



**Universitat**  
de les Illes Balears

**TESIS DOCTORAL**

**2024**

**EFFECTOS DE UNA INTERVENCIÓN  
NUTRICIONAL BASADA EN LA DIETA  
MEDITERRÁNEA SOBRE EL ESTADO  
INFLAMATORIO, FUNCIÓN HEPÁTICA Y RENAL  
EN PACIENTES MAYORES CON SÍNDROME  
METABÓLICO**

**Maria Magdalena Quetglas Llabrés**





**Universitat**  
de les Illes Balears



## **TESIS DOCTORAL 2024**

**Programa de Doctorado en Nutrición y Ciencias de los Alimentos**

# **EFFECTOS DE UNA INTERVENCIÓN NUTRICIONAL BASADA EN LA DIETA MEDITERRÁNEA SOBRE EL ESTADO INFLAMATORIO, FUNCIÓN HEPÁTICA Y RENAL EN PACIENTES MAYORES CON SÍNDROME METABÓLICO**

**Maria Magdalena Quetglas Llabrés**

**Director/a: Dr. Antoni Sureda Gomila  
Director/a: Dr. Josep Antoni Tur Marí  
Tutor/a: Dr. Antoni Sureda Gomila**

**Doctora por la Universitat de les Illes Balears**



La candidata a Doctora

**Maria Magdalena Quetglas Llabrés**

Con el beneplácito de los Directores

**Dr. Antoni Sureda Gomila**  
Tutor de la Tesis Doctoral  
Catedrático de Universidad  
Área Bioquímica y Biología Molecular  
Universitat de les Illes Balears

**Dr. Josep Antoni Tur Marí**  
Catedrático de Universidad  
Área de Fisiología  
Universitat de les Illes Balears





**Universitat**  
de les Illes Balears

Dr. Antoni Sureda Gomila, de Universitat de les Illes Balears

DECLARO:

Que la tesis doctoral que lleva por título *Efectos de una intervención nutricional basada en la dieta mediterránea sobre el estado inflamatorio, función hepática y renal en pacientes mayores con síndrome metabólico*, presentada por Maria Magdalena Quetglas Llabrés para la obtención del título de doctor, ha sido dirigida bajo mi supervisión y que cumple con los requisitos necesarios para optar al título de Doctor Internacional.

Y para que quede constancia de ello firmo este documento.

Firma

Palma de Mallorca, 26 de Septiembre del 2024







**Universitat**  
de les Illes Balears

Dr. Josep Antoni Tur Marí, de Universitat de les Illes Balears

DECLARO:

Que la tesis doctoral que lleva por título *Efectos de una intervención nutricional basada en la dieta mediterránea sobre el estado inflamatorio, función hepática y renal en pacientes mayores con síndrome metabólico*, presentada por Maria Magdalena Quetglas Llabrés para la obtención del título de doctor, ha sido dirigida bajo mi supervisión y que cumple con los requisitos necesarios para optar al título de Doctor Internacional.

Y para que quede constancia de ello firmo este documento.

Firma

Palma de Mallorca, 26 de Septiembre del 2024



Als meus pares, als meus padrins, al meu germà i n'Armand



*The more I learn, the more I realize how much I don't know.*

Albert Einstein.



Esta Tesis Doctoral se ha llevado a cabo en el Grupo de Nutrición Comunitaria y Estrés Oxidativo (NUCOX), integrado en el Departamento de Biología Fundamental y Ciencias de la Salud de la Universitat de les Illes Balears (UIB), en el Centro de Investigación Biomédica en Red de Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición (CIBEROBN) y en el Institut d'Investigació Sanitària de las Illes Balears (IdISBa).

Se enmarca en el Programa de Doctorado en Nutrición y Ciencias de los Alimentos (RD99/2011) de la UIB y ha sido gracias a proyectos de investigación otorgados por diversas entidades: Agencia Estatal de Investigación Biomédica del Gobierno de España, Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) a través del Fondo de Investigación para la Salud (FIS), cofinanciado por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (Proyectos 11/01791, 14/00636, 17/01827 y 20/00456, Red Predimed-RETIC RD06/0045/1004 y CIBEROBN CB12/30/30038), Subvención de apoyo grupos de investigación (GC 35/2011) y la red NutRedox (COST Action CA16112) por el Programa de Cooperación Europea en Ciencia y Tecnología, y la Fundació La Marató de TV3 (549/U/2016).

