



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA
Departamento de Medicina

**INFLUENCIA DE UN MODELO DE ALIMENTACIÓN
SALUDABLE SOBRE LA FUNCIÓN ENDOTELIAL EN
PACIENTES DE ALTO RIESGO CARDIOVASCULAR.**

**Trabajo presentado por José David Torres Peña, licenciado en
Medicina, para optar al grado de Doctor.
Programa de doctorado en Biomedicina.
Línea de Nutrigenómica: Interacción genes-ambiente.**

Fdo.: José David Torres Peña
Córdoba, a 23 de Mayo de 2019

TITULO: *INFLUENCIA DE UN MODELO DE ALIMENTACIÓN SALUDABLE
SOBRE LA FUNCIÓN ENDOTELIAL EN PACIENTES DE ALTO
RIESGO CARDIOVASCULAR*

AUTOR: *José David Torres Peña*

© Edita: UCOPress. 2019
Campus de Rabanales
Ctra. Nacional IV, Km. 396 A
14071 Córdoba

<https://www.uco.es/ucopress/index.php/es/>
ucopress@uco.es



TÍTULO DE LA TESIS: INFLUENCIA DE UN MODELO DE ALIMENTACIÓN SALUDABLE SOBRE LA FUNCIÓN ENDOTELIAL EN PACIENTES DE ALTO RIESGO CARDIOVASCULAR.

DOCTORANDO: JOSÉ DAVID TORRES PEÑA.

INFORME RAZONADO DE LOS DIRECTORES DE LA TESIS:

D. JOSÉ LÓPEZ MIRANDA y D. ANTONIO GARCÍA RÍOS,

HACEN CONSTAR:

Que el trabajo titulado “**INFLUENCIA DE UN MODELO DE ALIMENTACIÓN SALUDABLE SOBRE LA FUNCIÓN ENDOTELIAL EN PACIENTES DE ALTO RIESGO CARDIOVASCULAR**”, ha sido realizado por D. José David Torres Peña, bajo nuestra dirección, en el Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba (IMIBIC), dentro del grupo GC9: Nutrigenómica. Síndrome Metabólico. Este trabajo ha conseguido un nivel científico de suficiente relevancia como para derivar en la publicación de un artículo en revista internacional en Q1 de su categoría (**Atherosclerosis** 269 (2018) 50-56. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2017.12.012), con un índice de impacto de 4,239.

Durante la realización de su programa de Doctorado ha obtenido el Premio Dr. Ballesteros Rodríguez a la mejor comunicación en el congreso de la Sociedad Andaluza de Medicina Interna; Premio al mejor poster en el congreso de la Sociedad Andaluza de Hipertensión y Riesgo Vascular de 2015 y premio Mención Especial en el congreso nacional de la Sociedad Española de Arteriosclerosis de 2015.

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

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

Córdoba, a 23 de Mayo de 2019

Firma de los directores

Fdo.: Dr.Prof. José López Miranda

Fdo.: Dr. Antonio García Ríos.

*A Beatriz y a mis dos hijos, Julia y Pablo.
A mis padres.*

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi agradecimiento a todas las personas que han contribuido, de un modo u otro, a la realización esta tesis.

En primer lugar, al **Dr. José López Miranda** y al **Dr. Antonio García Ríos**, mis directores de tesis, que aceptaron tutelarme en esta andadura y guiar mi trabajo bajo su dirección.

Al **Dr. José López Miranda**, que combina en armonía los tres pilares de todo buen médico: dominio de la práctica clínica, maestría en la docencia y excelencia en la investigación, gracias por enseñarme el camino a seguir y por proporcionarme las herramientas necesarias para lograr mis objetivos, su trabajo y profunda dedicación constituyen para mí un ejemplo a seguir.

Al **Dr. Antonio García Ríos**, ejemplo de conocimiento, de tesón, esfuerzo, generosidad, paciencia. Destacar además su cercanía. Gracias por tu ayuda y apoyo incondicional en el desarrollo de esta tesis.

Al **profesor Francisco Pérez Jiménez**, a pesar del escaso tiempo compartido, referente no solo para mí, sino también para el resto de mis compañeros, despierta en mí una profunda admiración, demostrando a todos que la inquietud por un aprendizaje constante no desaparece nunca, pase el tiempo que pase.

Agradecer del mismo modo al **Dr. Pablo Pérez Martínez**, al que considero mi mentor, independientemente de su calidad científica, que es indiscutible, estaré siempre agradecido por la confianza depositada en mí, porque sé, sin ningún género de duda que mi vida y trayectoria sería totalmente diferentes si nuestros caminos no se hubiesen cruzado.

Agradecer al **Dr. Javier Delgado Lista**, trabajador nato, gracias por el cariño que muestras día a día, por cuidar de mí y mostrarme el camino a seguir. Al **Dr. Francisco Fuentes Jiménez**, mi tutor como residente, gracias por tu guía, eres único.

Agradecer así mismo a mis compañeros, los **Dr. Juan F. Alcalá Díaz**, el **Dr. Francisco Gómez Delgado**, la **Dr. Ana León Acuña** y el **Dr. Antonio P. Arenas de Larriva**, compañeros de travesía con los que siempre puedo contar.

Al resto de compañeros de la **Unidad de Medicina Interna**, a mis compañeros del **grupo de Nutrigenómica y Síndrome Metabólico del IMIBC**, gracias por todo.

A nuestros **pacientes**, todo nuestro trabajo es por y para ellos.

A mis padres, **José y Carmen**, que han dado y dan cada día todo por mí. Todo lo cosechado hasta ahora es gracias a vosotros.

A **mis abuelos**, por su amor.

A mis amigos de la infancia, **Marcos y José Manuel**, porque sigamos juntos muchos años más.

A mi mujer **Beatriz**, el eje central de mi vida junto a mis dos hijos, **Julia y Pablo**, por todo el esfuerzo y sacrificio que ha tenido que realizar para cumplir nuestros sueños y que hace que aún la quiera más y esté dispuesto a ir con ella hasta el fin del mundo. Gracias por hacerme sentir el hombre más afortunado del mundo.

ÍNDICE

I. RESUMEN.....	10
II. INTRODUCCIÓN	19
1. ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR Y DISFUNCIÓN ENDOTELIAL.	19
1.1 DIETA Y ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR. EVIDENCIAS QUE APOYAN EL BENEFICIO DE UNA DIETA RICA EN GRASA MONOINSATURADA Y UNA DIETA POBRE EN GRASA.	20
1.3 EL ENDOTELIO. CONCEPTO TRADICIONAL Y EVOLUCIÓN HISTÓRICA.....	23
1.4 FUNCIONES DEL ENDOTELIO.	24
1.5 DISFUNCIÓN ENDOTELIAL.	24
1.6 EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN Y DISFUNCIÓN ENDOTELIAL.	31
1.7 DISFUNCIÓN ENDOTELIAL COMO MARCADOR DE RIESGO CARDIOVASCULAR.	36
2. PREDIABETES Y DIABETES MELLITUS.....	42
2.1 DEFINICIÓN DE PREDIABETES Y DIABETES MELLITUS	42
2.2 EPIDEMIOLOGÍA DE LA PREDIABETES Y DE LA DIABETES MELLITUS TIPO 2.....	44
2.3 CRITERIOS DIAGNÓSTICOS DE PREDIABETES Y DIABETES	45
2.4 DISFUNCIÓN ENDOTELIAL EN LA PREDIABETES Y LA DIABETES MELLITUS	47
III.HIPÓTESIS	53
IV.OBJETIVOS	57
V. POBLACIÓN, DISEÑO Y METODOLÓGÍA	60
1. DISEÑO DEL ESTUDIO.....	60
2. POBLACIÓN DEL ESTUDIO	61
3. DIETA. EVALUACIÓN DIETÉTICA Y VISITAS DE SEGUIMIENTO.	63
4. VISITAS DURANTE LA INTERVENCIÓN	68
5. ESTUDIO DE LA FUNCIÓN ENDOTELIAL.	70
6. EVALUACIÓN ANTROPOMÉTRICA.	72
7. DETERMINACIONES ANALÍTICAS.....	73
8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.	73
9. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	74
VI. RESULTADOS.....	77
VII. DISCUSIÓN.	85

VIII. CONCLUSIONES	99
IX. ABREVIATURAS.	102
X. BIBLIOGRAFÍA.....	107
XI. PRODUCCIÓN CIENTÍFICA DERIVADA DE LA TESIS.	128

CAPÍTULO I
RESUMEN

I. RESUMEN.

ANTECEDENTES: La disfunción endotelial desempeña un papel clave en el desarrollo de la enfermedad cardiovascular. En este sentido, es un hecho demostrado que aproximadamente el 50% en la reducción de la mortalidad por las enfermedades cardiovasculares se debe a un control adecuado de los diferentes factores de riesgo, por tanto, es imperativo identificar a los pacientes de mayor riesgo y centrar los esfuerzos preventivos en ellos, siendo el estudio no invasivo de la función endotelial una herramienta que puede proporcionarnos la información necesaria para este fin.

Es conocido que sobre la reactividad vascular pueden influir factores relacionados con la dieta, sin embargo, hasta la fecha, no existen estudios a largo plazo que muestren los efectos de la dieta sobre la función endotelial en pacientes con enfermedad coronaria establecida, especialmente en aquellos de muy alto riesgo cardiovascular en los que coexisten factores de riesgo como la prediabetes o diabetes.

Nuestra **hipótesis** es demostrar que el consumo a largo plazo de dos modelos de alimentación saludable, uno de tipo Mediterráneo (>35% de grasa total y 22% de grasa monoinsaturada) y otro pobre en grasa (<30% grasa total y 12% de grasa monoinsaturada), inducen una mejoría de la función endotelial en pacientes de alto riesgo cardiovascular. La hipótesis nula es que nuestro estudio no logre demostrar que estos modelos de alimentación provocan una mejoría de la función endotelial.

OBJETIVOS:

-Principal:

Investigar si el consumo a largo plazo, durante un año y medio, de una dieta Mediterránea [>35% de las calorías de grasa (22% monoinsaturada) y <50% de carbohidratos] o de una dieta pobre en grasa [<30% grasa (12% monoinsaturada) y >55%

de calorías de carbohidratos] se asocia con una mejoría de la función endotelial en pacientes del estudio CORDIOPREV (NCT00924937).

Secundarios:

-Objetivo 1. Evaluar si el consumo a largo plazo de ambos modelos de alimentación se asocia a una mejoría de la función endotelial dependiendo del estatus diabético de la misma población (pacientes con diabetes tipo 2, prediabetes y sin diabetes).

-Objetivo 2. Evaluar si el consumo a largo plazo de uno de los modelos de alimentación induce una respuesta diferencial sobre la mejoría de la función endotelial en comparación con el otro, tanto en la población total como en los diferentes subgrupos de población.

POBLACIÓN, DISEÑO Y METODOLOGÍA: El estudio CORDIOPREV es un ensayo clínico, aleatorizado, simple ciego de pacientes con enfermedad cardiovascular establecida. Se midió la función endotelial en un total de 805 pacientes, pertenecientes al dicho estudio, utilizando ultrasonografía de la arteria braquial para calcular la vasodilatación mediada por flujo (VMF) antes y después de 1,5 años de intervención con una alimentación Mediterránea [>35% de las calorías de grasa (22% monoinsaturada) y <50% de carbohidratos] y dieta pobre en grasa [<30% grasa (12% monoinsaturada) y >55% de calorías de carbohidratos]. A continuación, clasificamos a los participantes como pacientes con diabetes tipo 2, prediabetes y sin diabetes tipo 2 según los criterios de la *Asociación Americana de la Diabetes (ADA)* y en ellos se evaluó la función endotelial.

RESULTADOS: En primer lugar, la dieta Mediterránea mejoró la vasodilatación

dependiente de endotelio en comparación con los estudios basales tras 1,5 años de seguimiento ($4,9 \pm 0,3\%$ frente a $3,9 \pm 0,3\%$, respectivamente; $p=0,014$). Adicionalmente, la dieta Mediterránea indujo una mejoría de la VMF en comparación con la dieta pobre en grasa a los 1,5 años ($4,9 \pm 0,3\%$ vs $4,04 \pm 0,7\%$, respectivamente; $p=0,024$). En segundo lugar, la dieta Mediterránea mejoró la vasodilatación dependiente de endotelio en pacientes diabéticos [$5,2 \pm 0,4\%$ a los 1,5 años frente a $3,8 \pm 0,4\%$ al inicio del estudio; $p=0,04$] y prediabéticos [$4,9 \pm 0,4\%$ vs. $3,8 \pm 0,4\%$; $p=0,04$]. Finalmente, la dieta Mediterránea indujo una mejoría en vasodilatación dependiente de endotelio en comparación con la dieta pobre en grasa en pacientes con diabetes [$5,2 \pm 0,4\%$ dieta Mediterránea vs $3,7 \pm 0,4\%$ en la dieta pobre en grasa; $p=0,01$]. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la vasodilatación mediada por flujo, entre dietas, en los pacientes sin diabetes.

CONCLUSIONES: El consumo habitual de una dieta Mediterránea rica en aceite de oliva virgen extra mejora la función endotelial, en comparación con una dieta pobre en grasa en pacientes de alto riesgo cardiovascular. Adicionalmente, la dieta Mediterránea induce una mejoría de la función endotelial en pacientes con prediabetes y diabetes. Estos hallazgos son de gran importancia dado que la dieta debe ser la piedra angular del tratamiento de los pacientes con diabetes y alto riesgo cardiovascular.

SUMMARY

BACKGROUND: Endothelial dysfunction plays a key role in the development of cardiovascular disease. In this sense, it is a proven fact that approximately 50% in the reduction of mortality of cardiovascular diseases is due to an adequate control of the different risk factors, therefore, to identify the patients at greatest risk and center preventive efforts in them is a priority area, thus, the non-invasive study of the endothelial function a tool that can provide us with the necessary information for this purpose.

It is known that factors related to diet can influence vascular reactivity, however, to date, there are no long-term studies showing the effects of diet on endothelial function in patients with established coronary disease, especially in those with high cardiovascular risk in which risk factors such as prediabetes or diabetes coexist.

Our hypothesis is to demonstrate that the long-term consumption of two models of healthy dietary pattern, one the Mediterranean diet (>35% of total fat and 22% of monounsaturated fat) and another, the low fat diet (<30% total fat and 12% of monounsaturated fat)), induce an improvement in endothelial function in patients at high cardiovascular risk. The null hypothesis is that our study don't demonstrate that these dietary patterns cause improve the endothelial function.

OBJECTIVES

Main objective:

To investigate whether the long-term consumption, for 1,5 years , of a Mediterranean diet [>35% of the calories from fat (22% monounsaturated) and <50% carbohydrates] or from a low fat diet [$<30\%$ fat] (12 % monounsaturated) and >55% carbohydrate calories] is associated with an improvement in endothelial function in patients of the CORDIOPREV study (NCT00924937).

Secondary objectives

-Objective 1. To evaluate if the long-term consumption of both dietary patterns are associated with an improvement in endothelial function according to the diabetic status of the same population (patients with type 2 diabetes, prediabetes and without diabetes).

-Objective 2. To evaluate if the long-term consumption of both dietary patterns induce a differential response on the improvement of the endothelial function in comparison with the other, both in the total population and in the different subgroups of the population.

POPULATION, DESIGN AND METHODOLOGY: The CORDIOPREV study is a randomized, single-blind clinical trial of patients with established cardiovascular disease. The endothelial function was measured in a total of 805 patients using brachial artery ultrasonography to calculate the flow-mediated vasodilation (FMD) before and after 1.5 years of intervention with a Mediterranean diet [$>35\%$ of calories from fat (22% monounsaturated) and $<50\%$ carbohydrates] and low-fat diet [$<30\%$ fat (12% monounsaturated) and $>55\%$ carbohydrate calories]. Next, we classify the participants as patients with type 2 diabetes, prediabetes and without type 2 diabetes according to the criteria of the American Diabetes Association (ADA) and we evaluated the endothelial function in them.

CONCLUSIONS: Long-term consumption of a Mediterranean diet rich in extra virgin olive oil improves endothelial function, compared to a low-fat diet in patients at high cardiovascular risk. Additionally, the Mediterranean diet induces an improvement in

endothelial function in patients with prediabetes and diabetes. These findings highlight the role of diet as the cornerstone of the treatment of patients with diabetes and high cardiovascular risk.

CAPÍTULO II
INTRODUCCIÓN

II. INTRODUCCIÓN

1. ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR Y DISFUNCIÓN ENDOTELIAL.

La enfermedad cardiovascular es la primera causa de muerte en los países occidentales y, específicamente, la enfermedad coronaria sigue siendo la causa principal de muerte de etiología cardiovascular (1). La investigación sobre la etiopatogenia de esta enfermedad sigue siendo un campo prioritario, ya que la intervención sobre los factores de riesgo clásicos no ha mostrado el impacto deseado sobre morbilidad y mortalidad, y a pesar del tratamiento intensivo, los pacientes con un evento coronario siguen presentando recurrencias (2). Aunque el manejo de los factores de riesgo cardiovascular tradicionales, incluyendo hipercolesterolemia, hipertensión arterial, diabetes y tabaquismo desempeñan un papel crucial en la prevención primaria y secundaria de la enfermedad, y a pesar de un tratamiento y control adecuado de estos factores de riesgo, en la actualidad no conseguimos reducir completamente el riesgo de presentar una manifestación clínica de la enfermedad cardiovascular en estos enfermos. Por tanto, la búsqueda de nuevos biomarcadores y mediadores de la enfermedad constituye un objetivo prioritario en la mayoría de los programas de investigación cardiovascular, lo que además nos puede hacer profundizar en los mecanismos implicados en el inicio y evolución de la arteriosclerosis, causa inicial de la enfermedad cardiovascular.

En este sentido, la alteración en la función endotelial es la precursora de los cambios morfológicos arterioscleróticos considerándose la disfunción endotelial como marcador temprano de arteriosclerosis (3). Si bien la función endotelial está influenciada por factores no modificables como la edad o variaciones genéticas que influyen sobre la ruta del óxido nítrico (ON) (4, 5), sí podemos actuar sobre aquellos factores de riesgo modificables que pueden influir sobre ella, específicamente, es de especial interés evaluar si la dieta es capaz de modular la función endotelial.

1.1 DIETA Y ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR. EVIDENCIAS QUE APOYAN EL BENEFICIO DE UNA DIETA RICA EN GRASA MONOINSATURADA Y UNA DIETA POBRE EN GRASA.

Existen dos patrones dietéticos, con efecto potencialmente beneficioso en la prevención y tratamiento de la arteriosclerosis, la dieta pobre en grasa y la dieta Mediterránea, rica en aceite de oliva.

Respecto a la dieta Mediterránea, el estudio de los 7 países (6), mostró como la dieta rica en grasa saturada se asocia a una mayor mortalidad cardiovascular, mientras que el consumo de grasa monoinsaturada se correlacionaba con una menor frecuencia de muerte por esta causa. A raíz de esta evidencia surgió el concepto, definido por Willet et al. (7) de dieta Mediterránea, en la que destacaba el elevado consumo de grasa monoinsaturada proporcionada por el aceite de oliva. Posteriormente, se publicaron numerosos observacionales, tanto de casos y controles, como de tipo trasversal y de cohortes, mostrando que la Dieta Mediterránea reduce el riesgo cardiovascular (8).

Finalmente, la confirmación de estos beneficios desde el punto de vista clínico la proporcionó en el año 2013 el estudio PREDIMED (Prevención con Dieta Mediterránea) (9). En dicho estudio se reclutaron 7447 pacientes de alto riesgo cardiovascular en prevención primaria. Dichos pacientes fueron aleatorizados a seguir, a largo plazo, tres modelos de dietas: una dieta mediterránea suplementada con aceite virgen extra de oliva, una dieta mediterránea suplementada con frutos secos o una dieta control pobre en grasa. Tras el seguimiento se demostró que una dieta Mediterránea suplementada con aceite extra virgen de oliva o frutos secos reduce la incidencia de eventos cardiovasculares.

En cuanto a la dieta pobre en grasa, la *AHA (American Heart Association)* y el *National Cholesterol Education Program (NCEP)* (10), elaboraron unas recomendaciones dietéticas para prevenir la enfermedad cardiovascular. El pilar básico

de estas recomendaciones es una reducción del consumo de grasa, fundamentalmente la saturada y potenciándose el consumo de hidratos de carbono complejos. A este respecto, por su relevancia, es necesario destacar los siguientes estudios que refuerzan y sustentan estas recomendaciones:

- ***The Oslo Study*** (11). Estudio de prevención primaria, con 1232 participantes, sometidos a una intervención dietética en la que se redujo el consumo de grasa desde el 44% del aporte calórico al 28% y las calorías saturadas desde 18% a 8%. Si bien no se observaron cambios en la mortalidad, el descenso en el aporte de grasa indujo un descenso en el riesgo de sufrir un evento coronario.

- ***The DART Study*** (12). Estudio prospectivo de prevención secundaria, realizado en 2033 hombres con antecedentes de cardiopatía isquémica en el que se compararon 3 dietas, una con reducción del aporte graso, otra en la que se aumentó el consumo de pescado y por último una en la que se añadieron cereales. Se observó una reducción de la mortalidad por cualquier causa y coronaria en el grupo de la dieta pobre en graso con consumo de pescado.

- ***The Lifestyle Heart Study*** (13). Estudio de intervención en prevención secundaria, en que se estudió el efecto de una dieta pobre en grasa, ejercicio físico y técnicas de relajación, sobre la evolución de las lesiones angiográficas. En el grupo de intervención se demostraron una mejoría del porcentaje de estenosis.

- ***St Thomas` Atherosclerosis Regression Study*** (14). Este estudio investigó la relación entre los nutrientes de la dieta y la progresión de la arteriosclerosis en enfermos con cardiopatía isquémica. Se utilizaron 2 dietas, una pobre en grasa comparada con otra dieta con una mayor proporción de grasa saturada. Este estudio demostró que el indicador de mayor relevancia implicado en la progresión de la arteriosclerosis fue la presencia de grasa saturada en la dieta.

-The Lyon Heart Diet Study (15). Estudio de prevención secundaria, aleatorizado, en el que se utilizó un alto porcentaje de MUFA. Se usaron dos dietas pobres en grasas con una composición muy parecida a las de la AHA. La dieta de intervención incluía alto contenido en ácido oleico y linolénico, que presentó una mortalidad del 8% en comparación con el grupo control en el que la mortalidad fue del 20%.

1.2 ENDOTELIO Y DIETA: EVIDENCIAS CLÍNICO-EXPERIMENTALES.

Se ha demostrado que parte del grado de disfunción endotelial depende de factores no modificables, como la edad, el sexo, la existencia de enfermedades crónicas o variaciones genéticas que alteren la ruta metabólica del ON (16, 17). En esta línea, nuestro grupo demostró como los portadores de una mutación genética en el gen de la sintasa de óxido nítrico endotelial (SONe) (rs1799983) tienen una peor función endotelial postprandial tras una comida rica en grasa (18). Sin embargo, se ha demostrado que factores modificables como la dieta también puede tener influencia sobre el endotelio. En este sentido, numerosos estudios de intervención dietética han demostrado una mejora de la función endotelial ya sea con nutrientes aislados como componentes fenólicos del aceite de oliva virgen (19), L-arginina y compuestos antioxidantes (20, 21), así como con la ingesta de una alimentación saludable (22). Así, nuestro grupo ha demostrado que el consumo de una dieta rica en ácidos grasos monoinsaturados a expensas de aceite de oliva virgen extra, mejora la disfunción endotelial en pacientes con hipercolesterolemia (22) y evita el deterioro de la función endotelial postprandial (23) aumentando la biodisponibilidad de ON, en comparación con una dieta rica en grasa saturada o una dieta baja en grasa enriquecida con ácido α -linolénico en pacientes sanos. Adicionalmente hemos demostrado que la sobrecarga aguda de grasa a expensas de aceite de oliva virgen

extra mejora el perfil trombótico postprandial (24). Finalmente, demostramos que la ingesta de una dieta rica en ácidos grasos monoinsaturados mejora la función endotelial postprandial y disminuye los niveles plasmáticos de la molécula de adhesión celular ICAM-1 en pacientes con síndrome metabólico (25).

1.3 EL ENDOTELIO. CONCEPTO TRADICIONAL Y EVOLUCIÓN HISTÓRICA

El endotelio se ha considerado de manera tradicional una monocapa que recubre la pared de los vasos sanguíneos, actuando como barrera que separa la luz vascular del resto de la estructura del vaso sanguíneo y tejidos. Con el paso de los años, este concepto ha experimentado una gran evolución, considerándose en la actualidad un órgano, endocrino, autocrino y paracrino, dinámico, complejo, con múltiples funciones, encargado de mantener la homeostasis vascular a través de diversas interacciones entre las células endoteliales y la luz vascular (26).

El endotelio vascular, desde el punto de vista estructural, se puede clasificar en endotelio en continuo, fenestrado y discontinuo (27), (**Figura 1**):

- I. **Endotelio continuo:** se localiza en la mayor parte pared vascular de vasos cerebrales, pulmonares, cardíacos, musculares y cutáneos. En este endotelio las células se unen entre y comparten una membrana basal continua.
- II. **Endotelio fenestrado:** se encuentra en glándulas endocrinas y exocrinas, tubo digestivo, glomérulos, túbulos renales y plexos coroideos. Presenta una membrana basal continua y en el aparecen unos poros transcelulares.
- III. **Endotelio discontinuo:** aparece en médula ósea, bazo e hígado. Se caracteriza por la presencia de una membrana basal mal estructurada y fenestraciones de gran tamaño.

A su vez, las células endoteliales poseen una gran plasticidad y difieren en forma, clase de uniones intercelulares y composición del glicocálix, lo que les permite adaptarse a los diferentes microambientes existentes en el organismo.

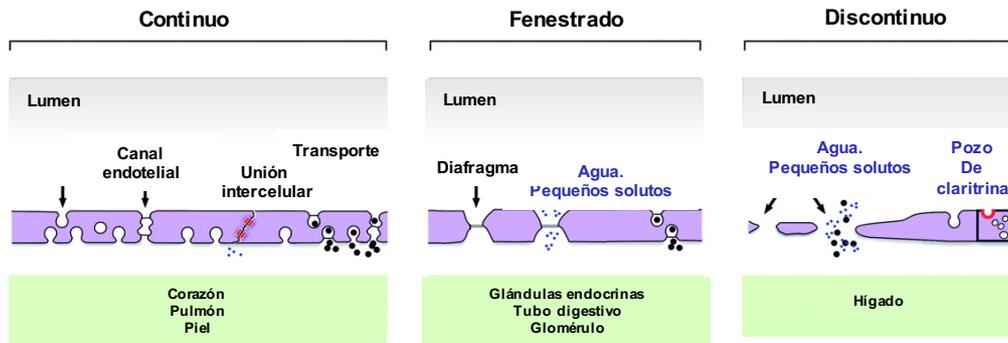


Figura 1. Tipos de endotelio. Modificado y adaptado de Aird WC. *Circ Res.* 2007;100(2):158-73.

1.4 FUNCIONES DEL ENDOTELIO.

Las principales funciones del endotelio(2) que permiten mantener la homeostasis vascular son:

- 1-Regulación del tono vascular, a través de la producción de factores vasodilatadores y vasoconstrictores, que actúan sobre las células musculares lisas de la capa media.
- 2- Regulación de la coagulación sanguínea por medio de la producción de factores reguladores del sistema fibrinolítico, actividad plaquetaria y de la cascada de la coagulación.
- 3-Producción de citoquinas y moléculas de adhesión que regulan la función inflamatoria vascular.

1.5 DISFUNCIÓN ENDOTELIAL.

1.5.1 CONCEPTO

La disfunción endotelial se define como la alteración de la fisiología del endotelio, caracterizada por un desequilibrio en la biodisponibilidad de sustancias activas de origen endotelial que predispone a la inflamación, la vasoconstricción y el incremento de la permeabilidad vascular, facilitando la agregación plaquetaria, trombosis y arteriosclerosis. En definitiva, esta disfunción endotelial representa un paso temprano clave en el desarrollo de la aterosclerosis, participando en la progresión de la placa y la aparición de complicaciones ateroscleróticas (3).

1.5.2 FISIOPATOLOGÍA DE LA DISFUNCIÓN ENDOTELIAL. FACTORES QUE INFLUYEN SOBRE EL ENDOTELIO.

El endotelio controla la circulación de diferentes moléculas gracias a una estructura formada por caveolas y el glicocálix. En el momento en el que estas estructuras no son capaces de modular la circulación de las mismas desde la luz hacia la pared vascular se produce un acúmulo a modo de pool circulante capaz de iniciar y perpetuar la disfunción endotelial. Todo ello produce un aumento de la permeabilidad vascular que conlleva a una modificación y destrucción del citoesqueleto al aumentar la contracción celular que acaba degradando las uniones adherentes existentes entre cada célula endotelial (28). En referencia al acumulo de moléculas en la luz vascular referidas con anterioridad, está descrito como concentraciones aterógenas de LDL inducen una destrucción de la matriz extracelular al producir una lisis de los proteoglicanos que lo componen o bien disminuye la actividad de las enzimas que se encargan de su maduración (29, 30).

Además de la alteración en la permeabilidad vascular, se ha descrito que en la disfunción endotelial existe un proceso de “activación endotelial (31)”. Este proceso consiste en la secreción de diferentes citocinas, factores quimiotácticos, factores de

crecimiento y moléculas de adhesión. Estas moléculas expresadas por la célula endotelial interactúan con las membranas de los leucocitos y aumentan la adhesión al endotelio, siendo sus concentraciones mayores en las zonas donde existen lesiones arterioscleróticas. Una vez iniciada la cascada inflamatoria se continúan expresando moléculas de adhesión (32) que no encontramos cuando existe integridad endotelial. Es importante destacar que existe una porción extracelular de estas moléculas de adhesión que se liberan a la circulación y que se encuentran en mayores concentraciones en sujetos con enfermedad coronaria (33), diabetes mellitus (34), hiperlipemias (35) e hipertensión arterial (36). Por otro lado, se ha demostrado como estas moléculas de adhesión son predictoras de la aparición de eventos cardiovasculares (37).

