

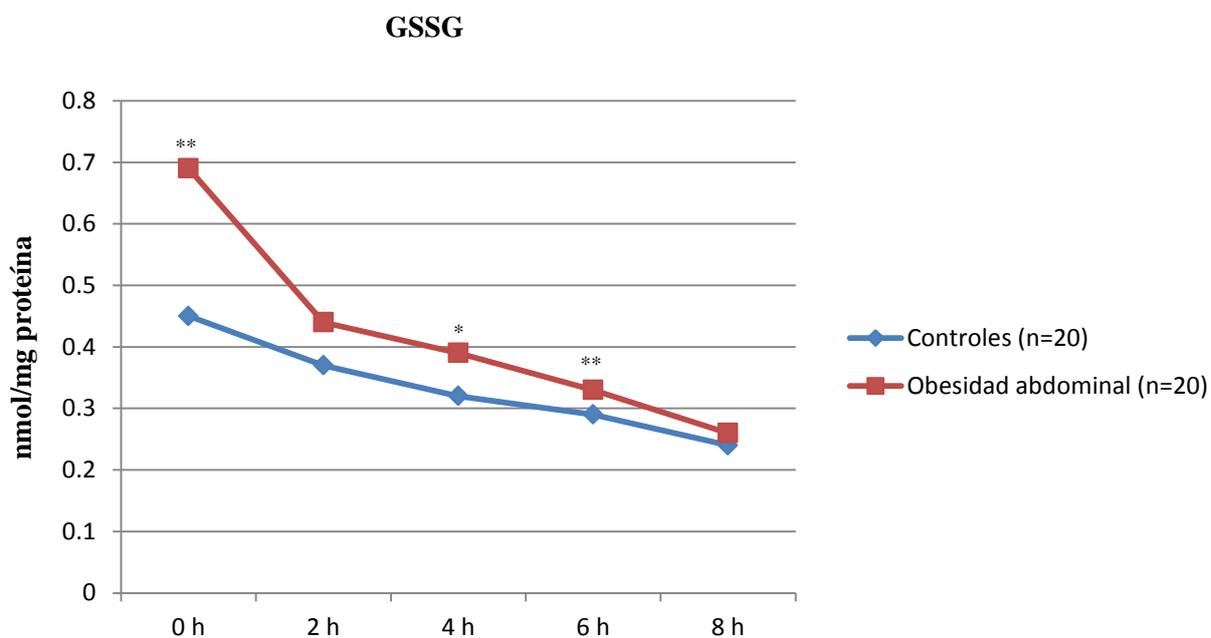
Tabla 12. Área bajo la curva de los parámetros de estrés oxidativo en ambos grupos.

	Controles (n=20)	Obesidad abdominal (n=20)
AUC GSSG (nmol/mg proteína)	2,62 ± 0,46	3,79 ± 2,59**

AUC GSH (nmol/mg proteína)	185,1 ± 12,5	112,8 ± 23,4 ^{**}
AUC GSSG/GSH (GSSG/GSH %)	0,12 ± 0,02	0,29 ± 0,16 ^{**}
AUC MDA (U/g de proteína)	2,37 ± 0,35	2,28 ± 0,32

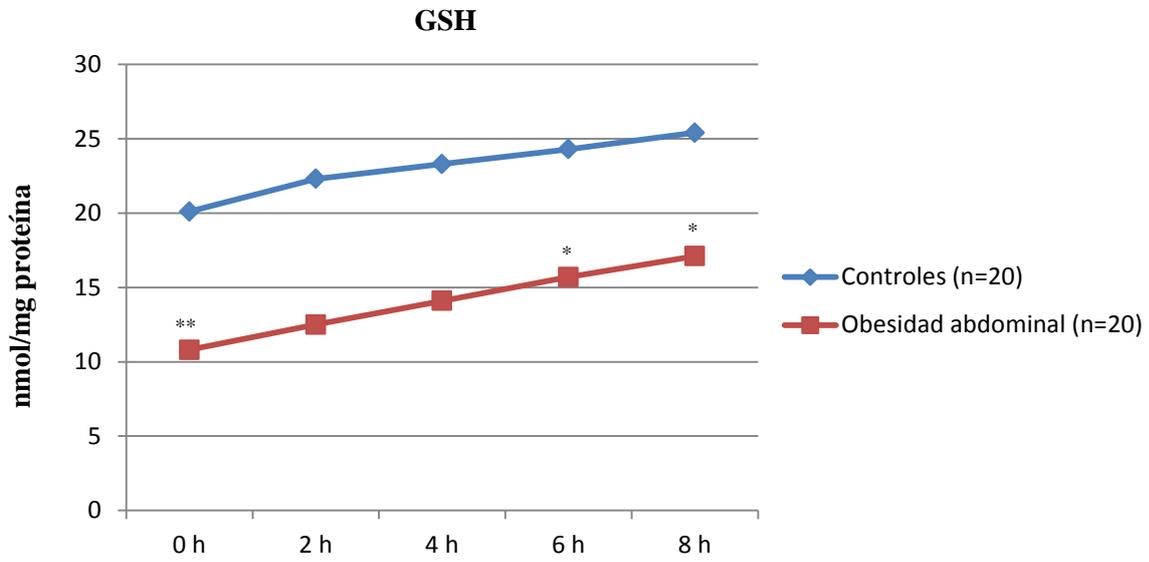
**p<0,001

Figura 19. Comparación de GSSG en cada punto de la sobrecarga oral grasa entre controles y sujetos con obesidad abdominal.



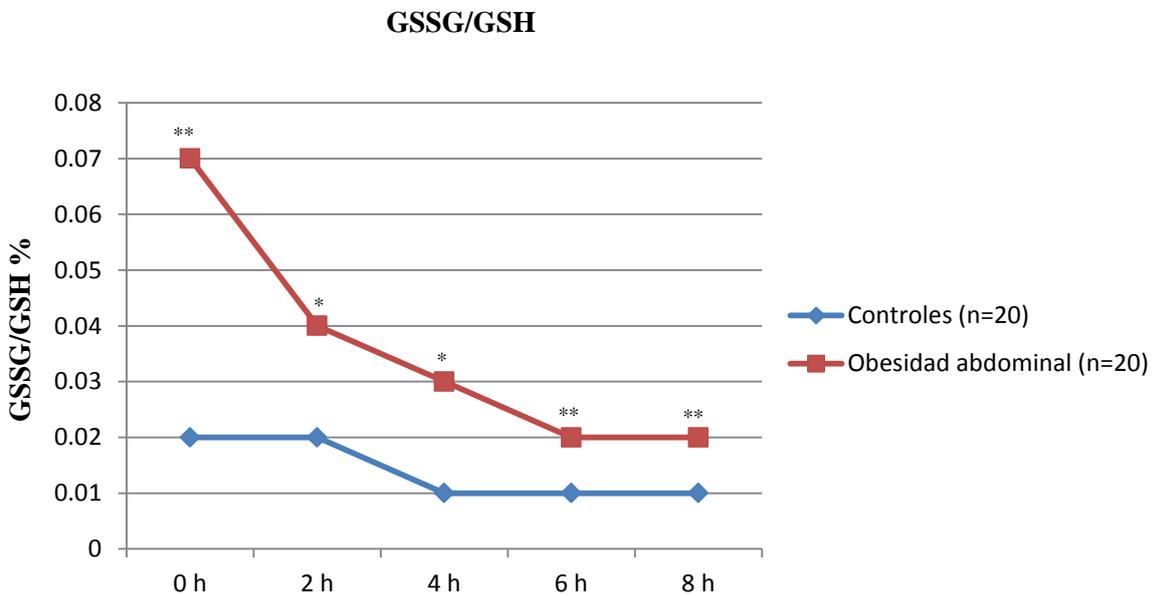
*p<0,05; **p<0,001

Figura 20. Comparación de GSH en cada punto de la sobrecarga oral grasa entre controles y sujetos con obesidad abdominal.



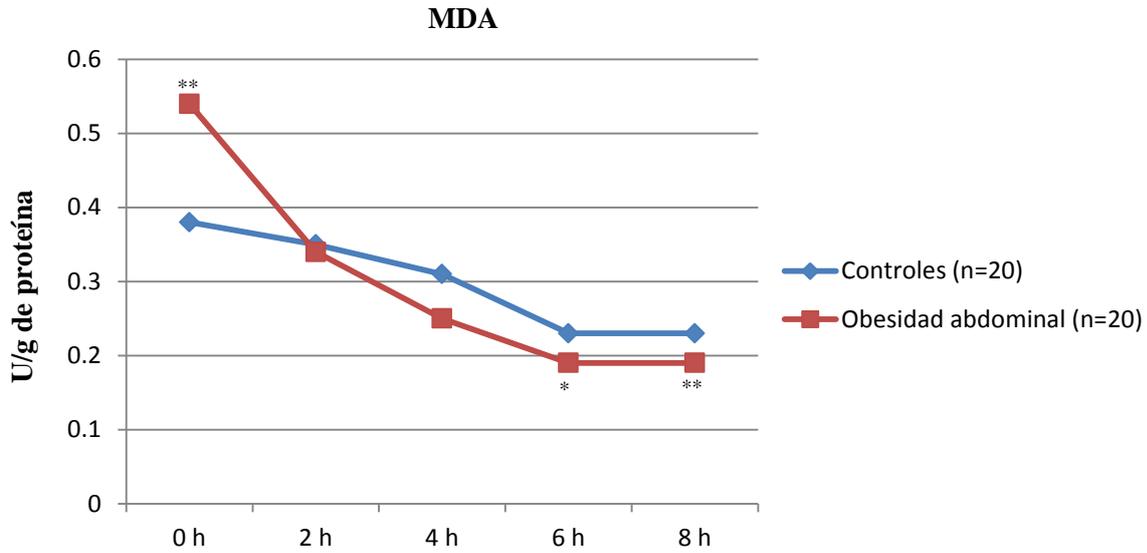
*p<0,05; **p<0,001

Figura 21. Comparación del cociente GSSG/GSH en cada punto de la sobrecarga oral grasa entre controles y sujetos con obesidad abdominal.



*p<0,05; **p<0,001

Figura 22. Comparación de MDA en cada punto de la sobrecarga oral grasa entre controles y sujetos con obesidad abdominal.



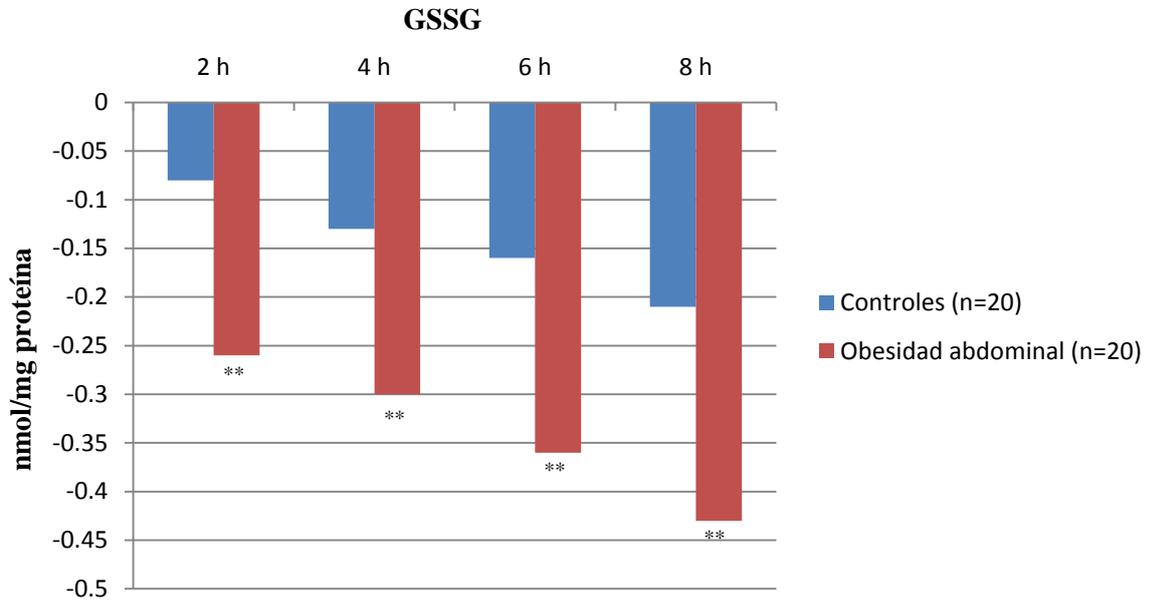
*p<0,05; **p<0,001

2.3.2. Incremento de los marcadores de estrés oxidativo en todos los puntos de la SOG con respecto al valor basal, en los controles y en los sujetos con obesidad abdominal

En las figuras que se exponen a continuación se muestran los incrementos respecto al nivel basal de los marcadores de estrés oxidativo a las 2, 4, 6 y 8 horas de la SOG, en controles frente a sujetos con obesidad abdominal.

Existe un decremento significativo respecto al valor basal en todos los puntos de la SOG para GSSG, GSSG/GSH y MDA. Este decremento significativo es mayor en los sujetos con obesidad abdominal.

Figura 23. Incremento de GSSG en cada punto de la sobrecarga oral grasa con respecto al valor basal entre controles y sujetos con obesidad abdominal.



**p<0,001

Figura 24. Incremento de GSH en cada punto de la sobrecarga oral grasa con respecto al valor basal entre controles y sujetos con obesidad abdominal.