La investigación que ha dado lugar a estos resultados ha sido gracias al contrato de investigadora predoctoral para el programa «JUNIOR» del proyecto «INTRES: invertir, investigar e innovar» de la Fundación IdISBa, proyecto financiado por el Plan Anual 2019 del Impuesto de Turismo Sostenible entre 2021 – 2024.







## AGRAÏMENTS

Aquest viatge va començar quan menys m'ho esperava, després d'uns mesos complicats on una sent que el món avança mentre ella es queda enrere. Si ja m'agradava aquesta frase abans, ara m'agrada encara més "La vida et somriu quan menys ho esperes" i considero que resumeix el que va ocórrer durant els primers mesos d'aquell 2019 quan se'm va donar la oportunitat de fer feina dins un laboratori d'investigació. L'acollida del grup va ser immillorable i que hi ha res més bonic que despertar-te cada dia amb una rialla a la cara per anar a fer feina? Aquesta experiència va ser tan enriquidora que no vaig dubtar ni un moment en fer el doctorat, agafar aquest tren que passa una vegada a la vida i ara, quatre anys després, veure que s'ha convertit una de les decisions que més feliç m'han fet.

En primer lloc voldria donar les gràcies als meus dos directors de tesi, Dr. Antoni Sureda i Dr. Josep A. Tur, gràcies per confiar amb jo i donar-me l'oportunitat de fer el doctorat, per ajudar-me i orientar-me totes les vegades que ha estat necessari, sense vosaltres aquesta tesi no hagués estat possible. Gràcies Toni per la confiança que depositares en mi quan em seleccionares per aquell contracte de Joves Qualificats i per estar disposat a donar-me una mà sempre que m'ha fet falta. Gràcies Pep per ser-hi quan ho he necessitat, tenir la tranquil·litat que després d'una tocar la porta i un "endavant", estàs allà per tot el que ha fet falta.

A la Dra. Sílvia Tejada voldria agrair-li el seu optimisme, les bones vibres que sempre transmet, l'oportunitat de haver pogut fer les pràctiques d'experimentació amb animals al seu laboratori, i tots els moments compartits dins i fora de la universitat.

A la Dra. Cristina Bouzas per resoldre'm tots els dubtes d'estadística, per treure endavant els resultats de l'article LIKIDI i pels dinars-xerradetes dins el despatx.

Al Dr. Antoni Pons i Dr. Miguel D. Ferrer pel seu suport.

Evidentment als meus companys de laboratori, que sense ells aquesta tesi no hagués pogut ser la mateixa. Començant per la Dra. Margalida Montserrat, amb la qual vaig tenir el plaer de treballar colze amb colze en la seva tesi, premiada múltiples vegades. Gràcies per ensenyar-me i guiar-me aquells primers mesos com a tècnic. Aquesta tesi també es fruit de la teva feina, feina que ens va unir no només com a companyes sinó com a molt bones amigues. El meu pas per aquest laboratori sempre anirà de la teva mà, pel moments fent feina, cantant i inclús ballant, per tots els berenars i xerradetes, per totes les alegries viscudes i llàgrimes compartides. A na Clara, gràcies per donar-me una mà sense haver-t'ho de demanar, per escoltar-me sempre, pels tots els berenars compartits al bar d'en Tomeu, pels dies que compartirem cotxe, per també aquestes cantades dins al laboratori, per compartir les alegries i les penes i sobretot per haver seguit amb la nostra amistat. Al Dr. Xavier Capó, per sempre donar-me una mà

quan ho he necessitat, per tots els cafès tan al bar d'en Tomeu com aquells a l'HUSE, pel xafardeig que ens agrada tan poc i per moments com el congrés a Màlaga. A la Dr. Antònia Solomando, per les seves bones vibres, per alegrar els matins amb el seu "bon dia" amb una rialla a la boca, pels berenars a mig matí que donaven vida i per tots els moments compartits. A nen Gianluca, per tots els moments compartits, les xerradetes dins el despatxet i per donar-me una mà quan ho he necessitat. I finalment a na Mar, hereva del laboratori NUCOX, no tenc cap dubte de que el deix en bones mans. Gràcies per la teva predisposició en ajudar-me i descarregar-me durant aquests darrers mesos de la meva tesi, tan de bo poder seguir compartint moments.