En todo este proceso juega un papel fundamental el descenso de producción y disponibilidad del ON, molécula que es considerada el factor vasodilatador de mayor importancia en el endotelio, con efectos vasoprotectores como son al inhibir la proliferación de células musculares lisas, la agregación plaquetaria y la expresión de moléculas de adhesión (38). Adicionalmente, tiene un papel antioxidante ya que contrarresta el daño inducido por el anión superóxido. Por tanto, cuando se altera la producción de ON y desciende su biodisponibilidad se induce una alteración de la homeostasis vascular y un desarrollo de disfunción endotelial (39).

La homeostasis del endotelio vascular puede verse alterada por factores de riesgo como: factores de riesgo tradicionales (tabaquismo, envejecimiento, hipertensión arterial, hiperglucemia e hipercolesterolemia), nuevos factores de riesgo cardiovascular (hiperlipoproteinemia a, aumento del estrés oxidativo, infección, inflamación, hiperhomocisteinemia y el deterioro de la función endotelial postprandial) genéticos, locales y desconocidos.

Factores de riesgo tradicionales:

-Tabaquismo: el hábito tabáquico reduce la biodisponibilidad de ON e inhibe la sintasa de óxido nítrico endotelial (SONe) ocasionando una disminución de la acción del ON sobre las células musculares lisas (40). La nicotina afecta de manera aguda y crónica la acción de ON y en este sentido, Toda et al. (41), demostraron que la nicotina inducía una disminución del flujo sanguíneo cerebral, aumentando la disfunción endotelial, y al mismo tiempo incrementaba la génesis de β amiloide implicado en el desarrollo de enfermedad de Alzheimer.

-Envejecimiento: la disfunción endotelial asociada a la edad es un proceso complejo que implica mediadores prooxidantes y proinflamatorios. Rodríguez Mañas et al. (4), estudiaron los mecanismos subyacentes en la disfunción endotelial asociada al envejecimiento en relación al estrés oxidativo en pacientes de edades comprendidas entre 18 y 91 años sin enfermedades o factores de riesgo cardiovascular. En la circulación mesentérica, se objetivó un deterioro dependiente de la edad de relajación dependiente del endotelio, de modo que, en sujetos menores de 60 años la mayor parte de la relajación fue debida a la liberación de ON, mientras que en mayores de 60 años mostraron mayores concentraciones de aniones superóxido y un aumento de la activación del factor nuclear de transcripción kappa B (NF-kB) correlacionados con la disfunción endotelial. Estos autores concluyeron que la disfunción endotelial dependiente de la edad se debe al efecto combinado de estrés oxidativo y la inflamación de la pared vascular.

Por tanto, se ha propuesto que el envejecimiento vascular humano es fruto de la existencia de un entorno proinflamatorio, que induce un del estrés oxidativo e inflamación de la pared vascular, y la disfunción endotelial sería la consecuencia final del envejecimiento de las células endotelial. En contraposición, puede ocurrir que el estrés oxidativo, la inflamación y la disfunción endotelial sean el origen del envejecimiento de las células endoteliales (42).

-Hipertensión arterial: en la hipertensión arterial aparece una menor síntesis y bioactividad del ON que produce un defecto en la relajación dependiente de endotelio. En este sentido, se ha demostrado que en pacientes sin hipertensión el flujo braquial es mayor que en pacientes hipertensos (43).

-Hiperglucemia: la hiperglucemia mantenida provoca un incremento de la formación de productos finales de la glicosilación (*Advanced glycation end products, AGEs*) y un aumento del estrés oxidativo (44), existiendo en consecuencia, en los sujetos diabéticos una alteración tanto en la síntesis como en la biodisponibilidad del ON. De este modo, las células endoteliales en condiciones de hiperglucemia mantenida y aparece una pérdida de la integridad del endotelio vascular. Este hecho se ha puesto de manifiesto en la circulación coronaria de los pacientes diabéticos, en los que, en lugar de sufrir una vasodilatación ante acetilcolina aparece una vasoconstricción paradójica (45).

-Hipercolesterolemia: el aumento de moléculas de LDL causa lesión endotelial y es responsable de la disminución de la relajación dependiente de endotelio. Como hemos comentado previamente, el aumento de las LDL altera la estructura de la matriz extracelular, produce una activación endotelial y un descenso en la producción del LDL (35). Está demostrado que en sujetos con hipercolesterolemia existe disfunción endotelial en comparación con sujetos sanos (46).

-Ejercicio físico: el ejercicio da como resultado un estado agudo de estrés oxidativo, sin embargo, a largo plazo origina una adaptación oxidativa, aumentando el rendimiento físico. Un estudio llevado a cabo por grupo, Marcelo et al. (47), demostró como un entrenamiento de resistencia de intensidad moderada-alta aumenta los efectos beneficiosos de un modelo de dieta Mediterránea sobre la capacidad regenerativa del endotelio.

Factores de riesgo cardiovascular emergentes.

-Infección e inflamación: el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica es una manifestación temprana que aparece en el enfermo crítico, en el que están implicados diversos mediadores inflamatorios (IL1, IL6, IL8 y factor de necrosis tumoral alfa), marcadores de activación endotelial y se producen grandes cantidades de ON por el efecto sobre la sintasa de óxido nítrico inducible (SONi) apareciendo finalmente una desregulación de la función endotelial (48).

-Estrés oxidativo: existe una asociación entre el exceso de especies reactivas de oxígeno (ERO) en la pared vascular y la arteriosclerosis, ya sea bien por su acción directa al modificar la funcionalidad de la célula endotelial, o bien por su capacidad para neutralizar el efecto de sustancias vasoprotectoras (49). El estrés oxidativo tiene lugar cuando existe un aumento en la génesis de ERO y de radicales libres y los mecanismos de protección existentes no son lo suficientemente potentes como para inhibir sus efectos (50). Las ERO son producidas por varias oxidasas, incluyendo la nicotinamida-adenina dinucleótido fosfato oxidasa (NADPH), xantina oxidasa, sintasa endotelial de ON (SONe), ciclooxigenasa y la glucosa oxidasa (51). Las ERO incluyen el anión superóxido (O_2^-), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el radical hidroxilo (OH), el ácido hipocloroso (HClO), el ON y el peroxinitrito ($ONOO^-$) (51). El estrés oxidativo juega un papel importante en la patogénesis y el desarrollo de enfermedades cardiovasculares (52). Existe en las células endoteliales un equilibrio entre el grado de estrés oxidativo y la capacidad de defensa antioxidante, siendo los mecanismos responsables de este balance complejos y multifactoriales (53). De este modo, un incremento en la producción de ERO deteriora la función endotelial y, concretamente, el incremento del estrés oxidativo se traduce en un desequilibrio en la producción de ON (54).

-Hiperhomocisteinemia: es un factor de riesgo cardiovascular independiente de otros factores de riesgo tradicionales (55). La hiperhomocisteinemia aumenta la formación de

peróxido de hidrógeno y radicales libres. Al mismo tiempo activa el factor V, XII con efecto procoagulante e inhibe la proteína C y reduce la formación de trombosmodulina, que actúa sobre el factor de Von Willebrand y conduce a un incremento de la agregación plaquetaria y, en consecuencia, provoca un déficit de ON que origina disfunción endotelial (56).

-Estado postprandial: el hombre moderno en las culturas occidentales vive en un estado postprandial la mayor parte del día. El estado postprandial se asocia a un aumento en la producción de ERO que origina una alteración de la función endotelial (57) en la que parece que algunos antioxidantes como la vitamina C, E (58) y los compuestos fenólicos (59) tienen un efecto atenuante.

-Lipoproteína a (Lp(a)): es una lipoproteína plasmática cuya estructura se asemeja a las LDL. La diferencia entre la Lp(a) y las LDL es la presencia de una molécula adicional de apolipoproteína a, con homología estructural similar al plasminógeno compitiendo por los lugares de unión en las células y con un papel aterogénico, capaz de deteriorar la función endotelial al igual que LDL (60). Esta lipoproteína se ha asociado con la cardiopatía isquémica y ahora es considerada como un factor de riesgo independiente para la enfermedad cardiovascular (61).

-Factores genéticos. La variabilidad genética de SONE y la relación con la enfermedad cardiovascular ha sido objeto de numerosos estudios. Hasta la fecha, los polimorfismos más estudiados y funcionalmente relacionados son: Glu298Asp (rs1799983) (5), 786T / C (rs2070744) (62), y el intrón 4 (63). La evidencia apoya un papel importante de estas variantes en el aumento de la susceptibilidad a las enfermedades cardiovasculares (64, 65). Cabe destacar, que uno de los polimorfismos más estudiados es el SON3 Glu298Asp (rs1799983), considerado para muchos autores como un factor de riesgo independiente para enfermedad coronaria (64), ligado a su vez con el desarrollo de aterosclerosis

carotídea (65).

1.6 EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN Y DISFUNCIÓN ENDOTELIAL.

A la hora de realizar un estudio y evaluación de la función endotelial disponemos de métodos tanto invasivos como no invasivos (**Tabla 1**). En un primer momento, la medición de la vasodilatación de la circulación coronaria tras la administración de acetilcolina fue el método de referencia para la evaluación de la función endotelial (66). El fundamento de esta técnica se basa en la capacidad de la acetilcolina para inducir la liberación de NO y provocar una vasodilatación de las arterias coronarias (67). Este método tiene importantes limitaciones: es invasivo, requiere especialización para realizar la técnica y adicionalmente tiene un elevado coste.

Por este motivo, surgió la necesidad de desarrollar método que permitiesen medir la función endotelial de manera sencilla y, en la medida de lo posible, no invasivos. Los métodos no invasivos de mayor relevancia que actualmente tenemos a nuestro alcance para el estudio de la función endotelial describen a continuación:

1.6.1 Análisis de la velocidad de la onda de pulso

La velocidad de la onda de pulso (VO) se relaciona con la distensibilidad del vaso sanguíneo (79).

Para llevarla a cabo se coloca un tonómetro manual con un sensor en su zona distal sobre la arteria radial. Es una técnica sencilla desde la perspectiva clínica y experimental, que ocasiona escasas molestias al paciente, aportando una evaluación reproducible de la onda de pulso central. La VO se correlaciona con el número de factores de riesgo y eventos cardiovasculares y la mortalidad en pacientes con enfermedad renal terminal y diabetes (68).

1.6.2 Vasodilatación de la arteria braquial dependiente de endotelio.

Fundamento teórico. Fisiología de la vasodilatación dependiente de endotelio.

La evaluación de la función endotelial utilizando este método se basa en que un aumento del flujo sanguíneo en una arteria induce una respuesta vasodilatadora de la que es responsable el endotelio (69). De este concepto y, como hemos mencionado previamente, la necesidad de evaluar la función endotelial con métodos sencillos y mínimamente invasivos, se diseñó una prueba capaz de medir la vasodilatación dependiente de endotelio en diferentes lechos vasculares periféricos. Así, en el año 1992 Celermajer diseñó el test de hiperemia reactiva post-isquemia para medir la vasodilatación dependiente de endotelio (VDE), también denominada vasodilatación mediada por flujo (VMF) (70).

El mecanismo de acción por el que se produce esta VDE que tiene lugar en el endotelio (71) se inicia con un aumento de la tensión y fuerzas de cizallamiento derivadas del aumento de flujo sanguíneo, que deforman la célula endotelial y activan los mecanorreceptores situados en su membrana celular. La mecanotransducción de la tensión de cizallamiento activa una señal en cascada que origina una producción de diferentes sustancias con acción vasodilatadora, denominadas factores relajantes derivados del endotelio (EDRF), de las cuales la que tienen una mayor relevancia son el ON (producido por la activación de la SONE), las prostaglandinas y el factor hiperpolarizante derivado de endotelio (EDHF). Las sustancias vasodilatadoras se difunden desde la célula endotelial hasta la célula muscular lisa, en la que la cascada de señalización origina un descenso de las concentraciones de calcio y una vasodilatación. Esta vasodilatación dependiente de endotelio es considerada un indicador de la biodisponibilidad de ON (72).

Metodología para el estudio de la vasodilatación de la arteria braquial mediada por flujo.

La correcta realización de esta técnica está descrita en “*The International Brachial Artery reactivity Task Force*“(73).

Preparación de los sujetos a estudio.

La prueba se lleva a cabo por la mañana, en ayunas de al menos 8h. Debe realizarse en una estancia tranquila en condiciones estables de temperatura. Los fármacos vasoactivos deben interrumpirse previamente, al menos 4 vidas medias, si las características clínicas del sujeto a estudio lo permiten. Por otro lado, 4-6 h antes del estudio los sujetos no deben consumir sustancias que puedan alterar la VMF como la cafeína y la vitamina C, debiendo evitar comidas con un contenido elevado en grasa y, además no deben realizar ejercicio físico ni fumar. Si el sujeto a estudio es una mujer, debe tenerse en cuenta la fase del ciclo menstrual ya que puede afectar a la VMF.

Equipo y adquisición de imágenes

Se utilizan sistemas de ultrasonido equipados con software vascular para imágenes bidimensionales, doppler color y espectral, un monitor de electrocardiograma interno y un transductor vascular de alta frecuencia. La frecuencia mínima del transductor es de 7 MHz. La resolución de la imagen puede aumentarse con transductores de frecuencia múltiple (7 a 12 MHz). Durante todo el proceso de captura de imágenes, el paciente es monitorizado electrocardiográficamente coincidiendo las mediciones con la onda R del electrocardiograma.

El paciente debe permanecer en reposo en posición supina durante al menos 10 minutos y debe mantenerse en la misma posición durante toda la prueba. Mediante ultrasonografía, se obtiene una imagen braquial. El brazo se fija mediante una fijación externa de modo que no se pueda mover a lo largo de la duración del período de estudio

(20-30 minutos). Se localiza la arteria braquial en la fosa antecubital a la derecha en el nivel de un segmento longitudinal no tortuoso en la que las capas de la íntima anterior y posterior puedan ser visualizadas y se toma una imagen basal. Durante el estudio se pueden anotar puntos de referencias a anatómicos como venas, fascias u otros elementos que permitan mantener la misma imagen.

Inducción de la VMF

Para iniciar el estímulo de flujo en la arteria braquial, un manguito de presión se coloca bien por encima de la fosa antecubital o en el antebrazo y es inflado a 300 mmHg o al menos 50 mmHg por encima de la presión arterial sistólica y se mantiene durante 4,5 minutos para inducir una isquemia transitoria, a continuación, el manguito se desinfla y la hiperemia reactiva se mide un minuto después. El cambio porcentual entre el diámetro después de desinflar el manguito y el basal se denomina vasodilatación de la arteria braquial mediada por flujo (DABMF) y equivale a la VMF en esta arteria. Todo el proceso desde los 30 segundos previos al inicio de la oclusión hasta 2 minutos después de finalizarla se graba de manera continua.

Aplicaciones en la práctica clínica y limitaciones.

La VMF es la técnica *gold standard* para el estudio de la función endotelial. Es interesante desde el punto de vista clínico ya que nos permite evaluar el funcionamiento del endotelio vascular periférico en presencia de determinadas condiciones clínicas como pueden ser la diabetes, prediabetes o enfermedad cardiovascular (arteriosclerosis carotídea (74), enfermedad vascular periférica (75), enfermedad coronaria (76) y enfermedad vascular cerebral (77)). Es importante destacar que es una técnica que tiene una sensibilidad del 71% y una especificidad del 81% para predecir la existencia de enfermedad coronaria (78). Al ser una técnica no invasiva, en la que cada examen tiene

un bajo coste, permite evaluar con facilidad intervenciones, bien con fármacos, alimentos, modelos dietéticos y ejercicio entre otros.

Sin embargo, esta técnica, tiene una serie de limitaciones que deben de ser tenidas en cuenta. En primer lugar, no existe consenso sobre si el manguito oclusor debe colocarse en el antebrazo o en la parte superior del brazo. Los estudios muestran como la oclusión “superior”, inducen un cambio porcentual mayor y además implica mayor complejidad técnica (79). Otras limitaciones relevantes son el elevado coste del equipo (no así de cada prueba realizada) necesario para realizar el estudio y la necesidad de personal adiestrado en la realización de la técnica. Es necesario también realizar un control exhaustivo de las condiciones ambientales para evitar cambios bruscos de temperatura, el ejercicio físico y el consumo de determinados alimentos. Finalmente, es una técnica compleja que es difícil de implementar en la práctica clínica diaria, y la naturaleza dinámica del endotelio reduce la reproducibilidad de los resultados y por tanto su uso se centra actualmente en el campo de la investigación.

1.6.3 Flujiometría láser doppler.

Esta técnica permite estudiar la función endotelial microvascular utilizando diferentes test de hiperemia reactiva tras oclusión arterial, test de hiperemia reactiva térmica, test farmacológico local y test de enfriado local. Entre sus ventajas destaca tratarse de una técnica sencilla de realizar, no requiere una alta especialización y puede llevarse a cabo en un periodo de 10 minutos, a la par que sus resultados son fácilmente reproducibles. Nuestro grupo, ha utilizado este método en varios estudios como marcador de la función endotelial periférica (23, 59), sin embargo, hasta la fecha no se ha correlacionado directamente con la función endotelial coronaria.

Técnica	Invasiva	Repetible	Predicción de eventos
Cateterismo cardíaco	+	-	+
Plestimografía venosa oclusiva	+	+/-	+
Ultrasonografía de la arteria braquial	-	+	+
Análisis de la onda de pulso	-	+	-
Flujometría láser doppler	-	+	-

Tabla 1. Métodos para evaluar la función endotelial. +, indica que existe evidencia en la literatura; -, indica que no existe evidencia.

1.7 DISFUNCIÓN ENDOTELIAL COMO MARCADOR DE RIESGO CARDIOVASCULAR.

La enfermedad cardiovascular, como ya hemos comentado con anterioridad, es la principal causa de muerte en los países desarrollados y, específicamente, la enfermedad coronaria sigue siendo la causa principal de muerte de etiología cardiovascular (1), a pesar de la reducción de la mortalidad alcanzada gracias los tratamientos médicos, intervencionistas y al control de los diferentes factores de riesgo cardiovascular (2). La alteración en la función endotelial es la precursora de los cambios morfológicos arterioscleróticos considerándose la disfunción endotelial como marcador temprano de arteriosclerosis y desempeña un papel fundamental en la aparición de isquemia miocárdica y en la aparición de las manifestaciones clínicas de la cardiopatía isquémica (80).

Tanto el desarrollo de arteriosclerosis como la presencia de los factores de riesgo que influyen en su génesis como hipertensión, hipercolesterolemia, diabetes, antecedentes familiares de enfermedad cardiovascular prematura, etc. se asocian a la aparición y desarrollo de disfunción endotelial. La existencia de disfunción endotelial como predictor de eventos cardiovasculares, ya sean infarto de miocardio, revascularización enfermedad cerebrovascular, artropatía periférica y muerte cardiovascular está bien documentada (74-77). A continuación, detallamos las evidencias disponibles que relacionan disfunción endotelial como predictor de eventos cardiovasculares.

Disfunción endotelial en síndrome coronario agudo.

El síndrome coronario agudo constituye un estado de agresión local intenso que modifica la función endotelial, de modo que aumenta la adhesión plaquetaria, la incidencia de vasoespasmos coronarios y el riesgo de rotura de placa intracoronaria (81). Los datos disponibles muestran como la disfunción endotelial está presente en la mayor parte de los pacientes que sufren un síndrome coronario agudo (82). La función endotelial periférica tras un síndrome coronario es un predictor independiente de eventos cardiovasculares mayores y, una mejoría/normalización posterior se relaciona con una menor tasa de eventos (83-85).

Disfunción endotelial tras revascularización coronaria.

La revascularización coronaria con *stent* induce lesiones agudas en el endotelio, de modo que la existencia de un endotelio disfuncionante y, en consecuencia, disfunción endotelial, incrementa el riesgo de trombosis de estos dispositivos (86). Además, los estudios realizados con *stent* farmacoactivos demuestran que existe una vasodilatación dependiente de endotelio reducida en la circulación coronaria tras la implantación de los mismos, sin embargo, los estudios realizados con *stent* de nueva generación muestran el

impacto negativo sobre la función endotelial coronaria es menor e incluso tiene efectos positivos sobre la función endotelial a largo plazo (87). En definitiva, si bien a corto plazo parece existir una disfunción endotelial coronaria post implantación de *stent* esta parece resolverse a lo largo del tiempo y además la DABMF, y no solo la función endotelial coronaria, es predictora de reestenosis de *stent* (88).

Disfunción endotelial en enfermedad coronaria estable.

En este subgrupo de pacientes la función endotelial es un predictor independiente de riesgo cardiovascular tal y como muestran tanto los estudios realizados por Halcox et al. (74) con 308 pacientes con y sin enfermedad coronaria en los que se realizó una evaluación directa de la función endotelial en la circulación coronaria, y el llevado a cabo por Heitzer et al (89), en el que se evaluó la función endotelial periférica.

Disfunción endotelial e insuficiencia cardíaca.

La función cardíaca se ve afectada en la cardiopatía isquémica, con una alta prevalencia de disfunción diastólica que se correlaciona con disfunción endotelial evaluada con la VMF (90). Además, esta alteración en las funciones reguladoras del endotelio modula la remodelación miocárdica tras un infarto agudo de miocardio a la par que se relaciona con la progresión de la enfermedad (91). Destacar que si bien la disfunción endotelial periférica está presente en paciente con insuficiencia cardíaca tanto de origen isquémico como por otras causas (92), la evidencia muestra que el papel de esta disfunción endotelial parece ser menos relevantes en los pacientes con insuficiencia cardíaca de origen no isquémico (93) probablemente debido a la elevada carga arteriosclerótica que presentan los pacientes con cardiopatía isquémica.

Disfunción endotelial y enfermedad cerebrovascular.

La disfunción endotelial evaluada ya sea mediante biomarcadores séricos, reactividad cerebrovascular a L-arginina o a través de DABMF se ha relacionado tanto

con la fisiopatología, subtipo y gravedad del ictus (94). Sin embargo, en cuanto a la VMF e ictus el número de estudios es limitado (95, 96). En concreto, un deterioro de la VMF parece tener especial relevancia en los ictus lacunares ya que es un predictor independiente (96) y por otro lado suele estar disminuida en los ictus de origen aterotrombótico con mayor frecuencia, observándose un menor deterioro en los pacientes en los que el origen es embólico (97). Además, un mayor deterioro de la VMF está relacionada con ictus de peor pronóstico tal y como mostró el estudio llevado a cabo por Santos-García et al.(95), en el que se midió la función endotelial en 120 pacientes con ictus isquémico agudo durante las primeras 48h, mostrándose como aquellos con una $VMF \leq 4,5\%$ presentaban peor evolución clínica.

Disfunción endotelial y arteriopatía periférica.

Los pacientes con enfermedad arterial periférica tienen una reducción VMF (98) que empeora en situación en las que aumenta la demanda de oxígeno a los miembros inferiores(99). Esta alteración de la función endotelial se relaciona con la gravedad de la insuficiencia circulatoria en la extremidad afectada y se traduce en un aumento plasmático de biomarcadores de inflamación (100). Estos dos fenómenos son predictores independiente de riesgo cardiovascular. En este sentido, cabe destacar un estudio llevado a cabo en 131 pacientes diagnosticados de arteriopatía periférica, en los que se realizó un seguimiento clínico durante 23 ± 10 meses (101). En este trabajo un deterioro de la VMF fue predictor independiente de riesgo cardiovascular, tanto ictus, infarto agudo de miocardio e isquemia aguda de miembros inferiores, incluso después de ajustar por índice tobillo brazo, que es el indicador de pronóstico más importante en la arteriopatía periférica. Otro estudio, realizado por Gokce et al. (75), arrojó resultados similares. En esta ocasión se analizaron un total de 199 pacientes que iban a ser sometido a revascularización de miembros inferiores y se realizó un seguimiento de 1,2 años tras la

cirugía. Estos investigadores demostraron como la VMF es un predictor independiente de eventos cardiovasculares y puede ser un marcador subrogado de riesgo cardiovascular.

Disfunción endotelial en sujetos con y sin arteriosclerosis subclínica.

El desarrollo de la aterosclerosis es un proceso dinámico continuo que comienza en una etapa temprana de la vida, tiene una larga fase inicial asintomática y progresión lenta inicial, posteriormente acelerada por la presencia de diferentes factores de riesgo (102), siendo la disfunción endotelial uno de los primeros signos reconocibles de su desarrollo, presente mucho antes de la manifestación de sus consecuencias. Por lo tanto, se ha propuesto que la disfunción endotelial constituye una primera etapa de la arteriosclerosis, en la que convergen la influencia de todos los factores de riesgo cardiovascular y puede el detonante de los eventos cardiovasculares.

En la **Tabla 2** se presentan los estudios más relevantes que ponen de manifiesto esta asociación.

Estudio	Población	Técnica	Resultado
FATE study (103).	Sujetos sin enfermedad cardiovascular (n=1574).	DABMF y velocidad de hiperemia.	La velocidad de hiperemia fue predictor de eventos cardiovasculares.
Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA Study) (104).	Sujetos sin enfermedad cardiovascular conocida (n=3026).	DABMF.	La modificación de DABMF más de un punto se asoció al aumento de eventos cardiovasculares.
Cardiovascular health study(105).	Sujetos sanos mayores de 65 años (n=5200).	DABMF.	Mayor supervivencia a 5 años en aquellos sujetos con DABMF mayor a la mediana que en aquellos en los que la DABMF era menor a la mediana.
NOMAS (106).	Asintomáticos, > de 40 años (n=819).	DABMF	OR 2,89 para pacientes con disfunción endotelial y síndrome metabólico y OR 1.64 para sujetos con disfunción endotelial.
Nitenberg (45).	Sujetos diabéticos sin cardiopatía isquémica frente a controles no diabéticos (n=128).	Función endotelial coronaria y “Cold pressor test”.	Los diabéticos con función endotelial anormal presentaban mayor incidencia de eventos cardiovasculares.

Tabla 2. Asociación de disfunción endotelial en sujetos con y sin arteriosclerosis subclínica y eventos cardiovasculares. Abreviaturas: OR: odds ratio; DABMF: vasodilatación de la arteria braquial dependiente de flujo.

2. PREDIABETES Y DIABETES MELLITUS

2.1 DEFINICIÓN DE PREDIABETES Y DIABETES MELLITUS

Prediabetes es el término utilizado para las personas cuyos niveles de glucosa no cumplen los criterios para diabetes mellitus (DM), pero que son demasiado altos para considerarse normales. Desde el punto de vista clínico y preventivo, identificar este estado previo de enfermedad supone adelantarnos al desarrollo de la misma.

En 1979, el *National Diabetes Data Group* (NDDG) y el Comité de Expertos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), propusieron una categoría clínica de “*intolerancia a la glucosa*” y las estadísticas de “*anormalidad previa*” y “*anormalidad potencial a la tolerancia a la glucosa*” (107). En ese momento no se utilizó el término prediabetes para hacer referencia a estas condiciones si bien se conocía que implicaban un mayor riesgo de desarrollo de diabetes mellitus tipo 2 (DM2).

En el año 2003 la ADA propone una definición específica de prediabetes, como “*aquel estado que precede al diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2 (DM2)*” (108). Esta condición es común, está en aumento epidemiológico y se caracteriza por elevación de los niveles plasmáticos de glucosa más allá de los valores normales sin alcanzar los niveles diagnósticos de diabetes. Se puede identificar mediante una prueba de tolerancia oral a la glucosa, mediante una hemoglobina glicosilada, o bien determinando el nivel de glucosa en ayunas. La mayoría de sujetos con cualquiera de estas dos condiciones, desarrollará diabetes manifiesta dentro de un período de 10 años.

En función de esta definición el criterio de prediabetes se realiza con la determinación de glucosa basal alterada (GBA) y/o intolerancia a la glucosa (ITG). Sin embargo, varios estudios muestran como existen diferencias entre los diagnósticos de GBA e ITG. En este sentido, en el estudio DECODE (*Diabetes epidemiology:*

collaborative analysis of diagnostic criteria in Europe), el 28% de los sujetos presentaron ambas alteraciones (109).

La prevalencia de prediabetes va en aumento de forma global y se asocia simultáneamente a resistencia a la insulina y disfunción de la célula β , que aparecen antes que las alteraciones en sangre puedan ser detectadas. Además, existe una relación de prediabetes con formas precoces de nefropatía, insuficiencia renal crónica, retinopatía diabética, neuropatía periférica, e incremento de complicaciones macrovasculares.

Desde el punto de vista terapéutico, si bien el tratamiento farmacológico ha demostrado ser eficaz, estudios previos han demostrado la importancia de la modificación del estilo de vida en la prevención y tratamiento de la prediabetes reduce el riesgo de desarrollar DM2 (110).

La DM2 es una alteración metabólica caracterizada por la existencia de hiperglucemia crónica acompañada de alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono, proteínas y lípidos. En la DM2 pueden existir alteraciones en la secreción de insulina, de resistencia a la acción de la hormona, o de ambas. En los casos en los que las cifras de glucemia se encuentran elevadas y los síntomas son evidentes el diagnóstico es sencillo, sin embargo, en la mayor parte de las ocasiones se realiza el diagnóstico inicial en pacientes asintomáticos y de manera incidental al realizar controles analíticos periódicos. La alta prevalencia de DM, la presencia de otras entidades que suelen acompañarla, como son la hipertensión y la hiperlipidemia, y las complicaciones crónicas que pueden derivarse de ella, hacen de esta patología uno de los principales problemas sanitarios en la sociedad actual.

2.2 EPIDEMIOLOGÍA DE LA PREDIABETES Y DE LA DIABETES

MELLITUS TIPO 2.

Se estima que alrededor de 470 millones de personas a nivel mundial padecerán prediabetes en el año 2030 (111). El riesgo de padecer DM2 en la población con niveles normales de glucosa es de un 0.7% al año. Un meta-análisis de estudios prospectivos hasta 2004 mostró la incidencia anual de DM2 en función de la presencia de ITG aislada (4-6%), GBA aislada (6-9%) y ambos (15-19%) (112).

Varios estudios han estimado una tasa de incidencia anual similar:

- *Diabetes Prevention Program (DPP) Outcomes Study*: 11% (113).
- *US Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA)*: 6 % GBA aislada (114).
- En un estudio población japonesa 9 % GBA, 7% HbA1c (115).