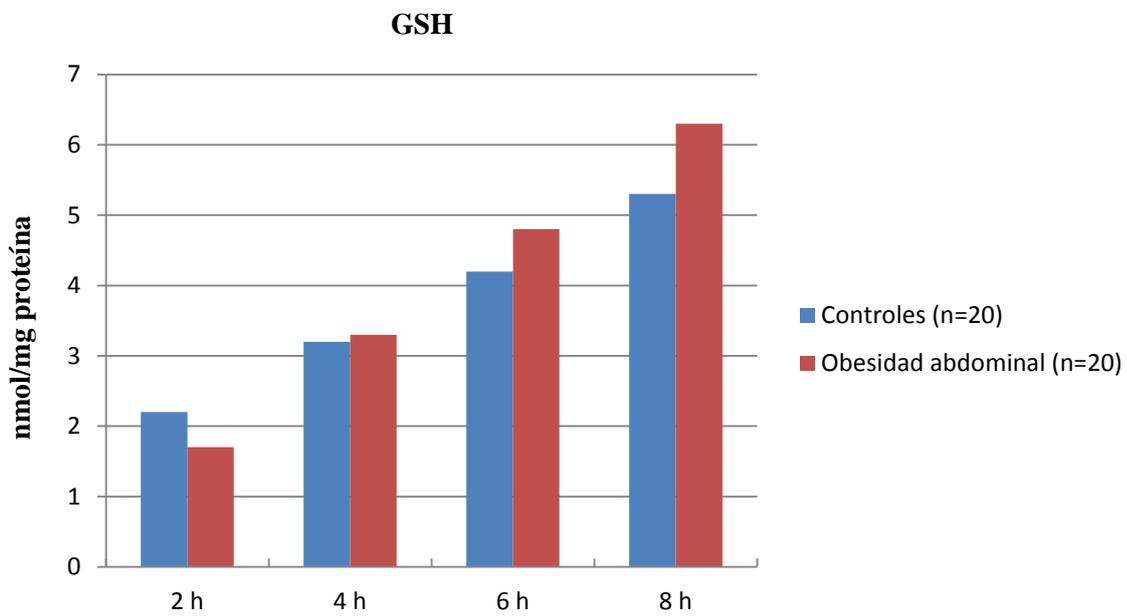
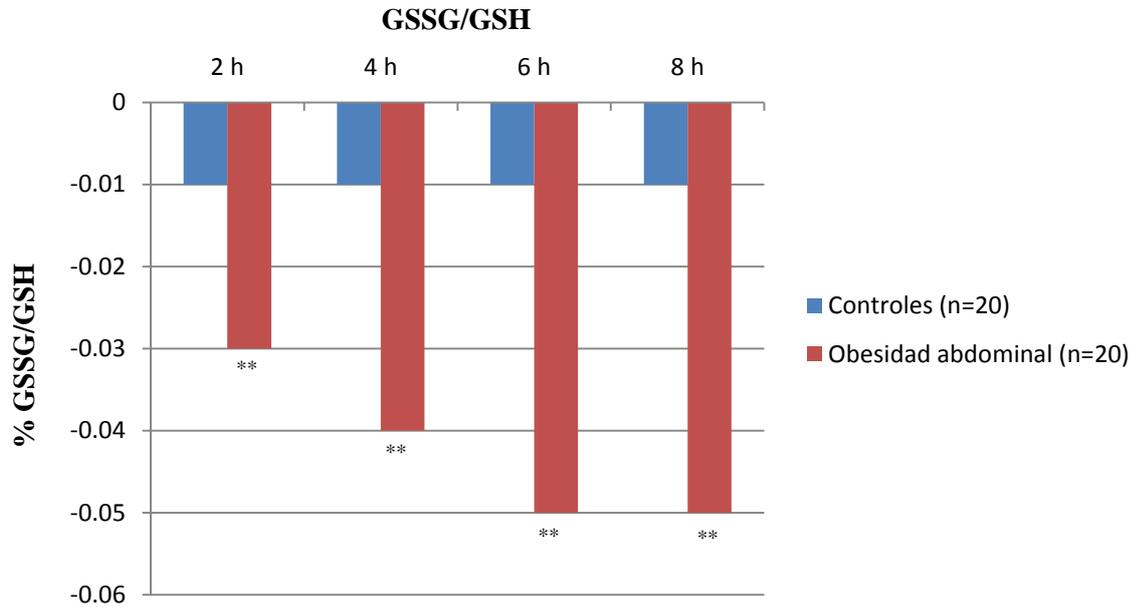
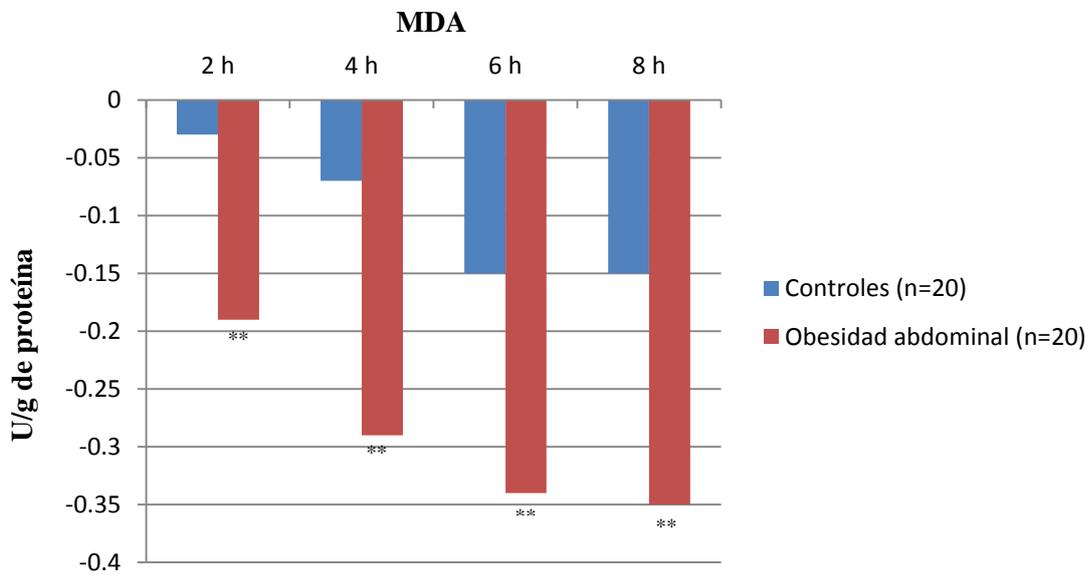


Figura 25. Cambios del cociente GSSG/GSH en cada punto de la sobrecarga oral grasa con respecto al valor basal entre controles y sujetos con obesidad abdominal.



**p<0,001

Figura 26. Cambios de MDA en cada punto de la sobrecarga oral grasa con respecto al valor basal entre controles y sujetos con obesidad abdominal.

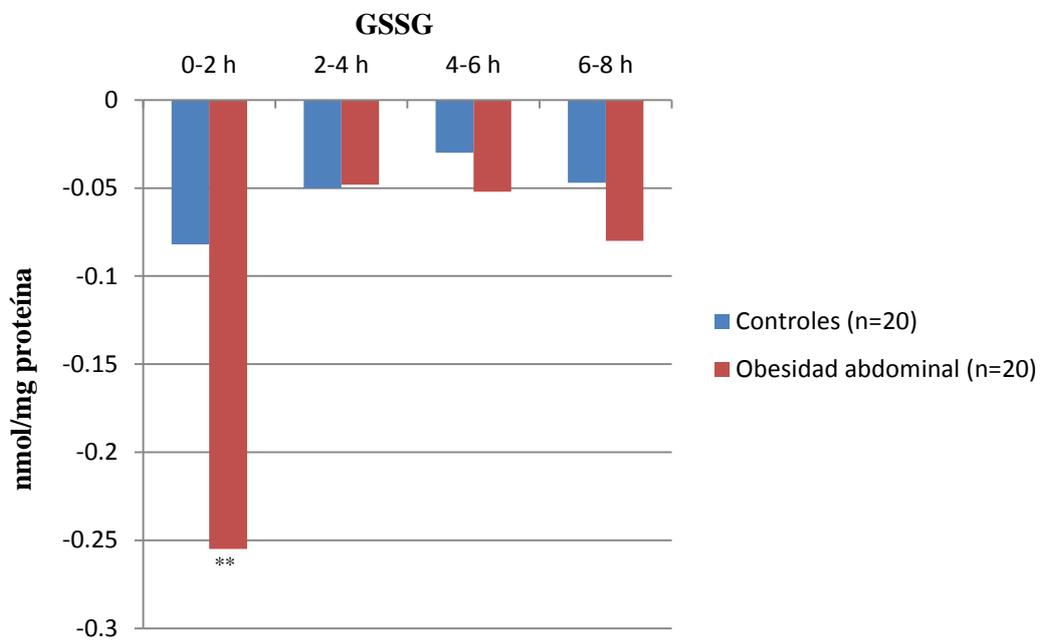


**p<0,001

2.3.3. Comparación del incremento de los parámetros de estrés oxidativo con respecto al valor previo, a las 2, 4, 6 y 8 h de la SOG, en los controles y en los sujetos con obesidad abdominal

Se observa un decremento significativo con respecto el valor previo, a las 2 horas para GSSG y MDA, y a las 2, 4, 6 y 8 horas para el cociente GSSG/GSH. Este decremento significativo fue mayor en los pacientes con obesidad abdominal que en los controles.

Figura 27. Cambios de GSSG con respecto al valor previo de la sobrecarga oral grasa, en los controles y en los sujetos con obesidad abdominal.



**p<0,001

Figura 28. Incremento de GSH con respecto al valor previo de la sobrecarga oral grasa, en los controles y en los sujetos con obesidad abdominal.

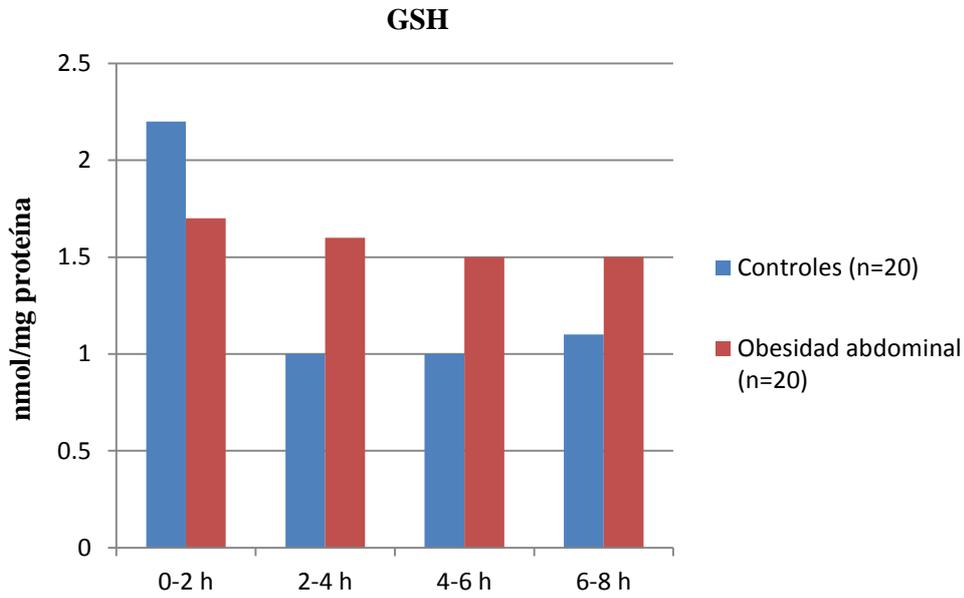
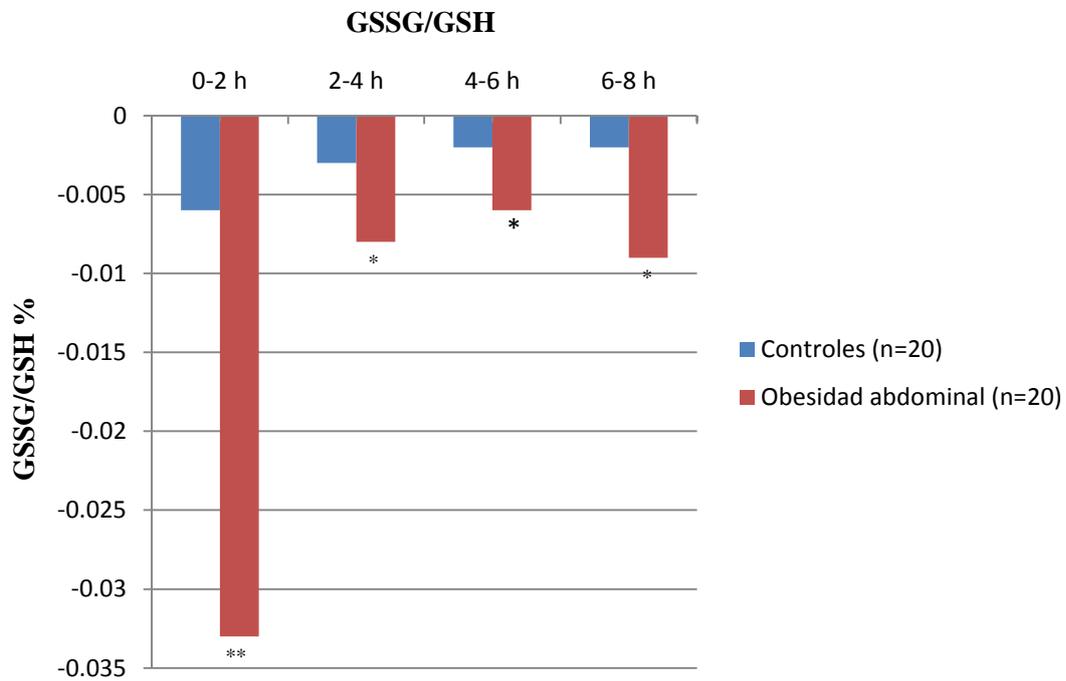
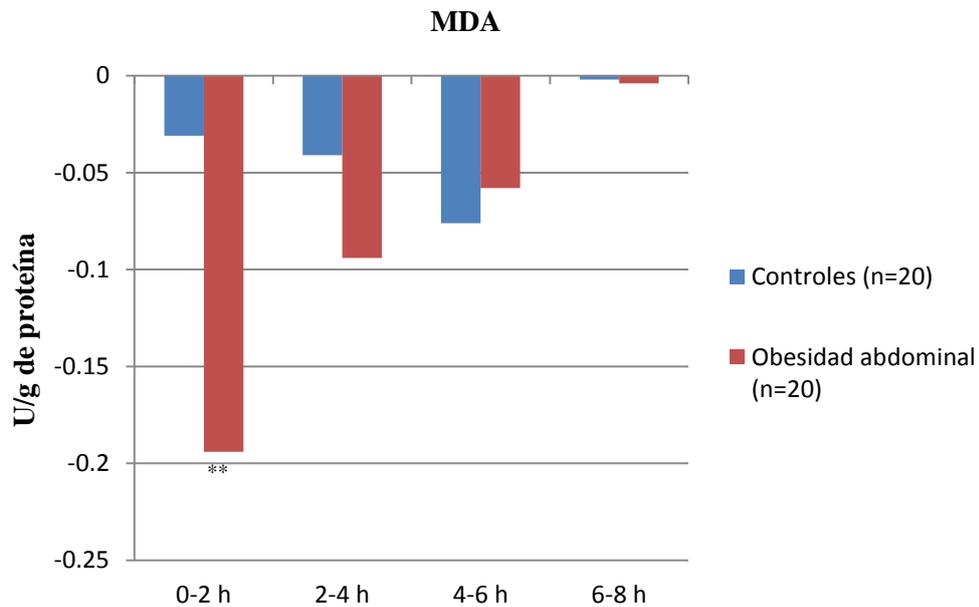


Figura 29. Cambios del cociente GSSG/GSH con respecto al valor previo de la sobrecarga oral grasa, en los controles y en los sujetos con obesidad abdominal.



*p<0,05; **p<0,001

Figura 30. Incremento de MDA con respecto al valor previo de la sobrecarga oral grasa, en los controles y en los sujetos con obesidad abdominal.