A les meves companyes dietistes, aquesta tesi tampoc seria la que és fora tot el vostre treball. Dra. Sílvia García, Dra. Alicia Julibert, Dra. Catalina M. Mascaró, Dra. Manuela Abbate, Dra. Sofía Montemayor i Marina, per tota la feina feta a l'hora del reclutament dels participants, les intervencions realitzades i la recollida de moltes de les dades que s'han emprat a n'aquesta tesi.

A l'equip d'infermeria, Emma i David, gràcies per la recollida de totes i cada una de les mostres que formen part d'aquesta tesi, el vostre treball és essencial.

A tots els companys de despatxet que han anat passant aquests quasi sis anys, per compaginar-mos tan bé en l'ús de material i maquinària comuna i per tots els dinars fora de la UIB. Especialment Dra. Marina, Andrea, Dra. Melanie i Dra. Lida, per resoldrem els dubtes que m'han anat sorgint durant l'experimentació i càlculs, per les xerradetes al despatxet i per tots els ànims rebuts al llarg d'aquesta etapa. També a nen Toni, en Pere i en Lucas, els tres mosqueteros, pels moments de despatxet viscuts, disfrutau tot el que pogueu d'aquesta experiència que tan sols es viu un pic a la vida.

Manu, per sempre estar de bones, pels congressos compartits i per la paciència que tingueres quan vaig fer les pràctiques de manipulació d'animals.

Al Dr. Ramón Rosselló per facilitar-me les seves instal·lacions a l'IMEDEA per obtenir un dels manuscrits d'aquesta tesi doctoral, el de microbiota. A n'Esteban per ajudar-me tan al laboratori com amb el processament de dades, redacció de resultats i revisió de la discussió. I no m'oblido de tu Olaia, gràcies per la feinada feta i ajudar-me en el procés experimental d'extracció d'ADN de la femta. Tots vosaltres heu estat un punt essencial perquè aquest article hagi pogut sortir endavant.

Al Dr. Andrés Díaz por ayudarme con el LIKIDI y la paciencia a la hora de explicarme la estadística del manuscrito.

A tots els conserges per avisar-me de la recepció de paqueteria, especialment a nen Macià, gràcies per la teva simpatia de cada matí i donar-me una mà amb tots els envios de mostres.

També als tècnics de laboratori que han passat, Xisco, Guillem, Tolo, Manu, Javi, Joan Miquel, Miquel, Pep Miquel i Àngel, per tenir el material apunt per posar-me a fer feina de bon matí i donar-me una mà quan ha estat necessari.

Para o Dra. Ana Sofia Fernandes e a todo o seu grupo de investigação por me terem acolhido na Universidade Lusófona durante dois meses. A recepção do grupo foi extraordinária e foi um prazer aprender a trabalhar em cultura celular. O meu agradecimento, principalmente, à Sandra pelos momentos de trabalho em cultura celular e demais projetos, pela paciência, por me fazer sentir bem desde o primeiro momento num local novo, pelos galões e pasteis de natas partilhados no bar, por me apresentar à família dela e por se ter tornado uma grande amiga, mesmo que distante, que valorizo muito. À Marta também pelo tempo passado no laboratório e pelas suas recomendações gastronómicas. E à Beatriz, por todos aqueles momentos no bar e recomendações culturais de Lisboa/Portugal.

A la Dra. Isabel García para darme la oportunidad de realizar la estancia de investigación en Imperial College London durante tres meses. Isabel, muchas gracias por recibirme con los brazos abiertos, enseñarme cómo funciona la resonancia magnética nuclear y ayudarme a plantearme preguntas como antes no hacía.

Also to the postdocs with whom I had the pleasure of sharing moments, Dra. Mingzu, Dra. Amara e Dr. Ivan. Marina, mi madrileña favorita, esta estancia no habría sido la misma sin ti. Gracias por los momentos compartidos, turismo por Londres en bici, preparar los *Journal Clubs*, reírnos hasta llorar, y por los momentos de crisis donde me he sentido tan comprendida.

A les meves amigues, en especial a tu Maite, per estar sempre pendent, per escoltar-me i aconsellar-me, amb tu m'he sentit compresa en tot moment, gràcies per estar tan pendent sobretot durant aquesta darrera etapa. Maria, per sempre escoltar-me encara que no entenguessis res i animar-me sempre que m'has vist decaiguda, per seguir celebrant les nostres victòries plegades. Tampoc volia deixar de mencionar a nen Joan T., pels viatges de cotxe compartits i els ànims.