Se estima que alrededor de un 70% de los pacientes prediabéticos desarrollará diabetes. En población china prediabética (116), en un ensayo de prevención de 20 años de evolución el porcentaje fue del 90%.

Por otro lado, los niveles de glucemia basales en la población general están incrementándose rápidamente en los países desarrollados y llamativamente en los países en vías de desarrollo. De este modo, países como Sur y Centro de Asia, América Latina, Caribe y Norte de África son los que presentan mayores niveles respecto a los países occidentales (117). Finalmente, se ha demostrado que existe, gracias a la modificación del estilo de vida y/o tratamiento farmacológico, la posibilidad de reversión de pacientes prediabéticos a una situación de normalidad glucémica. Cabe destacar un estudio observacional llevado a cabo en una cohorte de prediabéticos ingleses, con tasas de reversión de hasta 55-80% a lo largo de 10 años. En otras series el porcentaje observado ha sido inferior el 20% en *DPP Outcomes Study* (113).

La DM2 es la forma más frecuente de DM en la población representando el 90-95% de todos los pacientes que padecen diabetes. La incidencia de DM presenta un aumento constante en los países desarrollados, pero es destacable que la DM2 se ha convertido en un problema grave en los países en vías desarrollo. La prevalencia global de DM en el año 2017 en adultos mayores de 18 años fue de 454 millones de sujetos, concentrándose el mayor número de pacientes entre los 40 y 59 años (118). Por otro lado, cabe destacar que la proporción de diabetes no diagnosticada es variable, ya que del 24% al 62% de las personas que padecen diabetes no han sido diagnosticadas ni tratadas previamente (119).

Existe una relación lineal entre la tasa de obesidad y diabetes, de manera que los países con mayores tasas de obesidad son los que presentan mayores tasas de diabetes y si bien la edad constituye un factor de riesgo para el desarrollo de DM2, el aumento de la obesidad en niños, adolescentes y jóvenes constituye un nuevo problema de salud pública (118). En España, los datos ofrecidos por el estudio Di@bet.es, muestran como la prevalencia de diabetes en Andalucía es un 4% mayor que en el resto de España. Esta mayor prevalencia se debe a la alta tasa de obesidad, el estilo de vida sedentario y nivel socio-económico bajo.

2.3 CRITERIOS DIAGNÓSTICOS DE PREDIABETES Y DIABETES

Inicialmente no existía uniformidad en los criterios diagnósticos para definir DM y el resto de alteraciones del metabolismo hidrogenado. De la necesidad de concretar y establecer estos criterios nacen las propuestas realizadas por el NDDG (120) , y la OMS (121). Posteriormente, se ha ido profundizando en el estudio y conocimiento de la etiología y fisiopatología de la DM, surgiendo la necesidad de revisar y homogeneizar los criterios diagnóstico con la consiguiente revisión de los valores de glucemia basal y los

resultados del test de sobrecarga oral de glucosa (SOG), emanando de esta revisión los sucesivos documentos publicados por la ADA.

Los criterios vigentes en la actualidad para el diagnóstico de prediabetes se muestran a continuación, y para establecer, el diagnóstico de prediabetes debe de cumplirse al menos uno de los tres criterios:

CRITERIOS DIAGNÓSTICOS DE PREDIABETES
○ Glucemia en ayunas 100-125 mg/dL
○ Glucemia a las 2h de SOG 140-200 mg/dL
○ HbA1c 5,7-6,4%

Tabla 3. Criterios diagnósticos de diabetes. Abreviaturas: SOG: test de sobrecarga oral de glucosa; HbA1c: hemoglobina glicosilada.

El diagnóstico actual de DM2 se establece en presencia de una de las siguientes situaciones (122):

- 1) Glucemia en ayunas ≥ 126 mg/dL (ayunas un período sin ingesta de al menos 8 horas)
- 2) Glucemia a las 2h SOG ≥ 200 mg/dL.
- 3) HbA1c $\geq 6,5\%$.
- 4) Glucemia al azar ≥ 200 mg/dL en presencia de clínica cardinal de diabetes.

En ausencia de hiperglucemia con descompensación metabólica aguda, los criterios deben de repetirse una segunda vez. Según las recomendaciones de la ADA, la SOG no está recomendada como método rutinario para el diagnóstico de diabetes en la práctica clínica diaria, mientras que, la OMS recomienda su realización.

2.4 DISFUNCIÓN ENDOTELIAL EN LA PREDIABETES Y LA DIABETES MELLITUS

Como hemos mencionado anteriormente, la hiperglucemia mantenida provoca un incremento de la formación de AGEs y un aumento del estrés oxidativo (44), existiendo en consecuencia, en los sujetos prediabéticos y diabéticos una alteración tanto en la síntesis como en la biodisponibilidad del ON, provocando, a largo plazo, que las células endoteliales pierdan su funcionalidad, deteriorándose la integridad del endotelio vascular. Este fenómeno, está presente en la circulación coronaria de los pacientes diabéticos, en los que, en lugar de sufrir una vasodilatación ante acetilcolina aparece una vasoconstricción paradójica (45).

En la DM tipo 1, la disfunción endotelial se asocia a un mal control metabólico (123). Este deficiente control metabólico es fruto de una disminución de la reactividad a acetilcolina, la elevación de marcadores de inflamación y trombosis (PCR, PAI-1) que incrementan el riesgo de la aparición de las complicaciones derivadas de la DM. De este modo, la presencia de disfunción endotelial en el paciente DM tipo 1, que parece ser un fenómeno tardío en estos pacientes (124), se asocia a complicaciones macro y microvasculares (125).

En el paciente con DM2, la disfunción endotelial es consecuencia, además de un estado de hiperglucemia mantenida, resultado de la existencia de resistencia a insulina e hiperinsulinismo y, la progresión de esta resistencia es paralela a la de la disfunción endotelial y al desarrollo de arteriosclerosis (126). La glucotoxicidad inducida por la presencia de hiperglucemia mantenida da como resultado la formación de AGEs que estimulan la producción de ERO, lo que finalmente conduce a una disminución de la biodisponibilidad de ON(127). Adicionalmente, los AGEs inducen cambios en la matriz de células endoteliales que alteran la elasticidad vascular e interaccionan con los

macrófagos promoviendo arteriosclerosis (128). Por otro lado, la lipotoxicidad induce estrés oxidativo a través de la presencia de ácidos grasos libres, concretamente, estimulan la NADPH oxidasa aumentando la producción de ERO y disminuyendo la SONE y la producción de ON (129).

En la prediabetes, de manera similar a lo que ocurre en el paciente DM2, la hiperglucemia, la resistencia a la insulina y la inflamación causan alteraciones en la función vasomotora endotelial y función fibrinolítica, lo que facilita la progresión de prediabetes a DM (130).

2.4.1 Evidencias que apoyan intervenciones dietéticas para mejorar la función endotelial en el paciente con prediabetes y diabetes.

La intervención dietética es capaz de modular la sensibilidad a insulina y la función endotelial. En este sentido hay estudios que demuestran el efecto beneficioso de los polifenoles añadidos a la dieta, como el té verde, que actúan imitando la acción de la insulina, estimulan la captación de la glucosa e inhiben la gluconeogénesis hepática (131), y por otro lado regulan la actividad de la SONE y la producción de ON en el endotelio (132), contribuyendo a sus propiedades antidiabéticas, sensibilizadoras de insulina e hipolipemiente (133). Otro polifenol, la hesperidina, induce una disminución en la oxidación de ácidos grasos libres, triglicéridos y marcadores inflamatorios (134). Finalmente, los flavonoides, tienen un efecto positivo sobre la actividad de la SONE, mejorando la sensibilidad a insulina y la función endotelial (135). Otra vía implicada en la modulación de la resistencia a la insulina es la mediada por los AGEs, postulándose que una terapia basada en la reducción de los mismos, que minimice la inflamación y la arteriosclerosis constituya una diana terapéutica futura (135). En este sentido, nuestro grupo ha demostrado como una dieta rica en grasa monoinsaturada reduce la concentración sérica de AGEs y regula la expresión génica implicada en el metabolismo

de los mismos, remarcando el papel de la dieta como parte fundamental del terapéutico fundamental en la lucha contra la enfermedad cardiovascular (136). Berk et al (137), llevaron a cabo un estudio con 131 pacientes diabéticos con sobrepeso y obesos sometidos a una dieta con restricción calórica para evaluar los cambios en el peso y en los diferentes factores de riesgo cardiovascular. La pérdida de peso inducida por esta dieta, redujo los niveles de biomarcadores de disfunción endotelial e inflamación en estos independientemente del uso de medicamentos y el tiempo de evolución de diabetes. Otro estudio (138), realizado en pacientes con DM2, evaluó el efecto de una dieta rica en fibra sobre la función endotelial. En concreto aleatorizaron a 14 pacientes a seguir una dieta rica en arroz integral y a 14 pacientes a una con arroz blanco durante 8 semanas. Las pacientes que consumieron arroz integral mejoraron su función endotelial en comparación con los pacientes que consumieron arroz blanco, teorizando los autores que este efecto se debiese a una menor incidencia de excursiones glucémicas. Un fenómeno similar, está descrito también en paciente con prediabetes, en los que el consumo de arroz con almidón resistente se asoció con una mejoría de la función endotelial con reducción de la glucosa postprandial y el estrés oxidativo en comparación con el control (139). Por otro lado, una intervención dietética basada en pescado mejora la función endotelial en mujeres posmenopáusicas con DM2 (140). Finalmente, destacar el trabajo realizado por Ryan et al. (141) en el que el cambio de una dieta rica en grasas poliinsaturadas a una rica en grasa monoinsaturada de tipo mediterráneo en pacientes con DM2 redujo la resistencia a la insulina y mejoró la función endotelial, lo que sugiere una explicación de los beneficios anti-aterogénicos de una dieta tipo mediterránea.

En resumen, si bien es cierto que actualmente disponemos evidencias que sugieren los beneficios de la dieta o de nutrientes individuales para mejorar la función

endotelial en sujetos con diabetes y prediabetes, son necesarios estudios a gran escala que permitan confirmar los datos y hallazgos arrojados por estudios previos.

CAPÍTULO 3
HIPÓTESIS

III.HIPÓTESIS

La enfermedad cardiovascular continúa siendo la primera causa de muerte en los países desarrollados. Lejos de disminuir, los factores de riesgo que conducen a su desarrollo como la diabetes, continúan en ascenso. Por lo tanto, las actuales estrategias terapéuticas y preventivas no están siendo efectivas para frenar esta pandemia y es necesario encontrar nuevas dianas que ayuden al control de esta enfermedad.

En este sentido, es conocido que la disfunción endotelial desempeña un papel clave en el desarrollo de la enfermedad cardiovascular. Es también un hecho comprobado que aproximadamente el 50% en la reducción de la mortalidad por las enfermedades cardiovasculares se debe a un control de los diferentes factores de riesgo, por lo que es imperativo identificar a los pacientes de mayor riesgo cardiovascular y centrar los esfuerzos preventivos en ellos, siendo el estudio no invasivo de la función endotelial es una herramienta que puede proporcionarnos la información necesaria para este fin.

Es conocido que sobre la reactividad vascular pueden influir factores relacionados con la dieta, sin embargo, hasta la fecha, no existen estudios a largo plazo que muestren los efectos de la dieta sobre la función endotelial en pacientes de alto riesgo cardiovascular y que además puedan presentar otros factores de riesgo sobreañadidos como son la coexistencia de prediabetes o diabetes.

Nuestra **hipótesis** es demostrar que el consumo a largo plazo (1,5 años) de dos modelos de alimentación saludable, uno de tipo Mediterráneo (22% de grasa monoinsaturada) y otro pobre en grasa (<30% grasa total y 12% de grasa monoinsaturada), inducen una mejoría de la función endotelial en pacientes de alto riesgo cardiovascular del estudio CORDIOPREV. Adicionalmente, dentro de esta cohorte pretendemos demostrar que el consumo a largo plazo de ambos modelos de alimentación mejora la función endotelial en pacientes con diabetes y prediabetes. La hipótesis nula es

que nuestro estudio no logre demostrar que estos modelos de alimentación provocan una mejoría de la función endotelial.

CAPÍTULO 4
OBJETIVOS

IV.OBJETIVOS

1. OBJETIVO PRINCIPAL:

Investigar si el consumo a largo plazo, durante un año y medio, de una dieta Mediterránea [$>35\%$ de las calorías de grasa (22% monoinsaturada) y $<50\%$ de carbohidratos] o de una dieta pobre en grasa [$<30\%$ grasa (12% monoinsaturada) y $>55\%$ de calorías de carbohidratos] se asocia con una mejoría de la función endotelial en pacientes de la cohorte del estudio CORDIOPREV (NCT00924937).

2. OBJETIVOS SECUNDARIOS:

Objetivo 1. Evaluar si el consumo a largo plazo de ambos modelos de alimentación se asocia a una mejoría de la función endotelial dependiendo del estatus diabético de la misma población (pacientes con diabetes tipo 2, prediabetes y sin diabetes).

Objetivo 2. Evaluar si el consumo a largo plazo de uno de los modelos de alimentación induce un mayor incremento sobre la mejoría de la función endotelial en comparación con el otro, tanto en la población total como en los diferentes subgrupos de población según el estatus diabético.

CAPÍTULO 5
POBLACIÓN, DISEÑO Y
METODOLOGÍA

V. POBLACIÓN, DISEÑO Y METODOLÓGÍA

1. DISEÑO DEL ESTUDIO

Nuestro trabajo se ha realizado dentro del marco del estudio CORDIOPREV (NCT00924937). El estudio CORDIOPREV es un ensayo clínico, aleatorizado, simple ciego que incluye 1002 pacientes con enfermedad coronaria, y, por tanto, en prevención secundaria. El objetivo principal del estudio es evaluar la eficacia de una dieta Mediterránea rica en grasa monoinsaturada procedente del aceite de oliva, en comparación con una dieta pobre en grasa para prevenir eventos cardiovasculares y disminuir la mortalidad en pacientes con enfermedad coronaria previa.

Los pacientes fueron reclutados desde noviembre de 2009 hasta febrero de 2012, principalmente en el Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba, España, pero también de otros hospitales de la provincia de Córdoba y Jaén. Los detalles del estudio se encuentran recogidos en la web *clinicaltrials.gov* (NCT00924937) y, adicionalmente, han sido publicados con anterioridad (142).

El protocolo del ensayo y todas sus enmiendas han sido aprobados por el comité ético del Hospital Universitario Reina Sofía siguiendo las indicaciones de la Declaración de Helsinki y el código de buenas prácticas clínicas. Para asegurar que la principal fuente de grasa en la dieta Mediterránea fuese el aceite de oliva, a todos los pacientes incluidos en esta dieta se les proporcionó este alimento donado por Hojiblanca® y la Fundación Patrimonio Comunal Olivarero®. Por otro lado, a los pacientes incluidos en el grupo de la dieta pobre en grasa se les proporcionaron lotes de alimentos ricos en hidratos de carbono, constituyendo el aceite de girasol la fuente grasa principal. Ninguno de los sponsors mencionados tiene ninguna intervención en el diseño, análisis y obtención de resultados del estudio.

2. POBLACIÓN DEL ESTUDIO

Los pacientes incluidos en el estudio fueron seleccionados si tenían edades entre los 20 y los 75 años, un evento coronario de más de 6 meses de evolución con respecto a la fecha de su inclusión en el estudio y disposición para seguir el ensayo durante la duración del mismo. Los criterios de inclusión y exclusión se describen a continuación:

CRITERIOS DE INCLUSIÓN
1. Firma de consentimiento informado aprobado por el Comité de Ética del Hospital Universitario Reina Sofía.
2. Criterios diagnósticos: <ul style="list-style-type: none">- Síndrome coronario agudo:<ul style="list-style-type: none">a- Infarto agudo de miocardiob- Angina inestable- Enfermedad coronaria crónica de alto riesgo.
CRITERIOS DE EXCLUSIÓN
1. Edad <20 ó >75 años (o esperanza de vida inferior a 5 años).
2. Pacientes con una revascularización programada hace menos < 6 meses.
3. Grado II-IV de insuficiencia cardíaca. Disfunción ventricular izquierda con una FEVI < 35 %.
4. Incapacidad o impedimento para seguir el protocolo.
5. Pacientes con diabetes tipo 2 no controlada, o aquellos con insuficiencia renal con creatinina plasmática por encima de 2 mg/dl.
6. Otras patologías crónicas: enfermedades psiquiátricas, insuficiencia renal crónica, hepatopatía crónica, neoplasia activa, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y enfermedades digestivas.
7. Participantes en otros estudios.

Tabla 4. Criterios de inclusión y exclusión del estudio CORDIOPREV. Modificado de Delgado-Lista J. *Am Heart J.* 2016;177: 42–50.

El diagrama de flujo de pacientes en el estudio CORDIOPREV (142, 143) se muestra en la **Figura 2**. Las variables usadas para la aleatorización fueron: 1) género (hombre/mujer); 2) edad (≤ 60 años / mayor 61 años) y 3) historia de infarto agudo de miocardio previo (si/no). Con las combinaciones posibles de esas 3 categorías se crearon

8 grupos con los que se aleatorizó a los pacientes en los 2 grupos de intervención. Este proceso se llevó a cabo por la Escuela Andaluza de Salud Pública, expertos en el proceso de aleatorización de pacientes en estudios de intervención. La dieta asignada al paciente fue comunicada por teléfono utilizando un sistema de codificación por el que el grupo de la Escuela Andaluza de Salud Pública encargado de la aleatorización asignaba al paciente a uno u otro grupo para mantener el ciego simple.

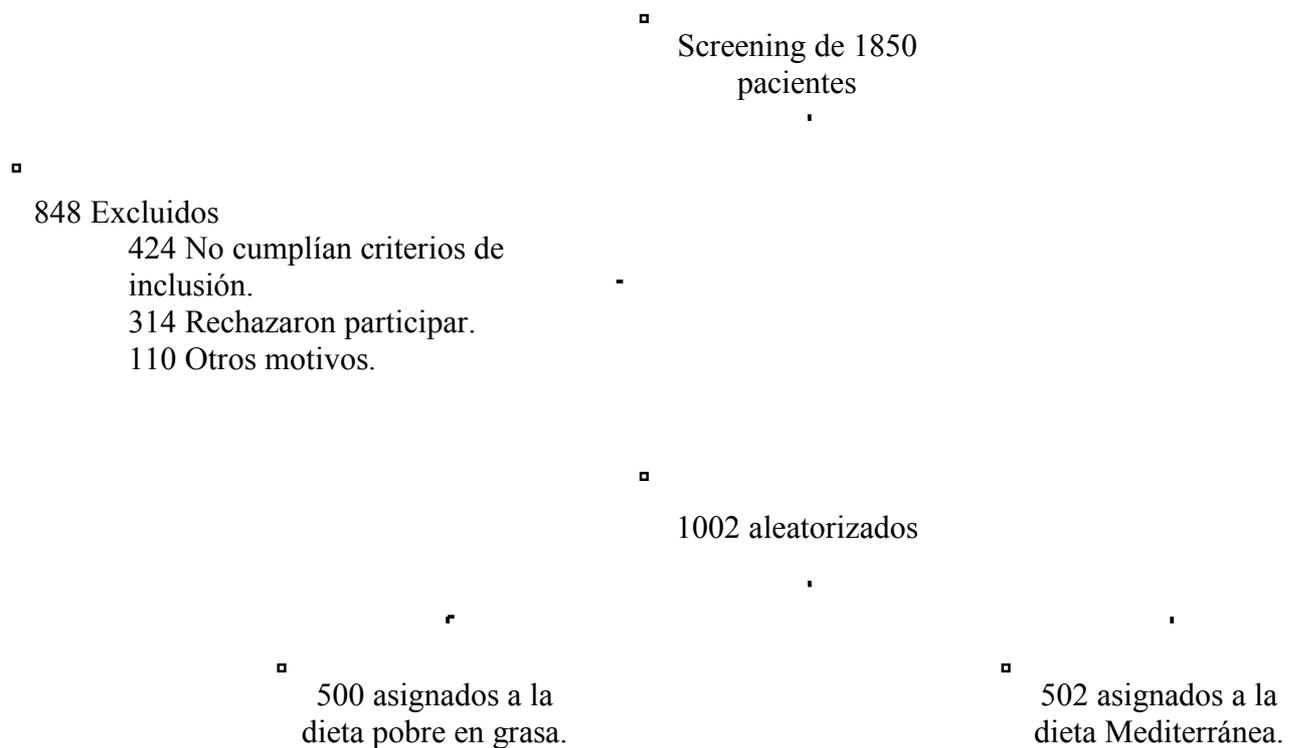


Figura 2. Diagrama de flujo de pacientes del estudio CORDIOPREV. Modificado y adaptado de Alcalá-Díaz JF. *PLoS One.* 2014;9(5): e96297

Para estudiar los objetivos secundarios del presente proyecto, los pacientes fueron clasificados en tres subgrupos atendiendo a su condición diabética (no diabetes, diabetes y prediabetes) siguiendo los criterios diagnósticos actuales establecidos por la ADA (144).

3. DIETA. EVALUACIÓN DIETÉTICA Y VISITAS DE SEGUIMIENTO.

La intervención dietética del estudio CORDIOPREV es llevada a cabo por dietistas que se encargan de proporcionar las directrices a seguir en cada grupo de intervención, de la elaboración del material escrito para proporcionarlo en las sesiones grupales periódicas a los participantes en el estudio y de la revisión de los cuestionarios de adherencia a la dieta. De este modo, durante el primer año de estudio se diseñaron varias sesiones de grupo con el fin de realizar un seguimiento exhaustivo de los pacientes, discutir problemas encontrados durante el seguimiento y proporcionar soluciones a los mismos, todo ello para lograr adaptar los hábitos dietéticos de cada individuo al patrón dietético por encima de nutrientes concretos.

3.1 MODELOS DIETÉTICOS.

Los patrones dietéticos del estudio CORDIOPREV incluyen alimentos de todos los grandes grupos alimenticios sin una restricción específica sobre el consumo calórico. La principal diferencia entre los 2 grupos de intervención se encuentra en la ingesta de grasa total, así como en su composición cualitativa, de este modo, la dieta Mediterránea le contenido graso viene representado por alimentos ricos en grasa monoinsaturada, como el aceite de oliva, mientras que en la dieta baja en grasa el aporte de grasa está limitado.

3.1.1 DIETA MEDITERRÁNEA

La composición cualitativa de esta dieta se basa en un aporte calórico total de grasas del >35% (22% monoinsaturada, 6% poliinsaturada, <10% saturada), <50% de hidratos de carbono y un 15% de proteínas. Las recomendaciones de este grupo de intervención están basadas fundamentalmente en el cuestionario de 14 ítems de adherencia a la dieta Mediterránea. Las recomendaciones suministradas a los participantes de este grupo, detalladas en el proyecto completo del estudio disponible en la web www.cordioprev.es, son:

- 1) Consumo abundante de aceite de oliva virgen extra tanto para cocinar como para la elaboración de ensaladas (≥ 4 cucharadas diarias; 20 g).
- 2) Consumo de 2 o más raciones diarias de vegetales (1 ración = 200 g) y al menos una de las raciones debe ser cruda.
- 3) Incluir al menos 3 piezas de fruta (tamaño medio = 125 g) al día predominando el consumo de frutas como postre.
- 4) Comer legumbres en al menos 3 comidas a la semana (150 g por ración cocinada).
- 5) Consumir más de 3 raciones (1 ración = 100-150 g) por semana de pescado variado incluyendo pescado graso.
- 6) Consumo de nueces semanalmente en pequeñas cantidades, aproximadamente (30 g).
- 7) Ingesta de pan integral y cereales en las comidas.
- 8) Uso de productos lácteos bajos en grasa, con una preferencia por los productos lácteos fermentados.
- 9) Reducir el consumo de carne y tomar preferiblemente carnes blancas (sin piel). Evitar carnes rojas o procesadas. Consumo de huevos varias veces a la semana (2 a 4 unidades).
- 10) Incluir platos que usen "sofrito" (tomate, cebolla, ajo, especias y todo ello cocinado a fuego lento con aceite de oliva).

La dieta Mediterránea incluye una cantidad moderada de vino durante las comidas solo si el paciente es consumidor habitual de vino. Esta cantidad no debe superar una 1 copa de vino al día (8g de alcohol) para las mujeres y no más de 2 copas diarias (16 g de alcohol) para los hombres.

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

Para evaluar el grado de adhesión a esta dieta, se realizó el cuestionario de 14 ítems de adherencia a la dieta Mediterránea (9) (**Tabla 5**). Consta de 2 preguntas sobre hábitos alimenticios, 8 preguntas sobre la frecuencia de consumo de alimentos propios de la dieta mediterránea y 4 acerca del consumo de alimentos no recomendados. Cada pregunta se puntúa 0 o 1. Una puntuación ≥ 9 puntos corresponde a una alta adherencia a la dieta Mediterránea.

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

Tabla 5. Cuestionario 14 ítems de adherencia a la Dieta Mediterránea.

3.1.2 DIETA POBRE EN GRASA

En este grupo de intervención, el aporte calórico graso no supera el 30% (12% monoinsaturada, 8% poliinsaturada, <10% saturada), 57% hidratos de carbono y 15% proteínas, siguiendo las recomendaciones de la guía de la *American Heart Association* y el *National Cholesterol Education Program* (145). Las diferencias con el grupo de dieta Mediterránea se basan también en el cuestionario 9 ítems de adherencia a la dieta baja en grasa y son:

- a) Reducir la cantidad de aceite usado para cocinar y ensaladas (≤ 2 cucharadas al día, 10 g).
- b) Eliminar la grasa visible (o la piel) del pollo, pato, cerdo, cordero etc. antes o después de cocinar (sopas y platos cocinados).
- c) No comer más de 1 porción de carne roja (1 ración = 150 g) por semana.
- d) Consumir productos lácteos bajos en grasa y en especial fermentados. Se debe consumir 2-3 porciones por día.
- e) Consumo de pescado magro en lugar de pescado graso o en conserva (<1 porción por semana, 50 g).
- f) Limitar el consumo de frutos secos (<1 porción por semana, 10 g).
- g) Suprimir el consumo de bollería industrial.
- h) Emplear técnicas de cocinado sin aceite.

Las recomendaciones sobre el consumo de vegetales, huevos y carnes blancas son las mismas que las que se utilizan en el grupo de la dieta Mediterránea.

En este caso, para evaluar el grado de cumplimiento de esta dieta se realizó el cuestionario de 9 ítems de adherencia a la dieta pobre en grasa elaborado en el estudio PREDIMED (9) (**Tabla 6**).

PREGUNTAS	
1. ¿Cuánto aceite consume a diario (incluido para freír, ensaladas, desayuno, etc.)? (1 cucharada=10ml)	Menos de 2 cucharas=1 punto
2. ¿Elimina la grasa visible (o la piel) del pollo, pato, cerdo, cordero, etc. ¿Antes o después de cocinar (sopas y platos cocinados)?	Si=1 punto.
3. ¿Cuántas comidas rucas en grasa tipo hamburguesa, salchicha, embutido, bacón, etc., consume por semana? (ración carne=100g; embutido o bacón=30g)	1 o menos=1 punto
4. ¿Cuántas raciones de mantequilla, margarina, manteca de cerdo, mayonesa, nata o helado consume por semana (ración=12g; helado=100g)	1 o menos=1 punto
5. ¿Consume productos bajos en grasa de forma exclusiva?	Si= 1 punto
6. ¿Cuántas veces por semana prepara pasta, arroz, patq6qw, legumbres utilizando “sofrito” (aceite de oliva), bacón, salami o carnes grasas como la de cerdo o cordero?	2 o menos=1 punto
7. ¿Cuántas veces por semana consume pescado graso o pescado o conservas de pescado en aceite?	1 o menos =1 punto
8. ¿Cuántas raciones de bollería industrial, como tarta, galletas o natillas consume por semana? (ración de tarta=80g; 6 galletas=40g)	1 o menos=1 punto
9. ¿Cuántas veces por semana consume frutos secos (incluyendo cacahuetes), patatas fritas u otros snacks?	1 o menos=1 punto.

Tabla 6. Cuestionario 14 ítems de adherencia a la dieta pobre en grasa

4. VISITAS DURANTE LA INTERVENCIÓN

4.1 BASAL

Las valoraciones basales de los participantes se realizaron en 2 visitas. En la primera el paciente se entrevistó con la dietista durante 1 hora aproximadamente y se llevó a cabo una valoración por el especialista en Medicina Interna realizándose un cuestionario clínico, exploración física y la firma de los consentimientos informados. Posteriormente, se realizó la extracción de una analítica general, un test de resistencia a la insulina y una lipemia postprandial tras una sobrecarga grasa.

Junto con una explicación detallada acerca de la intervención con cada una de las

dietas se realizaron los siguientes cuestionarios:

- 1) Cuestionario de frecuencia de consumo (FFQ) (146) que permite determinar la ingesta dietética del año previo a la inclusión del paciente.
- 2) Cuestionario para valorar la adherencia a la dieta baja en grasa y la dieta Mediterránea.
- 3) Versión española del “*Minnesota physical activity questionnaire*” (147) que evalúa la actividad física.
- 4) Cuestionario SF36 (148), que valora la calidad de vida de los participantes.

En esta visita se llevó a cabo la toma de medidas antropométricas: peso, talla, índice de masa corporal y perímetro de cintura.

En la segunda visita, se revisaron los cuestionarios realizado previamente y suministraron recomendaciones dietéticas específicas a cada grupo de intervención dietética adaptando estas recomendaciones a las características clínica de los participantes. Adicionalmente, a los participantes se les proporciono documentación informativa con recomendaciones dietéticas, estrategias para lograr modificar los hábitos dietéticos.

4.2 VISITAS DE SEGUIMIENTO Y SESIONES GRUPALES.

El objetivo de estas visitas es garantizar un consumo calórico adecuado y reforzar la adherencia a la dieta. Cada visita de seguimiento incluye el cuestionario médico, la evaluación de la intervención, la antropometría y provisión de alimentos en cada grupo de intervención.