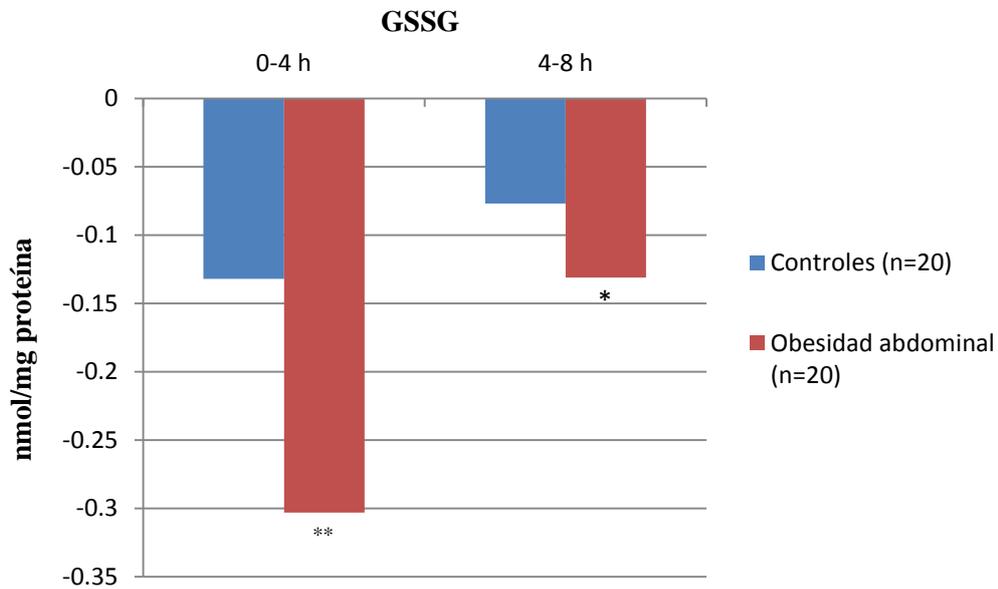


**p<0,001

2.3.4. Comparación del incremento de los parámetros de estrés oxidativo en ambos grupos a las 4h con respecto el nivel basal y entre las 4 y 8 horas

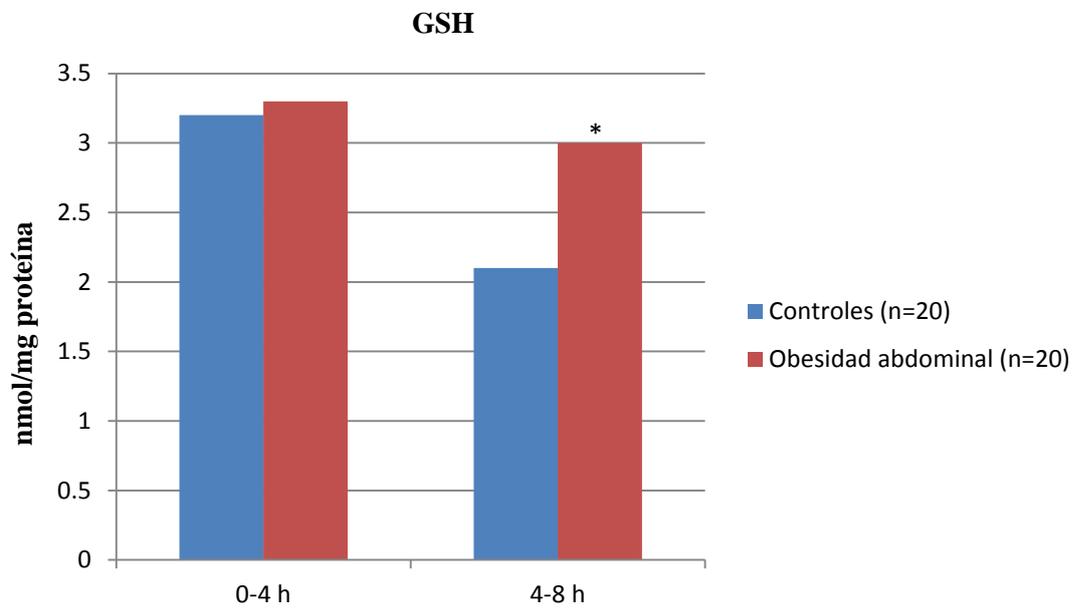
Se observa un decremento significativo en los valores de GSSG, GSSG/GSH y MDA a las 4 horas con respecto el nivel basal y de los niveles de GSSG y del cociente GSSG/GSH entre las 4 y las 8 horas. También se observa un incremento significativo de GSH entre las 4 y 8 horas.

Figura 31. Incremento de GSSG en ambos grupos, a las 4 horas con respecto al valor basal y entre las 4 y 8 horas.



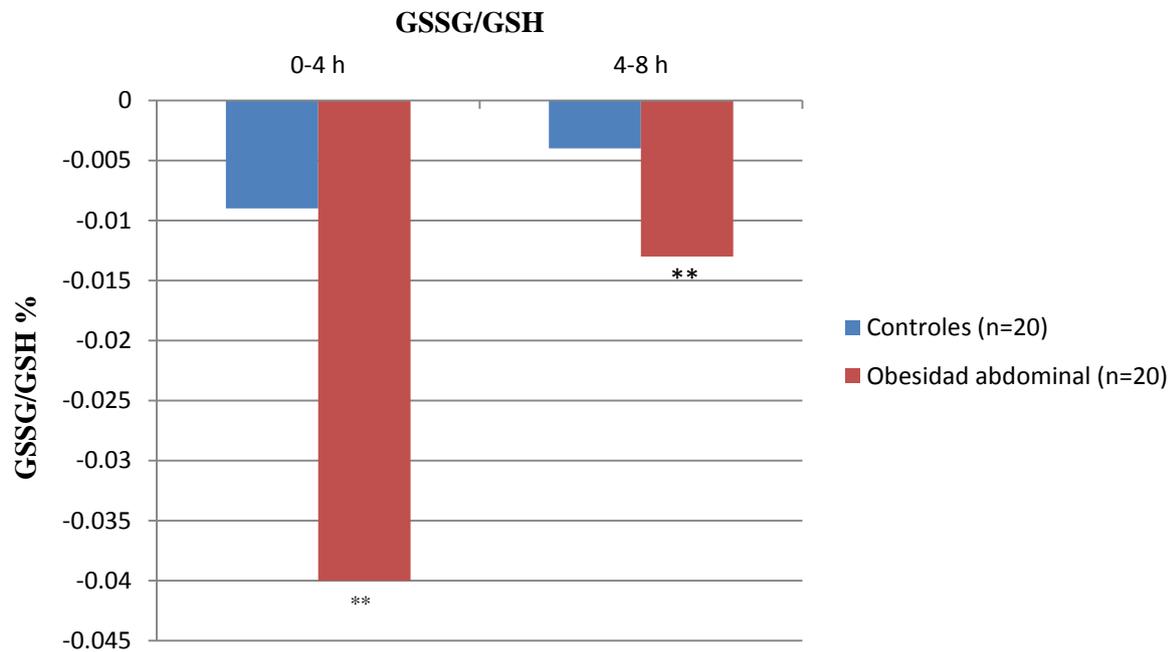
*p<0,05; **p<0,001

Figura 32. Incremento de GSH en ambos grupos, a las 4 horas con respecto al valor basal y entre las 4 y 8 horas.



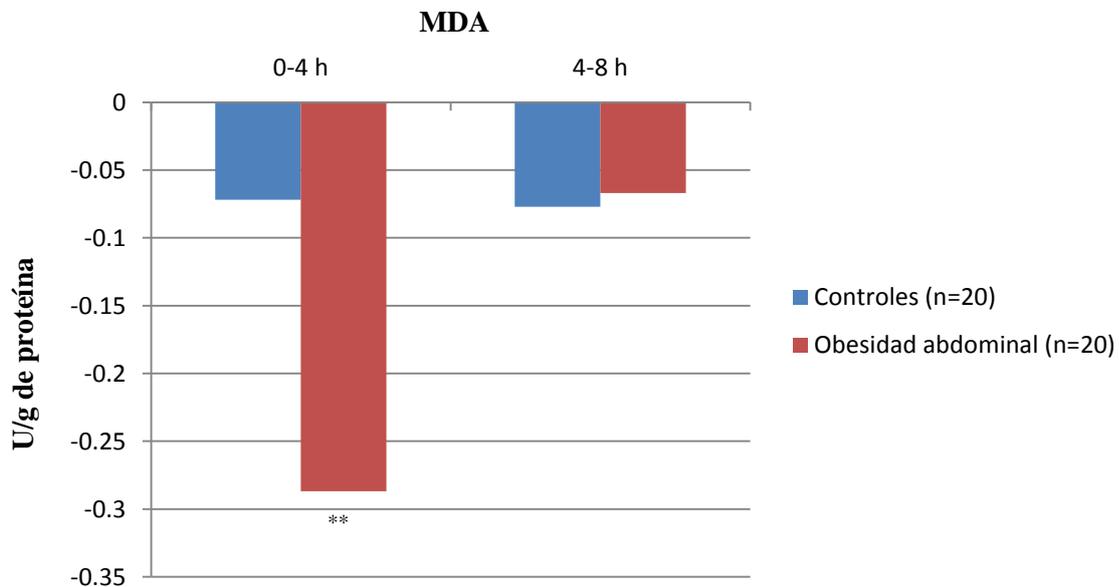
*p<0,05

Figura 33. Incremento del cociente GSSG/GSH en ambos grupos, a las 4 horas con respecto al valor basal y entre las 4 y 8 horas.



**p<0,001

Figura 34. Incremento de MDA en ambos grupos, a las 4 horas con respecto al valor basal y entre las 4 y 8 horas.



**p<0,001

6. DISCUSIÓN

6.1. Evaluación del test de sobrecarga grasa y selección de pacientes

La SOG es un método que permite la evaluación de la LPP y otros parámetros (como los marcadores del metabolismo hidrocarbonado, estrés oxidativo e inflamación), tras la administración de una comida mixta o un preparado lipídico estandarizado, como es el caso de este estudio. Sin embargo, la variabilidad individual en la respuesta lipémica postprandial es superior a la que se produce en la lipemia del ayuno debido a la influencia de factores ambientales, genéticos y fisiopatológicos, por lo que se ha seleccionado una muestra y una comida homogénea y bien caracterizada para evitar esta variabilidad^{209,210}.

El objeto de estudio es determinar la influencia de la obesidad abdominal sobre la respuesta postprandial. Por ello, se seleccionó a los pacientes en función de la presencia o ausencia de la misma. Los resultados que observamos a nivel basal son, por tanto, coherentes con los criterios de inclusión (valores plasmáticos significativamente mayores de glucosa, insulina, CT, TG, cLDL, apo B, y marcadores de estrés oxidativo, y significativamente inferiores de cHDL). Asimismo, se seleccionó a los pacientes estableciendo como criterios de exclusión todos aquellos factores conocidos que pudieran afectar a los parámetros determinados en situación postprandial. Dado que la actividad física aeróbica aumenta la actividad de la LPL y reduce significativamente la LPP en un 24-35%, los sujetos estudiados no practicaban ningún deporte de competición²¹⁰. Además se evitó la práctica de ejercicio físico intenso el día previo y se mantuvo un reposo relativo durante la realización de la SOG. Asimismo, ninguno de los pacientes era fumador, ya que por un lado, el hábito tabáquico se ha asociado con un incremento de la trigliceridemia postprandial, y por otro, porque el consumo de tabaco incrementa el estrés oxidativo^{211,212,213}.

También se excluyeron a los pacientes con ingesta >30 g/día de alcohol. Además, no se permitió la ingesta de alcohol el día previo a la SOG. Por un lado porque el etanol estimula la secreción de partículas grandes VLDL, aumenta la síntesis de ácidos grasos

y reduce su aclaramiento plasmático, y por otro, porque la ingesta leve-moderada de alcohol puede aumentar la sensibilidad a la insulina^{214,215,216}.

Otro posible factor de confusión tenido en cuenta fueron las isoformas de apo E. La apo E es un componente estructural de varias lipoproteínas y funciona como ligando del *LDLR* y *LRP*, desempeñando una función importante en el metabolismo postprandial al promover una eliminación eficiente de las lipoproteínas ricas en triglicéridos de la circulación. Las isoformas de apo E (E2, E3, E4) difieren en su afinidad para unirse a los receptores específicos; los sujetos homocigotos de apo E2 tienen un aclaramiento enlentecido, mientras que los portadores de apo E4 tienen un mejor aclaramiento de los remanentes^{217,218}. En nuestro caso, todos los participantes eran homocigotos para E3, evitando de esta forma la posible variabilidad. Sin embargo, no se estudió la presencia de polimorfismos en este gen, ni en otros (genes de *LPL*, apo CIII, apo A1 y apo A4, *CETP*, *FABP2* y receptor scavenger, entre otros), que podrían influir en la lipemia postprandial²¹⁰.

A diferencia de la mayoría de estudios donde para evaluar el efecto de los distintos tipos de grasas se emplean comidas mixtas, nosotros decidimos utilizar una solución grasa para evitar el factor de confusión que suponen el resto de componentes de la dieta^{123,124,125,219,220}. En concreto, se utilizó un preparado rico en ácidos grasos insaturados. El preparado utilizado para la SOG no contenía proteínas, hidratos de carbono ni fibra, evitando así la posible influencia sobre la respuesta lipídica, ya que la adición de proteínas a una comida rica en carbohidratos y grasa ha mostrado disminuir el estrés oxidativo postprandial inducido por la hipertrigliceridemia e hiperglucemia²²¹. Asimismo, la fibra soluble reduce la tasa de digestión de grasa dietética y atenúa la respuesta lipémica postprandial²²². Además, las dietas ricas en carbohidratos podrían elevar la hipertrigliceridemia postprandial al alterar el aclaramiento de las lipoproteínas²²³.

Debido a que la restricción calórica y la pérdida de peso han mostrado un efecto beneficioso al disminuir el estrés oxidativo postprandial, también se excluyó a los sujetos con pérdidas ponderales >10% durante los 3 meses previos al estudio. Además se instruyó a los participantes para que consumieran una dieta isocalórica (con un

componente de calorías totales similar a su dieta habitual), hipocolesterolemiante estandarizada tipo NCEP-II, durante las seis semanas previas a la SOG^{224,225}.

En cuanto al preparado lipídico empleado en la SOG, la cantidad de grasa administrada era la contenida en la mayoría de comidas habituales (30-60 g grasa). Dosis menores de 30 g no aumentan trigliceridemia y >80 g exageran la LPP sin relación dosis-dependiente²¹⁰. A diferencia de los estudios de LPP que utilizan comidas de prueba, en nuestro caso el 100% de los lípidos eran LCT (triglicéridos de cadena larga), que tienen un efecto sobre la trigliceridemia postprandial al entrar a la circulación general en forma de quilomicrones. Las grasas dietéticas contienen diferentes cantidades de ácidos grasos de cadena corta y media, las cuales pasan directamente a la circulación portal y tienen un efecto limitado sobre la trigliceridemia postprandial. En la tabla 3 se expone la composición detallada del preparado utilizado, obtenido a partir de aceites vegetales y rico en monoinsaturados.

Tabla 3. Proporción de ácidos grasos contenido en diferentes alimentos.

	AGS (%)	MUFA (%)	PUFA (%)	n6 /n3
Supracal®	19,2	56,6	20,2	>20
Aceite oliva	14,4	73	8,6	11,1
Nueces	11	15,7	68,3	5,25
Mantequilla	71,6	25,4	3	2,05

AGS: ácidos grasos saturados; MUFA: ácidos grasos monoinsaturados; PUFA: ácidos grasos poliinsaturados; n-3: ácidos grasos de la serie omega 3; n-6: ácidos grasos de la serie omega 6.

6.2. Lipemia postprandial

La obesidad abdominal se asocia con el desarrollo de dislipemia mixta³³. Uno de los mecanismos implicados es una alteración de la LPP debido a un inadecuado aclaramiento postprandial de las partículas ricas en triglicéridos^{67,68,69}. Dado que la mayor parte del día de los seres humanos transcurre en situación postprandial, la

determinación de la lipemia en ayunas infravalora la carga total de lípidos circulantes a la que un individuo está expuesto. Además, el estado lipídico postprandial parece ser mejor predictor de futuros episodios cardiovasculares que la lipemia en ayunas¹⁷⁴. De hecho, la magnitud y la duración de la hipertrigliceridemia postprandial se ha relacionado con la patogénesis y la progresión de la arteriosclerosis²²⁶. Por tanto, la evaluación de la LPP es más relevante en la identificación de alteraciones metabólicas y de estrés oxidativo que las determinadas en situación basal.

En el presente estudio, tras el inicio de la SOG los niveles de triglicéridos aumentan en ambos grupos alcanzando el pico máximo a las cuatro horas, siendo este aumento significativamente mayor en los obesos abdominales. Posteriormente se produce un descenso de la trigliceridemia, alcanzando niveles similares a los de partida. Estos resultados son acordes a los encontrados por otros grupos^{210,227,228}. Sin embargo, no encontramos diferencias en los niveles de CT, cLDL y apo B. Esto es debido a que la trigliceridemia postprandial que se determina refleja el acúmulo en plasma de lipoproteínas como QM, VLDL y sus remanentes.