A la meva família política, Isidro i Maria, gràcies per la vostra predisposició per intentar formar part del projecte FLIPAN, una mostra de recolzament cap a l'inici d'aquesta etapa fet que vaig valorar molt.

Als meus pares, Tolo i Malen, per l'educació rebuda, pels valors inculcats i per lluitar per mi i la meva educació de ben petita. Anant de la vostra mà a estat més senzill arribar aquí on he arribat i esper que també en sigui una de les vostres victòries. Gràcies pel recolzament incondicional, per ajudar-me a aixecar quan ha fet falta. Al meu germà, Tomeu, i Aina per estar sempre allà per escoltar-me, animar-me, recolzar-me i per venir a veure'm a cada una de les ciutats que he anat d'estada, moments que m'han fet tornar a sentir com si fos a casa.

Als meus padrins, Tomeu, Magdalena i Magdalena, que sempre han confiat amb mi. La vostra mirada d'orgull cada vegada que vos cont el que faig m'omple i em motiva a seguir. Al meu padrí Miquel que segur que d'allà on sigui també n'està molt orgullós. I a la resta de la família, especialment al meu cosí Miquel per obrir-me per portes de casa seva i fer-me sentir a cases quan hi estava molt enfora.

Per acabar voldria agrair d'una forma més especial al meu marit, Armand. Gràcies per estar-hi sempre, per aixecar-me totes aquelles vegades que he caigut i celebrar totes aquelles que m'he sentit victoriosa, per mai deixar de confiar amb mi, inclús quan jo ja ho havia deixat de fer. Has estat un dels pilars fonamentals durant aquests darrers quatre anys que m'has animat incondicionalment i esper poder fer-te sentir així ara que tu et trobes a les mateixes.

No entrava dins els meus plans fer un doctorat i ja queda ben poc perquè em puguin dir doctora! No hi ha res més gran que un mateix sentir-se orgullós del camí que ha recorregut sense canviar cap de les pedres i dreçares que n'han sorgit; i a la vegada esperançat pel que vendrà en el demà. Ara mateix tenc el cor ben ple.

# ÍNDICE



# ÍNDICE

<b>ÍNDICE</b> .....	<b>I</b>
<b>PUBLICACIONES DE LA TESIS DOCTORAL</b> .....	<b>I</b>
PUBLICACIONES DE LA TESIS DOCTORAL .....	III
<b>ABREVIATURAS</b> .....	<b>V</b>
ABREVIATURAS.....	VII
<b>RESUMEN/RESUM/ ABSTRACT</b> .....	<b>XI</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
1. SOBREPESO Y OBESIDAD .....	3
1.1. <i>Etiología</i> .....	6
1.2. <i>Epidemiología</i> .....	8
1.3. <i>Complicaciones y comorbilidades</i> .....	10
2. SÍNDROME METABÓLICO.....	12
2.1. <i>Etiología</i> .....	13
2.2. <i>Epidemiología</i> .....	14
2.3. <i>Condiciones patológicas</i> .....	15
3. ENFERMEDAD DEL HÍGADO GRASO NO ALCOHÓLICO .....	19
3.1. <i>Etiología</i> .....	20
3.2. <i>Epidemiología</i> .....	22
3.3. <i>Microbiota intestinal</i> .....	23
3.4. <i>Condiciones patológicas</i> .....	24
4. ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA.....	26
4.1. <i>Etiología</i> .....	27
4.2. <i>Epidemiología</i> .....	28
4.3. <i>Condiciones patológicas</i> .....	29
5. ESTRÉS OXIDATIVO .....	30
5.1 <i>Las especies reactivas y sus efectos</i> .....	30
5.2 <i>Mecanismos de defensa antioxidante</i> .....	33
5.3 <i>Relación entre especies reactivas y la obesidad y comorbilidades asociadas</i> .....	37
6. RESPUESTA INFLAMATORIA .....	39
6.1 <i>Respuesta inflamatoria aguda y crónica</i> .....	40
6.2. <i>Resolución de la inflamación</i> .....	41
6.3. <i>Mediadores de la Inflamación</i> .....	42
6.4. <i>Relación entre inflamación y la obesidad y comorbilidades asociadas</i> .....	47
7. ESTILOS DE VIDA.....	49
7.1. <i>Dieta mediterránea y ultraprocesados</i> .....	49
7.2. <i>Actividad física y sedentarismo</i> .....	51
7.3. <i>Salud mental y bienestar</i> .....	53