Se llevaron a cabo sesiones de grupo periódicas organizadas por separado para cada brazo de intervención. Los especialistas en nutrición del estudio CORDIOPREV se encargaban de explicar diversos temas relacionados con su grupo de intervención y por otro lado resolvieron dudas de los pacientes, haciendo recordatorios de las

recomendaciones dietéticas de cada grupo. Estas sesiones estaban compuestas por aproximadamente unos 20 participantes y tenían una duración aproximada de 2 horas.

5. ESTUDIO DE LA FUNCIÓN ENDOTELIAL.

La DABMF se evaluó en los pacientes al inicio y tras un año y medio de estudio, aleatorizados a uno de los dos patrones alimentación saludables. La distribución de los pacientes que completaron estudios al inicio y en el seguimiento en cada uno de las dietas se muestra en la **Figura 3**.

La ecografía de la arteria braquial se realizó utilizando las guías para la evaluación ecográfica de la VMF elaborada por “*The International Brachial Artery reactivity Task Force*” (73). La prueba se realizó en condiciones estables de temperatura, sin realizar ejercicio físico durante al menos 48h, sin ingesta de tabaco o alcohol y sin interrumpir la toma de su medicación habitual y debía permanecer en supino hasta que la imagen final fuera registrada. El brazo se inmovilizó para evitar el movimiento durante todo el período de estudio (20-30 min) utilizando un dispositivo estereotáxico para inmovilizar el brazo y el transductor. Posteriormente se localizó la arteria braquial en la fosa antecubital derecha en un segmento longitudinal no tortuoso, en el que las capas íntima anterior y posterior se podían localizar con un transductor de alta resolución de 12 MHz a través de equipo ultrasonográfico Philips® EnVisor HD, y se obtuvieron imágenes basales. Durante la adquisición de la imagen basal, se identificaron marcas anatómicas (venas y planos fasciales) para ayudar a mantener la misma imagen. Después de un año y medio, los técnicos verificaron estas imágenes para garantizar la ubicación anatómica correcta en la fosa antecubital derecha. Posteriormente, el manguito de presión se infló a 300 mmHg y se mantuvo durante 4,5 minutos (**Figura 4**), tras lo cual se procedió a desinflar el manguito, teniendo lugar un fenómeno de hiperemia reactiva, y se midió nuevamente el diámetro de la arteria braquial un minuto después. Todo el proceso desde 30 segundos

antes de desinflar el manguito hasta 2 minutos después fue grabado en video. El cambio porcentual entre los diámetros después de desinflar el manguito (D2) y el diámetro basal, es decir, en el período de preoclusión (D1), calculado como $[(D2-D1) / D1] \times 100\%$, se definió DABMF. Los estudios de ultrasonografía fueron realizados por dos técnicos. La variabilidad intraobservador e interobservador fue del 8,85% y del 8,7%, respectivamente. Las imágenes se importaron y almacenaron en el disco duro del dispositivo de ultrasonografía. Durante todo el proceso de captura de imágenes, el paciente es monitorizado electrocardiográficamente coincidiendo las mediciones con la onda R del electrocardiograma.

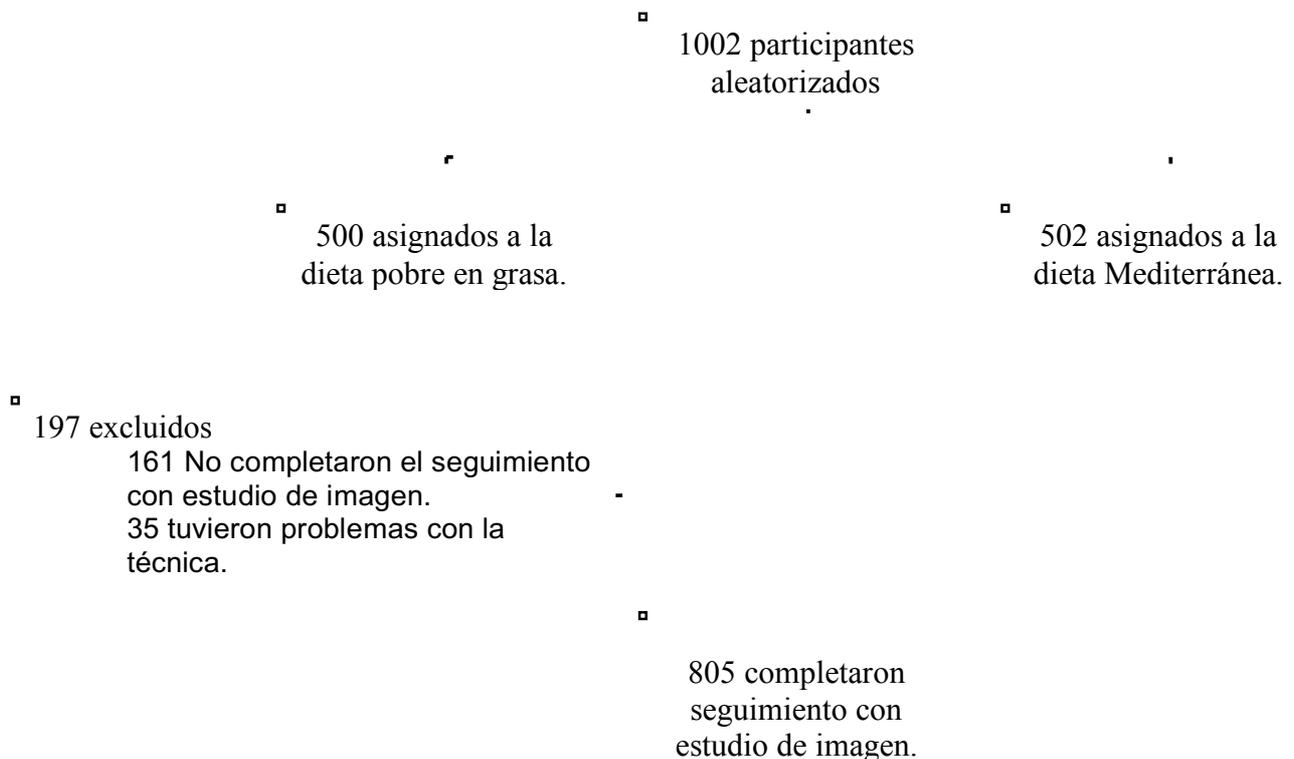


Figura 3. Diagrama de flujo del estudio de la función endotelial con ultrasonografía en el CORDIOPREV.

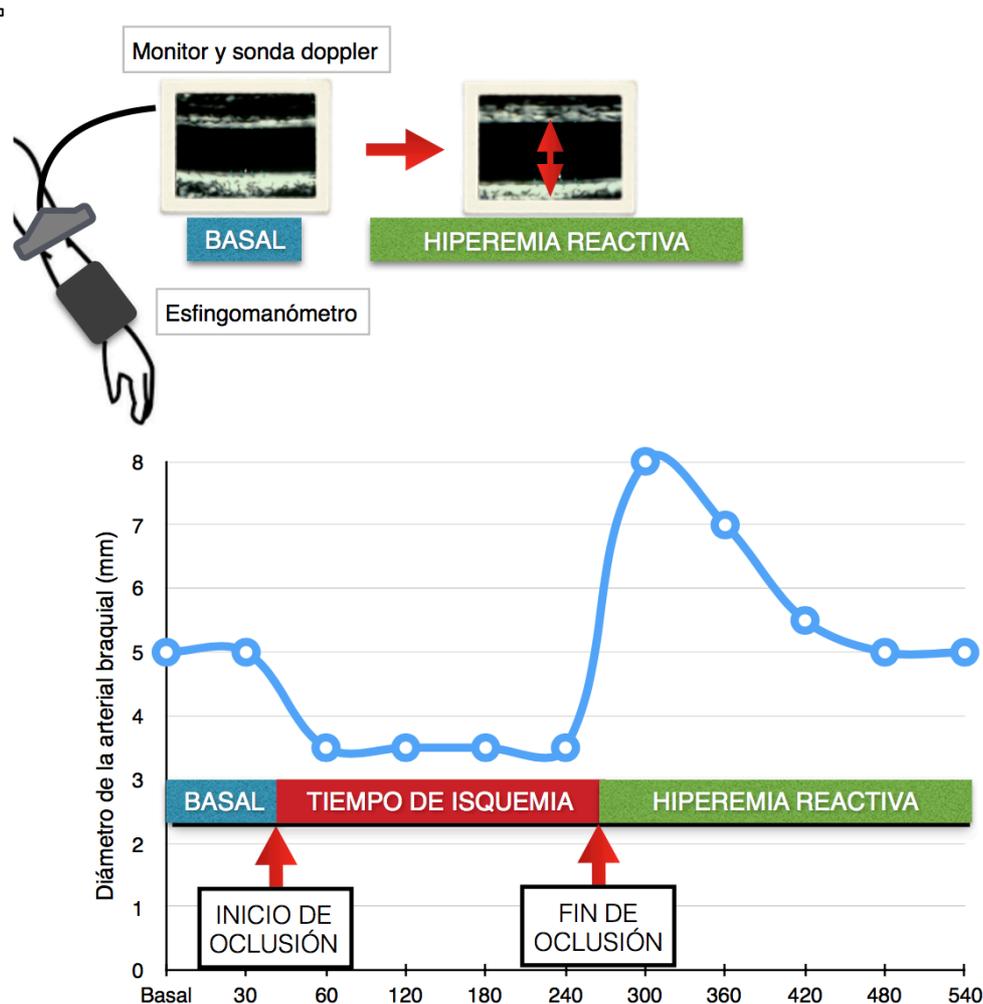


Figura 4. Técnica para el estudio de la función endotelial a través de la DABMF. Figura de elaboración propia.

6. EVALUACIÓN ANTROPOMÉTRICA.

El peso y la estatura fueron medidos por dietistas usando una báscula (BF511 *Body Composition Analyzer / Scale*, OMRON, Japón) y un tallímetro calibrados (Seca 242, HealthCheck Systems, Brooklyn, NY), respectivamente. La circunferencia de la cintura se midió a mitad de camino entre la última costilla y la cresta ilíaca usando una cinta antropométrica. El índice de masa corporal se calculó como el peso por metro cuadrado (kg / m^2). Las medidas de estatura y peso se tomaron tanto al inicio del estudio como en el seguimiento.

7. DETERMINACIONES ANALÍTICAS

Se tomaron muestras de sangre venosa de la vena antecubital y se recogieron en tubos vacutainer que contenían EDTA. Los parámetros séricos, glucosa, colesterol total, c-HDL y TGs se midieron utilizando un analizador Architect c-16000 (Abbott®, Chicago, Illinois, EE. UU.) mediante técnicas espectrofotométricas. El c-LDL se calculó usando la fórmula de Friedewald (siempre que el nivel de TG fuera inferior a 400 mg / dl). Las concentraciones de apolipoproteínas se determinaron mediante inmunturbidimetría.

8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando SPSS 22 para Windows. Los datos se presentan como media \pm error estándar para variables continuas. Las variables continuas se compararon entre los tres grupos (DM, prediabetes y ausencia de diabetes) mediante el análisis de varianza (ANOVA) y se realizó un análisis de comparaciones múltiples post-hoc mediante la prueba de Bonferroni. Se usaron medidas repetidas ANOVA para investigar los efectos del tipo de dieta sobre la VMF dependiendo de la presencia de DM, prediabetes o ausencia de DM. La correlación lineal de Pearson se calculó para explorar las posibles correlaciones entre la VMF y las concentraciones plasmáticas de c-LDL, c-HDL, TGs, proteína C reactiva, glucosa y HbA1c. Todos los análisis fueron ajustados por posibles confusores; los factores considerados como factores de confusión potenciales o modificadores fueron la edad, el sexo, el índice de masa corporal, los medicamentos (betabloqueantes, antagonistas de los receptores de angiotensina, inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina, nitratos, medicamentos para tratar la DM) y el hábito de fumar. Se consideraron significativos valores de $p < 0.05$.

9. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Para la obtención de bibliográfica se usó la web *PUBMED* y el motor de búsqueda *MEDLINE* ofrecido por la Biblioteca nacional de los Estados Unidos. Se empleó el proveedor de información *Ovid Technologies* al que se accede a través del *Ovid Web*. Se accedió a estas plataformas y a determinadas revistas a través de la Biblioteca Virtual del Servicio de Salud Público de Andalucía (<http://www.bvsspa.es/profesionales/>). Las referencias se muestran según el estilo *Vancouver* para la publicación de manuscritos en el ámbito de las Ciencias de la Salud.

CAPÍTULO 6
RESULTADOS

VI. RESULTADOS.

1. Características basales de los pacientes pertenecientes al estudio.

Cómo se ha descrito previamente, el estudio CORDIOPREV estaba formado por 1002 pacientes. 502 pacientes fueron aleatorizados a una dieta mediterránea mientras que 500 fueron aleatorizados a una dieta baja en grasa. Al comienzo del estudio, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos de intervención. La edad media fue de 59 años y el peso basal tuvo una media de 85 kg. El resto de características antropométricas y bioquímicas basales de todos los pacientes del estudio CORDIOPREV.

	Población n=1002	Dieta Mediterránea n=502	Dieta pobre en grasa n=500	Valor de p
Edad(años)	59,5±0,2	59,7±0,4	59,5 ± 0,4	NS
Peso (Kg)	85,1±0,4	84,9±0,6	85,4±0,7	NS
Perímetro de cintura (cm)	105,1±0,3	104,9±0,5	105,4±0,5	NS
IMC(kg/m²)	31,1±0,1	31±0,1	31,2±0,2	NS
CT (mg/dL)	159±1	159±1,5	159±1,3	NS
c-LDL (mg/dL)	88±0,8	88±1,2	88±1,1	NS
c-HDL (mg/dL)	42±0,3	42±0,5	42±0,5	NS
TGs (mg/dL)	135±2,2	134±3,1	136±3,2	NS
ApoA (mg/dL)	129±0,7	129±1	129±0,9	NS
ApoB (mg/dL)	73±0,5	73±0,8	73±0,8	NS
Glucosa (mg/dL)	113±1,2	114±1,8	112±1,6	NS
Diabetes Mellitus (%)	32,3	31,9	32,8	NS

Tabla 7. Características basales de los pacientes del estudio CORDIOPREV. IMC, índice de masa corporal; c-HDL, colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad; TGs, triglicéridos; CT, colesterol total; y c-LDL, colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad. Los valores están expresados como la media ± error estándar.

Basalmente, no existieron diferencias entre los dos subgrupos de población

estudiada (Dieta Mediterránea y dieta pobre en grasa). Adicionalmente, en la **Tabla 8**, se presentan las características bioquímicas y antropométricas basales de los participantes en el estudio, divididos según el estatus diabético, ya que en dichos subgrupos sería estudiada posteriormente la función endotelial. La edad, el peso, la circunferencia de la cintura, IMC, CT, c-LDL, c-HDL, TG, ApoA-1, ApoB, glucosa y HbA1c fueron diferentes en los 3 grupos de estudio (**Tabla 8**). De los 805 participantes que completaron los estudios de ecografía de seguimiento, 438 se clasificaron al inicio como pacientes con DM, 289 como pacientes con prediabetes y 78 pacientes no tenían criterios de diabetes.

	Diabetes n=438	Prediabetes n=289	No diabéticos n=78	Valor de p
Edad(años)	61,1±0,1 ^a	58,1±0,1 ^b	56 ± 0,2 ^c	0,001
Peso (Kg)	86,7±0,7 ^a	83,1±0,7 ^b	81,4±1,6 ^c	0,001
Perímetro de cintura (cm)	106,6±0,5 ^a	102,9±0,6 ^b	100±1,24 ^c	0,001
IMC(kg/m ²)	31,8±0,2 ^a	30,3±0,2 ^b	29,5±0,5 ^c	0,001
CT (mg/dL)	157±1,5 ^a	162±1,7 ^b	152±3,2 ^c	0,001
c-LDL (mg/dL)	87±1,2 ^a	92±1,5 ^b	86±2,4 ^a	0,001
c-HDL (mg/dL)	40±0,5 ^a	43±0,6 ^b	43±0,9 ^b	0,001
Lipoproteína a (mg/dL)	39±0,3	40±0,4	40±0,7	0,224
TGs (mg/dL)	149±3,8 ^a	128±4,1 ^b	107±5,6 ^c	0,001
ApoA(mg/dL)	125±0,9 ^a	133±1,2 ^b	132±2,3 ^b	0,001
ApoB (mg/dL)	75±1 ^a	73±12 ^a	67±1,7 ^b	0,001
Glucosa (mg/dL)	128±1,9 ^a	93±0,6 ^a	92±1,2 ^b	0,001
HbA1c (%)	7,3±0,06 ^a	6,01±0,01 ^b	5,4±0,02 ^c	0,001

Tabla 8. Características basales de los pacientes en función de su estatus diabético. IMC, índice de masa corporal; HbA1c, hemoglobina glicosilada; c-HDL, colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad; TGs, triglicéridos; CT, colesterol total; y c-LDL, colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad. Los valores están expresados como la media ± error estándar. ANOVA. $p < 0,05$ análisis posthoc de Bonferroni para tres subgrupos. Los valores en la misma fila con diferentes superíndices presentan diferencias significativas.

1. Influencia a largo plazo de dos modelos de alimentación cardiosaludable sobre la función endotelial.

De acuerdo con lo establecido en el objetivo principal, en primer lugar, investigamos el efecto de ambas dietas sobre la VMF tras 1,5 años consumiendo uno de los dos patrones dietéticos en la totalidad de nuestros participantes (**Figura 7**). De este modo, la dieta Mediterránea mejoró la VMF en comparación con los estudios basales ($4,9 \pm 0,3\%$ a los 1,5 años frente a $3,9 \pm 0,3\%$ al inicio del estudio; $p=0,014$). Adicionalmente, la dieta Mediterránea indujo una mejoría de la VMF en comparación con la dieta pobre en grasa a los 1,5 años ($4,9 \pm 0,3\%$ vs $4,04 \pm 0,3\%$; $p=0,024$).

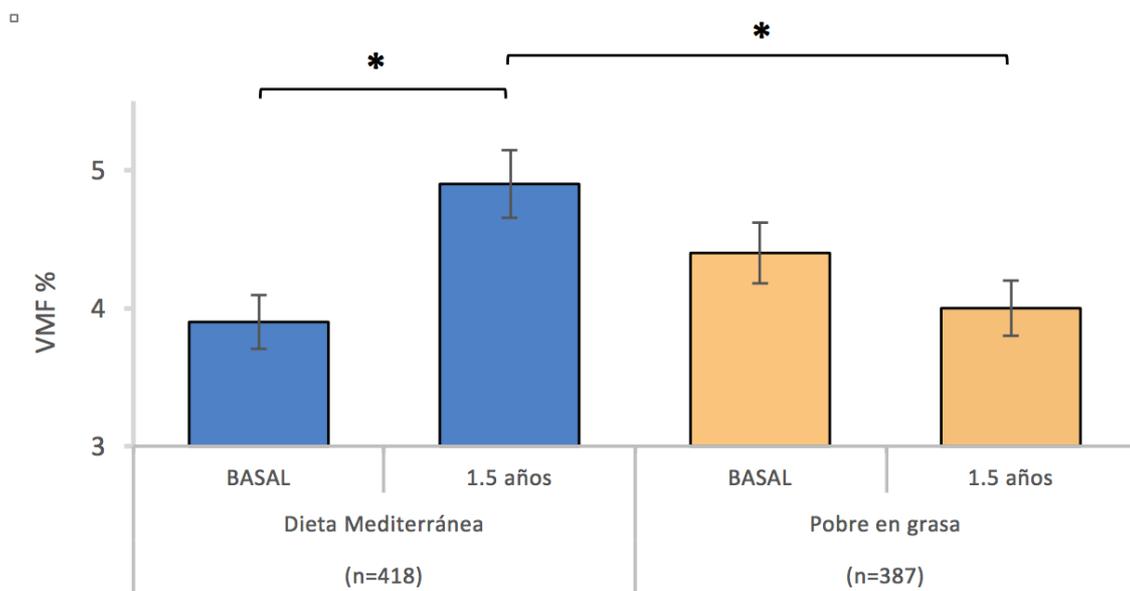


Figura 7. Vasodilatación mediada por flujo (VMF) al inicio del estudio y después de 1,5 años de consumo de una dieta Mediterránea y una dieta pobre en grasa. * $p < 0,05$ indica diferencias significativas.

Por otro lado, los pacientes que siguieron una dieta pobre en grasa durante 1,5 años no experimentaron cambios en la función endotelial medida por VMF ($4,04 \pm 0,3\%$

vs $4,46 \pm 0,3\%$; $p=0,28$) en comparación con los estudios basales.

2. Influencia a largo plazo de dos modelos de alimentación cardiosaludable sobre la función endotelial según el estatus diabético del paciente.

De acuerdo con lo planteado en el primer objetivo secundario, en el presente trabajo, examinamos el efecto de ambas dietas sobre la VMF después de 1,5 años de seguimiento de acuerdo con el estatus diabético. Nuestros resultados muestran que dieta Mediterránea aumentó la VMF en pacientes diabéticos ($5,2 \pm 0,4\%$ a los 1,5 años de seguimiento frente a $3,8 \pm 0,4\%$ al inicio del estudio; $p=0,04$) y prediabetes ($4,9 \pm 0,4\%$ a los 1,5 años de seguimiento frente a $3,8 \pm 0,4\%$ al inicio, $p=0,04$). No se observaron diferencias significativas en pacientes sin diabetes ($p=0,53$) (Figura 8).

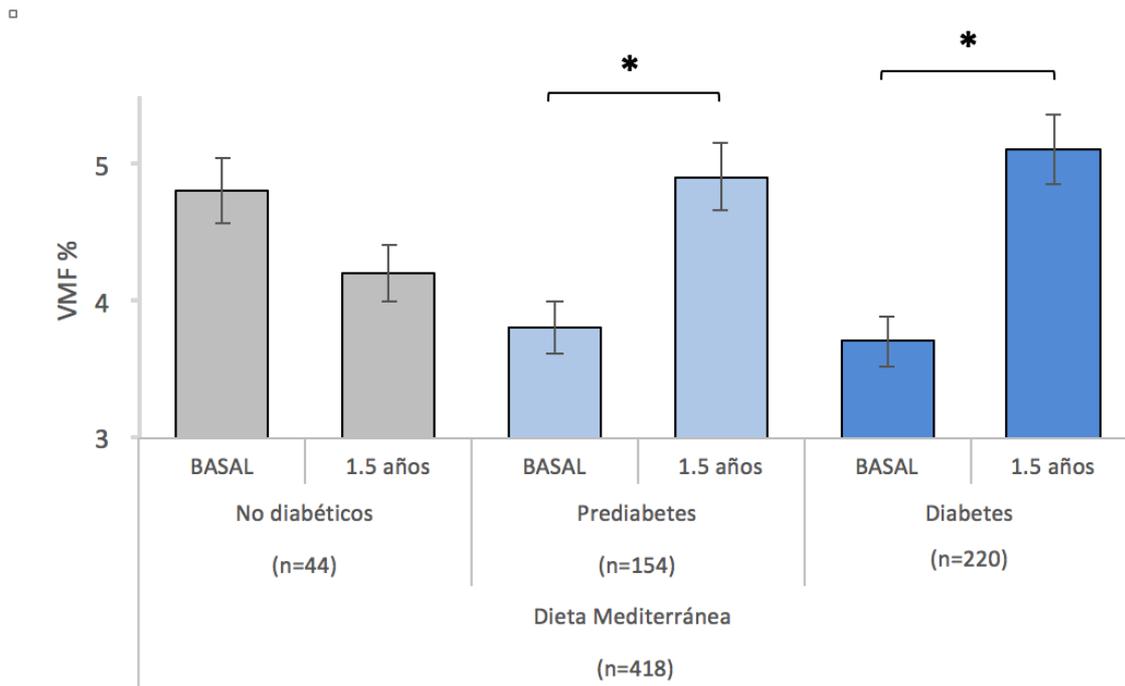


Figura 8. Vasodilatación mediada por flujo (VMF) al inicio del estudio y después de 1,5 años de consumo de una dieta Mediterránea en pacientes con prediabetes, diabetes y sin diabetes. * $p < 0,05$ indica diferencias significativas.

Además, el consumo a largo plazo de la dieta pobre en grasa mantuvo estable la VMF en pacientes con diabetes ($3,7 \pm 0,4\%$ a los 1,5 años de seguimiento frente a $3,8 \pm$

0,3% al inicio del estudio; $p=0,9$) y prediabetes ($4,7 \pm 0,4\%$ a los 1,5 años de seguimiento frente a $5,1 \pm 0,01\%$ al inicio del estudio; $p=0,5$) (**Figura 9**). No se observaron diferencias significativas en pacientes sin diabetes ($p=0,1$) (**Figura 9**).

Finalmente, en el presente trabajo se evaluó si el consumo a largo plazo de uno de los modelos de alimentación induce un mayor incremento sobre la mejora de la función endotelial en comparación con el otro, tanto en la población total como en los diferentes subgrupos de población según el estatus diabético. En este sentido, la dieta Mediterránea indujo una mejora en la función endotelial tras 1,5 años en comparación con la dieta con pobre grasa en el grupo de pacientes con diabetes ($5,2 \pm 0,4\%$ frente a $3,7 \pm 0,4\%$; $p=0,01$) (**Figura 10**). Finalmente, ambas dietas estabilizaron la VMF en pacientes sin diabetes (**Figura 8 y 9**).

□

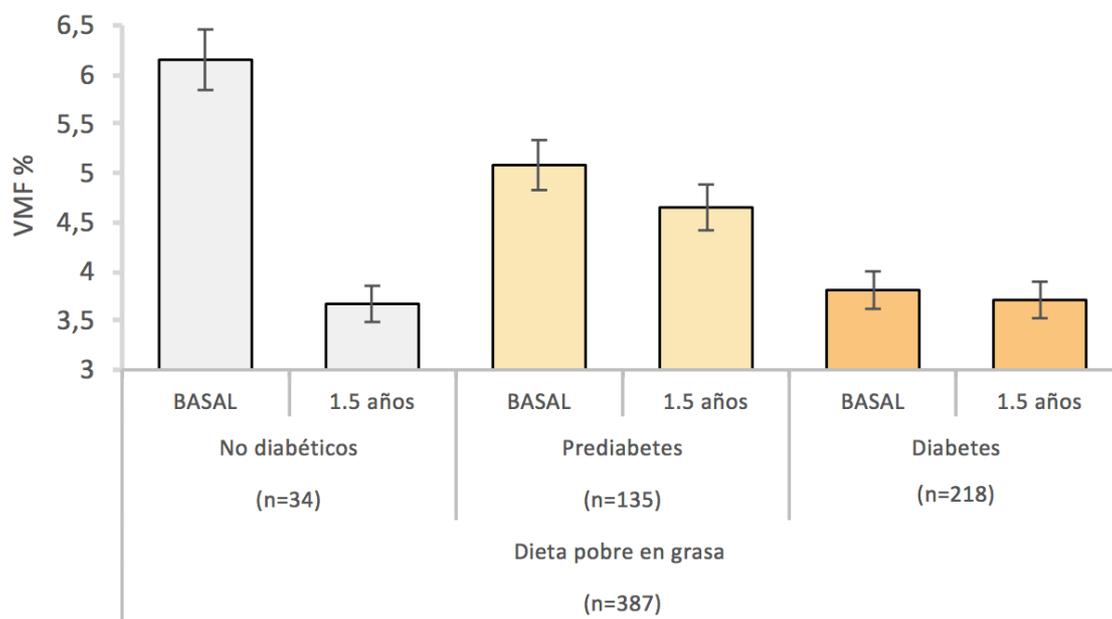


Figura 9. Vasodilatación mediada por flujo (VMF) al inicio del estudio y después de 1,5 años de consumo de una dieta pobre en grasa en pacientes con prediabetes, diabetes y sin diabetes. * $p < 0,05$ indica diferencias significativas.

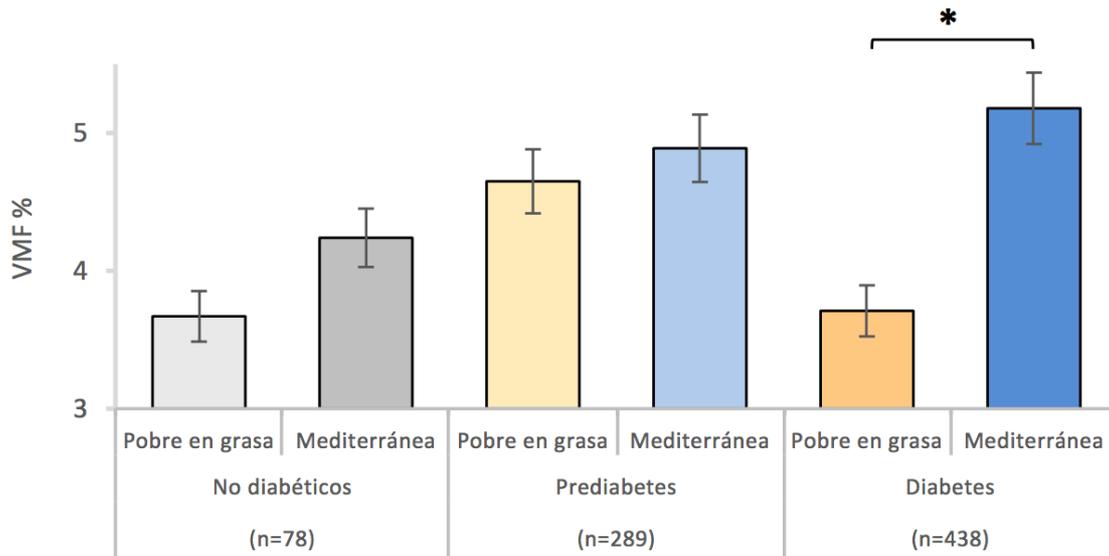


Figura 10. Vasodilatación mediada por flujo (VMF) después de 1,5 años de consumo, en función del estatus diabético. Comparación entre las dietas en pacientes con prediabetes, diabetes y sin diabetes. * $p < 0,05$ indica diferencias significativas.

Así mismo, evaluamos la correlación entre las concentraciones plasmáticas de c-LDL, c-HDL, triglicéridos, PCR, glucosa y HbA1c, y el porcentaje de variación de la VMF. En este sentido, no se observaron correlaciones significativas durante el seguimiento.