Estudios previos han evaluado el efecto de los distintos tipos de grasa sobre la LPP. El consumo de dietas ricas en MUFA produce una disminución de la trigliceridemia postprandial y un aumento de cHDL comparado con dietas bajas en grasa y ricas en hidratos de carbono, tanto en sujetos sanos como en aquellos con IR^{229,230}. En el estudio KANWU se observó cómo la ingesta de una dieta rica en MUFA frente a una dieta rica en ácidos grasos saturados producía una disminución significativa de los niveles de CT, TG, cLDL y apo B²³¹. Asimismo, Jimenez-Gomez et al observaron que en pacientes con síndrome metabólico el aclaramiento postprandial de la trigliceridemia y las LRT comenzó antes y fue más rápido tras una comida rica en MUFA con respecto a una dieta rica en ácidos grasos saturados y carbohidratos¹⁹¹. En la misma línea, Perez-Martinez et al también observaron cómo los sujetos con IR presentaron una menor área bajo la curva de los niveles de triglicéridos plasmáticos en el grupo que consumió una dieta rica en MUFA frente a una comida mixta rica en hidratos de carbono¹²⁷.

El mecanismo por el que los MUFA producen un efecto beneficioso sobre la LPP no está totalmente aclarado. Este efecto podría ser debido a la atenuación de la expresión

de la proteína de transferencia microsomal (MTP), al aumento en la expresión de LDLR y a una mayor actividad de la LPL, que produce un mayor aclaramiento postprandial de las lipoproteínas y una mejoría del estrés oxidativo en ambos grupos^{127,232}.

Dado que el estrés oxidativo es el mecanismo que subyace entre la LPP y la IR, el efecto beneficioso sobre el estrés oxidativo se manifestaría en una mejoría de la IR, efecto que se observa en nuestro estudio y que se detalla más adelante.

En esta línea, estudios similares al nuestro han mostrado que los ácidos grasos insaturados inducen un descenso de las partículas LDL oxidadas. Un subestudio del PREDIMED mostró que la adherencia a la dieta mediterránea estuvo asociada con una disminución de las partículas LDL oxidadas comparado con una dieta baja en grasas²⁰⁹. Por tanto, el efecto beneficioso de los MUFA no se limita a la disminución de la LPP, sino que también produce un descenso del número de partículas LDL oxidadas que se traduciría en un beneficio en términos de ECV, dado que las partículas LDL oxidadas se han involucrado en el desarrollo de ECV^{103,104,105,108,109,110}.

Por tanto, los resultados de nuestro estudio permiten afirmar que tras una SOG con insaturados se produce una mejoría en los marcadores de la LPP de forma similar a lo observado en otros estudios realizados con MUFA, en forma de comida mixta o preparado lipídico en sujetos sanos y con IR^{147,227,228,230}. Una limitación de nuestro estudio es que sólo evalúa el efecto agudo de la grasa moninsaturada, si bien es cierto que otros estudios han observado resultados similares tras la ingesta crónica de este tipo de grasa²²⁸.

6.3. Marcadores de IR

La sensibilidad a la insulina es modulada por diferentes factores ambientales, siendo uno de los principales, los hábitos dietéticos, tanto por su contenido energético como por su composición, y en particular, por los diferentes tipos de ácidos grasos²³³. Tanto la glucotoxicidad como la lipotoxicidad (ambas presentes en sujetos con obesidad, IR y diabetes tipo 2) pueden provocar una alteración en la señalización de la insulina de los adipocitos y de la célula beta, conduciendo a una disminución de la síntesis de insulina^{234,235,236}. Se ha propuesto que la elevación de los AGL en plasma

contribuye a la situación de IR mediante una disminución de la oxidación de la glucosa y de la síntesis de glucógeno muscular con un aumento en la generación de ROS, que a su vez también puede contribuir en la patogénesis de la IR^{237,238}.

En nuestro estudio, tras la administración de una sobrecarga principalmente con MUFA se observa una mejoría de la sensibilidad a la insulina, manifestado en una reducción significativa en las concentraciones de glucosa, insulina y HOMA a lo largo de toda la SOG, hasta límites inferiores a los definidos para establecer la presencia de IR, todo ello, a pesar del incremento de triglicéridos⁵³. En este sentido Lopez et al compararon el área bajo la curva de la glucosa y la insulina en un grupo de pacientes con obesidad tras la administración de una dieta baja en grasas, otra rica en MUFA y otra con elevado contenido en ácidos grasos saturados, observando una menor área bajo la curva en los niveles de insulina tras la ingesta de la dieta rica en MUFA con respecto los otros dos tipos de dietas²²⁷. Resultados similares fueron obtenidos por otros autores al comparar el área bajo la curva de los niveles de glucosa, insulina y HOMA tras la administración de una dieta rica en MUFA frente otras dos, ricas en ácidos grasos saturados y en carbohidratos, en un grupo de sujetos con IR, evidenciando una menor área bajo la curva tras la dieta rica en MUFA en los tres parámetros mencionados²³⁰. En la misma línea, diferentes estudios epidemiológicos han mostrado que un aumento en la ingesta de grasa insaturada de forma continuada, se asocia con una mejoría de la sensibilidad a la insulina^{239,240}.

Asimismo, Lopez et al demostraron que las células beta pancreáticas son sensibles al grado de insaturación de los ácidos grasos²⁴¹. Observaron cómo las comidas ricas en grasa inducían un incremento postprandial de los niveles de insulina, triglicéridos y ácidos grasos libres, que a su vez generaban alteración postprandial de la función de la célula β por disminución de la sensibilidad a la insulina. Sin embargo, tanto la función de la célula β como la sensibilidad a la insulina mejoraban de forma progresiva en situación postprandial a medida que aumentaba la proporción de MUFA con respecto a los ácidos grasos saturados de la dieta²⁴¹. Por el contrario, Perez-Martínez et al habían mostrado previamente que sujetos con síndrome metabólico y obesidad abdominal, tras la ingesta de comidas de prueba ricas en MUFA no presentaban diferencias significativas en los niveles de glucosa e insulina con respecto otros tipos de dietas ricas

en ácidos grasos saturados y dietas bajas en grasas¹²⁷. Es posible que las diferencias de los resultados observados en estos estudios sean debidos a que la LPP es un fenómeno multifactorial, en el que están implicados factores genéticos, medioambientales y fisiopatológicos, y en el que la grasa dietética es únicamente un factor más, especialmente importante por ser modificable.

El mecanismo por el que los MUFA mejoran la sensibilidad a la insulina no es del todo conocido. Laatsch et al mostraron cómo la infusión de insulina aumentaba la traslocación de LRP1 (LDLR-relatedprotein 1) desde las vesículas intracelulares a la membrana plasmática provocando de esta forma un aumento de captación de los remanentes de QM tanto en modelos in vivo como in vitro²⁴². Otros autores han propuesto que el mecanismo por el que los MUFA aumentan la sensibilidad a la insulina es mediado a través de la acción del GLP-1, que produce una disminución de la glucemia plasmática, la inhibición del vaciamiento gástrico y la protección de la célula beta mediante la estimulación de su proliferación e inhibición en la apoptosis²⁴³. En la misma línea, Lopez et al también atribuyeron la mejoría de la sensibilidad a la insulina de los MUFA con respecto los ácidos grasos saturados en sujetos sanos, en parte, a la elevación de GLP-1 y GIP postprandial²⁴¹. Este efecto se observó tanto en sujetos sanos como en diabéticos tipo 2²⁴⁴. Recientemente, Buscemi et al han mostrado el aumento de sensibilidad a la insulina que se produce tras la ingesta de la dieta mediterránea como patrón de comida rica en ácidos grasos insaturados, tanto en sujetos sanos como en los que presentan IR²⁴⁵.

Nuestro estudio muestra cómo los MUFA mejoran la sensibilidad a la insulina. Por tanto, estos resultados nos permiten decir, que los sujetos con obesidad abdominal sometidos a una SOG rica en ácidos grasos insaturados presentan una respuesta beneficiosa con respecto a la sensibilidad a la insulina, siendo destacable que exista un descenso del grado de IR a pesar del incremento en las cifras de triglicéridos a las 2 y 4 horas de la sobrecarga. Estos resultados tienen una gran importancia clínica ya que la IR se considera un factor de riesgo cardiovascular, por lo que es esperable que la mejoría de los parámetros de IR pueda contribuir a una reducción del riesgo cardiovascular, y que a su vez, se traduzca en una menor morbimortalidad en este grupo de pacientes.

Sin embargo, dadas las características de nuestro estudio, una limitación es que no nos permite asegurar que el efecto beneficioso que se observa sobre la IR se deba exclusivamente a los MUFA y no a la ausencia de ingesta de hidratos de carbono. Para ello se debería haber realizado un estudio comparativo en ambos grupos con una SOG con insaturados y otra con agua. Sin embargo, estudios realizados con comidas mixtas ricas en MUFA frente a otras ricas en hidratos de carbono, han mostrado que las dietas ricas en MUFA mejoran la IR frente a dietas ricas en hidratos de carbono, lo que parece indicar el efecto de los MUFA sobre el aumento de la sensibilidad a la insulina²³⁰.

6.4. Estrés oxidativo

Un biomarcador ampliamente utilizado en humanos para evaluar el estrés oxidativo son los niveles de GSSG, GSH, el cociente GSSG/GSH y MDA^{118,246}. El sistema redox GSSG/GSH disminuye la hidroperoxidación lipídica mediante la reducción de estos peróxidos en alcoholes. El descenso de los ROOHs disminuye la oxidación de las lipoproteínas LDL y de esta forma pueden reducir el riesgo de arteriosclerosis¹¹⁴. Por el contrario, un aumento del cociente GSSG/GSH puede provocar la glutationilación y oxidación proteica, y estar relacionada con la expresión de genes implicados en la apoptosis, lo que puede contribuir a la arteriosclerosis, característica de los pacientes con obesidad abdominal¹¹⁵. Además, los pacientes con infarto agudo de miocardio presentan un perfil desfavorable de GSSG/GSH, que se ha relacionado con la progresión de las lesiones arterioscleróticas después de una angioplastia^{247,248}.

Los pacientes con obesidad abdominal presentan un mayor nivel de estrés oxidativo en situación de ayuno comparado con el grupo control. Posteriormente, existe un decremento significativo respecto al valor basal en todos los puntos de la SOG para GSSG, GSSG/GSH y MDA en todo el grupo, siendo este decremento mayor en los sujetos con obesidad abdominal. Estos resultados son acordes con los encontrados por otros autores^{120,147}.

Además, estudios previos en los que se ha realizado una SOG en sujetos sanos utilizando diferentes tipos de grasa, han mostrado la influencia del tipo de grasa sobre

los parámetros de estrés oxidativo. Estudios en población holandesa han mostrado cómo, tras una ingesta rica en grasa saturada estandarizada (50 g de grasa por m² de superficie corporal) utilizando un preparado de nata (ratio poliinsaturados/saturados 0,10%), se producía un aumento significativo en la producción de ROS. Estos cambios también se producían tras una sobrecarga de glucosa y una comida mixta de grasa y glucosa, pero no tras la ingesta de agua, descartando así un ritmo circadiano en la variación de este parámetro²⁴⁹.

A diferencia de estos estudios, otros grupos han utilizado comidas de prueba ricas en MUFA y las han comparado con otras comidas de prueba ricas en ácidos grasos saturados y otras bajas en grasas. Perez-Martinez et al en un modelo de IR como son los pacientes con síndrome metabólico, evaluaron el efecto de una comida rica en MUFA (38% de energía total en forma de grasa, con un 20% de MUFA, 8% de saturados y 6% de PUFA) con respecto otros tres tipos de comidas de prueba: una rica en ácidos grasos saturados (38% de energía total en forma de grasa, con un 16% de saturados, 12% de MUFA y 6% de PUFA), otra baja en grasas y rica en carbohidratos de absorción compleja (28% de energía total en forma de grasa, con un 11% de MUFA, 8% de saturados y 6% de PUFA) y otra baja en grasas, rica en carbohidratos de absorción compleja, de igual composición que la anterior pero suplementada con 1.24g de ácidos grasos omega-3. Observaron que la comida rica en MUFA mejoraba de forma significativa los parámetros de estrés oxidativo, con un aumento postprandial de GSH, un descenso de GSSG, proteínas carboniladas y SOD, resultados similares a los encontrados en este estudio¹²⁷.

Peña-Orihuela et al evaluaron el efecto de estos cuatro tipos de comida en la misma cohorte de pacientes que Perez-Martinez, sobre otros marcadores de estrés oxidativo²⁵⁰. Concluyó que el consumo de MUFA disminuye el estrés oxidativo cuando se compara con la ingesta de ácidos grasos saturados, determinado mediante un descenso de la NADPH-oxidasa y un aumento en la respuesta antioxidante postprandial del tejido adiposo. El mecanismo molecular subyacente, en parte fue el aumento de NFE2L2 (factor de transcripción que promueve la expresión de genes antioxidantes) y el

descenso de KEAP1 (proteína que interacciona con otras enzimas antioxidantes favoreciendo el estrés oxidativo).

La comida rica en ácidos grasos saturados provocó un aumento en los marcadores de estrés oxidativo, seguido en orden decreciente por la comida baja en grasas > comida baja en grasas suplementada de ácidos grasos omega 3.

Por otro lado, Fitó et al también mostraron que el aceite de oliva, alimento con alto contenido en MUFA, provocaba elevaciones en los niveles de glutathion reductasa plasmática, lo que condujo a una disminución del estrés oxidativo¹⁸⁸. Otros autores han comparado el efecto sobre el estrés oxidativo de los diversos macronutrientes: proteínas, grasas y carbohidratos de forma separada y como comida mixta en una población sana: se observó un aumento del estrés oxidativo (evaluado mediante la determinación de H₂O₂ y MDA) tras una comida rica en grasa (administrada en forma de comida rápida), que no se produjo con los otros macronutrientes. A diferencia de estos resultados, numerosos estudios han mostrado un aumento del estrés oxidativo tras una comida rica en carbohidratos en sujetos con IR^{83,251}.

Al evaluar la comida mixta, se observó una correlación positiva significativa entre la trigliceridemia y los marcadores de estrés oxidativo. Según estos datos y los aportados en otros estudios, parece que tanto en población joven y sana como en individuos con IR, la magnitud y duración de la hipertrigliceridemia es el principal determinante del estrés oxidativo postprandial^{83,156}.

Asimismo, existe evidencia creciente que sugiere que el estrés oxidativo postprandial puede producirse como causa en el desarrollo de la intolerancia a la glucosa y sus comorbilidades asociadas^{126,129,252,253}. Además, el grado de severidad de estrés oxidativo se ha visto relacionado con la magnitud de la hipertrigliceridemia postprandial^{131,132}.

Tinahones et al mostraron cómo en sujetos obesos con IR, el aumento de la trigliceridemia postprandial tras una comida rica en grasa produjo un aumento de estrés oxidativo que estaba en relación con el grado de IR¹⁴⁷. Este aumento de estrés oxidativo postprandial se manifestó mediante una reducción significativa de la actividad de la SOD plasmática y un aumento de los indicadores de formación de MDA¹⁴⁷.

Por otro lado, el aumento de IR que se produce por el estrés oxidativo, podría ser explicado como un mecanismo de defensa del organismo para proteger a las células contra cualquier acumulación de sustrato y restaurar de esta forma el balance metabólico del organismo^{91,126}. Sin embargo, en nuestro estudio, con grasa insaturada, se produce una mejoría del estrés oxidativo en todos los puntos de la SOG, expresado como un decremento significativo respecto al valor basal en todos los puntos de la SOG para GSSG, GSSG/GSH y MDA. Este decremento significativo es mayor en los sujetos con obesidad abdominal. Estos resultados son similares a los encontrados por Dai et al tras la evaluación del efecto directo de la dieta mediterránea sobre el estrés oxidativo en una población de gemelos monozigóticos y dizigóticos¹⁸⁷. La adherencia a la dieta mediterránea se asociaba con menor grado de estrés oxidativo, evaluado mediante el cociente GSSG/GSH. Estos resultados son de especial relevancia por utilizar una muestra de gemelos, ya que este tipo de estudios son una fuente poderosa para evaluar asociaciones complejas, debido a que nos permite controlar factores de confusión no medidos o desconocidos como son los genéticos, socioeconómicos, conductuales y del estilo de vida adquiridos cuando crecen en la misma familia. Esto es particularmente importante para los hábitos dietéticos, los cuales pueden estar influenciados por otros comportamientos del estilo de vida aprendidos por individuos que crecen en la misma familia.