7.4. Educación y consciencia .....	53
7.5. Sueño .....	54
<b>HIPÓTESIS Y OBJETIVOS .....</b>	<b>55</b>
1. HIPÓTESIS .....	57
2. OBJETIVOS .....	57
<b>MÉTODOS .....</b>	<b>59</b>
1. DISEÑO DEL ESTUDIO PREDIMED-PLUS .....	61
1.1. Descripción y objetivos del estudio.....	61
1.2. Reclutamiento y aleatorización de los participantes .....	63
1.3. Comité de ética y consentimiento informado .....	66
1.4. Estrategias de intervención .....	67
1.5. Recogida de datos.....	69
2. DISEÑO DEL ESTUDIO LIKIDI .....	73
2.1. Descripción y objetivos del estudio.....	73
2.2. Reclutamiento y aleatorización de los participantes .....	74
2.3. Comité de ética y consentimiento informado .....	75
2.4. Recogida de datos.....	76
3. DISEÑO DEL ESTUDIO FLIPAN .....	78
3.1. Descripción y objetivos del estudio.....	78
3.2. Reclutamiento y aleatorización de los participantes .....	79
3.3. Comité de ética y consentimiento informado .....	82
3.4. Estrategias de intervención .....	83
3.5. Recogida de datos.....	86
4. RECOGIDA Y PROCESAMIENTO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS.....	93
5. DETERMINACIONES EN EL LABORATORIO .....	95
5.1. Biomarcadores de estrés oxidativo .....	95
5.2. Biomarcadores de inflamación.....	98
5.3. Determinación de la microbiota .....	100
5.4. Análisis estadístico.....	101
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>103</b>
MANUSCRITO I .....	105
MANUSCRITO II.....	123
MANUSCRITO III.....	139
MANUSCRITO IV .....	159
MANUSCRITO V .....	187
MANUSCRITO VI .....	207
MANUSCRITO VII .....	225
MANUSCRITO VIII.....	253
<b>RECAPITULACIÓN .....</b>	<b>273</b>



1. POBLACIÓN CON SMET .....	275
1.1. Adherencia a la MedDiet en una población con SMet.....	275
1.2. Efectos del consumo de UPFs una población con SMet .....	278
1.3. Efectos de una reducción del IMC después de 6 años de intervención en una población con SMet .....	280
1.4. Predisposición de la población con SMet a la ERC.....	283
2. POBLACIÓN CON MAFLD .....	285
2.1. Efectos de la adherencia a la Meddiet después de 12 y 24 meses de intervención en una población con MAFLD. ....	285
2.2. Efectos de una reducción del contenido de grasa intrahepática en una población con MAFLD.....	291
<b>CONCLUSIONES/ CONCLUSIONS .....</b>	<b>299</b>
CONCLUSIONES .....	301
CONCLUSIONS .....	305
<b>BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>307</b>
CITAS BIBLIOGRÁFICAS.....	309



# **PUBLICACIONES DE LA TESIS DOCTORAL**



## PUBLICACIONES DE LA TESIS DOCTORAL

---

Quetglas-Llabrés MM, Monserrat-Mesquida M, Bouzas C, Gómez C, Mateos D, Ripoll-Vera T, Tur JA, Sureda A. **Inflammatory and Oxidative Stress Markers Related to Adherence to the Mediterranean Diet in Patients with Metabolic Syndrome.** *Antioxidants (Basel)*. 2022 May 1;11(5):901. DOI: 10.3390/antiox11050901; PMID: 35624765; PMCID: PMC9137637.

Journal Impact Factor (2022): 7.0  
46/285 Biochemistry & Molecular Biology, Q1  
6/60 Chemistry, Medicinal, Q1  
13/142 Food Science & Technology, Q1

Quetglas-Llabrés MM, Monserrat-Mesquida M, Bouzas C, Mateos D, Ugarriza L, Gómez C, Tur JA, Sureda A. **Oxidative Stress and Inflammatory Biomarkers Are Related to High Intake of Ultra-Processed Food in Old Adults with Metabolic Syndrome.** *Antioxidants (Basel)*. 2023 Jul 31;12(8):1532. DOI: 10.3390/antiox12081532; PMID: 37627527; PMCID: PMC10451674.