CAPÍTULO 7
DISCUSIÓN

VII. DISCUSIÓN.

Este trabajo proporciona nueva evidencia que apoya la hipótesis de que el consumo a largo plazo (1,5 años) de un módulo de alimentación saludable como la dieta Mediterránea, con un alto contenido en ácidos grasos monoinsaturados procedentes del aceite de oliva virgen extra, mejora la función endotelial en pacientes de alto riesgo cardiovascular. Específicamente, atendiendo al estatus diabético, la mejora dieta Mediterránea se observa tanto en pacientes prediabéticos como en diabéticos. Comparando ambos modelos de alimentación cardiosaludable, nuestros resultados muestran como la dieta Mediterránea induce una mayor mejoría sobre la función endotelial en pacientes diabéticos en comparación con una dieta pobre en grasa.

Estudios previos habían mostrado resultados similares anteriormente utilizando diversos métodos para evaluar la función endotelial, como la velocidad de la onda de pulso y la flujometría por láser doppler). En concreto, en nuestro grupo, Fuentes et al, evaluaron la función endotelial en 22 pacientes con hipercolesterolemia que consumieron una dieta Mediterránea o una dieta pobre en grasa durante 1 mes. Usando un diseño cruzado, los pacientes siguieron una dieta rica en ácidos grasos saturados y posteriormente se aleatorizaron para adherirse a una dieta Mediterránea, seguida de una dieta de la NCEP-1; o una dieta de la NCEP-1, seguida por una dieta Mediterránea durante 28 días. Se evaluaron los parámetros lipídicos, niveles de P-Selectina y la VMF de la arteria braquial. Los resultados mostraron como una dieta Mediterránea mejoraba significativamente la VMF (22). Otro trabajo realizado por nuestro grupo a posteriori evaluó la función endotelial postprandial mediante láser doppler en un ensayo aleatorizado de diseño cruzado para valorar el efecto diferencial inducido por una dieta rica en ácidos grasos saturados, otra dieta pobre en grasa enriquecida con ácido alfa-linoleico y una dieta Mediterránea rica en ácido grasos monoinsaturados (23). Esta dieta,

comparada con las otras dos, mejoró tanto la función endotelial postprandial y en ayunas a la par que redujo los niveles circulantes de VCAM y aumentó la biodisponibilidad de ON. En el marco del estudio LIPGENE, el trabajo desarrollado por nuestro grupo y liderado por el Pérez-Martínez et al. (149) estudió la función endotelial postprandial usando láser doppler en sujetos con síndrome metabólico asignados a cuatro dietas que diferían en la cantidad y la calidad de grasa durante un período de intervención de 12 semanas de duración. En esta ocasión la hiperemia reactiva postprandial fue mayor en el grupo aleatorizado a una Mediterránea con alto contenido en ácido grasos monoinsaturados que en los grupos de dieta pobre en grasa suplementada con ácido grasos omega 3, la dieta pobre en grasa rica en hidratos de carbono complejos y la dieta rica en ácidos grasos saturados. Además, en la dieta Mediterránea rica en grasa monoinsaturada se objetivaron niveles plasmáticos postprandiales más bajos ICAM-1 y más elevados de ON que en el resto de las dietas.

Otro aspecto abordado en varios estudios de nuestro grupo es la relación existente entre la dieta y las células progenitoras endoteliales circulantes y las micropartículas endoteliales como marcadores de función vascular. En uno de estos estudios realizado en ancianos, la hiperemia reactiva postisquemia medida con láser doppler fue mayor en los sujetos que habían consumido durante 4 semanas una dieta Mediterránea y una pobre en grasa comparadas con aquellos que había recibido una dieta con un contenido elevado en ácidos grasos saturados (150). Destacar, que la dieta Mediterránea de manera sobreañadida fue la única capaz de aumentar el número de células progenitoras endoteliales y de reducir las micropartículas endoteliales circulantes. Finalmente, en la línea de este trabajo, otro estudio de nuestro grupo valoró si la combinación de una dieta Mediterránea y un programa de ejercicio físico de modera-alta intensidad es capaz de potenciar los efectos beneficiosos de este modelo de alimentación sobre la capacidad

regenerativa del endotelio (47). Para ello un total de 45 paciente con síndrome metabólico se aleatorizaron a consumir durante 12 semanas una dieta Mediterránea o una dieta Mediterránea más ejercicio físico de moderada-alta intensidad. A las 12 semanas la dieta Mediterránea asociada al programa de ejercicio físico aumentó tanto las células progenitoras endoteliales como la hiperemia reactiva. Se ha demostrado también una mejoría de la función endotelial inducida por la dieta Mediterránea en otros subgrupos como pacientes con hipertensión arterial (151) y obesidad (152). Asimismo, Ryan et al. mostraron que la VMF mejoró significativamente con una dieta rica en ácido oleico y que el cambio de una dieta en la que predominen grasas poliinsaturadas a una dieta en la que predomine la grasa monoinsaturada en la diabetes tipo 2 reduce la resistencia a la insulina y mejora la VDE (141). Esta evidencia sugiere que la calidad de la grasa dietética puede modular en la función del endotelio vascular. En consonancia con estos hallazgos, nuestra cohorte, atendiendo al estatus diabético del paciente, pudimos observar como la dieta Mediterránea mejora la función endotelial, especialmente en los aquellos pacientes con prediabetes o diabetes y que, sin embargo, apenas existían cambios en aquellos pacientes de alto riesgo cardiovascular sin diabetes.

También se han llevado a cabo estudios sobre la influencia de una dieta pobre en grasa o dietas bajas en carbohidratos sobre la función endotelial (153-155). En nuestro trabajo, la dieta pobre en grasa mantiene la VMF estable a lo largo del tiempo, lo que sugiere que este patrón dietético puede evitar o ralentizar un empeoramiento de la función endotelial propio de la edad y la enfermedad cardiovascular. Sellingman et al. demostraron que una dieta pobre en grasa, combinada con ejercicio de alta intensidad, se asoció con un aumento de la VMF y la protección vascular en pacientes con síndrome metabólico (153). Por otra parte, Mohler et al. no encontraron diferencias entre los cambios inducidos sobre VMF entre una dieta pobre en grasa (55% de las calorías de los

carbohidratos, 30% de las grasas y 15% de las proteínas) y una dieta baja en carbohidratos (ingesta limitada de carbohidratos, pero consumo no limitado de grasas y proteínas) (154). Además, un estudio a corto plazo que utilizó la dieta DASH (*Dietary Approaches to Stop Hypertension*) mostró mejoras en algunos marcadores cardiometabólicos pero ningún cambio en la función endotelial (155). Esta evidencia sugiere que las dietas pobres en grasa pueden frenar el deterioro de la función endotelial (156), no obstante, es necesaria la realización de más estudios que confirmen estos hallazgos.

El daño al endotelio vascular, como ya hemos comentado con anterioridad, hace referencia a la pérdida de la función fisiológica del endotelio para promover la vasodilatación, la fibrinólisis y la inhibición de la agregación plaquetaria. Este daño endotelial con la consiguiente disfunción endotelial resulta más evidente y rápidamente progresivo en el paciente diabético (157). Los mecanismos responsables de la disfunción endotelial en estos pacientes son complejos. Entre ellos encontramos que la activación endotelial modifica la expresión/ secreción de citoquinas (IL-1, PDGF, FCF, MCP-1) y moléculas de adhesión (VCAM-1, ICAM1, selectina P), que es uno de los principales mecanismos implicados en la aparición de la arteriosclerosis, también se asocia con una alteración en la reparación vascular, que acelera la progresión de la disfunción endotelial (158). En este sentido se ha demostrado que estas alteraciones cardiometabólicas acontecidas sobre el endotelio pueden ser moduladas por la dieta (5, 19, 23, 156, 159) y estos cambios pueden resultar en una mejor función endotelial, como se puede observar después de la ingesta de dietas ricas en aceite de oliva virgen extra (5, 23). De este modo, uno de los mecanismos implicados en esta mejoría de la función endotelial se debe a los efectos antiinflamatorios de la dieta Mediterránea. Esto ha sido demostrado en varios subestudios del estudio PREDIMED. En uno de ellos, cuyo objetivo era comparar el efecto que inducen sobre los factores y marcadores de riesgo cardiovascular a corto plazo

dos dietas Mediterráneas, una suplementada con aceite de oliva y otra suplementada con frutos secos, en comparación con una dieta pobre en grasa se observó como las ICAM-1, las VCAM-1 y la IL-6 disminuyeron sus concentraciones séricas tras 3 meses de intervención (160). En otros dos subestudios se demostró, como la dieta Mediterránea disminuyó la expresión de biomarcadores inflamatorios células y circulantes relacionados con la arteriosclerosis, concretamente, la expresión de CD40 (proinflamatorio) tanto en linfocitos T y monocitos tras 3 meses de intervención (161) y en otro transcurrido 12 meses (162). Finalmente, un último estudio llevado a cabo en 49 pacientes de alto riesgo cardiovascular, analizó la expresión génica en monocitos, mostrando como adicionalmente esta dieta actuaba de manera favorable sobre la expresión de genes implicados en la inflamación vascular, la formación de células espumosas y trombosis (163).

Sin embargo, los efectos beneficiosos del consumo a largo plazo de una dieta Mediterránea rica en aceite de oliva virgen extra parecen no ser dependientes exclusivamente por el contenido en grasa monoinsaturada presente en el aceite de oliva, sino también por los componentes minoritarios presentes en el mismo, como los compuestos fenólicos tal, hallazgos que han sido demostrados previamente por nuestro grupo (19). En este trabajo, 21 pacientes con hipercolesterolemia recibieron dos desayunos, utilizando un diseño cruzado secuencial aleatorio. Ambos brazos recibieron el mismo aceite de oliva virgen extra, pero a uno se le redujo el contenido de ácido fenólico de 400 a 80 ppm, evaluándose de la función endotelial mediante de láser doppler y midiendo la hiperemia reactiva tras isquemia al inicio del estudio, a las 2 h y 4 h después de la ingesta de aceite. El consumo de aceite de oliva virgen extra con mayor contenido en compuestos fenólicos mejoró la función endotelial postprandial en comparación con el que contenía una concentración menor de estos compuestos.

Los fenoles contenidos en el aceite de oliva virgen son capaces de mejorar el estrés oxidativo al disminuir la activación de mediadores proinflamatorios y aumentar la biodisponibilidad de ON, lo que mejora la VDE. No solo estos efectos beneficiosos han sido demostrados por el aceite de oliva, ya que otros componentes de la dieta Mediterránea han demostrado igualmente su beneficio. Así, la abundancia de pescado con alto contenido en ácidos grasos ω -3 y la presencia de vegetales ricos en antioxidantes pueden actuar de manera sinérgica sobre la función reguladora del endotelio (159, 164) y pueden explicar el efecto beneficioso de este patrón dietético sobre VMF observado en nuestro estudio.

Por lo tanto, aunque el análisis tradicional en el campo de la nutrición examina alimentos y nutrientes únicos o múltiples, en los últimos años, el enfoque del análisis de patrones dietéticos es una forma alternativa de analizar los grupos de alimentos. Es importante tener en cuenta que las personas ingieren comidas que se componen de una compleja variedad de nutrientes que son consumidos de manera conjunta y no por separado e individualmente. Por lo tanto, el uso del análisis de patrones dietéticos sobre alimentos o nutrientes individuales contenidos en estas dietas nos da una perspectiva más amplia de qué alimentos y nutrientes se consumen y cómo influyen sobre nuestro organismo. Como mencionamos anteriormente, el aceite de oliva virgen extra tiene una gran cantidad de propiedades beneficiosas mediadas por su contenido en ácidos grasos monoinsaturados y polifenoles, pero es importante destacar que el consumo de aceite de oliva, la grasa principal de dieta Mediterránea, también favorece el consumo de todo tipo de legumbres en platos cocidos, verduras o frutas como parte de las ensaladas constituyendo el principal lípido añadido a todos los alimentos en la cocina diaria. El consumo de otros componentes esenciales de la dieta Mediterránea, como cereales integrales, productos lácteos y pescado, ricos en fibra, vitaminas / minerales y ácidos

grasos ω -3, puede tener un efecto sinérgico con el aceite de oliva virgen extra, frutas y verduras, por lo que el pequeño efecto individual de estos nutrientes separados, que a veces es difícil de cuantificar, puede ser acumulativo y suficiente para ser detectado cuando actúan como parte de un patrón de alimentación propio de la dieta Mediterránea y puede explicar el efecto beneficioso de este módulo de alimentación, en comparación con alimentos individuales sobre la función endotelial.

Desde el punto de vista clínico, el número de estudios en los que se analicen los efectos, ya sean a largo o corto plazo del consumo de diferentes modelos de alimentación son escasos. Así mismo, los estudios llevados a cabo sobre componentes de una dieta como puede ser el aceite de oliva, sobre la función endotelial son también limitados. En esta línea, un estudio de intervención aleatorizado, doble ciego, cruzado cuyo objetivo era estudiar los beneficios sobre la presión arterial y la función endotelial de dos dietas, una suplementada con 30ml de aceite de oliva enriquecido con polifenoles y otra con aceite de oliva sin polifenoles, mostró como el grupo que recibió aceite de oliva rico en polifenoles mejoró la hiperemia reactiva a la par que descendieron las cifras de presión arterial, LDL y PCR (165). Varios estudios han examinado la influencia sobre la función endotelial en el estado postprandial del aceite de oliva. El estudio realizado por Vogel et al. (166), fue el primero en analizar la VMF en estado postprandial, en el que 10 voluntarios sanos recibieron cinco comidas diferentes que contenían 50 g de grasa cada una: en 3 de ellas la grasa procedía de aceite de oliva, aceite de canola y del salmón. Los dos restantes usaron aceite de oliva enriquecido con vitaminas (E y C) y aceite de oliva más alimentos (vinagre y ensalada) respectivamente. El único grupo en el que se objetivó un deterioro de la función endotelial fue el que recibió aceite de oliva por lo que los autores concluyeron que el beneficio sobre la función endotelial postprandial se debía a los antioxidantes presentes en frutas, verduras, aceite de canola y pescado. En

contraposición a este estudio, nuestro grupo demostró como una sobrecarga grasa a base de un desayuno consistente en 60g de pan blanco y 40 ml aceite de oliva virgen enriquecido con polifenoles aumentaba la biodisponibilidad de ON, redujo el estrés oxidativo y aumentó la hiperemia reactiva en comparación con uno que usaba un aceite de oliva con un contenido pobre en compuestos fenólicos (19). En la misma línea, otro estudio, realizado en sujetos sanos objetivó una mejoría de la VMF tras la ingesta de 250ml de vino tinto y 50ml de aceite de oliva virgen de cosecha temprana, con alto contenido en polifenoles (167).

En cuanto al consumo de frutos secos, como las almendras, nueces, avellanas, piñones y pistachos entre otros, se ha limitado tradicionalmente su consumo por su elevado contenido en grasas, sin embargo su contenido es a expensas de ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados y, además, son ricos en vitaminas, minerales, fibra, fitosteroles y polifenoles(168). Además de una reducción del riesgo de ECV, tal y como demostró el estudio PREDIMED (9), su consumo se ha relacionado con menor riesgo de desarrollo diabetes (169), hipertensión(170) y además tienen un efecto hipolipemiante(171) y por todos estas evidencias se postuló que modulaban la reactividad vascular. Si bien es cierto que existen varios ensayos clínicos (168, 172-175) que han evaluado la influencia del consumo a largo plazo de frutos secos sobre la función endotelial.

Por otro lado, el consumo abusivo de alcohol está claramente relacionado con un aumento de la morbilidad y mortalidad. Sin embargo, el papel global que juega dentro de la salud en general continúa siendo un aspecto controvertido. De hecho, un análisis sistemático publicado recientemente muestra como el consumo de alcohol se asocia con un aumento de la mortalidad por todas las causas, en especial por cáncer mostrándose como la cantidad de alcohol que reduce la pérdida de salud es cero si bien existe cierto

efecto cardioprotector en mujeres para el desarrollo de cardiopatía isquémica y diabetes (176). A este respecto, existen varios metanálisis que muestran las propiedades beneficiosas desde el punto de vista cardiovascular del alcohol (177, 178), postulándose que estos efectos parecen estar mediados por los polifenoles y antioxidantes contenidos en el vino y la cerveza que reducen el estrés oxidativo tanto en ayunas como en estado postprandial y la mejoría de la función endotelial (179).

Por último, en cuanto al consumo de pescado, en concreto el azul, rico en ácidos grasos ω -3, la evidencia apoya sus propiedades cardioprotectoras (180) tal y como muestran varios metanálisis, incluyendo reducción de muerte súbita, cardiopatía isquémica (181), enfermedad cerebrovascular (182) e insuficiencia cardíaca (183). Referente al estudio de la función endotelial mediante VMF los resultados son limitados ya que solo existe un estudio en el que el consumo de pescado mejoró la VMF (184). Por otro lado, la respuesta inducida por el consumo de dietas ricas en pescado sobre los marcadores de disfunción endotelial muestran resultados dispares ya que en algunos este consumo ejerce un efecto neutro (185) mientras que en otros si se objetivó un efecto beneficioso (186, 187).

Cómo se ha mencionado con anterioridad, la presencia de prediabetes y diabetes, en pacientes de alto riesgo cardiovascular en prevención secundaria, influye en el desarrollo de disfunción endotelial e implica un mayor riesgo de recurrencia de eventos coronarios. En este sentido, Moradipoor et al. sugirieron que la diabetes y la prediabetes interrumpen la expresión de los genes implicados en la función de las células endoteliales, lo que, a su vez, desencadena un daño vascular e induce como consecuencia disfunción endotelial (188). Por otra parte, Suwaidi et al. (189) demostraron que la tasa de eventos coronarios fue mayor en pacientes con disfunción endotelial grave, mientras que los pacientes sin disfunción endotelial no tuvieron nuevos eventos cardiovasculares, a pesar

de que ambos grupos tenían el mismo tipo y gravedad de las lesiones coronarias. En nuestro estudio se observa como los pacientes con prediabetes y diabetes tienen una mayor disfunción endotelial comparado los sujetos no diabéticos, aunque al mismo tiempo, son aquellos sujetos los que mejor responden a consumo a largo plazo de una dieta Mediterránea rica en aceite de oliva. Desde el punto de vista clínico hecho tiene gran importancia, dado que el estilo de vida en general y la dieta en particular constituyen la piedra angular en el tratamiento de estos pacientes, de manera que, la adherencia a un modelo de alimentación cardiosaludable a largo plazo mejora la disfunción endotelial y en consecuencia podría evitar el desarrollo de nuevos eventos cardiovasculares.

El estudio de la función endotelial con la a través de la DABMF es interesante desde el punto de vista clínico ya que nos permite evaluar el funcionamiento del endotelio vascular periférico en presencia de determinadas condiciones clínicas como pueden ser la diabetes, prediabetes o enfermedad cardiovascular (enfermedad coronaria, enfermedad cerebrovascular y otros eventos cardiovasculares). Bajo condiciones estandarizadas, la VMF se puede usar como un marcador para la exposición a factores de riesgo y sus efectos funcionales (190-192). En prevención secundaria, proporciona información pronóstica a largo plazo tanto en pacientes con enfermedad vascular periférica (75) cómo en pacientes con síndrome coronario agudo (76). Estos hechos, son relevantes desde el punto de vista clínico, ya que sabemos que la asociación entre una menor VMF y riesgo cardiovascular ha sido claramente establecida por varios estudios (193, 194).

Entre las limitaciones de nuestro trabajo debemos mencionar que la aplicación clínica de la VMF actualmente es limitada y, por lo tanto, este test solo se sigue utilizando en el campo de la investigación y su uso como herramienta para monitorizar pacientes o como soporte para decidir que tratamiento aplicar es aún limitada. Por otro lado, es importante tener en cuenta que es una técnica compleja que es difícil de implementar en

la práctica clínica diaria, y la naturaleza dinámica del endotelio reduce la reproducibilidad de los resultados, siendo una técnica expuesta a sufrir sesgo interobservador. Otra de las limitaciones de este trabajo es la ausencia de marcadores intermedios como las moléculas de adhesión, ON o especies reactivas de oxígeno, que justifiquen los mecanismos implicados en los resultados de nuestra investigación

Entre las fortalezas de este trabajo, es importante resaltar que se ha realizado en el marco de un ensayo clínico aleatorizado de intervención controlada, con un gran tamaño de muestra, en comparación con los estudios que existían con anterioridad, realizados con un número reducido de pacientes, a la par que un seguimiento dietético estrecho realizado por nuestros nutricionistas durante todo el período de intervención. Adicionalmente, en nuestro trabajo hemos evaluado la función endotelial macrovascular a través de la DABMF, método que, comparativamente con otros existentes para el estudio de la función endotelial, tiene valor pronóstico en pacientes con enfermedad coronaria y es un buen predictor de eventos cardiovasculares. Nuestro estudio tiene beneficios traslacionales potenciales. El principal, que una dieta saludable puede disminuir la progresión de la enfermedad cardiovascular al mejorar la función endotelial, incluso en subgrupos con alto riesgo cardiovascular, como los pacientes con enfermedad coronaria con prediabetes y diabetes (195), lo que refuerza el papel clave de las recomendaciones dietéticas, que a veces se ignoran en la práctica clínica.

En resumen, en el estudio CORDIOPREV demostramos que el consumo a largo plazo de una dieta Mediterránea rica en aceite de oliva virgen mejora la función endotelial en pacientes de alto riesgo cardiovascular, específicamente, en pacientes con prediabetes y diabetes, preservando la función endotelial de los sujetos sin diabetes. En consecuencia, estos hallazgos enfatizan la necesidad clínica de identificar subgrupos de pacientes que deben ser tratados de manera más agresiva, realizando recomendaciones

dietéticas personalizadas para prevenir complicaciones cardio-metabólicas.

CAPÍTULO 8
CONCLUSIONES

VIII. CONCLUSIONES

CONCLUSIÓN PRINCIPAL:

- Nuestros resultados demuestran que el consumo a largo plazo, durante un año y medio, de un modelo de alimentación Mediterráneo, rico en ácidos grasos monoinsaturados procedentes en su mayor parte del aceite de oliva virgen extra, induce una mejoría de la función endotelial en pacientes con enfermedad cardiovascular establecida. Adicionalmente, la dieta Mediterránea mejora la función endotelial al año y medio en comparación con una dieta pobre en grasa.

CONCLUSIONES SECUNDARIAS

- El consumo a largo plazo de una dieta Mediterránea aumenta la vasodilatación dependiente de endotelio, de los pacientes con prediabetes y diabetes tras un año y medio de intervención. En estos subgrupos, la dieta pobre en grasa consigue estabilizar la función endotelial durante el período de seguimiento.
- Nuestros resultados muestran que el consumo a largo plazo de una dieta Mediterránea determina un aumento de la vasodilatación dependiente de endotelio en los pacientes con diabetes, comparada con la respuesta inducida por la dieta pobre en grasa.

CAPÍTULO 9
Abreviaturas

IX. ABREVIATURAS.

ADA: American Diabetes Association.

AG: ácidos grasos.

AGEs: advanced glycation end products (productos finales de la glicosilación).

ANOVA: análisis de varianza.

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

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

CORDIOPREV: Coronary Diet Intervention with Olive Oil and Cardiovascular Prevention Study.

COX: ciclooxigenasa.

CT: colesterol total.

DABMF: vasodilatación de la arteria braquial mediada por flujo.

DASH :Dietary Approaches to Stop Hypertension.

DECODE: Diabetes epidemiology: collaborative analysis of diagnostic criteria in Europe.

DM: diabetes mellitus.

DM1: diabetes mellitus tipo 1.

DM2: diabetes mellitus tipo 2.

DPP: Diabetes Prevention Program.

EDHF: factor hiperpolarizante derivado de endotelio.

EDRF: factores relajantes derivados de endotelio.

EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

FCF: factor de crecimiento fibroblástico.

GBA: glucosa basal alterada.

GLP-1: glucagón like peptide 1(péptido similar a glucagón).

GPA: glucosa plasmática en ayunas.

H₂O₂: peróxido de hidrógeno.

HbA_{1c}: hemoglobina glicosilada.

HCLO: ácido hipocloroso.

IMIBIC: Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba.

ISCHII: Instituto de Salud Carlos III

ITG: intolerancia a la glucosa.

Lp(a): lipoproteína a.

MESA: US Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis.

NADPH: nicotinamida-adenina dinucleótido fosfato oxidasa.

NCPEP: National Cholesterol Education Program.

NDDG: National Diabetes Data Group.

NF- κ B: factor nuclear de transcripción kappa B.

NHANES: National Health and Nutrition Examination Survey.

OH: radical hidroxilo.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

ON: óxido nítrico.

ONOO⁻: peroxinitrito.

OR: odds ratio.

PDGF: factor de crecimiento derivado de plaquetas.

PREDIMED: prevención con Dieta Mediterránea.

RI: resistencia a la insulina.

SED: Sociedad Española de Diabetes.

SGLT2: sodium-glucose cotransporter 2(cotransportador sodio-glucosa 2).

SOG: sobrecarga oral de glucosa.

SONe: sintasa de óxido nítrico endotelial.

SONi: sintasa de óxido nítrico endotelial inducible.

TGs: triglicéridos.

TNF- α : factor de necrosis tumoral alfa.

VDE: vasodilatación dependiente de endotelio.

VDF: vasodilatación mediada por flujo.

VO: velocidad de onda de pulso.

CAPÍTULO 10
BIBLIOGRAFÍA

X. BIBLIOGRAFÍA.

1. Piepoli MF, Hoes AW, Agewall S, Albus C, Brotons C, Catapano AL, et al. 2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice The Sixth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of 10 societies and by invited experts) Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). *European Heart Journal*. 2016;37(29):2315-81.
2. Ford ES, Ajani UA, Croft JB, Critchley JA, Labarthe DR, Kottke TE, et al. Explaining the Decrease in U.S. Deaths from Coronary Disease, 1980–2000. *New England Journal of Medicine*. 2007;356(23):2388-98.
3. Ruggiero D, Paolillo S, Della Ratta G, Mariniello A, Formisano T, Maria Pellegrino A, et al. [Endothelial function as a marker of pre-clinical atherosclerosis: assessment techniques and clinical implications]. *Archives of Chest Disease*. 2013. 106-10 p.
4. Rodríguez-Mañas L, El-Assar M, Vallejo S, López-Dóriga P, Solís J, Petidier R, et al. Endothelial dysfunction in aged humans is related with oxidative stress and vascular inflammation. *Aging Cell*. 2009;8(3):226-38.
5. Jimenez-Morales AI, Ruano J, Delgado-Lista J, Fernandez JM, Camargo A, Lopez-Segura F, et al. NOS3 Glu298Asp Polymorphism Interacts with Virgin Olive Oil Phenols to Determine the Postprandial Endothelial Function in Patients with the Metabolic Syndrome. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2011;96(10):E1694-E702.
6. Keys A, Mienotti A, J. Karvonen M, Aravanis C, Blackburn H, Buzina R, et al. The diet and 15-year death rate in the Seven Countries Study. *American Journal of Epidemiology*. 1986; (6):903-15.
7. Willett WC, Sacks F, Trichopoulou A, Drescher G, Ferro-Luzzi A, Helsing E, et al. Mediterranean diet pyramid: a cultural model for healthy eating. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 1995;61(6):1402S-6S.
8. Perez Jimenez F. International conference on the healthy effect of virgin olive oil. *European Journal of Clinical Investigation*. 2005;35(7):421-4.
9. 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 Supplemented

- with Extra-Virgin Olive Oil or Nuts. *New England Journal of Medicine*. 2018;378(25):e34.
10. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) Final Report. *Circulation*. 2002;106(25):3143.
 11. Hjermann I, Holme I, Byre KV, Leren P. Effect of diet and smoking intervention on the incidence of coronary heart disease. *The Lancet*. 1981;318(8259):1303-10.
 12. Burr ML, Gilbert JF, Holliday RM, Elwood PC, Fehily AM, Rogers S, et al. Effects of changes in fat, fish and fibre intakes on death and myocardial reinfarction: DIET AND REINFARCTION TRIAL (DART). *The Lancet*. 1989;334(8666):757-61.
 13. Ornish D, Brown SE, Billings JH, Scherwitz LW, Armstrong WT, Ports TA, et al. Can lifestyle changes reverse coronary heart disease?. *The Lancet*. 1990;336(8708):129-33.
 14. Watts GF, Lewis B, Lewis ES, Coltart DJ, Smith LDR, Swan AV, et al. Effects on coronary artery disease of lipid-lowering diet, or diet plus cholestyramine, in the St Thomas' Atherosclerosis Regression Study (STARS). *The Lancet*. 1992;339(8793):563-9.
 15. de Lorgeril M, Renaud S, Salen P, Monjaud I, Mamelle N, Martin JL, et al. Mediterranean alpha-linolenic acid-rich diet in secondary prevention of coronary heart disease. *The Lancet*. 1994;343(8911):1454-9.
 16. Huxley VH, Wang J. Cardiovascular sex differences influencing microvascular exchange. *Cardiovascular Research*. 2010;87(2):230-42.
 17. Tziomalos K, Athyros VG, Karagiannis A, Mikhailidis DP. Endothelial dysfunction in metabolic syndrome: Prevalence, pathogenesis and management. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 2010;20(2):140-6.
 18. Delgado-Lista J, Garcia-Rios A, Perez-Martinez P, Fuentes F, Jimenez-Gomez Y, Gomez-Luna MJ, et al. Gene variations of nitric oxide synthase regulate the effects of a saturated fat rich meal on endothelial function. *Clinical Nutrition*. 2011;30(2):234-8.
 19. Ruano J, Lopez-Miranda J, Fuentes F, Moreno JA, Bellido C, Perez-Martinez P, et al. Phenolic content of virgin olive oil improves ischemic reactive hyperemia in hypercholesterolemic patients. *Journal of the American College of Cardiology*. 2005;46(10):1864-8.