Por tanto, nuestros resultados apoyan la idea que los MUFA pueden desencadenar un aumento de GSH y una disminución de GSSG, del cociente GSSG/GSH y de MDA a través de la estimulación de la actividad de la glutatión reductasa.

Una limitación de nuestro trabajo es que hemos estudiado el efecto de una SOG rica en MUFA de forma aguda. Otros autores, como Pérez-Martínez et al, evaluaron el efecto de una dieta rica en MUFA administrada de forma crónica, observando un efecto beneficioso sobre el estrés oxidativo¹²⁷.

Diversos estudios han mostrado cómo el mecanismo por el que la hipertrigliceridemia postprandial induce disfunción endotelial es a través de un aumento del estrés oxidativo, tanto en sujetos sanos como en aquellos con diabetes tipo 2, entendiéndose este aumento de estrés oxidativo como una de las bases patogénicas a través de la cual, la

hipertrigliceridemia produce el desarrollo de arteriosclerosis y ECV^{131,156}. Por tanto, todos los mecanismos que disminuyan el estrés oxidativo se deberían traducir en un efecto beneficioso sobre la arteriosclerosis y la ECV.

En nuestro estudio, los efectos beneficiosos en la oxidación sistémica los atribuimos al contenido predominante de MUFA de nuestra SOG, ya que no contenía polifenoles ni otros compuestos antioxidantes característicos del aceite de oliva virgen. Tanto estudios in vitro como de intervención dietética con aceite de oliva virgen han atribuido los beneficios antioxidantes a su contenido en polifenoles^{254,255}. Sin embargo, en amplios estudios aleatorizados y multicéntricos de intervención, el consumo de aceite de oliva ha disminuido significativamente el nivel de estrés oxidativo y el efecto ha sido independiente del contenido en compuestos fenólicos y sí relacionado con el contenido en MUFA²⁵⁶.

Por tanto, hemos objetivado un efecto beneficioso sobre el estrés oxidativo con la ingesta de un preparado de grasa con predominio de MUFA y sin antioxidantes en sujetos sanos, y un beneficio incluso mayor en sujetos obesidad abdominal, que ya presentaban un estrés oxidativo alterado basalmente.

La relación entre hipertrigliceridemia y ECV parece mediada por el estrés oxidativo, al que se considera responsable de la ECV en sujetos con IR. Por ello, los datos de nuestro estudio son relevantes ya que, tras una SOG con insaturados, y a pesar de que aumenten los triglicéridos a las 2 y 4 horas, disminuye el estrés oxidativo. Cabe esperar, por tanto, que estos cambios se traduzcan en un efecto beneficioso en términos de ECV⁹¹.

7. CONCLUSIONES

Con los resultados obtenidos en nuestro estudio establecemos las siguientes conclusiones:

1. Los sujetos con obesidad abdominal, en situación de ayuno, presentan un perfil lipídico desfavorable y un aumento de los marcadores de estrés oxidativo y de IR.

2. Tras una SOG rica en ácidos grasos insaturados los sujetos con obesidad abdominal muestran una mejoría en sus marcadores de estrés oxidativo y en los parámetros de IR.

3. El efecto beneficioso a nivel de estrés oxidativo e IR que se produce tras una SOG rica en ácidos grasos insaturados en sujetos con obesidad abdominal podría reducir la incidencia y prevalencia de ECV en este grupo de pacientes.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Fuster V, Voûte J. MDGs: chronic diseases are not on the agenda. *Lancet*. 2005 Nov 29;366(9496):1512–4.
2. Fuster V, Voute J, Hunn M, Smith SC Jr. Low priority of cardiovascular and chronic diseases on the global health agenda: a cause for concern. *Circulation*. 2007 Oct 23;116(17):1966–70.
3. Badimón JJ, Badimón L, Fuster V. Pathophysiology of atherothrombotic coronary disease. *Clin Invest Arter*. 2002;14:258–71.
4. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med*. 1999 Jan 14;340(2):115–26.
5. Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med*. 2005 Apr 21;352(16):1685–95.
6. Madamanchi NR, Vendrov A, Runge MS. Oxidative stress and vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005 Jan;25(1):29–38.
7. Ascaso JF, Romero P, Real JT, Lorente RI, Martínez-Valls J, Carmena R. Abdominal obesity, insulin resistance, and metabolic syndrome in a southern European population. *Eur J Intern Med*. 2003 Mar;14(2):101–6.
8. Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature*. 2006 Dec 14;444(7121):860–7.
9. Aranceta J, Pérez Rodrigo C, Serra Majem L, Vioque J, Tur Marí JA, Mataix Verdú J, et al. Estudio DORICA: dislipemia, obesidad y riesgo cardiovascular. En: Aranceta J, Foz M, Gil B, Jover E, Mantilla T, Millán J, et al, editores. *Obesidad y riesgo cardiovascular Estudio DORICA*. Madrid: Panamericana; 2004. p. 125–56.
10. Martínez-Hervás S, Romero P, Ferri J, Pedro T, Real JT, Priego A, Martínez-Valls JF, Ascaso JF. Perímetro de cintura y factores de riesgo cardiovascular. *Rev Esp Ob*. 2008;6:47–54.
11. Rodríguez-Artalejo F, Graciani A, Guallar-Castillón P, León-Muñoz LM, Zuluaga MC, López-García E, et al. [Rationale and methods of the study on nutrition and cardiovascular risk in Spain (ENRICA)]. *Rev Esp Cardiol*. 2011 Oct;64(10):876–82.
12. Ascaso JF. The hypertriglyceridemic waist. *Clin Invest Arter*. 2005;17:286–96.
13. Reis JP, Allen N, Gunderson EP, Lee JM, Lewis CE, Loria CM, et al. Excess body mass index- and waist circumference-years and incident cardiovascular disease: The CARDIA study. *Obes Silver Spring Md*. 2015 Mar 9;
14. Ahima RS, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *Trends Endocrinol Metab TEM*. 2000 Oct;11(8):327–32.

15. Shimomura I, Funahashi T, Takahashi M, Maeda K, Kotani K, Nakamura T, et al. Enhanced expression of PAI-1 in visceral fat: possible contributor to vascular disease in obesity. *Nat Med*. 1996 Jul;2(7):800–3.
16. Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor- α : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science*. 1993 Jan 1;259(5091):87–91.
17. Steppan CM, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright CM, et al. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature*. 2001 Jan 18;409(6818):307–12.
18. Friedman JM, Halaas JL. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature*. 1998 Oct 22;395(6704):763–70.
19. Matsuzawa Y, Funahashi T, Kihara S, Shimomura I. Adiponectin and metabolic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004 Jan;24(1):29–33.
20. Trayhurn P, Beattie JH. Physiological role of adipose tissue: white adipose tissue as an endocrine and secretory organ. *Proc Nutr Soc*. 2001 Aug;60(3):329–39.
21. Trayhurn P, Wood IS. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *Br J Nutr*. 2004 Sep;92(3):347–55.
22. Bulcão C, Ferreira SRG, Giuffrida FMA, Ribeiro-Filho FF. The new adipose tissue and adipocytokines. *Curr Diabetes Rev*. 2006 Feb;2(1):19–28.
23. Lemieux S, Prud'homme D, Bouchard C, Tremblay A, Després JP. A single threshold value of waist girth identifies normal-weight and overweight subjects with excess visceral adipose tissue. *Am J Clin Nutr*. 1996 Nov;64(5):685–93.
24. Concepción L, Martí-Bonmatí L, Aliaga R, Delgado F, Morillas C, Hernández A. [Abdominal fat assessment by magnetic resonance: comparison with biometric profiles and cardiovascular risk markers]. *Med Clínica*. 2001 Oct 6;117(10):366–9.
25. Després JP, Lamarche B. Low-intensity endurance exercise training, plasma lipoproteins and the risk of coronary heart disease. *J Intern Med*. 1994 Jul;236(1):7–22.
26. Geneva (Switzerland): Department of Noncommunicable Disease Surveillance. World Health Organization. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part I: diagnosis and classification of diabetes mellitus. 1999.
27. 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 J Am Med Assoc*. 2001 May 16;285(19):2486–97.
28. Alberti KGMM, Zimmet P, Shaw J. The metabolic syndrome--a new worldwide definition. *Lancet*. 2005 Sep 24;366(9491):1059–62.

29. Lear SA, James PT, Ko GT, Kumanyika S. Appropriateness of waist circumference and waist-to-hip ratio cutoffs for different ethnic groups. *Eur J Clin Nutr.* 2010 Jan;64(1):42–61.
30. Shiwaku K, Anuurad E, Enkhmaa B, Kitajima K, Yamane Y. Appropriate BMI for Asian populations. *Lancet.* 2004 Mar 27;363(9414):1077.
31. Tan C-E, Ma S, Wai D, Chew S-K, Tai E-S. Can we apply the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel definition of the metabolic syndrome to Asians? *Diabetes Care.* 2004 May;27(5):1182–6.
32. Alberti KGMM, Zimmet P, Shaw J, IDF Epidemiology Task Force Consensus Group. The metabolic syndrome--a new worldwide definition. *Lancet.* 2005 Sep 24;366(9491):1059–62.
33. Björntorp P. Metabolic implications of body fat distribution. *Diabetes Care.* 1991 Dec;14(12):1132–43.
34. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Bautista L, Franzosi MG, Commerford P, et al. Obesity and the risk of myocardial infarction in 27,000 participants from 52 countries: a case-control study. *Lancet.* 2005 Nov 5;366(9497):1640–9.
35. Siren R, Eriksson JG, Vanhanen H. Waist circumference a good indicator of future risk for type 2 diabetes and cardiovascular disease. *BMC Public Health.* 2012;12:631.
36. Fox KAA, Després J-P, Richard A-J, Brette S, Deanfield JE. Does abdominal obesity have a similar impact on cardiovascular disease and diabetes? A study of 91,246 ambulant patients in 27 European countries. *Eur Heart J.* 2009 Dec;30(24):3055–63.
37. Lakka H-M, Lakka TA, Tuomilehto J, Salonen JT. Abdominal obesity is associated with increased risk of acute coronary events in men. *Eur Heart J.* 2002 May;23(9):706–13.
38. Ho JS, Cannaday JJ, Barlow CE, Willis B, Haskell WL, FitzGerald SJ. Comparative relation of general, central, and visceral adiposity measures for coronary artery calcium in subjects without previous coronary events. *Am J Cardiol.* 2009 Oct 1;104(7):943–6.
39. Van Dis I, Kromhout D, Geleijnse JM, Boer JMA, Verschuren WMM. Body mass index and waist circumference predict both 10-year nonfatal and fatal cardiovascular disease risk: study conducted in 20,000 Dutch men and women aged 20–65 years. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil Off J Eur Soc Cardiol Work Groups Epidemiol Prev Card Rehabil Exerc Physiol.* 2009 Dec;16(6):729–34.
40. Keihani S, Hosseinpanah F, Barzin M, Serahati S, Doustmohamadian S, Azizi F. Abdominal obesity phenotypes and risk of cardiovascular disease in a decade of follow-up: the Tehran Lipid and Glucose Study. *Atherosclerosis.* 2015 Feb;238(2):256–63.
41. Nazare J-A, Smith J, Borel A-L, Aschner P, Barter P, Van Gaal L, et al. Usefulness of Measuring Both Body Mass Index and Waist Circumference for the Estimation of

Visceral Adiposity and Related Cardiometabolic Risk Profile (from the INSPIRE ME IAA Study). *Am J Cardiol*. 2015 Feb 1;115(3):307–15.

42. 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 Aug 11;168(15):1617–24.
43. Fabbrini E, Yoshino J, Yoshino M, Magkos F, Tiemann Luecking C, Samovski D, et al. Metabolically normal obese people are protected from adverse effects following weight gain. *J Clin Invest*. 2015 Feb;125(2):787–95.
44. Kranendonk MEG, van Herwaarden JA, Stupkova T, Jager W de, Vink A, Moll FL, et al. Inflammatory characteristics of distinct abdominal adipose tissue depots relate differently to metabolic risk factors for cardiovascular disease: Distinct fat depots and vascular risk factors. *Atherosclerosis*. 2015 Feb 2;239(2):419–27.
45. Zierath JR, Livingston JN, Thörne A, Bolinder J, Reynisdottir S, Lönnqvist F, et al. Regional difference in insulin inhibition of non-esterified fatty acid release from human adipocytes: relation to insulin receptor phosphorylation and intracellular signalling through the insulin receptor substrate-1 pathway. *Diabetologia*. 1998 Nov;41(11):1343–54.
46. Cai D, Yuan M, Frantz DF, Melendez PA, Hansen L, Lee J, et al. Local and systemic insulin resistance resulting from hepatic activation of IKK-beta and NF-kappaB. *Nat Med*. 2005 Feb;11(2):183–90.
47. Hardy OT, Czech MP, Corvera S. What causes the insulin resistance underlying obesity? *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2012 Apr;19(2):81–7.
48. Warram JH, Martin BC, Krolewski AS, Soeldner JS, Kahn CR. Slow glucose removal rate and hyperinsulinemia precede the development of type II diabetes in the offspring of diabetic parents. *Ann Intern Med*. 1990 Dec 15;113(12):909–15.
49. Isomaa B, Almgren P, Tuomi T, Forsén B, Lahti K, Nissén M, et al. Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. *Diabetes Care*. 2001 Apr;24(4):683–9.
50. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation*. 2005 Oct 25;112(17):2735–52.
51. Ascaso JF, Real JT, Carmena R. Insulin resistance and familial dyslipidaemias. *Diabetes Obes Metab*. 1999 Nov;1(6):323–30.