20. Fiorito C, Rienzo M, Crimi E, Rossiello R, Luisa Balestrieri M, Casamassimi A, et al. Antioxidants increase number of progenitor endothelial cells through multiple gene expression pathways. *Free Radical Research*. 2008;42(8):754-62.
21. Huang PH, Tsai HY, Wang CH, Chen YH, Chen JS, Lin FY, et al. Moderate intake of red wine improves ischemia-induced neovascularization in diabetic mice. *Atherosclerosis*. 2010;212(2):426-35.
22. Fuentes F, Lopez-Miranda J, Sanchez E, et al. Mediterranean and low-fat diets improve endothelial function in hypercholesterolemic men. *Annals of Internal Medicine*. 2001;134(12):1115-9.
23. Fuentes F, Lopez-Miranda J, Perez-Martinez P, Jimenez Y, Marin C, Gomez P, et al. Chronic effects of a high-fat diet enriched with virgin olive oil and a low-fat diet enriched with α -linolenic acid on postprandial endothelial function in healthy men. *British Journal of Nutrition*. 2008;100(1):159-65.
24. Delgado-Lista J, Lopez-Miranda J, Cortés B, Perez-Martinez P, Lozano A, Gomez-Luna R, et al. Chronic dietary fat intake modifies the postprandial response of hemostatic markers to a single fatty test meal. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2008;87(2):317-22.
25. Ishige-Wada M, Kwon S-M, Eguchi M, Hozumi K, Iwaguro H, Matsumoto T, et al. Jagged-1 Signaling in the Bone Marrow Microenvironment Promotes Endothelial Progenitor Cell Expansion and Commitment of CD133+ Human Cord Blood Cells for Postnatal Vasculogenesis. *Plos One*. 2016;11(11):e0166660.
26. Arrebola-Moreno AL, Laclaustra M, Kaski JC. Evaluación no invasiva de la función endotelial en la práctica clínica. *Revista Española de Cardiología*. 2012;65:80-90.
27. Aird WC. Phenotypic heterogeneity of the endothelium: I. Structure, function, and mechanisms. *Circulation Research*. 2007 ;100(2):158-73.
28. Dejana E. Endothelial adherens junctions: implications in the control of vascular permeability and angiogenesis. *The Journal of Clinical Investigation*. 1996;98(9):1949-53.
29. Pillarisetti S. Lipoprotein modulation of subendothelial heparan sulfate proteoglycans (perlecan) and atherogenicity. *Trends Cardiovascular Medicine*. 2000;10(2):60-5.

30. Badimon L, Martinez-Gonzalez J, LLorente-Cortes V, Rodriguez C, Padro T. Cell Biology and Lipoproteins in Atherosclerosis. *Current Molecular Medicine*. 2006;6(5):439-56.
31. Kruse K, Lee QS, Sun Y, Klomp J, Yang X, Huang F, et al. N-cadherin signaling via Trio assembles adherens junctions to restrict endothelial permeability. *The Journal of Cell Biology*. 2018.
32. Johnson-Tidey RR, McGregor JL, Taylor PR, Poston RN. Increase in the adhesion molecule P-selectin in endothelium overlying atherosclerotic plaques. Coexpression with intercellular adhesion molecule-1. *The American Journal of Pathology*. 1994;144(5):952-61.
33. Hwang S, ;Ballantyne , CM; Sharret ,AR; Smith ,LC; Davis, CE;Gotto, Am Jr ;Boerwinkle,E. Circulating adhesion molecules VCAM-1, ICAM-1, and E-selectin in carotid atherosclerosis and incident coronary heart disease cases: the Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) study. *Circulation*. 1997 96(12):4219-25.
34. McClung J, Naseer N, Saleem M, Rossi GP, B Weiss M, G Abraham N, et al. Circulating endothelial cells are elevated in patients with type 2 diabetes mellitus independently of HbA1c.*Diabetologia*. 2005. 345-50 p.
35. De Lorenzo A, Moreira ASB, Muccillo FB, Assad M, Tibirica EV. Microvascular Function and Endothelial Progenitor Cells in Patients with Severe Hypercholesterolemia and the Familial Hypercholesterolemia Phenotype. *Cardiology*. 2017;137(4):231-6.
36. Luo S, Xia W, Chen C, Robinson Eric A, Tao J. Endothelial progenitor cells and hypertension: current concepts and future implications. *Clinical Science*. 2016;130(22):2029-42.
37. Ridker PM, Hennekens CH, Roitman-Johnson B, Stampfer MJ, Allen J. Plasma concentration of soluble intercellular adhesion molecule 1 and risks of future myocardial infarction in apparently healthy men. *The Lancet*. 1998;351(9096):88 92.
38. Kraehling JR, Sessa WC. Contemporary Approaches to Modulating the Nitric Oxide-cGMP Pathway in Cardiovascular Disease. *Circulation Research*. 2017;120(7):1174-82.

39. Ignarro L. Nitric oxide as a unique signaling molecule in the vascular system: a historical overview. *Journal of Physiology and Pharmacology*. 2002;54(4 Pt 1):503-14.
40. Ebrahimipour AT, Shrestha S, Bonnen MD, Eissa NTT, Raghu G, Ghebre YT. Nicotine modulates growth factors and microRNA to promote inflammatory and fibrotic processes. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2018.
41. Toda NO, Tomio. Cigarette smoking impairs nitric oxide-mediated cerebral blood flow increase: Implications for Alzheimer's disease. *Journal of Pharmacology Sciences*. 2016;131(4):223-32.
42. Erusalimsky JD, Kurz DJ. Cellular senescence in vivo: Its relevance in ageing and cardiovascular disease. *Experimental Gerontology*. 2005;40(8):634-42.
43. Panza JA, Quyyumi AA, Brush JE, Epstein SE. Abnormal Endothelium-Dependent Vascular Relaxation in Patients with Essential Hypertension. *New England Journal of Medicine*. 1990;323(1):22-7.
44. Yamagishi S, Nakamura K, Takeuchi M, Imaizumi T. Molecular mechanism for accelerated atherosclerosis in diabetes and its potential therapeutic intervention. *International Journal of Clinical Pharmacology Research*. 2005;24(4):129-34.
45. Nitenberg A, Valensi P, Sachs R, Dali M, Aptecar E, Attali J-R. Impairment of Coronary Vascular Reserve and ACh-Induced Coronary Vasodilation in Diabetic Patients With Angiographically Normal Coronary Arteries and Normal Left Ventricular Systolic Function. *Diabetes*. 1993;42(7):1017.
46. Sorensen KE, Celermajer DS, Georgakopoulos D, Hatcher G, Betteridge DJ, Deanfield JE. Impairment of endothelium-dependent dilation is an early event in children with familial hypercholesterolemia and is related to the lipoprotein(a) level. *Journal of Clinical Investigation*. 1994;93(1):50-5.
47. Fernandez Juan M, Rosado-Alvarez D, Da Silva Grigoletto Marzo E, Rangel-Zuñiga Oriol A, Landaeta-Diaz Leslie L, Caballero-Villarraso J, et al. Moderate-to-high-intensity training and a hypocaloric Mediterranean diet enhance endothelial progenitor cells and fitness in subjects with the metabolic syndrome. *Clinical Science*. 2012;123(6):361.
48. Julie BH, Helene K, Valerie SK, Ferhat M. Endothelial Dysfunction in Sepsis. *Current Vascular Pharmacology*. 2013;11(2):150-60.
49. Lara J. Estrés oxidativo, disfuncion endotelial y aterosclerosis. 2014. 351-2 p.

50. Li H, Horke S, Förstermann U. Vascular oxidative stress, nitric oxide and atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2014;237(1):208-19.
51. Förstermann U, Xia N, Li H. Roles of Vascular Oxidative Stress and Nitric Oxide in the Pathogenesis of Atherosclerosis. *Circulation Research*. 2017;120(4):713-35.
52. Stocker R, John F. Keaney J. Role of Oxidative Modifications in Atherosclerosis. *Physiological Reviews*. 2004;84(4):1381-478.
53. Quesada IM, Lucero A, Amaya C, Meijles DN, Cifuentes ME, Pagano PJ, et al. Selective inactivation of NADPH oxidase 2 causes regression of vascularization and the size and stability of atherosclerotic plaques. *Atherosclerosis*. 2015;242(2):469-75.
54. Li H, Förstermann U. Uncoupling of endothelial NO synthase in atherosclerosis and vascular disease. *Current Opinion in Pharmacology*. 2013;13(2):161-7.
55. Karadeniz M, Sarak T, Duran M, Alp C, Kandemir H, Etem Celik İ, et al. Hyperhomocysteinemia Predicts the Severity of Coronary Artery Disease as Determined by the SYNTAX Score in Patients with Acute Coronary Syndrome. *Acta Cardiologica Sinica*. 2018;34(6):458-63.
56. de Álvaro FM, I. Homocisteína y disfunción endotelial en pacientes con diabetes mellitus, insuficiencia renal crónica, diálisis y trasplante. *Revista de Nefrología*. 1998;18:186-95.
57. Noda Y, Miyoshi T, Oe H, Ohno Y, Nakamura K, Toh N, et al. Alogliptin ameliorates postprandial lipemia and postprandial endothelial dysfunction in non-diabetic subjects: a preliminary report. *Cardiovascular Diabetology*. 2013;12:8-.
58. Nappo F, De Rosa N, Marfella R, et al. Impairment of endothelial functions by acute hyperhomocysteinemia and reversal by antioxidant vitamins. *Journal of the American Medical Association*. 1999;281(22):2113-8.
59. Ruano J, Lopez-Miranda J, Fuentes F, Moreno JA, Bellido C, Perez-Martinez P, et al. Phenolic Content of Virgin Olive Oil Improves Ischemic Reactive Hyperemia in Hypercholesterolemic Patients. *Journal of the American College of Cardiology*. 2005;46(10):1864-8.
60. Tsurumi Y, Nagashima H, Ichikawa K-i, Sumiyoshi T, Hosoda S. Influence of plasma lipoprotein(a) levels on coronary vasomotor response to acetylcholine. *Journal of the American College of Cardiology*. 1995;26(5):1242-50.

61. Rosengren A, Wilhelmsen L, Eriksson E, Risberg B, Wedel H. Lipoprotein (a) and coronary heart disease: a prospective case-control study in a general population sample of middle aged men. *BMJ : British Medical Journal*. 1990;301(6763):1248-51.
62. Augeri AL, Tsongalis GJ, Van Heest JL, Maresh CM, Thompson PD, Pescatello LS. The endothelial nitric oxide synthase $\text{T}2212\text{C}$ polymorphism and the exercise-induced blood pressure and nitric oxide responses among men with elevated blood pressure. *Atherosclerosis*. 2009;204(2):e28-e34.
63. Mamoulakis D, Bitsori M, Galanakis E, Vazgiourakis V, Panierakis C, Goulielmos GN. Intron 4 polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase eNOS gene and early microangiopathy in type 1 diabetes. *International Journal of Immunogenetics*. 2009;36(3):153-7.
64. Salimi S, Firoozrai M, Zand H, Nakhaee A, Shafiee SM, Tavilani H, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene Glu298Asp polymorphism in patients with coronary artery disease. *Annals of Saudi Medicine*. 2010;30(1):33-7.
65. Lembo G, Luca N, Battagli C, Iovino G, Aretini A, Musicco M, et al. A Common Variant of Endothelial Nitric Oxide Synthase (Glu298Asp) Is an Independent Risk Factor for Carotid Atherosclerosis. 2001. 735-40 p.
66. Ludmer PL, Selwyn AP, Shook TL, Wayne RR, Mudge GH, Alexander RW, et al. Paradoxical Vasoconstriction Induced by Acetylcholine in Atherosclerotic Coronary Arteries. *New England Journal of Medicine*. 1986;315(17):1046-51.
67. Bassenge E, Busse R. Endothelial modulation of coronary tone. *Progress in Cardiovascular Diseases*. 1988;30(5):349-80.
68. Vlachopoulos C, Aznaouridis K, Stefanadis C. Prediction of Cardiovascular Events and All-Cause Mortality With Arterial Stiffness: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of the American College of Cardiology*. 2010;55(13):1318-27.
69. Nabel EG, Selwyn AP, Ganz P. Large coronary arteries in humans are responsive to changing blood flow: An endothelium-dependent mechanism that fails in patients with atherosclerosis. *Journal of the American College of Cardiology*. 1990;16(2):349-56.
70. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *The Lancet*. 1992;340(8828):1111-5.

71. Bots ML, Westerink J, Rabelink TJ, de Koning EJP. Assessment of flow-mediated vasodilatation (FMD) of the brachial artery: effects of technical aspects of the FMD measurement on the FMD response. *European Heart Journal*. 2005;26(4):363-8.
72. Widlansky ME, Gokce N, Keaney JF, Vita JA. The clinical implications of endothelial dysfunction. *Journal of the American College of Cardiology*. 2003;42(7):1149-60.
73. Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, et al. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: A report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *Journal of the American College of Cardiology*. 2002;39(2):257-65.
74. Halcox JP, Schenke WH, Zalos G, Mincemoyer R, Prasad A, Waclawiw MA, et al. Prognostic value of coronary vascular endothelial dysfunction. *Circulation*. 2002;106(6):653-8.
75. Gokce N, Keaney JF, Hunter LM, Watkins MT, Nedeljkovic ZS, Menzoian JO, et al. Predictive value of noninvasively determined endothelial dysfunction for long-term cardiovascular events in patients with peripheral vascular disease. *Journal of the American College of Cardiology*. 2003;41(10):1769-75.
76. Karatzis EN, Ikonomidis I, Vamvakou GD, Papaioannou TG, Protogerou AD, Andreadou I, et al. Long-Term Prognostic Role of Flow-Mediated Dilatation of the Brachial Artery After Acute Coronary Syndromes Without ST Elevation. *American Journal of Cardiology*. 98(11):1424-8.
77. Santos-García D, Blanco M, Serena J, Rodríguez-Yáñez M, Leira R, Castillo J. Impaired Brachial Flow-Mediated Dilatation Is a Predictor of a New-Onset Vascular Event after Stroke. *Cerebrovascular Diseases*. 2011;32(2):155-62.
78. Schroeder S, Enderle MD, Ossen R, Meisner C, Baumbach A, Pfohl M, et al. Noninvasive determination of endothelium-mediated vasodilation as a screening test for coronary artery disease: Pilot study to assess the predictive value in comparison with angina pectoris, exercise electrocardiography, and myocardial perfusion imaging. *American Heart Journal*. 1999;138(4):731-9.
79. Doshi SN, Naka KK, Payne N, Jones CJH, Ashton M, Lewis MJ, et al. Flow-mediated dilatation following wrist and upper arm occlusion in humans: the contribution of nitric oxide. *Clinical Science*. 2001;101(6):629.

80. Sancheti S, Shah P, Phalgune DS. Correlation of endothelial dysfunction measured by flow-mediated vasodilatation to severity of coronary artery disease. *Indian Heart Journal*. 2018;70(5):622-6.
81. Tousoulis D, Charakida M, Stefanadis C. Endothelial function and inflammation in coronary artery disease. *Heart*. 2006;92(4):441-4.
82. Elbaz M, Carrié D, Baudeux JL, Arnal JF, Maupas E, Lotterie JA, et al. High frequency of endothelial vasomotor dysfunction after acute coronary syndromes in non-culprit and angiographically normal coronary arteries: A reversible phenomenon. *Atherosclerosis*. 2005;181(2):311-9.
83. Fichtlscherer S, Rosenberger G, Walter Dirk H, Breuer S, Dimmeler S, Zeiher Andreas M. Elevated C-Reactive Protein Levels and Impaired Endothelial Vasoreactivity in Patients With Coronary Artery Disease. *Circulation*. 2000;102(9):1000-6.
84. Fichtlscherer S, Breuer S, Zeiher Andreas M. Prognostic Value of Systemic Endothelial Dysfunction in Patients With Acute Coronary Syndromes. *Circulation*. 2004;110(14):1926-32.
85. Careri G, Nerla R, Di Monaco A, Russo G, Stazi A, Villano A, et al. Clinical Correlates and Prognostic Value of Flow Mediated Dilation in Patients With Non-ST Segment Elevation Acute Coronary Syndromes. *American Journal of Cardiology*. 2013;111(1):51-7.
86. Hamasaki S, Tei C. Effect of coronary endothelial function on outcomes in patients undergoing percutaneous coronary intervention. *Journal of Cardiology*. 2011;57(3):231-8.
87. Fuke S, Maekawa K, Kawamoto K, Saito H, Sato T, Hioka T, et al. Impaired Endothelial Vasomotor Function After Sirolimus-Eluting Stent Implantation. *Circulation Journal*. 2007;71(2):220-5.
88. Patti G, Pasceri V, Melfi R, Goffredo C, Chello M, D'Ambrosio A, et al. Impaired Flow-Mediated Dilation and Risk of Restenosis in Patients Undergoing Coronary Stent Implantation. *Circulation*. 2005;111(1):70-5.
89. Heitzer T, Schlinzig T, Krohn K, Meinertz T, Münzel T. Endothelial Dysfunction, Oxidative Stress, and Risk of Cardiovascular Events in Patients With Coronary Artery Disease. *Circulation*. 2001;104(22):2673-8.
90. Poirier P, Garneau C, Bogaty P, Nadeau A, Marois L, Brochu C, et al. Impact of left ventricular diastolic dysfunction on maximal treadmill performance in

- normotensive subjects with well-controlled type 2 diabetes mellitus. *American Journal of Cardiology*. 2000;85(4):473-7.
91. Bissinger A, Grycewicz T, Grabowicz W, Lubiński A. Endothelial function and left ventricular remodeling in diabetic and non-diabetic patients after acute coronary syndrome. *International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*. 2011;17(2):CR73-CR7.
 92. Bitar F, Lerman A, Akhter MW, Hatamizadeh P, Janmohamed M, Khan S, et al. Variable Response of Conductance and Resistance Coronary Arteries to Endothelial Stimulation in Patients With Heart Failure Due to Nonischemic Dilated Cardiomyopathy. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*. 2006;11(3):197-202.
 93. Klosinska M, Rudzinski T, Grzelak P, Stefanczyk L, Drozd J, Krzeminska-Pakula M. Endothelium-dependent and -independent vasodilation is more attenuated in ischaemic than in non-ischaemic heart failure. *European Journal of Heart Failure*. 2009;11(8):765-70.
 94. Roquer J, Segura T, Serena J, Castillo J. Endothelial Dysfunction, Vascular Disease and Stroke: The ARTICO Study. *Cerebrovascular Diseases*. 2009;27(suppl 1)(Suppl. 1):25-37.
 95. Santos-Garcia D, Blanco M, Serena J, Arias S, Millan M, Rodriguez-Yañez M, et al. Brachial arterial flow mediated dilation in acute ischemic stroke. *European Journal of Neurology*. 2009;16(6):684-90.
 96. Pretnar-Oblak J, Sabovic M, Pogacnik T, Sebestjen M, Zaletel M. Flow-mediated dilatation and intima-media thickness in patients with lacunar infarctions. *Acta Neurologica Scandinavica*. 2006;113(4):273-7.
 97. Chlumský J, Charvát J. Endothelial Dysfunction, Distensibility and Intima-media Thickness and Aetiology of Stroke. *Journal of International Medical Research*. 2005;33(5):555-61.
 98. Yataco AR, Corretti MC, Gardner AW, Womack CJ, Katzel LI. Endothelial reactivity and cardiac risk factors in older patients with peripheral arterial disease. *American Journal of Cardiology*. 1999;83(5):754-8.
 99. Silvestro A, Scopacasa F, Oliva G, de Cristofaro T, Iuliano L, Brevetti G. Vitamin C prevents endothelial dysfunction induced by acute exercise in patients with intermittent claudication. *Atherosclerosis*. 2002;165(2):277-83.

100. Brevetti G, Silvestro A, Di Giacomo S, Bucur R, Di Donato A, Schiano V, et al. Endothelial dysfunction in peripheral arterial disease is related to increase in plasma markers of inflammation and severity of peripheral circulatory impairment but not to classic risk factors and atherosclerotic burden. *Journal of Vascular Surgery*. 2003;38(2):374-9.
101. Brevetti G, Silvestro A, Schiano V, Chiariello M. Endothelial Dysfunction and Cardiovascular Risk Prediction in Peripheral Arterial Disease. *Circulation*. 2003;108(17):2093-8.
102. Goff David C, Lloyd-Jones Donald M, Bennett G, Coady S, D'Agostino Ralph B, Gibbons R, et al. 2013 ACC/AHA Guideline on the Assessment of Cardiovascular Risk. *Circulation*. 2014;129(25_suppl_2):S49-S73.
103. Anderson T, Charbonneau F, M Title L, Buithieu J, Rose M, Conradson H, et al. Microvascular Function Predicts Cardiovascular Events in Primary Prevention Long-Term Results From the Firefighters and Their Endothelium (FATE) Study 2011. 163-9 p.
104. Yeboah J, Folsom AR, Burke GL, Johnson C, Polak JF, Post W, et al. Predictive Value of Brachial Flow-Mediated Dilation for Incident Cardiovascular Events in a Population-Based Study: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Circulation*. 2009;120(6):502-9.
105. Yeboah J, Crouse JR, Hsu F-C, Burke GL. Brachial flow-mediated dilation predicts incident cardiovascular events in older adults: the Cardiovascular Health Study. *Circulation*. 2007;115(18):2390-7.
106. Andreassen AK, Kvernebo K, Jørgensen B, Simonsen S, Kjekshus J, Gullestad L. Exercise capacity in heart transplant recipients: Relation to impaired endothelium-dependent vasodilation of the peripheral microcirculation. *American Heart Journal*. 1998;136(2):320-8.
107. Classification and Diagnosis of Diabetes Mellitus and Other Categories of Glucose Intolerance. *Diabetes*. 1979;28(12):1039-57.
108. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 2003;26(suppl 1):s5-s20.
109. Glucose tolerance and mortality: comparison of WHO and American Diabetic Association diagnostic criteria. *The Lancet*. 1999;354(9179):617-21.
110. Dunkley AJ, Bodicoat DH, Greaves CJ, Russell C, Yates T, Davies MJ, et al. Diabetes Prevention in the Real World: Effectiveness of Pragmatic Lifestyle

- Interventions for the Prevention of Type 2 Diabetes and of the Impact of Adherence to Guideline Recommendations. A Systematic Review and Meta-analysis. *Diabetes Care*. 2014;37(4):922-33.
111. Whiting DR, Guariguata L, Weil C, Shaw J. IDF diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 2011;94(3):311-21.
 112. Gerstein HC, Santaguida P, Raina P, Morrison KM, Balion C, Hunt D, et al. Annual incidence and relative risk of diabetes in people with various categories of dysglycemia: a systematic overview and meta-analysis of prospective studies. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 2007;78(3):305-12.
 113. Diabetes Prevention Program Research G, Knowler WC, Fowler SE, Hamman RF, Christophi CA, Hoffman HJ, et al. 10-year follow-up of diabetes incidence and weight loss in the Diabetes Prevention Program Outcomes Study. *Lancet*. 2009;374(9702):1677-86.
 114. Yeboah J, Bertoni AG, Herrington DM, Post WS, Burke GL. Impaired fasting glucose and the risk of incident diabetes mellitus and cardiovascular events in an adult population: MESA (Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis). *Journal of the American College of Cardiology*. 2011;58(2):140-6.
 115. Heianza Y, Hara S, Arase Y, Saito K, Fujiwara K, Tsuji H, et al. HbA1c 5.7-6.4% and impaired fasting plasma glucose for diagnosis of prediabetes and risk of progression to diabetes in Japan (TOPICS 3): a longitudinal cohort study. *Lancet*. 2011;378(9786):147-55.
 116. Li G, Zhang P, Wang J, Gregg EW, Yang W, Gong Q, et al. The long-term effect of lifestyle interventions to prevent diabetes in the China Da Qing Diabetes Prevention Study: a 20-year follow-up study. *Lancet*. 2008;371(9626):1783-9.
 117. Danaei G, Finucane MM, Lu Y, Singh GM, Cowan MJ, Paciorek CJ, et al. National, regional, and global trends in fasting plasma glucose and diabetes prevalence since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 370 country-years and 2.7 million participants. *Lancet*. 2011;378(9785):31-40.
 118. Cho NH, Shaw JE, Karuranga S, Huang Y, da Rocha Fernandes JD, Ohlrogge AW, et al. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 2018;138:271-81.

119. OMS. Informe Mundial sobre la diabetes 2016 [consultado 9 noviembre 2018]. Disponible en: <https://www.who.int/diabetes/global-report/es/>
120. Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. National Diabetes Data Group. *Diabetes*. 1979;28(12):1039-57.
121. WHO Expert Committee on Diabetes Mellitus: second report. World Health Organization Technical Report Series. 1980;646:1-80.
122. Standards of Medical Care in Diabetes—2019. *Diabetes Care*. 2019;42(Supplement 1):S1.
123. Cé GV, Rohde LE, da Silva AMV, Coutinho MKP, de Castro AC, Bertoluci MC. Endothelial Dysfunction Is Related to Poor Glycemic Control in Adolescents with Type 1 Diabetes under 5 Years of Disease: Evidence of Metabolic Memory. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2011;96(5):1493-9.
124. Heier M, Espeland CN, Brunborg C, Seljeflot I, Margeirsdottir HD, Hanssen KF, et al. Preserved endothelial function in young adults with type 1 diabetes. *Plos One*. 2018;13(10):e0206523-e.
125. Costacou T, Lopes-Virella MF, Zgibor JC, Virella G, Otvos J, Walsh M, et al. Markers of endothelial dysfunction in the prediction of coronary artery disease in Type 1 diabetes. The Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study. *Journal of Diabetes and its Complications*. 2005;19(4):183-93.
126. Janus A, Szahidewicz-Krupska E, Mazur G, Doroszko A. Insulin Resistance and Endothelial Dysfunction Constitute a Common Therapeutic Target in Cardiometabolic Disorders. *Mediators of Inflammation*. 2016;2016:3634948.
127. Gage MC, Yuldasheva NY, Viswambharan H, Sukumar P, Cubbon RM, Galloway S, et al. Endothelium-specific insulin resistance leads to accelerated atherosclerosis in areas with disturbed flow patterns: A role for reactive oxygen species. *Atherosclerosis*. 2013;230(1):131-9.
128. Kaplan M, Aviram M, Hayek T. Oxidative stress and macrophage foam cell formation during diabetes mellitus-induced atherogenesis: Role of insulin therapy. *Pharmacology & Therapeutics*. 2012;136(2):175-85.
129. Inoguchi T, Li P, Umeda F, Yu HY, Kakimoto M, Imamura M, et al. High glucose level and free fatty acid stimulate reactive oxygen species production through protein kinase C--dependent activation of NAD(P)H oxidase in cultured vascular cells. *Diabetes*. 2000;49(11):1939-45.

130. Wasserman David H, Wang Thomas J, Brown Nancy J. The Vasculature in Prediabetes. *Circulation Research*. 2018;122(8):1135-50.
131. Hee Jung K, Choi H, Kim D, Young Han M, Jae Chang U, Sung-Vin Y, et al. Epigallocatechin Gallate Stimulates Glucose Uptake Through the Phosphatidylinositol 3-Kinase-Mediated Pathway in L6 Rat Skeletal Muscle Cells. *2008*. 429-34 p.
132. Kim J, Montagnani M, Koh Kwang K, Quon Michael J. Reciprocal Relationships Between Insulin Resistance and Endothelial Dysfunction. *Circulation*. 2006;113(15):1888-904.
133. Zheng X-X, Xu Y-L, Li S-H, Liu X-X, Hui R, Huang X-H. Green tea intake lowers fasting serum total and LDL cholesterol in adults: a meta-analysis of 14 randomized controlled trials. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2011;94(2):601-10.
134. Rizza S, Muniyappa R, Iantorno M, Kim J-a, Chen H, Pullikotil P, et al. Citrus polyphenol hesperidin stimulates production of nitric oxide in endothelial cells while improving endothelial function and reducing inflammatory markers in patients with metabolic syndrome. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2011;96(5):E782-E92.
135. Munir KM, Chandrasekaran S, Gao F, Quon MJ. Mechanisms for food polyphenols to ameliorate insulin resistance and endothelial dysfunction: therapeutic implications for diabetes and its cardiovascular complications. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism*. 2013;305(6):E679-E86.
136. Lopez-Moreno J, Quintana-Navarro GM, Camargo A, Jimenez-Lucena R, Delgado-Lista J, Marin C, et al. Dietary fat quantity and quality modifies advanced glycation end products metabolism in patients with metabolic syndrome. *Molecular Nutrition & Food Research*. 2017;61(8):1601029.
137. Berk KA, Oudshoorn TP, Verhoeven AJM, Mulder MT, Roks AJM, Dik WA, et al. Diet-induced weight loss and markers of endothelial dysfunction and inflammation in treated patients with type 2 diabetes. *Clinical Nutrition*. 2016;15:101-6.
138. Kondo K, Morino K, Nishio Y, Ishikado A, Arima H, Nakao K, et al. Fiber-rich diet with brown rice improves endothelial function in type 2 diabetes mellitus: A randomized controlled trial. *Plos One*. 2017;12(6):e0179869-e.

139. Kwak JH, Paik JK, Kim HI, Kim OY, Shin DY, Kim H-J, et al. Dietary treatment with rice containing resistant starch improves markers of endothelial function with reduction of postprandial blood glucose and oxidative stress in patients with prediabetes or newly diagnosed type 2 diabetes. *Atherosclerosis*. 2012;224(2):457-64.
140. Kondo K, Morino K, Nishio Y, Kondo M, Nakao K, Nakagawa F, et al. A fish-based diet intervention improves endothelial function in postmenopausal women with type 2 diabetes mellitus: A randomized crossover trial. *Metabolism - Clinical and Experimental*. 2014;63(7):930-40.
141. Ryan M, McInerney D, Owens D, Collins P, Johnson a, Tomkin GH. Diabetes and the Mediterranean diet: a beneficial effect of oleic acid on insulin sensitivity, adipocyte glucose transport and endothelium-dependent vasoreactivity. *QJM : monthly journal of the Association of Physicians*. 2000;93(2):85-91.
142. Delgado-Lista J, Perez-Martinez P, Garcia-Rios A, Alcala-Diaz JF, Perez-Caballero AI, Gomez-Delgado F, et al. CORonary Diet Intervention with Olive oil and cardiovascular PREvention study (the CORDIOPREV study): Rationale, methods, and baseline characteristics: A clinical trial comparing the efficacy of a Mediterranean diet rich in olive oil versus a low-fat diet on cardiovascular disease in coronary patients. *American Heart Journal*. 2016;177:42-50.
143. Alcala-Diaz JF, Delgado-Lista J, Perez-Martinez P, Garcia-Rios A, Marin C, Quintana-Navarro GM, et al. Hypertriglyceridemia Influences the Degree of Postprandial Lipemic Response in Patients with Metabolic Syndrome and Coronary Artery Disease: From the Cordioprev Study. *Plos One*. 2014;9(5):e96297.
144. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2018. *Diabetes Care*. 2018;41(S1):S13-S27.
145. Lichtenstein A, Appel L, Brands M, Carnethon M, Daniels S, Franch H, et al. Diet and lifestyle recommendations revision 2006 - A scientific statement from the American Heart Association Nutrition Committee (vol 114, pg 82, 2006)2006. 82-96 p.
146. Fernandez-Ballart JD, Piñol JL, Zazpe I, Corella D, Carrasco P, Toledo E, et al. Relative validity of a semi-quantitative food-frequency questionnaire in an elderly Mediterranean population of Spain. *British Journal of Nutrition*. 2010;103(12):1808-16.

147. Martinez-Gonzalez M, Lopez-Fontana C, Varo J, Sanchez-Villegas A, Alfredo M. Validation of the Spanish version of the physical activity questionnaire used in the Nurses' Health Study and the Health Professionals' Follow-Up Study. *Public Health Nutrition*. 2005. 920-7 p.
148. Vilagut G, Ferrer M, Rajmil L, Rebollo P, Permanyer-Miralda G, Quintana JM, et al. El Cuestionario de Salud SF-36 español: una década de experiencia y nuevos desarrollos. *Gaceta Sanitaria*. 2005;19(2):135-50.
149. Perez-Martinez P, Moreno-Conde M, Cruz-Teno C, Ruano J, Fuentes F, Delgado-Lista J, et al. Dietary fat differentially influences regulatory endothelial function during the postprandial state in patients with metabolic syndrome: From the LIPGENE study. *Atherosclerosis*. 209(2):533-8.
150. Marin C, Ramirez R, Delgado-Lista J, Yubero-Serrano EM, Perez-Martinez P, Carracedo J, et al. Mediterranean diet reduces endothelial damage and improves the regenerative capacity of endothelium. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2011;93(2):267-74.
151. Storniolo CE, Casillas R, Bullo M, Castañer O, Ros E, Saez GT, et al. A Mediterranean diet supplemented with extra virgin olive oil or nuts improves endothelial markers involved in blood pressure control in hypertensive women. *European Journal of Nutrition*. 2015:1-9.
152. Rallidis LS, Lekakis J, Kolomvotsou A, Zampelas A, Vamvakou G, Efstathiou S, et al. Close adherence to a Mediterranean diet improves endothelial function in subjects with abdominal obesity. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2009;90(2):263-8.
153. Seligman BGS, Polanczyk CA, Santos ASB, Foppa M, Junges M, Bonzanini L, et al. Intensive practical lifestyle intervention improves endothelial function in metabolic syndrome independent of weight loss: A randomized controlled trial. *Metabolism: Clinical and Experimental*. 2011;60(12):1736-40.
154. Mohler ER, Sibley AA, Stein R, Davila-Roman V, Wyatt H, Badellino K, et al. Endothelial Function and Weight Loss: Comparison of Low-Carbohydrate and Low-Fat Diets. *Obesity (Silver Spring, Md)*. 2013;21(3):504-9.
155. Hodson L, Harnden KE, Roberts R, Dennis aL, Frayn KN. Does the DASH diet lower blood pressure by altering peripheral vascular function? *Journal of Human Hypertension*. 2010;24(5):312-9.

156. Hu FB. Dietary pattern analysis: a new direction in nutritional epidemiology. *Current Opinion in Lipidology*. 2002;13(1):3-9.
157. Kaur R, Kaur M, Singh J. Endothelial dysfunction and platelet hyperactivity in type 2 diabetes mellitus: molecular insights and therapeutic strategies. *Cardiovascular Diabetology*. 2018;17(1):121.
158. Peter K, Nawroth P, Conradt C, Nordt T, Weiss T, Boehme M, et al. Circulating Vascular Cell Adhesion Molecule-1 Correlates With the Extent of Human Atherosclerosis in Contrast to Circulating Intercellular Adhesion Molecule-1, E-Selectin, P-Selectin, and Thrombomodulin. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 1997;17(3):505-12.
159. Harris WS, Park Y, Isley WL. Cardiovascular disease and long-chain omega-3 fatty acids. *Current Opinion in Lipidology*. 2003;14(1):9-14.
160. Estruch R, Martinez-Gonzalez M, Corella D, et al. Effects of a mediterranean-style diet on cardiovascular risk factors: A randomized trial. *Annals of Internal Medicine*. 2006;145(1):1-11.
161. Mena M-P, Sacanella E, Vazquez-Agell M, Morales M, Fitó M, Escoda R, et al. Inhibition of circulating immune cell activation: a molecular antiinflammatory effect of the Mediterranean diet. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2009;89(1):248-56.
162. Casas R, Sacanella E, Urpí-Sardà M, Chiva-Blanch G, Ros E, Martínez-González M-A, et al. The Effects of the Mediterranean Diet on Biomarkers of Vascular Wall Inflammation and Plaque Vulnerability in Subjects with High Risk for Cardiovascular Disease. A Randomized Trial. *Plos One*. 2014;9(6):e100084.
163. Llorente-Cortes V, Estruch R, Mena MP, Ros E, Matinez-Gonzalez M, Fito M, et al. Effect of Mediterranean diet on the expression of pro-atherogenic genes in a population at high cardiovascular risk. *Atherosclerosis*. 2010;208(2):442-50.
164. Preston Mason R. New Insights into Mechanisms of Action for Omega-3 Fatty Acids in Atherothrombotic Cardiovascular Disease. *Current Atherosclerosis reports*. 2019;21(1):2-.
165. Moreno-Luna R, Muñoz-Hernandez R, Miranda ML, Costa AF, Jimenez-Jimenez L, Vallejo-Vaz AJ, et al. Olive Oil Polyphenols Decrease Blood Pressure and Improve Endothelial Function in Young Women with Mild Hypertension. *American Journal of Hypertension*. 2012;25(12):1299-304.

166. Vogel RA, Corretti MC, Plotnick GD. The postprandial effect of components of the mediterranean diet on endothelial function. *Journal of the American College of Cardiology*. 2000;36(5):1455-60.
167. Karatzi K, Papamichael C, Karatzis E, Papaioannou T, Th Voidonikola P, Vamvakou G, et al. Postprandial Improvement of Endothelial Function by Red Wine and Olive Oil Antioxidants: A Synergistic Effect of Components of the Mediterranean Diet. 2008. 448-53 p.
168. Ros E. Health Benefits of Nut Consumption. *Nutrients*. 2010;2(7):652-82.
169. Afshin A, Micha R, Khatibzadeh S, Mozaffarian D. Consumption of nuts and legumes and risk of incident ischemic heart disease, stroke, and diabetes: a systematic review and meta-analysis. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2014;100(1):278-88.
170. Zhou D, Yu H, He F, Reilly KH, Zhang J, Li S, et al. Nut consumption in relation to cardiovascular disease risk and type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2014;100(1):270-7.
171. Sabate J, Oda K, Ros E. Nut consumption and blood lipid levels: A pooled analysis of 25 intervention trials. *Archives of Internal Medicine*. 2010;170(9):821-7.
172. Cortes B, Nuñez I, Cofán M, Gilabert R, Pérez-Heras A, Casals E, et al. Acute Effects of High-Fat Meals Enriched With Walnuts or Olive Oil on Postprandial Endothelial Function. *Journal of the American College of Cardiology*. 2006;48(8):1666-71.
173. Ma Y, Njike VY, Millet J, Dutta S, Doughty K, Treu JA, et al. Effects of Walnut Consumption on Endothelial Function in Type 2 Diabetic Subjects: A randomized controlled crossover trial. *Diabetes Care*. 2010;33(2):227-32.
174. West SG, Krick AL, Klein LC, Zhao G, Wojtowicz TF, McGuinness M, et al. Effects of Diets High in Walnuts and Flax Oil on Hemodynamic Responses to Stress and Vascular Endothelial Function. *Journal of the American College of Nutrition*. 2010;29(6):595-603.
175. Katz DL, Davidhi A, Ma Y, Kavak Y, Bifulco L, Njike VY. Effects of Walnuts on Endothelial Function in Overweight Adults with Visceral Obesity: A Randomized, Controlled, Crossover Trial. *Journal of the American College of Nutrition*. 2012;31(6):415-23.

176. Griswold MG, Fullman N, Hawley C, Arian N, Zimsen SRM, Tymeson HD, et al. Alcohol use and burden for 195 countries and territories, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet*. 2018;392(10152):1015-35.
177. Costanzo S, Di Castelnuovo A, Donati MB, Iacoviello L, de Gaetano G. Wine, beer or spirit drinking in relation to fatal and non-fatal cardiovascular events: a meta-analysis. *European Journal of Epidemiology*. 2011;26(11):833-50.
178. Karatzi K, Karatzis E, Papamichael C, Lekakis J, Zampelas A. Effects of red wine on endothelial function: Postprandial studies vs clinical trials. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 2009;19(10):744-50.
179. Chiva-Blanch G, Arranz S, Lamuela-Raventos RM, Estruch R. Effects of Wine, Alcohol and Polyphenols on Cardiovascular Disease Risk Factors: Evidences from Human Studies. *Alcohol and Alcoholism*. 2013;48(3):270-7.
180. De Caterina R. n–3 Fatty Acids in Cardiovascular Disease. *New England Journal of Medicine*. 2011;364(25):2439-50.
181. Leung Yinko SSL, Stark KD, Thanassoulis G, Pilote L. Fish Consumption and Acute Coronary Syndrome: A Meta-Analysis. *The American Journal of Medicine*. 2014;127(9):848-57.e2.
182. Xun P, Qin B, Song Y, Nakamura Y, Kurth T, Yaemsiri S, et al. Fish consumption and risk of stroke and its subtypes: accumulative evidence from a meta-analysis of prospective cohort studies. *European Journal of Clinical Nutrition*. 2012;66:1199.
183. Djousse L, Akinkuolie AO, Wu JHY, Ding EL, Gaziano JM. Fish consumption, omega-3 fatty acids and risk of heart failure: a meta-analysis. *Clinical Nutrition*. 2012;31(6):846-53.
184. Buscemi S, Vasto S, Di Gaudio F, Grosso G, Bergante S, Galvano F, et al. Endothelial Function and Serum Concentration of Toxic Metals in Frequent Consumers of Fish. *Plos One*. 2014;9(11):e112478.
185. Lindqvist HM, Langkilde AM, Undeland I, Sandberg A-S. Herring (*Clupea harengus*) intake influences lipoproteins but not inflammatory and oxidation markers in overweight men. *British Journal of Nutrition*. 2008;101(3):383-90.
186. Lopez-Garcia E, Schulze MB, Manson JE, Meigs JB, Albert CM, Rifai N, et al. Consumption of (n-3) Fatty Acids Is Related to Plasma Biomarkers of I

- nflammation and Endothelial Activation in Women. *The Journal of Nutrition*. 2004;134(7):1806-11.
187. Zampelas A, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Das UN, Chrysohoou C, Skoumas Y, et al. Fish Consumption Among Healthy Adults Is Associated With Decreased Levels of Inflammatory Markers Related to Cardiovascular Disease: The ATTICA Study. *Journal of the American College of Cardiology*. 2005;46(1):120-4.
 188. Moradipour S, Ismail P, Etemad A, Wan Sulaiman WA, Ahmadloo S, Khazaei S. ;Expression Profiling of Genes Related to Endothelial Cells Biology in Patients with Type 2 Diabetes and Patients with Prediabetes. *BioMed Research International*. 2017;2017:1.
 189. Suwaidi JA, Hamasaki S, Higano ST, Nishimura RA, Holmes DR, Lerman A. Long-Term Follow-Up of Patients With Mild Coronary Artery Disease and Endothelial Dysfunction. *Circulation*. 2000;101(9):948-54.
 190. Celermajer DS, Sorensen KE, Bull C, Robinson J, Deanfield JE. Endothelium-dependent dilation in the systemic arteries of asymptomatic subjects relates to coronary risk factors and their interaction. *Journal of the American College of Cardiology*. 1994;24(6):1468-74.
 191. Laclaustra M, Frangi AF, Frangi AG, Casasnovas JA, Cia P. Association of endothelial function and vascular data with LDL-c and HDL-c in a homogeneous population of middle-aged, healthy military men: Evidence for a critical role of optimal lipid levels. *International Journal of Cardiology*.125(3):376-82.
 192. Witte DR, Westerink J, de Koning EJ, van der Graaf Y, Grobbee DE, Bots ML. Is the Association Between Flow-Mediated Dilation and Cardiovascular Risk Limited to Low-Risk Populations? *Journal of the American College of Cardiology*. 2005;45(12):1987-93.
 193. Anderson EA, Mark AL. Flow-mediated and reflex changes in large peripheral artery tone in humans. *Circulation*. 1989;79(1):93-100.
 194. Inaba Y, Chen JA, Bergmann SR. Prediction of future cardiovascular outcomes by flow-mediated vasodilatation of brachial artery: a meta-analysis. *The International Journal of Cardiovascular Imaging*. 2010;26(6):631-40.
 195. Huang Y, Cai X, Mai W, Li M, Hu Y. Association between prediabetes and risk of cardiovascular disease and all cause mortality: systematic review and meta-analysis. *The BMJ*. 2016;355:i5953.

CAPÍTULO 11

PRODUCCIÓN CIENTÍFICA DERIVADA DE LA TESIS

XI. PRODUCCIÓN CIENTÍFICA DERIVADA DE LA TESIS.

Mediterranean diet improves endothelial function in patients with diabetes and prediabetes: A report from the CORDIOPREV study.

Jose D. Torres-Peña, Antonio Garcia-Rios, Nieves Delgado-Casado, Purificacion Gomez-Luna, Juan F. Alcalá-Díaz, Elena M. Yubero-Serrano, Francisco Gomez-Delgado, Ana Leon-Acuña, Javier Lopez-Moreno, Antonio Camargo, Francisco J. Tinahones, Javier Delgado-Lista, Jose M. Ordovas, Pablo Perez-Martinez, Jose Lopez-Miranda.

Atherosclerosis. 2018 Feb;269:50-56. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2017.12.012.

Journal Impact Factor (2017): 4.467. Q1. Medicine.Cardiology and Cardiovascular Medicine.



Mediterranean diet improves endothelial function in patients with diabetes and prediabetes: A report from the CORDIOPREV study



Jose D. Torres-Peña^{a,b}, Antonio Garcia-Rios^{a,b}, Nieves Delgado-Casado^{a,b}, Purificacion Gomez-Luna^{a,b}, Juan F. Alcalá-Díaz^{a,b}, Elena M. Yubero-Serrano^{a,b}, Francisco Gomez-Delgado^{a,b}, Ana Leon-Acuña^{a,b}, Javier Lopez-Moreno^{a,b}, Antonio Camargo^{a,b}, Francisco J. Tinahones^{b,c}, Javier Delgado-Lista^{a,b}, Jose M. Ordovas^{d,e,f}, Pablo Perez-Martinez^{a,b,*}, Jose Lopez-Miranda^{a,b,1}

^a Lipid and Atherosclerosis Unit, Department of Internal Medicine / IMIBIC/Reina Sofia University Hospital/University of Cordoba, Spain

^b CIBER Fisiopatología Obesidad y Nutrición (CIBEROBN), Instituto de Salud Carlos III, Spain

^c Biomedical Research Institute of Malaga (IBIMA), Virgen de la Victoria Hospital, University of Malaga, Malaga, Spain

^d Jean Mayer U.S. Department of Agriculture Human Nutrition Research Center on Aging, Tufts University School of Medicine, Boston, MA, USA

^e Madrid Institute of Advanced Studies—Food, Madrid, Spain

^f National Centre of Cardiovascular Research (CNIC), Madrid, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 3 October 2017

Received in revised form

5 December 2017

Accepted 7 December 2017

Available online 8 December 2017

Keywords:

Endothelial function

Diabetes

Prediabetes

CORDIOPREV study

Mediterranean diet

Secondary prevention

ABSTRACT

Background and aims: Endothelial dysfunction (ED) plays a key role in the development of atherosclerotic cardiovascular disease (ASCVD). Likewise, type 2 diabetes (T2D) is a major CVD risk factor. Therefore, our objective was to explore whether long-term consumption of a Mediterranean diet (MedDiet) rich in olive oil or a low-fat diet (LF diet) was associated with an improvement in ED and whether the potential benefits were similar in patients with or without T2D in the CORDIOPREV clinical trial (NCT00924937).

Methods: Endothelial function was measured in 805 participants who had completed follow-up ultrasound image studies, using ultrasonography of brachial artery to calculate flow mediated vasodilatation (FMD) before and after 1.5 years of intervention with a MedDiet [35% of calories from fat (22% monounsaturated) and 50% from carbohydrates] and LF diet [28% fat (12% monounsaturated) and 55% of calories from carbohydrates]. We categorized participants as patients with T2D, prediabetes, and without T2D according to the American Diabetes Association (ADA) criteria.

Results: MedDiet increased FMD in patients with T2D [5.2 ± 0.4 at 1.5 years vs. 3.8 ± 0.4 at baseline; $p=0.04$] and prediabetes [4.9 ± 0.4 vs. 3.8 ± 0.4 ; $p=0.04$] and induced an improvement in FMD compared to LF diet in patients with diabetes [5.2 ± 0.4 (MedDiet) vs. 3.7 ± 0.4 (LF diet); $p=0.01$]; whereas both diets maintained FMD stable in patients without diabetes.

Conclusions: Habitual consumption of a MedDiet rich in extra virgin olive oil improves endothelial function in patients with prediabetes and diabetes. This takes great importance given that diet must be the cornerstone of treatment of patients with diabetes at high cardiovascular risk.

© 2017 Elsevier B.V. All rights reserved.

Abbreviations: ADA, American Diabetes Association; ASCVD, atherosclerotic cardiovascular disease; BMI, body mass index; CVD, cardiovascular disease; CHD, coronary heart disease; FMD, flow mediated vasodilatation; HDL-C, high-density lipoprotein cholesterol; LDL-C, low density lipoprotein; LF, low fat; MedDiet, Mediterranean diet; NO, nitric oxide; TC, total cholesterol; TG, triglycerides; T2D, type 2 diabetes.

* Corresponding author. Reina Sofia University Hospital, Lipid and Atherosclerosis Research Unit. Avda. Menéndez Pidal, s/n. 14004 Córdoba, Spain.

E-mail address: pablopermar@yahoo.es (P. Perez-Martinez).

¹ These authors contributed equally to this work.

<https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2017.12.012>
0021-9150/© 2017 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Diabetes is a major driver of morbidity and mortality in developed countries [1], imposing a large economic burden on the health-care system and on society at large. Atherosclerotic cardiovascular disease (ASCVD) is the main cause of morbidity and mortality in diabetics [2]. About 45% of the reduction in ASCVD-related mortality has been attributed to medical interventions, whereas up to 50% has been accredited to a better control of its risk

factors [3,4], hence the importance of properly identifying and classifying patients and aiming at prevention strategies at those at higher risk. This is especially important in secondary prevention [5], where endothelial dysfunction, characterized by decreased bioavailability of nitric oxide (NO), progressive loss of endothelial cells [6–8] and altered vascular repair, is one of the main mechanisms involved in the onset of ASCVD [9]. Over the last two decades, a non-invasive technique has evolved to evaluate flow-mediated vasodilatation (FMD), an endothelium-dependent function, in the brachial artery [10]. A stimulus causes the endothelium to release NO, with subsequent vasodilatation that can be quantified as an index of the vasomotor function. Anderson et al. [11] confirmed the relationship of the vasodilator response in the brachial artery with the response of the coronary circulation by coronary angiography. Specifically, in patients with ASCVD, the endothelial vasodilator response usually decreased due to ED to <4.5% and even <2% [12–14].

It is known that vascular reactivity can be influenced by diet-related factors [15]. In this context, Ceriello et al. [16] showed that a Mediterranean diet (MedDiet) prevents the deleterious effects of hyperglycemia on the endothelial function. The cellular toxicity induced by hyperglycemia has a damaging effect on endothelial function, and this may contribute to the association observed in prediabetes and diabetes, with increased risk of developing macrovascular complications, and to the increased prevalence of ASCVD in these individuals [17]. However, to date, there have been no large-scale studies showing the long-term effects of diet on endothelial function in subjects with diabetes.

Therefore, the objective of this study was to investigate whether consumption of healthy diets [e.g. MedDiet rich in olive oil or low fat (LF) diets] was associated with an improvement in endothelial dysfunction in patients with diabetes, prediabetes and without diabetes from the CORDIOPREV clinical trial (NCT00924937).

2. Materials and methods

2.1. Population

Our work was carried out in the context of the CORDIOPREV study. The CORDIOPREV study is an ongoing prospective, randomized, single blind, controlled trial including 1002 patients with CHD, who had their last coronary event more than six months before enrolment. The objective of the study was to evaluate the efficacy of a Mediterranean diet rich in fat from olive oil, as compared with a low-fat diet, to prevent clinical events and mortality in patients with previous CHD in a long-term follow-up study. Patients were recruited from November 2009 to February 2012, mostly at Reina Sofia University Hospital, Cordoba, Spain, but also from other hospitals in the neighboring provinces of Cordoba and Jaen. The baseline characteristics, inclusion and exclusion criteria have been published previously [18]. Patients were eligible if they were between 20 and 75 years old, with established CHD, without clinical events in the last six months, with the intention of participating in a long-term intervention and monitoring study, with no other serious diseases and if they had a life expectancy over five years. A total of 805 patients enrolled in CORDIOPREV study completed the follow-up ultrasonography study after 1.5 years of intervention with a MedDiet (n = 418) or an LF diet (n = 387). 197 patients were excluded mainly because they did not complete the follow-up ultrasonography study (161 [16%]) or due to problems related to the technique (36 [3.4%]) (Fig. 1).

In order to show the effect of both diets (MedDiet and LF) in different subgroups, we categorized participants as patients with/without prediabetes, diabetes, and according to American Diabetes Association (ADA) [19] guidelines.

All patients gave their written informed consent to participate in the study and the trial protocol was approved by the local ethics committees, in line with the Helsinki declaration and good clinical practices.

2.2. Diet, dietary assessment and follow up visits

Patients were randomized to two different healthy dietary patterns: a MedDiet rich in fat from olive oil, with 35% of calories from fat (22% monounsaturated, 6% polyunsaturated, 7% saturated), and 50% from carbohydrates; and a LF diet, with 28% of calories from fat (12% monounsaturated, 8% polyunsaturated, 8% saturated) and 55% of calories from carbohydrates. A dietitian carried out the dietary monitoring and internists and cardiologists performed the clinical monitoring. Dietitians personalized the message, adapting it to the participant's clinical condition and preferences. The general guidelines to the MedDiet group were: abundant use of virgin olive oil for cooking and dressing of salads and other dishes (participants were given free extra virgin olive oil and they were told to use the oil as much as they needed in their regular diet), consumption of two or more servings (125 g/serving) per day of vegetables (at least one of them as salad), three or more servings (125 g/serving) per day of fresh fruit, three or more servings (40 g/serving) per week of legumes; three or more servings (150 g/serving) per week of fish or seafood, three or more servings (25 g/serving) per week of nuts or seeds, white meats instead of red meats or processed meats and regular preparation of a homemade sauce with tomato, garlic, onion, and spices with olive oil to dress vegetables, pasta, rice and other dishes. Optionally, in alcohol drinkers, a moderate consumption of red wine (7 glasses/week) was also allowed. Recommendations were also given to avoid and limit the consumption of butter, cream, fast food, sweets, pastries and sugar-sweetened beverages. The participants randomized to the low-fat diet received recommendations according to the American Heart Association and the National Cholesterol Education Program dietary guidelines, focused on limiting all types of fat (from both animal or vegetable sources) and on increasing the intake of complex carbohydrates. They also received free food packs containing the main food components of this dietary pattern. Full study diets, dietary assessment and follow-up visits have been previously reported [18].

2.3. Study of endothelial function

Ultrasonography of the brachial artery, flow mediated vasodilation, baseline and follow-up studies.

FMD was assessed at the beginning of the study and after 1.5 years consuming one of the healthy dietary patterns.

Ultrasonography of the brachial artery was performed using the guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery promoted by The International Brachial Artery Reactivity Task Force [20]. Briefly, tests were carried out in the morning, after fasting, under stable temperature conditions, after supine rest for at least 10 min without stopping medication, 48 h without physical activity and after remaining supine until the final image was recorded. The arm was immobilized to prevent movement throughout the duration of the study period (20–30 min) using a stereotactic device to immobilize the arm and the transducer. We then visualized the brachial artery in the right antecubital fossa at the level of a non-tortuous longitudinal segment, in which the anterior and posterior intimal layers could be located with a high resolution 12 MHz transducer through an ultrasound Philips® EnVisor HD, and baseline images were obtained. During the baseline image acquisition, anatomic landmarks (veins and fascial planes) were noted to help

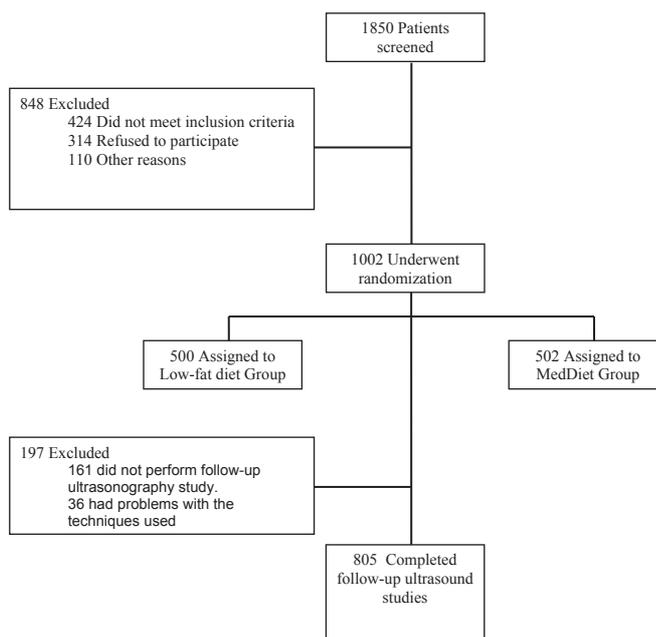


Fig. 1. Screening and randomization flow-chart of the CordioPrev study and assessment of endothelial function using ultrasonography of the brachial artery.

maintain the same image. After 1.5 years, these images were checked by technicians to ensure the correct anatomical location in the right antecubital fossa. Subsequently, the pressure cuff was inflated to 300 mmHg and maintained for 4.5 min, and then, after the cuff was deflated, reactive hyperemia was measured one minute after the new diameter. The whole process from 30 s before deflating the cuff until 2 min after was recorded on video. The percentage change between diameters after the cuff was deflated (D2) and baseline, pre-occlusion period (D1), calculated as $[(D2-D1)/D1] \times 100\%$, was defined as brachial flow mediated dilatation (FMD). Ultrasonography studies were carried out by two technicians. The intra-observer and inter-observer variability was 8.85% and 8.7%, respectively. The images were imported and stored on the hard disk on the ultrasonography device.

2.4. Anthropometric evaluation

Weight and height were measured by trained dietitians using calibrated scales (BF511 Body Composition Analyzer/Scale, OMRON, Japan) and a wall-mounted stadiometer (Seca 242, HealthCheck Systems, Brooklyn, NY), respectively. Waist circumference was measured midway between the lowest rib and the iliac crest using an anthropometric tape. BMI was calculated as weight per square metre (kg/m^2). The measurements of height and weight were taken first at baseline and again at follow-up.

2.5. Laboratory test

Venous blood samples were taken from the antecubital vein and collected in vacutainer tubes containing EDTA. Serum parameters, glucose, total cholesterol, HDL-C and triglycerides (TG) were measured using an Architect c-16000 analyzer (Abbott®, Chicago,

Illinois, USA) by spectrophotometric techniques. LDL-C was calculated using the Friedewald formula (provided the TG level was below 400 mg/dl). Apolipoprotein concentrations were determined by immunoturbidimetry.

2.6. Sample size and power calculations

We used the sample size from the CORDIOPREV clinical trial for our study. In our study, it was calculated based on the assumption that FMD in CHD patients is usually under 4.5% [12,13]. Accepting a two-tailed α of 0.05, a follow-up loss rate of 2% (CORDIOPREV study loss rate) and a power of 0.80, 145 subjects in each group were required to detect a minimum difference of 1 between both groups, assuming that there were 2 groups and a standard deviation of 3. Subsequently, given the fact that we used the CORDIOPREV population (1002 patients, of whom 805 completed the ultrasound follow-up study), the population size was sufficient for our study.

2.7. Statistical analysis

All the statistical analyses were performed using SPSS 22 for Windows. The data are presented as mean \pm standard error for continuous variables. Continuous variables were compared between the three groups (diabetes, prediabetes and absence of diabetes) using the analysis of variance (ANOVA) and *post-hoc* multiple comparisons analysis using Bonferroni's test was applied. Repeated measures ANOVA were used to investigate the effects of the type of diet on FMD and depending on the presence of diabetes, prediabetes or absence of diabetes. Pearson's linear correlation was calculated to explore possible correlations between FMD and plasma concentrations of LDL-C, HDL-C, triglycerides, CRPs, glucose and HbA1c. All the analyses were adjusted for potential

confounders; the factors considered as potential confounders or potential effect modifiers were age, sex, body mass index, medications (beta blockers, angiotensin receptor antagonist, angiotensin converting enzyme inhibitor, nitrates, drugs to treat diabetes) and smoking habit. $p < 0.05$ was considered statistically significant.

3. Results

Baseline demographic and biochemical characteristics of the study are shown in Table 1. Age, weight, waist circumference, BMI, TC, LDL-C, HDL-C, TG, ApoA-1, ApoB, glucose and HbA1c were statistically significant among groups (Table 1). Out of the 805 participants who completed the follow-up ultrasound image studies, 438 were classified at baseline as patients with diabetes, 289 as patients with prediabetes and 78 as without diabetes.