52. Ascaso JF, Pardo S, Real JT, Lorente RI, Priego A, Carmena R. Diagnosing insulin resistance by simple quantitative methods in subjects with normal glucose metabolism. *Diabetes Care*. 2003 Dec;26(12):3320–5.
53. Ascaso JF, Romero P, Real JT, Priego A, Valdecabres C, Carmena R. [Insulin resistance quantification by fasting insulin plasma values and HOMA index in a non-diabetic population]. *Med Clínica*. 2001 Nov 3;117(14):530–3.
54. Martínez-Hervás S, Real JT, Priego A, Sanz J, Martín JM, Carmena R, et al. [Familial combined hyperlipidemia, metabolic syndrome and cardiovascular disease]. *Rev Esp Cardiol*. 2006 Nov;59(11):1195–8.
55. Ferri J, Martínez-Hervás S, Espinosa O, Fandos M, Pedro T, Real JT, et al. [8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine as a marker of DNA oxidative stress in individuals with combined familiar hyperlipidemia]. *Med Clínica*. 2008 Jun 7;131(1):1–4.
56. Martínez-Hervas S, Fandos M, Real JT, Espinosa O, Chaves FJ, Saez GT, et al. Insulin resistance and oxidative stress in familial combined hyperlipidemia. *Atherosclerosis*. 2008 Aug;199(2):384–9.
57. Martínez-Hervas S, Real JT, Ivorra C, Priego A, Chaves FJ, Pallardo FV, et al. Increased plasma xanthine oxidase activity is related to nuclear factor kappa beta activation and inflammatory markers in familial combined hyperlipidemia. *Nutr Metab Cardiovasc Dis NMCD*. 2010 Dec;20(10):734–9.
58. Pansuria M, Xi H, Li L, Yang X-F, Wang H. Insulin resistance, metabolic stress, and atherosclerosis. *Front Biosci Sch Ed*. 2012;4:916–31.
59. Wheatcroft SB, Williams IL, Shah AM, Kearney MT. Pathophysiological implications of insulin resistance on vascular endothelial function. *Diabet Med J Br Diabet Assoc*. 2003 Apr;20(4):255–68.
60. Nigro J, Osman N, Dart AM, Little PJ. Insulin resistance and atherosclerosis. *Endocr Rev*. 2006 May;27(3):242–59.
61. Laakso M. Insulin resistance and coronary heart disease. *Curr Opin Lipidol*. 1996 Aug;7(4):217–26.
62. Steinberg HO, Chaker H, Leaming R, Johnson A, Brechtel G, Baron AD. Obesity/insulin resistance is associated with endothelial dysfunction. Implications for the syndrome of insulin resistance. *J Clin Invest*. 1996 Jun 1;97(11):2601–10.
63. Tabit CE, Chung WB, Hamburg NM, Vita JA. Endothelial dysfunction in diabetes mellitus: molecular mechanisms and clinical implications. *Rev Endocr Metab Disord*. 2010 Mar;11(1):61–74.
64. Hsueh WA, Lyon CJ, Quiñones MJ. Insulin resistance and the endothelium. *Am J Med*. 2004 Jul 15;117(2):109–17.

65. Loscalzo J. Antiplatelet and antithrombotic effects of organic nitrates. *Am J Cardiol.* 1992 Sep 24;70(8):18B – 22B.
66. Real JT, Ascaso JF, Carmena R. Insulin resistance and familial combined hyperlipidemia. *Cardiovasc Risk Factors.* 1999;3:101–6.
67. Blackburn P, Lamarche B, Couillard C, Pascot A, Bergeron N, Prud'homme D, et al. Postprandial hyperlipidemia: another correlate of the “hypertriglyceridemic waist” phenotype in men. *Atherosclerosis.* 2003 Dec;171(2):327–36.
68. Kolovou GD, Anagnostopoulou KK, Pavlidis AN, Salpea KD, Iraklianiou SA, Tsarpalis K, et al. Postprandial lipemia in men with metabolic syndrome, hypertensives and healthy subjects. *Lipids Health Dis.* 2005;4:21.
69. Taira K, Hikita M, Kobayashi J, Bujo H, Takahashi K, Murano S, et al. Delayed postprandial lipid metabolism in subjects with intra-abdominal visceral fat accumulation. *Eur J Clin Invest.* 1999 Apr;29(4):301–8.
70. Frayn KN. Insulin resistance, impaired postprandial lipid metabolism and abdominal obesity. A deadly triad. *Med Princ Pract Int J Kuwait Univ Health Sci Cent.* 2002;11 Suppl 2:31–40.
71. Halkes CJ, Castro Cabezas M, van Wijk JP, Erkelens DW. Gender differences in diurnal triglyceridemia in lean and overweight subjects. *Int J Obes Relat Metab Disord J Int Assoc Study Obes.* 2001 Dec;25(12):1767–74.
72. Bartual A, González C, Martínez-Hervás S, Real JT, Chaves FJ, Priego MA, Ascaso JF, Carmena R. Perfil diario de triglicéridos en sujetos con hiperlipidemia familiar combinada de una población del sur de Europa. *Clin Invest Arter.* 2005;17:10–5.
73. Bartual A, González C, Martínez Hervás S, Real JT, García García AB, Castro Cabezas M, et al. [Effect of gender and obesity on postprandial lipemia in non-diabetic normolipidemic subjects and subjects with familial combined hyperlipidemia]. *Rev Clínica Esp.* 2006 May;206(5):213–9.
74. Boden G, Chen X, Ruiz J, White JV, Rossetti L. Mechanisms of fatty acid-induced inhibition of glucose uptake. *J Clin Invest.* 1994 Jun;93(6):2438–46.
75. Cline GW, Petersen KF, Krssak M, Shen J, Hundal RS, Trajanoski Z, et al. Impaired glucose transport as a cause of decreased insulin-stimulated muscle glycogen synthesis in type 2 diabetes. *N Engl J Med.* 1999 Jul 22;341(4):240–6.
76. Shoelson SE, Lee J, Goldfine AB. Inflammation and insulin resistance. *J Clin Invest.* 2006 Jul;116(7):1793–801.
77. Du X, Edelstein D, Obici S, Higham N, Zou M-H, Brownlee M. Insulin resistance reduces arterial prostacyclin synthase and eNOS activities by increasing endothelial fatty acid oxidation. *J Clin Invest.* 2006 Apr;116(4):1071–80.

78. Kim Y-B, Shulman GI, Kahn BB. Fatty acid infusion selectively impairs insulin action on Akt1 and protein kinase C lambda /zeta but not on glycogen synthase kinase-3. *J Biol Chem*. 2002 Sep 6;277(36):32915–22.
79. Shulman GI. Cellular mechanisms of insulin resistance. *J Clin Invest*. 2000 Jul;106(2):171–6.
80. Carr DB, Utzschneider KM, Hull RL, Kodama K, Retzlaff BM, Brunzell JD, et al. Intra-abdominal fat is a major determinant of the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III criteria for the metabolic syndrome. *Diabetes*. 2004 Aug;53(8):2087–94.
81. Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. *Am J Med*. 1991 Sep 30;91(3C):14S – 22S.
82. Lander HM. An essential role for free radicals and derived species in signal transduction. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol*. 1997 Feb;11(2):118–24.
83. Fisher-Wellman K, Bloomer RJ. Macronutrient specific postprandial oxidative stress: relevance to the development of insulin resistance. *Curr Diabetes Rev*. 2009 Nov;5(4):228–38.
84. Schafer FQ, Buettner GR. Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. *Free Radic Biol Med*. 2001 Jun 1;30(11):1191–212.
85. Mueller CFH, Laude K, McNally JS, Harrison DG. ATVB in focus: redox mechanisms in blood vessels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005 Feb;25(2):274–8.
86. Halliwell B, Whiteman M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *Br J Pharmacol*. 2004 May;142(2):231–55.
87. Itoh S, Umemoto S, Hiromoto M, Toma Y, Tomochika Y, Aoyagi S, et al. Importance of NAD(P)H oxidase-mediated oxidative stress and contractile type smooth muscle myosin heavy chain SM2 at the early stage of atherosclerosis. *Circulation*. 2002 May 14;105(19):2288–95.
88. Griending KK, FitzGerald GA. Oxidative stress and cardiovascular injury: Part II: animal and human studies. *Circulation*. 2003 Oct 28;108(17):2034–40.
89. Ford ES, Will JC, Bowman BA, Narayan KM. Diabetes mellitus and serum carotenoids: findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Epidemiol*. 1999 Jan 15;149(2):168–76.
90. Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, et al. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest*. 2004 Dec;114(12):1752–61.

91. Ceriello A, Motz E. Is oxidative stress the pathogenic mechanism underlying insulin resistance, diabetes, and cardiovascular disease? The common soil hypothesis revisited. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004 May;24(5):816–23.
92. Fujita K, Nishizawa H, Funahashi T, Shimomura I, Shimabukuro M. Systemic oxidative stress is associated with visceral fat accumulation and the metabolic syndrome. *Circ J Off J Jpn Circ Soc.* 2006 Nov;70(11):1437–42.
93. Ramírez-Prieto MT, García-Río F, Villamor J. [Role of oxidative stress in respiratory diseases and its monitoring]. *Med Clínica.* 2006 Sep 16;127(10):386–96.
94. Krötz F, Sohn H-Y, Pohl U. Reactive oxygen species: players in the platelet game. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004 Nov;24(11):1988–96.
95. Fridlyand LE, Philipson LH. Oxidative reactive species in cell injury: Mechanisms in diabetes mellitus and therapeutic approaches. *Ann N Y Acad Sci.* 2005 Dec;1066:136–51.
96. Baynes JW. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes.* 1991 Apr;40(4):405–12.
97. Traenckner EB, Pahl HL, Henkel T, Schmidt KN, Wilk S, Baeuerle PA. Phosphorylation of human I kappa B-alpha on serines 32 and 36 controls I kappa B-alpha proteolysis and NF-kappa B activation in response to diverse stimuli. *EMBO J.* 1995 Jun 15;14(12):2876–83.
98. Kaneto H, Nakatani Y, Kawamori D, Miyatsuka T, Matsuoka T. Involvement of oxidative stress and the JNK pathway in glucose toxicity. *Rev Diabet Stud RDS.* 2004;1(4):165–74.
99. Lopes JP, Oliveira SM, Soares Fortunato J. [Oxidative stress and its effects on insulin resistance and pancreatic beta-cells dysfunction: relationship with type 2 diabetes mellitus complications]. *Acta Médica Port.* 2008 Jun;21(3):293–302.
100. Cusi K, Maezono K, Osman A, Pendergrass M, Patti ME, Pratipanawatr T, et al. Insulin resistance differentially affects the PI 3-kinase- and MAP kinase-mediated signaling in human muscle. *J Clin Invest.* 2000 Feb;105(3):311–20.
101. Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM. Are oxidative stress-activated signaling pathways mediators of insulin resistance and beta-cell dysfunction? *Diabetes.* 2003 Jan;52(1):1–8.
102. Dalle-Donne I, Rossi R, Colombo R, Giustarini D, Milzani A. Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clin Chem.* 2006 Apr;52(4):601–23.
103. Steinberg D. Low density lipoprotein oxidation and its pathobiological significance. *J Biol Chem.* 1997 Aug 22;272(34):20963–6.

104. Negre-Salvayre A, Coatrieux C, Ingueneau C, Salvayre R. Advanced lipid peroxidation end products in oxidative damage to proteins. Potential role in diseases and therapeutic prospects for the inhibitors. *Br J Pharmacol*. 2008 Jan;153(1):6–20.
105. Nishi K, Itabe H, Uno M, Kitazato KT, Horiguchi H, Shinno K, et al. Oxidized LDL in carotid plaques and plasma associates with plaque instability. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002 Oct 1;22(10):1649–54.
106. Tsimikas S, Witztum JL. Measuring circulating oxidized low-density lipoprotein to evaluate coronary risk. *Circulation*. 2001 Apr 17;103(15):1930–2.
107. Avogaro P, Bon GB, Cazzolato G. Presence of a modified low density lipoprotein in humans. *Arterioscler Dallas Tex*. 1988 Feb;8(1):79–87.
108. Holvoet P, Mertens A, Verhamme P, Bogaerts K, Beyens G, Verhaeghe R, et al. Circulating oxidized LDL is a useful marker for identifying patients with coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001 May;21(5):844–8.
109. Ehara S, Ueda M, Naruko T, Haze K, Itoh A, Otsuka M, et al. Elevated levels of oxidized low density lipoprotein show a positive relationship with the severity of acute coronary syndromes. *Circulation*. 2001 Apr 17;103(15):1955–60.
110. Hulthe J, Fagerberg B. Circulating oxidized LDL is associated with subclinical atherosclerosis development and inflammatory cytokines (AIR Study). *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002 Jul 1;22(7):1162–7.
111. Hicks JJ, Torres-Ramos YD, Sierra-Vargas MP. Estrés oxidante, concepto y clasificación. *Rev Endocrinol Nutr* 2006. 2006;14:223–6.
112. Stocker R, Keaney JF Jr. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. *Physiol Rev*. 2004 Oct;84(4):1381–478.
113. Franco R, Schoneveld OJ, Pappa A, Panayiotidis MI. The central role of glutathione in the pathophysiology of human diseases. *Arch Physiol Biochem*. 2007 Dec;113(4-5):234–58.
114. Girotti AW. Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems. *J Lipid Res*. 1998 Aug;39(8):1529–42.
115. Jones DP. Redox potential of GSH/GSSG couple: assay and biological significance. *Methods Enzymol*. 2002;348:93–112.
116. Valencia E, Marin A, Hardy G. Glutathione-nutritional and pharmacologic viewpoints: part I. *Nutr Burbank Los Angel Cty Calif*. 2001 May;17(5):428–9.
117. Jones DP, Carlson JL, Mody VC, Cai J, Lynn MJ, Sternberg P. Redox state of glutathione in human plasma. *Free Radic Biol Med*. 2000 Feb 15;28(4):625–35.
118. Jones DP. Redefining oxidative stress. *Antioxid Redox Signal*. 2006 Oct;8(9-10):1865–79.

119. Cai H, Harrison DG. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. *Circ Res*. 2000 Nov 10;87(10):840–4.
120. Olusi SO. Obesity is an independent risk factor for plasma lipid peroxidation and depletion of erythrocyte cytoprotective enzymes in humans. *Int J Obes Relat Metab Disord J Int Assoc Study Obes*. 2002 Sep;26(9):1159–64.
121. Keaney JF Jr, Larson MG, Vasan RS, Wilson PWF, Lipinska I, Corey D, et al. Obesity and systemic oxidative stress: clinical correlates of oxidative stress in the Framingham Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003 Mar 1;23(3):434–9.
122. Sies H, Stahl W, Sevanian A. Nutritional, dietary and postprandial oxidative stress. *J Nutr*. 2005 May;135(5):969–72.
123. Mohanty P, Ghanim H, Hamouda W, Aljada A, Garg R, Dandona P. Both lipid and protein intakes stimulate increased generation of reactive oxygen species by polymorphonuclear leukocytes and mononuclear cells. *Am J Clin Nutr*. 2002 Apr;75(4):767–72.
124. Mohanty P, Hamouda W, Garg R, Aljada A, Ghanim H, Dandona P. Glucose challenge stimulates reactive oxygen species (ROS) generation by leucocytes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000 Aug;85(8):2970–3.
125. Aljada A, Mohanty P, Ghanim H, Abdo T, Tripathy D, Chaudhuri A, et al. Increase in intranuclear nuclear factor kappaB and decrease in inhibitor kappaB in mononuclear cells after a mixed meal: evidence for a proinflammatory effect. *Am J Clin Nutr*. 2004 Apr;79(4):682–90.
126. Anderson EJ, Lustig ME, Boyle KE, Woodlief TL, Kane DA, Lin C-T, et al. Mitochondrial H₂O₂ emission and cellular redox state link excess fat intake to insulin resistance in both rodents and humans. *J Clin Invest*. 2009 Mar;119(3):573–81.
127. Perez-Martinez P, Garcia-Quintana JM, Yubero-Serrano EM, Tasset-Cuevas I, Tunez I, Garcia-Rios A, et al. Postprandial oxidative stress is modified by dietary fat: evidence from a human intervention study. *Clin Sci Lond Engl 1979*. 2010 Sep;119(6):251–61.
128. Devaraj S, Wang-Polagruto J, Polagruto J, Keen CL, Jialal I. High-fat, energy-dense, fast-food-style breakfast results in an increase in oxidative stress in metabolic syndrome. *Metabolism*. 2008 Jun;57(6):867–70.
129. O’Keefe JH, Bell DSH. Postprandial hyperglycemia/hyperlipidemia (postprandial dysmetabolism) is a cardiovascular risk factor. *Am J Cardiol*. 2007 Sep 1;100(5):899–904.
130. Monnier L, Mas E, Ginet C, Michel F, Villon L, Cristol J-P, et al. Activation of oxidative stress by acute glucose fluctuations compared with sustained chronic hyperglycemia in patients with type 2 diabetes. *JAMA J Am Med Assoc*. 2006 Apr 12;295(14):1681–7.