We examined the effect of both diets on FMD after 1.5 years of follow up according to the diabetes status. Our results show that the MedDiet increased FMD in patients with diabetes ($5.2 \pm 0.4\%$ at 1.5 years follow-up vs. $3.8 \pm 0.4\%$ at baseline; $p=0.04$) and prediabetes ($4.9 \pm 0.4\%$ at 1.5 years follow-up vs. $3.8 \pm 0.4\%$ at baseline; $p=0.04$). No significant differences were observed in patients without diabetes ($p=0.53$) (Fig. 2A). Additionally, MedDiet induced an improvement in endothelial function after 1.5 y compared to LF diet in patients with diabetes (5.2 ± 0.4 vs. 3.7 ± 0.4 ; $p=0.01$) (Fig. 3). Moreover, the long-term consumption of the LF diet maintained a stable FMD in patients with prediabetes and diabetes (Fig. 2B). Finally, both diets stabilized FMD in patients without diabetes (Fig. 2).

We also evaluated the correlation between plasma concentrations of LDL-C, HDL-C, triglycerides, CRPhs, glucose and HbA1c, and the percentage of variation of FMD. In this regard, no significant correlations were observed during follow-up.

4. Discussion

This study provides novel evidence supporting the hypothesis that long-term consumption (~1.5 years) of a MedDiet rich in extra virgin olive oil improves endothelial function in patients with prediabetes and diabetes. Furthermore, the MedDiet significantly improved endothelial function in diabetic patients compared to a low-fat diet. Similar results had been reported earlier in hypercholesterolemic subjects [21] as well as in patients with metabolic syndrome [22] and hypertensive women [23]. Likewise, Ryan et al. showed that FMD was significantly improved by an oleic-acid-rich diet and that the shift from a polyunsaturated (PUFA) to a MUFA

diet in type 2 diabetes reduced insulin resistance and restored endothelium-dependent vasodilatation [24]. This evidence suggests that quality of the dietary fat can have a favorable influence on the vascular endothelium function.

Studies on the influence of LF diet or low carbohydrates diets on the endothelium have also been carried out [25–27]. In our study, the LF diet maintained a stable FMD over time, suggesting that this dietary pattern may prevent further age- and disease-related worsening of the endothelial function. Sellingman et al. demonstrated that an LF diet, combined with high-intensity exercise, was associated with enhanced FMD and vascular protection in patients with metabolic syndrome [25]. Moreover, Mohler et al. showed no differences between an LF diet (55% of calories from carbohydrate, 30% from fat, and 15% from protein) and a low-carbohydrate diet (limited carbohydrate intake, but unrestricted consumption of fat and protein) in FMD, and no significant improvement in the endothelial function was achieved by either a low-carbohydrate or LF diet [26]. In addition, a short-term study using the DASH (Dietary Approaches to Stop Hypertension) diet showed improvements in some cardiometabolic markers but no change in FMD [27]. This evidence suggests that LF diets can stop further deterioration of the endothelial function.

The damage to the vascular endothelium induced by diabetes triggers endothelial dysfunction, resulting in altered endothelium-dependent vasodilation. The mechanisms responsible for ED in these patients are complex: endothelial activation modifies the expression/secretion of cytokines (IL-1, PDGF, bFGF MCP-1) and adhesion molecules (VCAM-1, ICAM1, P-Selectin), which is one of the main mechanisms involved in the onset of arteriosclerosis, but which is also associated with altered vascular repair, accelerating the progression of ED [28]. Several of these processes may be modulated by diet [29–33] and these may result in improved endothelial function, as can be seen following the intake of diets rich in extra virgin olive oil [29,30]. However, these effects are not driven exclusively by MUFA present in olive oil, but also by minor components, such as phenolic compounds [31] and vitamins. The phenols contained in virgin olive oil are capable of improving oxidative stress through decreasing activation of proinflammatory mediators and increased bioavailability of NO, which improves the vasodilator-dependent response of endothelium. Additionally, the abundance of fish rich in ω -3 fatty acids and the presence of vegetables rich in antioxidants may act synergistically on EF [32] and may account for the beneficial effect of this dietary pattern on EF observed in our study. Thus, although traditional analysis in the field of nutrition examines single or multiple foods and nutrients,

Table 1
Baseline characteristics of the patients, according to diabetes status.

	Diabetes n = 438	Prediabetes n = 289	Absence of diabetes n = 78	p-value
Age (y)	61.1 \pm 0.1 ^a	58.1 \pm 0.1 ^b	56 \pm 0.2 ^c	0.001
Weight (kg)	86.7 \pm 0.7 ^a	83.1 \pm 0.74 ^b	81.4 \pm 1.6 ^c	0.001
Waist circumference (cm)	106.9 \pm 0.5 ^a	102.9 \pm 0.6 ^b	100 \pm 1.24 ^c	0.001
BMI (kg/m ²)	31.8 \pm 0.2 ^a	30.3 \pm 0.2 ^b	29.5 \pm 0.5 ^c	0.001
TC (mg/dL)	157 \pm 1.5 ^a	162 \pm 1.7 ^b	152 \pm 3.2 ^c	0.001
LDL-C (mg/dL)	87 \pm 1.2 ^a	92 \pm 1.5 ^b	86 \pm 2.4 ^a	0.001
HDL-C (mg/dL)	40 \pm 0.5 ^a	43 \pm 0.6 ^b	43 \pm 0.9 ^b	0.001
TG (mg/dL)	149 \pm 3.8 ^a	128 \pm 4.1 ^b	107 \pm 5.6 ^c	0.001
ApoA-1 (mg/dL)	125 \pm 0.9 ^a	133 \pm 1.2 ^b	132 \pm 2.3 ^b	0.001
ApoB (mg/dL)	75 \pm 1 ^a	73 \pm 1 ^a	67 \pm 1.7 ^b	0.001
Glucose (mg/dL)	128 \pm 1.9 ^a	93 \pm 0.6 ^b	92 \pm 1.2 ^b	0.001
HbA1c (%)	7.3 \pm 0.06 ^a	6.01 \pm 0.01 ^b	5.4 \pm 0.02 ^c	0.001

SEM, standard error; BMI, body mass index; HbA1c, glycated hemoglobin; HDL-C, high-density lipoprotein cholesterol; TG, triglycerides; TC, total cholesterol; and LDL-C, low-density lipoprotein cholesterol. Values are mean \pm SEM. One-way ANOVA, $p < 0.05$ post hoc Bonferroni analysis according to three subgroups. Values in the same row with different superscript letters are significantly different.

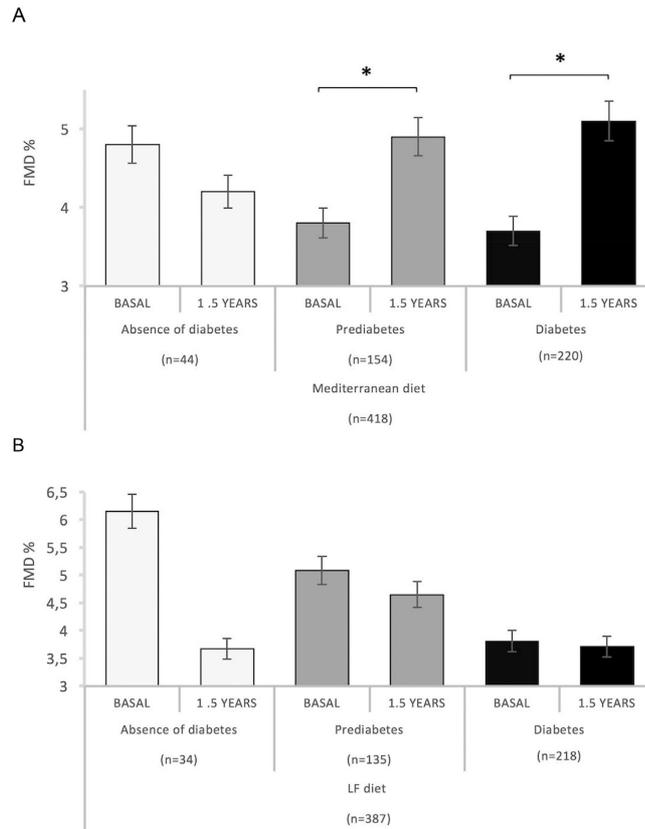


Fig. 2. Flow-mediated vasodilation (FMD).

(A) At baseline and after 1.5 years of consumption of MedDiet dietary pattern in patients with prediabetes, diabetes and without diabetes. * $p < 0.05$ indicates significant differences.
 (B) At baseline and after 1.5 y of consumption of LF diet in patients with prediabetes, diabetes and without diabetes. * $p < 0.05$ indicates significant differences.

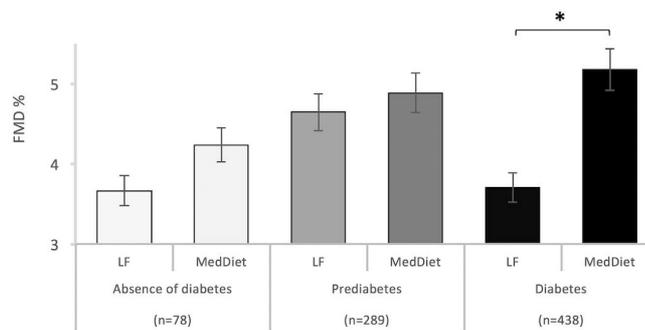


Fig. 3. Flow-mediated vasodilation (FMD) after 1.5 years of consumption, according to diabetes status.

Comparison between diets in patients with prediabetes, diabetes and without diabetes. * $p < 0.05$ indicates significant differences.

over the past few years, the dietary pattern analysis approach is an alternative way of analyzing food groups. It is important to note that people consume meals, which are composed of a wide, complex variety of single nutrients and not separate nutrients. Therefore, the use of dietary pattern analysis over individual foods or nutrients contained in these diets gives us a broader perspective of what foods and nutrients are consumed by people, and their effects. As we previously mentioned, extra virgin olive oil has a large number of beneficial properties mediated by its content in MUFA and polyphenols, but is important to highlight that the consumption of olive oil, the main fat of MedDiet, also favours the consumption of all kinds of legumes in cooked dishes, vegetables or fruit as part of salads and it is the main lipid added to all foods in daily cooking. The consumption of other essential components of the MedDiet, such as whole grain, dairy products and fish, rich in fiber, vitamins/minerals and ω -3 fatty acids, can have a synergistic effect to extra virgin olive oil, fruit and vegetables, so the small individual effect of these separate nutrients, which is sometimes difficult to quantify, may be cumulative and enough to be detected when they act as part of the MedDiet pattern. This approach can explain the effect of the MedDiet pattern on EF in single foods. As regards the LF diet, the presence of vegetables and the reduction of red meat, whole dairy products, refined sugar and industrial bakery products may also explain the benefit of this diet in preventing further deterioration [33].

Furthermore, as we previously mentioned, patients with prediabetes have an increased risk of ASCVD. In this context, Moradipour et al. suggested that diabetes and prediabetes disrupt the expression of genes involved in endothelial cell function, which, in turn, triggers vascular damage and induces endothelial dysfunction [34]. Moreover, Suwaidi et al. [35] demonstrated that the rate of coronary events was higher in patients with severe endothelial dysfunction, while patients without endothelial dysfunction had no new cardiovascular events, despite both groups having the same type and severity of coronary lesions. Taking these findings into account, the improvement of endothelial function in patients with prediabetes may allow us to reduce further cardiovascular complications.

The FMD technique is of clinical interest because it allows us to learn about the status of the peripheral vascular endothelium and the presence of ASCVD (coronary heart disease, cerebrovascular complication and other cardiovascular events). Under standardized conditions, FMD can be used as a marker for exposure to risk factors and their functional effects [36–38]. In secondary prevention, it provides long-term prognostic information both in patients with peripheral vascular disease [39] and in those with acute coronary syndrome [40]. However, the clinical application of FMD is currently limited, and therefore FMD tests continue to be used only in the field of research and it use as a tool for monitoring patients or to decide which therapy to apply is still limited. This is of major importance in clinical practice, as we know that the association between lower FMD and cardiovascular risk has been clearly established by several studies [41,42].

Among the strengths of our work, we would like to stress that we performed a randomized controlled intervention clinical trial, with a large sample size whose statistical power minimized bias, and close dietary monitoring carried out by our nutritionists during the whole of the follow-up period. Our study has potential translational benefits: a healthy diet can decrease the progression of ASCVD by improving endothelial function, even in subgroups with high cardiovascular risk, such as CHD patients with prediabetes and diabetes [43], thus reinforcing the key role of the dietary recommendations, which are sometimes ignored in clinical practice.

However, it is important to note that FMD is a complex technique, which is difficult to implement in clinical practice, and the

dynamic nature of the endothelium reduces the reproducibility of the results.

In summary, in the CORDIOPREV study, we demonstrated that long-term consumption of a MedDiet rich in virgin olive oil and an LF diet improve endothelial function in patients with prediabetes and diabetes. Consequently, these findings emphasize the clinical need to identify subgroups of patients who must be treated more aggressively, with attention to personalized dietary recommendations or drugs to prevent cardio-metabolic complications.

Conflict of interest

The authors declared they do not have anything to disclose regarding conflict of interest with respect to this manuscript.

Financial support

The CORDIOPREV study is supported by the Fundacion Patrimonio Comunal Olivarero. We also received additional funding from CITOLIVA, Junta de Andalucía (Consejería de Salud, Consejería de Agricultura y Pesca, Consejería de Innovacion, Ciencia y Empresa), Diputaciones de Jaen y Cordoba, Centro de Excelencia en Investigacion sobre Aceite de Oliva y Salud and Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino, Spain. It was also partly supported by research grants from the Ministerio de Ciencia e Innovación, Spain (AGL2009-122270 to JLM, FIS P113/00185 to PPM, FIS P113/00023 to JDL); Ministerio de Economía, Industria y Competitividad, Spain (AGL2015-67896-P to JLM, AGL2012/39615 to JLM); Instituto de Salud Carlos III (PIE14/00005, PIE14/00031); Proyecto de Excelencia, Consejería de Economía, Innovación, Ciencia y Empleo (CVI-7450 to JLM); and by a Research Grant from the European Community (JPI ERA-HDHL PCIN-2016-084, NUTRI-TECH European Integrated Project-289511). The CIBEROBN is an initiative of the Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain. The sponsors had no role in the study design, data collection and analysis, decision to publish or preparation of the manuscript. This material is based upon work supported by the U.S. Department of Agriculture—Agricultural Research Service (ARS), under Agreement No. 58-1950-4-003.

Author contributions

JDTP, JLM and PPM: drafted the manuscript and analyzed the data; AGR, NDC, PGL, JFAD, EMYS, FGD, ALA, JLM, AC and JDL: supervised data analysis, helped interpret the results and provided critical comments on the manuscript; FJT and JMO: provided a critical review of the manuscript.

Acknowledgments

We would like thank the EASP (Escuela Andaluza de Salud Publica), Granada, Spain, who performed the randomization process for this study.

References

- [1] N.C.D. Risk, Worldwide trends in diabetes since 1980: a pooled analysis of 751 population-based studies with 4.4 million participants, *Lancet* 387 (10027) (2008) 1513–1530.
- [2] J.B. Buse, H.N. Ginsberg, G.L. Bakris, N.G. Clark, F. Costa, R. Eckel, et al., Primary prevention of cardiovascular diseases in people with diabetes mellitus, *Circulation* 115 (1) (2007) 114.
- [3] E.S. Ford, U.A. Ajani, J.B. Croft, J.A. Critchley, D.R. Labarthe, T.E. Kottke, et al., Explaining the decrease in U.S. Deaths from coronary disease, 1980–2000, *N. Engl. J. Med.* 356 (23) (2007) 2388–2398.
- [4] M. Franco, R. Cooper, U. Bilal, V. Fuster, Control of coronary heart disease risk factors and evidence-based therapies: joint efforts for coronary heart disease

- prevention in Spain, *Rev. Española Cardiol. English Ed.* 64 (11) (2011) 962–964.
- [15] T. Jernberg, P. Hasvold, M. Henriksson, H. Hjelm, M. Thuresson, M. Janzon, Cardiovascular risk in post-myocardial infarction patients: nationwide real world data demonstrate the importance of a long-term perspective, *Eur. Heart J.* 36 (19) (2015) 1163–1170.
 - [16] H. Brunner, J.R. Cockcroft, J. Deanfield, A. Donald, E. Ferrannini, J. Halcox, et al., Endothelial function and dysfunction. Part II: association with cardiovascular risk factors and diseases. A statement by the working group on endothelins and endothelial factors of the European Society of Hypertension, *J. Hypertens.* 23 (2) (2005) 233–246.
 - [17] J.P. Halcox, W.H. Schenke, G. Zalos, R. Mincemoyer, A. Prasad, M.A. Waclawiw, et al., Prognostic value of coronary vascular endothelial dysfunction, *Circulation* 106 (6) (2002) 653–658.
 - [18] E. Corrado, M. Rizzo, G. Coppola, K. Fattouch, G. Novo, I. Marturana, et al., An update on the role of markers of inflammation in atherosclerosis, *J. Atheroscler. Thrombosis* 17 (1) (2010) 1–11.
 - [19] C. Francesco, T. Elena, M. Stefano, M. Andrea, Genetic and molecular determinants of atherosclerotic plaque instability, *Curr. Vasc. Pharmacol.* 8 (4) (2010) 545–552.
 - [10] Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet*.340(8828):1111–1115.
 - [11] T.J. Anderson, A. Uehata, M.D. Gerhard, L.T. Meredith, S. Knab, D. Delagrang, et al., Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations, *J. Am. Coll. Cardiol.* 26 (5) (1995) 1235–1241.
 - [12] M. Enderle, S. Schroeder, R. Ossen, C. Meisner, A. Baumbach, H. Haering, et al., Comparison of peripheral endothelial dysfunction and intima media thickness in patients with suspected coronary artery disease, *Heart* 80 (4) (1998) 349–354.
 - [13] S. Schroeder, M. Enderle, R. Ossen, C. Meisner, A. Baumbach, M. Pföhl, et al., Noninvasive determination of endothelium-mediated vasodilation as a screening test for coronary artery disease: pilot study to assess the predictive value in comparison with angina pectoris, exercise electrocardiography, and myocardial perfusion imaging, *Am. Heart J.* 138 (1999) 731–739.
 - [14] R. Fathi, B. Haluska, N. Isbel, K. Short, The relative importance of vascular structure and function in predicting cardiovascular events, *J. Am. Coll. Cardiol.* 43 (2004) 616–623.
 - [15] M. Veerasamy, A. Bagnall, D. Neely, J. Allen, H. Sinclair, V. Kunadian, Endothelial dysfunction and coronary artery disease: a state of the art review, *Cardiol. Rev.* 23 (3) (2015) 119–129.
 - [16] A. Ceriello, K. Esposito, L.L. Sala, G. Pujadas, V. De Nigris, R. Testa, et al., The protective effect of the Mediterranean diet on endothelial resistance to GLP-1 in type 2 diabetes: a preliminary report, *Cardiovasc. Diabetol.* 13 (140) (2014) 1–9.
 - [17] N. Bansal, Prediabetes diagnosis and treatment: a review, *World J. Diabetes* 6 (2) (2015) 296–303.
 - [18] J. Delgado-Lista, P. Perez-Martinez, A. Garcia-Rios, J.F. Alcalá-Díaz, A.I. Perez-Caballero, F. Gomez-Delgado, CORONARY diet intervention with olive oil and cardiovascular PREvention study (the CORDIOPREV study): Rationale, methods and baseline characteristics. A clinical trial comparing the efficacy of a Mediterranean diet rich in olive oil versus a low-fat diet on cardiovascular disease in coronary patients, *Am. Heart J.* 177 (42–50) (2016) 177, 42–50.
 - [19] Standards of medical care in diabetes-2017:summary of revisions, *Diabetes Care* (Supplement 1) (2016), S4 LP-S5.
 - [20] M.C. Corretti, T.J. Anderson, E.J. Benjamin, D. Celermajer, F. Charbonneau, M.A. Creager, et al., Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force, *J. Am. Coll. Cardiol.* 39 (2002) 257–265.
 - [21] F. Fuentes, J. Lopez-Miranda, E. Sanchez, et al., Mediterranean and low-fat diets improve endothelial function in hypercholesterolemic men, *Ann. Intern. Med.* 134 (12) (2001) 1115–1119.
 - [22] P. Perez-Martinez, M. Moreno-Conde, C. Cruz-Teno, J. Ruano, F. Fuentes, J. Delgado-Lista, et al., Dietary fat differentially influences regulatory endothelial function during the postprandial state in patients with metabolic syndrome: From the LIPGENE study, *Atherosclerosis* 209 (2) (2010) 533–538.
 - [23] C.E. Storniolo, R. Casillas, M. Bullo, O. Castañer, E. Ros, G.T. Saez, et al., A Mediterranean diet supplemented with extra virgin olive oil or nuts improves endothelial markers involved in blood pressure control in hypertensive women, *Eur. J. Nutr.* (2015) 1–9.
 - [24] M. Ryan, D. McInerney, D. Owens, P. Collins, A. Johnson, G.H. Tomkin, Diabetes and the Mediterranean diet: a beneficial effect of oleic acid on insulin sensitivity, adipocyte glucose transport and endothelium-dependent vasoreactivity, *QJM Mon. J. Assoc. Physicians* 93 (2) (2000) 85–91.
 - [25] B.G.S. Seligman, C.A. Polanczyk, A.S.B. Santos, M. Foppa, M. Junges, L. Bonzanini, et al., Intensive practical lifestyle intervention improves endothelial function in metabolic syndrome independent of weight loss: a randomized controlled trial, *Metabolism Clin. Exp.* 60 (12) (2011) 1736–1740.
 - [26] E.R. Mohler, A.A. Sibley, R. Stein, V. Davila-Roman, H. Wyatt, K. Badellino, et al., Endothelial function and weight loss: Comparison of low- carbohydrate and low-fat diets, *Obesity (Silver Spring, Md)* 21 (3) (2013) 504–509.
 - [27] L. Hodson, K.E. Harnden, R. Roberts, al. Dennis, K.N. Frayn, Does the DASH diet lower blood pressure by altering peripheral vascular function? *J. Hum. Hypertens.* 24 (5) (2010) 312–319.
 - [28] K. Peter, P. Nawroth, C. Conrad, T. Weiss, M. Boehme, et al., Circulating vascular cell adhesion molecule-1 correlates with the extent of human atherosclerosis in contrast to circulating intercellular adhesion molecule-1, E-selectin, P-selectin, and thrombomodulin, *Arter. Thromb. Vasc. Biol.* 17 (3) (1997) 505–512.
 - [29] Perez-Jimenez F, Castro P, Lopez-Miranda J, Paz-Rojas E, Blanco A, Lopez-Segura F, et al. Circulating levels of endothelial function are modulated by dietary monounsaturated fat. *Atherosclerosis*1452:351–358.
 - [30] F. Fuentes, J. Lopez-Miranda, P. Perez-Martinez, Y. Jimenez, C. Marin, P. Gomez, et al., Chronic effects of a high-fat diet enriched with virgin olive oil and a low-fat diet enriched with α -linolenic acid on postprandial endothelial function in healthy men, *Br. J. Nutr.* 100 (1) (2008) 159–165.
 - [31] J. Ruano, J. Lopez-Miranda, F. Fuentes, J.A. Moreno, C. Bellido, P. Perez-Martinez, et al., Phenolic content of virgin olive oil improves ischemic reactive hyperemia in hypercholesterolemic patients, *J. Am. Coll. Cardiol.* 46 (10) (2005) 1864–1868.
 - [32] W.S. Harris, Y. Park, W.L. Isley, Cardiovascular disease and long-chain omega-3 fatty acids, *Curr. Opin. Lipidol.* 14 (1) (2003) 9–14.
 - [33] F.B. Hu, Dietary pattern analysis: a new direction in nutritional epidemiology, *Curr. Opin. Lipidol.* 13 (1) (2002) 3–9.
 - [34] S. Moradipour, P. Ismail, A. Etemad, W.A. Wan Sulaiman, S. Ahmadloo, S. Khazaei, Expression profiling of genes related to endothelial cells biology in patients with type 2 diabetes and patients with prediabetes, *BioMed Res. Int.* 2017 (2017) 1.
 - [35] J.A. Suwaidi, S. Hamasaki, S.T. Higano, R.A. Nishimura, D.R. Holmes, A. Lerman, Long-term follow-up of patients with mild coronary artery disease and endothelial dysfunction, *Circulation* 101 (9) (2000) 948–954.
 - [36] D.S. Celermajer, K.E. Sorensen, C. Bull, J. Robinson, J.E. Deanfield, Endothelium-dependent dilation in the systemic arteries of asymptomatic subjects relates to coronary risk factors and their interaction, *J. Am. Coll. Cardiol.* 24 (6) (1994) 1468–1474.
 - [37] Laclaustra M, Frangi AF, Frangi AG, Casasnovas JA, Cia P. Association of endothelial function and vascular data with LDL-c and HDL-c in a homogeneous population of middle-aged, healthy military men: evidence for a critical role of optimal lipid levels. *Int. J. Cardiol.*125(3):376–382.
 - [38] D.R. Witte, J. Westerink, E.J. de Koning, Y. van der Graaf, D.E. Grobbee, M.L. Bots, Is the association between flow-mediated dilation and cardiovascular risk limited to low-risk populations? *J. Am. Coll. Cardiol.* 45 (12) (2005) 1987–1993.
 - [39] N. Gokce, J.F. Keaney, L.M. Hunter, M.T. Watkins, Z.S. Nedeljkovic, J.O. Menzoian, et al., Predictive value of non invasively determined endothelial dysfunction for long-term cardiovascular events in patients with peripheral vascular disease, *J. Am. Coll. Cardiol.* 41 (10) (2003) 1769–1775.
 - [40] Karatzis EN, Ikonomidis I, Vamvakou GD, Papaioannou TG, Protogerou AD, Andreadou I, et al. Long-term prognostic role of flow-mediated dilatation of the brachial artery after acute coronary syndromes without ST elevation. *Am. J. Cardiol.*98(11):1424–1428.
 - [41] E.A. Anderson, A.L. Mark, Flow-mediated and reflex changes in large peripheral artery tone in humans, *Circulation* 79 (1) (1989) 93–100.
 - [42] Y. Inaba, J.A. Chen, S.R. Bergmann, Prediction of future cardiovascular outcomes by flow-mediated vasodilatation of brachial artery: a meta-analysis, *Int. J. Cardiovasc. Imaging* 26 (6) (2010) 631–640.
 - [43] Y. Huang, X. Cai, W. Mai, M. Li, Y. Hu, Association between prediabetes and risk of cardiovascular disease and all cause mortality: systematic review and meta-analysis, *BMJ* 355 (2016) i5953.

PREMIO DR. BALLESTEROS RODRÍGUEZ A LA MEJOR COMUNICACIÓN DEL XXXI CONGRESO DE LA SADEMI

A LOS DRES. J. D. TORRES PEÑA, F. GÓMEZ DELGADO, A. ARENAS DE LARRIVA, A.
LEÓN ACUÑA, N. DELGADO CASADO, F. FUENTES JIMÉNEZ, A. GARCÍA RÍOS, J.
LÓPEZ MIRANDA

**POR LA COMUNICACIÓN: “RV-04. EL CONSUMO CRÓNICO DE UNA DIETA
SALUDABLE MEJORA LA FUNCIÓN ENDOTELIAL DE PACIENTES CON
DIABETES MELLITUS TIPO 2 Y ALTO RIESGO CARDIOVASCULAR”**



Sademi

Sociedad Andaluza de Medicina Interna

DR. EMILIO PUJOL DE LA LLAVE
PRESIDENTE COMITÉ ORGANIZADOR
XXXI CONGRESO DE SADEMIXXXI CONGRESO DE
SADEMI / II ENCUENTRO DE ENFERMERÍA DE
MEDICINA INTERNA DE ANDALUCÍA



sea

Sociedad Española de Arteriosclerosis

EL COMITÉ CIENTÍFICO DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE ARTERIOSCLEROSIS

Y

EL COMITÉ ORGANIZADOR DEL XXVIII CONGRESO NACIONAL

han decidido otorgar por su calidad científica el

PREMIO MENCIÓN ESPECIAL 2015

a la comunicación presentada

EN EL XXVIII CONGRESO NACIONAL S.E.A.

LOGROÑO 2015

**El consumo crónico de una dieta saludable mejora la función endotelial
de pacientes con alto riesgo cardiovascular.**

Presentada por los autores

José David Torres-Peña, Antonio García-Ríos, Ana Isabel Pérez-Caballero, Antonio Pablo Arenas-Larriva, Nieves Delgado-Casado, José López-Miranda

Unidad de Lípidos y Arteriosclerosis. UGC Medicina Interna. IMIBIC/Hospital Universitario Reina Sofía/ Universidad de Córdoba, Córdoba. CIBER Fisiopatología Obesidad y Nutrición (CIBERObn), Instituto de Salud Carlos III, Madrid

Juan F. Ascaso Gimilio
Presidente S.E.A.

Ángel Brea Hernando
Presidente XXVIII Congreso Nacional

25^o
1991-2015

Congreso Médico SAHTA

13^{as} Jornadas de Enfermería
10^{as} Jornadas de Farmacéuticos

del 5 al 7 de Noviembre • Hotel Córdoba Center

www.sahtacordoba2015.com

info@sahtacordoba2015.com

SAHTA
RIESGO VASCULAR



CERTIFICADO DE PREMIO

El Comité Científico otorga el presente diploma:

Premio al Mejor Póster

Título:

183/73. Influencia de la dieta sobre el grado de disfunción endotelial en el paciente diabético

del/de los autor/es

Torres Peña, José David; León Acuña, Ana; Alcalá Díaz, Juan Francisco; García Ríos, Antonio; Pérez Martínez, Pablo; López Miranda, José.

presentado en el

25^o Congreso de la Sociedad Andaluza de Hipertensión Arterial y Riesgo Vascular,
celebrado en el Hotel Córdoba Center de Córdoba,
del 5 al 7 de Noviembre de 2015

En Córdoba, a 7 de Noviembre de 2015

Dr. D. Fernando Marín Gallardo
Presidente de la SAHTA

Dr. D. Francisco J. Fuentes
Secretario de la SAHTA

Dr. D. José López Miranda
Presidente del Comité Científico