131. Bae JH, Bassenge E, Kim KB, Kim YN, Kim KS, Lee HJ, et al. Postprandial hypertriglyceridemia impairs endothelial function by enhanced oxidant stress. *Atherosclerosis*. 2001 Apr;155(2):517–23.
132. Ceriello A, Taboga C, Tonutti L, Quagliaro L, Piconi L, Bais B, et al. Evidence for an independent and cumulative effect of postprandial hypertriglyceridemia and hyperglycemia on endothelial dysfunction and oxidative stress generation: effects of short- and long-term simvastatin treatment. *Circulation*. 2002 Sep 3;106(10):1211–8.
133. Cardona F, Túnez I, Tasset I, Garrido-Sánchez L, Collantes E, Tinahones FJ. Circulating antioxidant defences are decreased in healthy people after a high-fat meal. *Br J Nutr*. 2008 Aug;100(2):312–6.
134. Kusterer K, Pohl T, Fortmeyer HP, März W, Scharnagl H, Oldenburg A, et al. Chronic selective hypertriglyceridemia impairs endothelium-dependent vasodilatation in rats. *Cardiovasc Res*. 1999 Jun;42(3):783–93.
135. deKoning L, Anand SS. Adherence to a Mediterranean diet and survival in a Greek population. Trichopoulos A, Costacou T, Bamia C, Trichopoulos D. *N Engl J Med* 2003; 348: 2599-608. *Vasc Med Lond Engl*. 2004 May;9(2):145–6.
136. Gill JMR, Caslake MJ, McAllister C, Tsofliou F, Ferrell WR, Packard CJ, et al. Effects of short-term detraining on postprandial metabolism, endothelial function, and inflammation in endurance-trained men: dissociation between changes in triglyceride metabolism and endothelial function. j.gill@bio.gla.ac.uk. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003 Sep;88(9):4328–35.
137. Griendling KK, Sorescu D, Ushio-Fukai M. NAD(P)H oxidase: role in cardiovascular biology and disease. *Circ Res*. 2000 Mar 17;86(5):494–501.
138. Wassmann S, Wassmann K, Nickenig G. Modulation of oxidant and antioxidant enzyme expression and function in vascular cells. *Hypertension*. 2004 Oct;44(4):381–6.
139. Halkes CJ, van Dijk H, de Jaegere PP, Plokker HW, van Der Helm Y, Erkelens DW, et al. Postprandial increase of complement component 3 in normolipidemic patients with coronary artery disease: effects of expanded-dose simvastatin. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001 Sep;21(9):1526–30.
140. Sniderman AD, Cianflone K. The adiponin-acylation-stimulating protein pathway and microenvironmental metabolic regulation. *World Rev Nutr Diet*. 1997;80:44–81.
141. Ribalta J, Castro-Cabezas M, Plana N, Masana L. Visión actualizada de la hiperlipidemia familiar combinada aplicada a la mejora de su diagnóstico. *Clin Invest Arter*. 2005;17:34–7.
142. Blankenberg S, Rupprecht HJ, Bickel C, Torzewski M, Hafner G, Tiret L, et al. Glutathione peroxidase 1 activity and cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med*. 2003 Oct 23;349(17):1605–13.

143. Moers A, Fenselau S, Schrezenmeir J. Chylomicrons induce E-selectin and VCAM-1 expression in endothelial cells. *Exp Clin Endocrinol Diabetes Off J Ger Soc Endocrinol Ger Diabetes Assoc.* 1997;105 Suppl 2:35–7.
144. Botham KM, Bravo E, Elliott J, Wheeler-Jones CPD. Direct interaction of dietary lipids carried in chylomicron remnants with cells of the artery wall: implications for atherosclerosis development. *Curr Pharm Des.* 2005;11(28):3681–95.
145. Real JT, Martínez-Hervás S, Tormos MC, Domenech E, Pallardó FV, Sáez-Tormo G, et al. Increased oxidative stress levels and normal antioxidant enzyme activity in circulating mononuclear cells from patients of familial hypercholesterolemia. *Metabolism.* 2010 Feb;59(2):293–8.
146. Real JT, Martínez-Hervás S, García-García AB, Civera M, Pallardó FV, Ascaso JF, et al. Circulating mononuclear cells nuclear factor-kappa B activity, plasma xanthine oxidase, and low grade inflammatory markers in adult patients with familial hypercholesterolaemia. *Eur J Clin Invest.* 2010 Feb;40(2):89–94.
147. Tinahones FJ, Murri-Pierri M, Garrido-Sánchez L, García-Almeida JM, García-Serrano S, García-Arnés J, et al. Oxidative stress in severely obese persons is greater in those with insulin resistance. *Obes Silver Spring Md.* 2009 Feb;17(2):240–6.
148. Vincent HK, Innes KE, Vincent KR. Oxidative stress and potential interventions to reduce oxidative stress in overweight and obesity. *Diabetes Obes Metab.* 2007 Nov;9(6):813–39.
149. Zilversmit DB. Atherogenesis: a postprandial phenomenon. *Circulation.* 1979 Sep;60(3):473–85.
150. Karpe F, Steiner G, Uffelman K, Olivecrona T, Hamsten A. Postprandial lipoproteins and progression of coronary atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 1994 Mar;106(1):83–97.
151. Ridker PM, Rifai N, Rose L, Buring JE, Cook NR. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Engl J Med.* 2002 Nov 14;347(20):1557–65.
152. Castelli WP. Lipids, risk factors and ischaemic heart disease. *Atherosclerosis.* 1996 Jul;124 Suppl:S1–9.
153. Ridker PM, Danielson E, Fonseca FA, Genest J, Gotto AM Jr, Kastelein JJ, et al. Reduction in C-reactive protein and LDL cholesterol and cardiovascular event rates after initiation of rosuvastatin: a prospective study of the JUPITER trial. *Lancet.* 2009 Apr 4;373(9670):1175–82.
154. Ordovás JM, Carmena R. Factores de riesgo cardiovascular. Lípidos plasmáticos y riesgo coronario. *Hiperlipemias: clínica y tratamiento.* Carmena R, Ordovás JM. Barcelona: Doyma; 1999. p. 173–92.

155. Watts GF. Postprandial lipaemia in familial hypercholesterolaemia: clinical and metabolic significance. *Atherosclerosis*. 2000 Feb;148(2):426–8.
156. Anderson RA, Evans ML, Ellis GR, Graham J, Morris K, Jackson SK, et al. The relationships between post-prandial lipaemia, endothelial function and oxidative stress in healthy individuals and patients with type 2 diabetes. *Atherosclerosis*. 2001 Feb 1;154(2):475–83.
157. Karpe F, Tornvall P, Olivecrona T, Steiner G, Carlson LA, Hamsten A. Composition of human low density lipoprotein: effects of postprandial triglyceride-rich lipoproteins, lipoprotein lipase, hepatic lipase and cholesteryl ester transfer protein. *Atherosclerosis*. 1993 Jan 4;98(1):33–49.
158. Castro Cabezas M, Erkelens DW, Kock LA, De Bruin TW. Postprandial apolipoprotein B100 and B48 metabolism in familial combined hyperlipidaemia before and after reduction of fasting plasma triglycerides. *Eur J Clin Invest*. 1994 Oct;24(10):669–78.
159. Austin MA, Hokanson JE, Edwards KL. Hypertriglyceridemia as a cardiovascular risk factor. *Am J Cardiol*. 1998 Feb 26;81(4A):7B – 12B.
160. Cardona F, Tinahones FJ. Relación de la hipertrigliceridemia postprandial con la resistencia a la insulina en pacientes con síndrome metabólico. *Endocrinol Nutr*. 2066;53:345–52.
161. Castelli WP. Epidemiology of triglycerides: a view from Framingham. *Am J Cardiol*. 1992 Dec 14;70(19):3H – 9H.
162. Hokanson JE, Austin MA. Plasma triglyceride level is a risk factor for cardiovascular disease independent of high-density lipoprotein cholesterol level: a meta-analysis of population-based prospective studies. *J Cardiovasc Risk*. 1996 Apr;3(2):213–9.
163. Miller M, Seidler A, Moalemi A, Pearson TA. Normal triglyceride levels and coronary artery disease events: the Baltimore Coronary Observational Long-Term Study. *J Am Coll Cardiol*. 1998 May;31(6):1252–7.
164. Hoeg J.M. Postprandial lipaemia in familial combined hyperlipidaemia. *J Cardiol*. 2003;31:1090–3.
165. Van Wijk JPH, Buirma R, van Tol A, Halkes CJM, De Jaegere PPT, Plokker HWM, et al. Effects of increasing doses of simvastatin on fasting lipoprotein subfractions, and the effect of high-dose simvastatin on postprandial chylomicron remnant clearance in normotriglyceridemic patients with premature coronary sclerosis. *Atherosclerosis*. 2005 Jan;178(1):147–55.
166. SCHWARTZ L, WOLDOW A, DUNSMORE RA. Determination of fat tolerance in patients with myocardial infarction; method utilizing serum turbidity changes following a fat meal. *J Am Med Assoc*. 1952 May 24;149(4):364–6.

167. BARRITT DW. Alimentary lipaemia in men with coronary artery disease and in controls. *Br Med J*. 1956 Sep 15;2(4993):640–4.
168. Criqui MH, Heiss G, Cohn R, Cowan LD, Suchindran CM, Bangdiwala S, et al. Plasma triglyceride level and mortality from coronary heart disease. *N Engl J Med*. 1993 Apr 29;328(17):1220–5.
169. Castro Cabezas M, Halkes CJ, Meijssen S, van Oostrom AJ, Erkelens DW. Diurnal triglyceride profiles: a novel approach to study triglyceride changes. *Atherosclerosis*. 2001 Mar;155(1):219–28.
170. Boquist S, Ruotolo G, Tang R, Björkegren J, Bond MG, de Faire U, et al. Alimentary lipemia, postprandial triglyceride-rich lipoproteins, and common carotid intima-media thickness in healthy, middle-aged men. *Circulation*. 1999 Aug 17;100(7):723–8.
171. Stampfer MJ, Krauss RM, Ma J, Blanche PJ, Holl LG, Sacks FM, et al. A prospective study of triglyceride level, low-density lipoprotein particle diameter, and risk of myocardial infarction. *JAMA J Am Med Assoc*. 1996 Sep 18;276(11):882–8.
172. Bansal S, Buring JE, Rifai N et al. Fasting compared with nonfasting triglycerides and risk of cardiovascular events in women. *JAMA*. 2007;298:309–16.
173. Nordestgaard BG, Benn M, Schnohr P, Tybjaerg-Hansen A. Nonfasting triglycerides and risk of myocardial infarction, ischemic heart disease, and death in men and women. *JAMA J Am Med Assoc*. 2007 Jul 18;298(3):299–308.
174. Alipour A, Elte JWF, van Zaanen HCT, Rietveld AP, Cabezas MC. Postprandial inflammation and endothelial dysfunction. *Biochem Soc Trans*. 2007 Jun;35(Pt 3):466–9.
175. Varela LM, Bermúdez B, Ortega-Gómez A, López S, Sánchez R, Villar J, et al. Postprandial triglyceride-rich lipoproteins promote invasion of human coronary artery smooth muscle cells in a fatty-acid manner through PI3k-Rac1-JNK signaling. *Mol Nutr Food Res*. 2014 Jun;58(6):1349–64.
176. Botham KM, Wheeler-Jones CPD. Postprandial lipoproteins and the molecular regulation of vascular homeostasis. *Prog Lipid Res*. 2013 Oct;52(4):446–64.
177. Jagla A, Schrezenmeier J. Postprandial triglycerides and endothelial function. *Exp Clin Endocrinol Diabetes Off J Ger Soc Endocrinol Ger Diabetes Assoc*. 2001;109(4):S533–47.
178. Prónai L, Hiramatsu K, Saigusa Y, Nakazawa H. Low superoxide scavenging activity associated with enhanced superoxide generation by monocytes from male hypertriglyceridemia with and without diabetes. *Atherosclerosis*. 1991 Sep;90(1):39–47.
179. Efe H, Değer O, Kirci D, Karahan SC, Orem A, Calapoğlu M. Decreased neutrophil antioxidative enzyme activities and increased lipid peroxidation in hyperlipoproteinemic human subjects. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 1999 Jan;279(1-2):155–65.

180. De Koning EJP, Rabelink TJ. Endothelial function in the post-prandial state. *Atheroscler Suppl.* 2002 May;3(1):11–6.
181. Speidel MT, Booyse FM, Abrams A, Moore MA, Chung BH. Lipolyzed hypertriglyceridemic serum and triglyceride-rich lipoprotein cause lipid accumulation in and are cytotoxic to cultured human endothelial cells. High density lipoproteins inhibit this cytotoxicity. *Thromb Res.* 1990 May 1;58(3):251–64.
182. Nicholls S, Lundman P. The emerging role of lipoproteins in atherogenesis: beyond LDL cholesterol. *Semin Vasc Med.* 2004 May;4(2):187–95.
183. Van Oostrom AJ, van Dijk H, Verseyden C, Sniderman AD, Cianflone K, Rabelink TJ, et al. Addition of glucose to an oral fat load reduces postprandial free fatty acids and prevents the postprandial increase in complement component 3. *Am J Clin Nutr.* 2004 Mar;79(3):510–5.
184. Frayn KN. Non-esterified fatty acid metabolism and postprandial lipaemia. *Atherosclerosis.* 1998 Dec;141 Suppl 1:S41–6.
185. Bergeron N, Havel RJ. Assessment of postprandial lipemia: nutritional influences. *Curr Opin Lipidol.* 1997 Feb;8(1):43–52.
186. Trevisan M, Krogh V, Freudenheim J, Blake A, Muti P, Panico S, et al. Consumption of olive oil, butter, and vegetable oils and coronary heart disease risk factors. The Research Group ATS-RF2 of the Italian National Research Council. *JAMA J Am Med Assoc.* 1990 Feb 2;263(5):688–92.
187. Dai J, Jones DP, Goldberg J, Ziegler TR, Bostick RM, Wilson PW, et al. Association between adherence to the Mediterranean diet and oxidative stress. *Am J Clin Nutr.* 2008 Nov;88(5):1364–70.
188. Fitó M, Gimeno E, Covas M-I, Miró E, López-Sabater M del C, Farré M, et al. Postprandial and short-term effects of dietary virgin olive oil on oxidant/antioxidant status. *Lipids.* 2002 Mar;37(3):245–51.
189. De Lorgeril M, Renaud S, Mamelle N, Salen P, Martin JL, Monjaud I, et al. Mediterranean alpha-linolenic acid-rich diet in secondary prevention of coronary heart disease. *Lancet.* 1994 Jun 11;343(8911):1454–9.
190. Trichopoulou A, Orfanos P, Norat T, Bueno-de-Mesquita B, Ocké MC, Peeters PHM, et al. Modified Mediterranean diet and survival: EPIC-elderly prospective cohort study. *BMJ.* 2005 Apr 30;330(7498):991.
191. Jiménez-Gómez Y, Marín C, Peérez-Martínez P, Hartwich J, Malczewska-Malec M, Golabek I, et al. A low-fat, high-complex carbohydrate diet supplemented with long-chain (n-3) fatty acids alters the postprandial lipoprotein profile in patients with metabolic syndrome. *J Nutr.* 2010 Sep;140(9):1595–601.

192. Fitó M, Guxens M, Corella D, Sáez G, Estruch R, de la Torre R, et al. Effect of a traditional Mediterranean diet on lipoprotein oxidation: a randomized controlled trial. *Arch Intern Med*. 2007 Jun 11;167(11):1195–203.
193. 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 Apr 4;368(14):1279–90.
194. Salas-Salvadó J, Garcia-Arellano A, Estruch R, Marquez-Sandoval F, Corella D, Fiol M, et al. Components of the Mediterranean-type food pattern and serum inflammatory markers among patients at high risk for cardiovascular disease. *Eur J Clin Nutr*. 2008 May;62(5):651–9.
195. Pérez-Jiménez F, López-Miranda J, Mata P. Protective effect of dietary monounsaturated fat on arteriosclerosis: beyond cholesterol. *Atherosclerosis*. 2002 Aug;163(2):385–98.
196. Kersten S. Peroxisome proliferator activated receptors and obesity. *Eur J Pharmacol*. 2002 Apr 12;440(2-3):223–34.
197. Khan SA, Vanden Heuvel JP. Role of nuclear receptors in the regulation of gene expression by dietary fatty acids (review). *J Nutr Biochem*. 2003 Oct;14(10):554–67.
198. Sampath H, Ntambi JM. Polyunsaturated fatty acid regulation of genes of lipid metabolism. *Annu Rev Nutr*. 2005;25:317–40.
199. Sofi F, Cesari F, Abbate R, Gensini GF, Casini A. Adherence to Mediterranean diet and health status: meta-analysis. *BMJ*. 2008;337:a1344.
200. Agudo A, Cabrera L, Amiano P, Ardanaz E, Barricarte A, Berenguer T, et al. Fruit and vegetable intakes, dietary antioxidant nutrients, and total mortality in Spanish adults: findings from the Spanish cohort of the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC-Spain). *Am J Clin Nutr*. 2007 Jun;85(6):1634–42.
201. Arkan MC, Hevener AL, Greten FR, Maeda S, Li Z-W, Long JM, et al. IKK-beta links inflammation to obesity-induced insulin resistance. *Nat Med*. 2005 Feb;11(2):191–8.
202. Tsai W-C, Li Y-H, Lin C-C, Chao T-H, Chen J-H. Effects of oxidative stress on endothelial function after a high-fat meal. *Clin Sci Lond Engl* 1979. 2004 Mar;106(3):315–9.
203. Rebolledo OR, Actis Dato SM. Postprandial hyperglycemia and hyperlipidemia-generated glycoxidative stress: its contribution to the pathogenesis of diabetes complications. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2005 Aug;9(4):191–208.
204. Saxena R, Madhu SV, Shukla R, Prabhu KM, Prabhu KM, Gambhir JK. Postprandial hypertriglyceridemia and oxidative stress in patients of type 2 diabetes mellitus with macrovascular complications. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 2005 Sep;359(1-2):101–8.

205. Ursini F, Sevanian A. Postprandial oxidative stress. *Biol Chem.* 2002 Apr;383(3-4):599–605.
206. Bogani P, Galli C, Villa M, Visioli F. Postprandial anti-inflammatory and antioxidant effects of extra virgin olive oil. *Atherosclerosis.* 2007 Jan;190(1):181–6.
207. Mansego ML, Redon J, Martinez-Hervas S, Real JT, Martinez F, Blesa S, et al. Different impacts of cardiovascular risk factors on oxidative stress. *Int J Mol Sci.* 2011;12(9):6146–63.
208. Pedro T, Martinez-Hervas S, Tormo C, García-García AB, Saez-Tormo G, Ascaso JF, et al. Oxidative stress and antioxidant enzyme values in lymphomonocytes after an oral unsaturated fat load test in familial hypercholesterolemic subjects. *Transl Res J Lab Clin Med.* 2013 Jan;161(1):50–6.
209. Marín, C; López Miranda, J; Delgado-Lista, J; Gómez, P; Moreno, J; Fuentes, F; Bellido, C; Pérez-Jiménez, F. Effect of the Mediterranean diet on postprandial lipemic response. *Clin Invest Arter.* 2005;17:159–64.
210. Lopez-Miranda J, Williams C, Lairon D. Dietary, physiological, genetic and pathological influences on postprandial lipid metabolism. *Br J Nutr.* 2007 Sep;98(3):458–73.
211. Axelsen M, Eliasson B, Joheim E, Lenner RA, Taskinen MR, Smith U. Lipid intolerance in smokers. *J Intern Med.* 1995 May;237(5):449–55.
212. Aksoy S, Cam N, Gurkan U, Oz D, Özden K, Altay S, et al. Oxidative stress and severity of coronary artery disease in young smokers with acute myocardial infarction. *Cardiol J.* 2012;19(4):381–6.
213. Varela-Carver A, Parker H, Kleinert C, Rimoldi O. Adverse effects of cigarette smoke and induction of oxidative stress in cardiomyocytes and vascular endothelium. *Curr Pharm Des.* 2010;16(23):2551–8.
214. Fielding BA, Reid G, Grady M, Humphreys SM, Evans K, Frayn KN. Ethanol with a mixed meal increases postprandial triacylglycerol but decreases postprandial non-esterified fatty acid concentrations. *Br J Nutr.* 2000 Jun;83(6):597–604.
215. Pownall HJ, Ballantyne CM, Kimball KT, Simpson SL, Yeshurun D, Gotto AM Jr. Effect of moderate alcohol consumption on hypertriglyceridemia: a study in the fasting state. *Arch Intern Med.* 1999 May 10;159(9):981–7.
216. Bonnet F, Disse E, Laville M, Mari A, Hojlund K, Anderwald CH, et al. Moderate alcohol consumption is associated with improved insulin sensitivity, reduced basal insulin secretion rate and lower fasting glucagon concentration in healthy women. *Diabetologia.* 2012 Dec;55(12):3228–37.
217. Mahley RW, Palaoğlu KE, Atak Z, Dawson-Pepin J, Langlois AM, Cheung V, et al. Turkish Heart Study: lipids, lipoproteins, and apolipoproteins. *J Lipid Res.* 1995 Apr;36(4):839–59.

218. Weintraub MS, Eisenberg S, Breslow JL. Dietary fat clearance in normal subjects is regulated by genetic variation in apolipoprotein E. *J Clin Invest.* 1987 Dec;80(6):1571–7.
219. Ostman E, Granfeldt Y, Persson L, Björck I. Vinegar supplementation lowers glucose and insulin responses and increases satiety after a bread meal in healthy subjects. *Eur J Clin Nutr.* 2005 Sep;59(9):983–8.
220. Hlebowicz J, Darwiche G, Björgell O, Almér L-O. Effect of cinnamon on postprandial blood glucose, gastric emptying, and satiety in healthy subjects. *Am J Clin Nutr.* 2007 Jun;85(6):1552–6.
221. Layman DK, Baum JI. Dietary protein impact on glycemic control during weight loss. *J Nutr.* 2004 Apr;134(4):968S – 73S.
222. Lia A, Andersson H, Mekki N, Juhel C, Senft M, Lairon D. Postprandial lipemia in relation to sterol and fat excretion in ileostomy subjects given oat-bran and wheat test meals. *Am J Clin Nutr.* 1997 Aug;66(2):357–65.
223. Roche HM. Dietary carbohydrates and triacylglycerol metabolism. *Proc Nutr Soc.* 1999 Feb;58(1):201–7.
224. Kim J-H, Kwak H-B, Leeuwenburgh C, Lawler JM. Lifelong exercise and mild (8%) caloric restriction attenuate age-induced alterations in plantaris muscle morphology, oxidative stress and IGF-1 in the Fischer-344 rat. *Exp Gerontol.* 2008 Apr;43(4):317–29.
225. Bloomer RJ, Ferebee DE, Fisher-Wellman KH, Quindry JC, Schilling BK. Postprandial oxidative stress: influence of sex and exercise training status. *Med Sci Sports Exerc.* 2009 Dec;41(12):2111–9.
226. Karpe F. Postprandial lipoprotein metabolism and atherosclerosis. *J Intern Med.* 1999 Oct;246(4):341–55.
227. Lopez S, Bermudez B, Ortega A, Varela LM, Pacheco YM, Villar J, et al. Effects of meals rich in either monounsaturated or saturated fat on lipid concentrations and on insulin secretion and action in subjects with high fasting triglyceride concentrations. *Am J Clin Nutr.* 2011 Mar;93(3):494–9.
228. Perez-Martinez P, Ordovas JM, Garcia-Rios A, Delgado-Lista J, Delgado-Casado N, Cruz-Teno C, et al. Consumption of diets with different type of fat influences triacylglycerol-rich lipoproteins particle number and size during the postprandial state. *Nutr Metab Cardiovasc Dis NMCD.* 2011 Jan;21(1):39–45.
229. Garg A, Bonanome A, Grundy SM, Zhang ZJ, Unger RH. Comparison of a high-carbohydrate diet with a high-monounsaturated-fat diet in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med.* 1988 Sep 29;319(13):829–34.
230. Paniagua JA, de la Sacristana AG, Sánchez E, Romero I, Vidal-Puig A, Berral FJ, et al. A MUFA-rich diet improves postprandial glucose, lipid and GLP-1 responses in insulin-resistant subjects. *J Am Coll Nutr.* 2007 Oct;26(5):434–44.

231. Vessby B, Uusitupa M, Hermansen K, Riccardi G, Rivellese AA, Tapsell LC, et al. Substituting dietary saturated for monounsaturated fat impairs insulin sensitivity in healthy men and women: The KANWU study. *Diabetologia*. 2001 Mar 9;44(3):312–9.
232. White DA, Bennett AJ, Billett MA, Salter AM. The assembly of triacylglycerol-rich lipoproteins: an essential role for the microsomal triacylglycerol transfer protein. *Br J Nutr*. 1998 Sep;80(3):219–29.
233. Riccardi G, Giacco R, Rivellese AA. Dietary fat, insulin sensitivity and the metabolic syndrome. *Clin Nutr Edinb Scotl*. 2004 Aug;23(4):447–56.
234. El-Asaad W, Buteau J, Peyot M-L, Nolan C, Roduit R, Hardy S, et al. Saturated fatty acids synergize with elevated glucose to cause pancreatic beta-cell death. *Endocrinology*. 2003 Sep;144(9):4154–63.
235. Lupi R, Dotta F, Marselli L, Del Guerra S, Masini M, Santangelo C, et al. Prolonged exposure to free fatty acids has cytostatic and pro-apoptotic effects on human pancreatic islets: evidence that beta-cell death is caspase mediated, partially dependent on ceramide pathway, and Bcl-2 regulated. *Diabetes*. 2002 May;51(5):1437–42.
236. Piro S, Anello M, Di Pietro C, Lizzio MN, Patanè G, Rabuazzo AM, et al. Chronic exposure to free fatty acids or high glucose induces apoptosis in rat pancreatic islets: possible role of oxidative stress. *Metabolism*. 2002 Oct;51(10):1340–7.
237. Boden G, Shulman GI. Free fatty acids in obesity and type 2 diabetes: defining their role in the development of insulin resistance and beta-cell dysfunction. *Eur J Clin Invest*. 2002 Jun;32 Suppl 3:14–23.
238. Jellinger PS. Metabolic consequences of hyperglycemia and insulin resistance. *Clin Cornerstone*. 2007;8 Suppl 7:S30–42.
239. Borkman M, Storlien LH, Pan DA, Jenkins AB, Chisholm DJ, Campbell LV. The relation between insulin sensitivity and the fatty-acid composition of skeletal-muscle phospholipids. *N Engl J Med*. 1993 Jan 28;328(4):238–44.
240. Pan DA, Lillioja S, Milner MR, Kriketos AD, Baur LA, Bogardus C, et al. Skeletal muscle membrane lipid composition is related to adiposity and insulin action. *J Clin Invest*. 1995 Dec;96(6):2802–8.
241. López S, Bermúdez B, Pacheco YM, Villar J, Abia R, Muriana FJG. Distinctive postprandial modulation of beta cell function and insulin sensitivity by dietary fats: monounsaturated compared with saturated fatty acids. *Am J Clin Nutr*. 2008 Sep;88(3):638–44.
242. Laatsch A, Merkel M, Talmud PJ, Grewal T, Beisiegel U, Heeren J. Insulin stimulates hepatic low density lipoprotein receptor-related protein 1 (LRP1) to increase postprandial lipoprotein clearance. *Atherosclerosis*. 2009 May;204(1):105–11.

243. Drucker DJ. Glucagon-like peptide-1 and the islet beta-cell: augmentation of cell proliferation and inhibition of apoptosis. *Endocrinology*. 2003 Dec;144(12):5145–8.
244. Thomsen C, Rasmussen O, Lousen T, Holst JJ, Fenselau S, Schrezenmeir J, et al. Differential effects of saturated and monounsaturated fatty acids on postprandial lipemia and incretin responses in healthy subjects. *Am J Clin Nutr*. 1999 Jun;69(6):1135–43.
245. Buscemi S, Nicolucci A, Mattina A, Rosafio G, Massenti FM, Lucisano G, et al. Association of dietary patterns with insulin resistance and clinically silent carotid atherosclerosis in apparently healthy people. *Eur J Clin Nutr [Internet]*. 2013 Sep 18 [cited 2013 Nov 6]; Available from: <http://www.nature.com/ejcn/journal/vaop/ncurrent/full/ejcn2013172a.html>
246. Adams JD, Lauterburg BH, Mitchell JR. Plasma glutathione and glutathione disulfide in the rat: regulation and response to oxidative stress. *J Pharmacol Exp Ther*. 1983 Dec;227(3):749–54.
247. Usal A, Acartürk E, Yüregir GT, Unlükurt I, Demirci C, Kurt HI, et al. Decreased glutathione levels in acute myocardial infarction. *Jpn Heart J*. 1996 Mar;37(2):177–82.
248. Tsuru R, Hojo Y, Gama M, Mizuno O, Katsuki T, Shimada K. Redox imbalance in patients with coronary artery disease showing progression of atherosclerotic lesions. *J Cardiol*. 2006 Oct;48(4):183–91.
249. Van Oostrom AJHM, Sijmonsma TP, Verseyden C, Jansen EHJM, de Koning EJP, Rabelink TJ, et al. Postprandial recruitment of neutrophils may contribute to endothelial dysfunction. *J Lipid Res*. 2003 Mar;44(3):576–83.
250. Peña-Orihuela P, Camargo A, Rangel-Zuñiga OA, Perez-Martinez P, Cruz-Teno C, Delgado-Lista J, et al. Antioxidant system response is modified by dietary fat in adipose tissue of metabolic syndrome patients. *J Nutr Biochem*. 2013 Oct;24(10):1717–23.
251. Schindhelm RK, Alsema M, Scheffer PG, Diamant M, Dekker JM, Barto R, et al. Fasting and postprandial glycoxidative and lipoxidative stress are increased in women with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2007 Jul;30(7):1789–94.
252. Houstis N, Rosen ED, Lander ES. Reactive oxygen species have a causal role in multiple forms of insulin resistance. *Nature*. 2006 Apr 13;440(7086):944–8.
253. O’Keefe JH, Gheewala NM, O’Keefe JO. Dietary strategies for improving post-prandial glucose, lipids, inflammation, and cardiovascular health. *J Am Coll Cardiol*. 2008 Jan 22;51(3):249–55.
254. Masella R, Vari R, D’Archivio M, Di Benedetto R, Matarrese P, Malorni W, et al. Extra virgin olive oil biophenols inhibit cell-mediated oxidation of LDL by increasing the mRNA transcription of glutathione-related enzymes. *J Nutr*. 2004 Apr;134(4):785–91.

255. Weinbrenner T, Fitó M, de la Torre R, Saez GT, Rijken P, Tormos C, et al. Olive oils high in phenolic compounds modulate oxidative/antioxidative status in men. *J Nutr.* 2004 Sep;134(9):2314–21.
256. Machowetz A, Poulsen HE, Gruendel S, Weimann A, Fitó M, Marrugat J, et al. Effect of olive oils on biomarkers of oxidative DNA stress in Northern and Southern Europeans. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol.* 2007 Jan;21(1):45–52.