Journal Impact Factor (2023): 6.0  
50/313 Biochemistry & Molecular Biology, Q1  
8/72 Chemistry, Medicinal, Q1  
20/173 Food Science & Technology, Q1

Quetglas-Llabrés MM, Monserrat-Mesquida M, Bouzas C, García S, Mateos D, Ugarriza L, Gómez C, Sureda A, Tur JA. **Long-Term Impact of a 6-Year Nutritional and Lifestyle Intervention on Oxidative and Inflammatory Profiles in Patients with Metabolic Syndrome.** *Nutrients*. 2024 Jul 3;16(13):2121. doi: 10.3390/nu16132121. PMID: 38999869; PMCID: PMC11243639.

Journal Impact Factor (2023): 4.8  
18/114 Nutrition & Dietetics, Q1

Quetglas-Llabrés MM, Monserrat-Mesquida M, Bouzas C, Díaz-López A, Toledo E, Abete I, Cornejo-Pareja I, Martínez-Gonzalez MA, Martínez JA, Tinahones FJ, Salas-Salvadó J, Tur JA, Sureda A. **Markers of inflammation predict the risk of developing chronic kidney disease in a high cardiovascular risk population: a nested case-control study.** (Submitted article)

Quetglas-Llabrés MM, Monserrat-Mesquida M, Bouzas C, Llompart I, Mateos D, Casares M, Ugarriza L, Martínez JA, Tur JA, Sureda A. **Mediterranean Diet Improves Plasma Biomarkers Related to Oxidative Stress and Inflammatory Process in Patients with Non-Alcoholic Fatty Liver Disease.** *Antioxidants (Basel)*. 2023 Mar 29;12(4):833. DOI: 10.3390/antiox12040833; PMID: 37107208; PMCID: PMC10134978.

Journal Impact Factor (2023): 6.0  
50/313 Biochemistry & Molecular Biology, Q1  
8/72 Chemistry, Medicinal, Q1  
20/173 Food Science & Technology, Q1

Quetglas-Llabrés MM, Monserrat-Mesquida M, Bouzas C, García S, Argelich E, Casares M, Ugarriza L, Llompart I, Tur JA, Sureda A. **Impact of Adherence to the Mediterranean Diet on Antioxidant Status and Metabolic Parameters in NAFLD Patients: A 24-Month Lifestyle Intervention Study.** *Antioxidants (Basel)*. 2024 Apr 17;13(4):480. DOI: 10.3390/antiox13040480. PMID: 38671927; PMCID: PMC11047536.

Journal Impact Factor (2023): 6.0  
50/313 Biochemistry & Molecular Biology, Q1  
8/72 Chemistry, Medicinal, Q1  
20/173 Food Science & Technology, Q1

Quetglas-Llabrés MM, Bustos-Caparros E, Bouzas C, Monserrat-Mesquida M, García S, Mateos D, Casares M, Ugarriza L, Llompart I, Rossello-Mora R, Sureda A, Tur JA. **Effects of a Two-Year Lifestyle Intervention on Intrahepatic Fat Reduction and Microbiota in MAFLD patients.** (Submitted article)

Quetglas-Llabrés MM, Monserrat-Mesquida M, Bouzas C, García S, Mateos D, Casares M, Gómez C, Ugarriza L, Tur JA, Sureda A. **Effects of a Two-Year Lifestyle Intervention on Intrahepatic Fat Reduction and Renal Health: Mitigation of Inflammation and Oxidative Stress, a Randomized Trial.** *Antioxidants (Basel)*. 2024 Jun 21;13(7):754. DOI: 10.3390/antiox13070754. PMID: 39061823; PMCID: PMC11273830.

Journal Impact Factor (2023): 6.0  
50/313 Biochemistry & Molecular Biology, Q1  
8/72 Chemistry, Medicinal, Q1  
20/173 Food Science & Technology, Q1

# ABREVIATURAS





## ABREVIATURAS

---

8-OHdG	8-hidroxi-7,8-dihidro-2'-deoxiguanosina
8-oxodG	8-oxo-7,8-dihidro-2'-desoxiguanosina
8-oxoGuo	8-oxo-7,8-dihidro-2'-desoxiguanosina
AASLD	American Association for the Study of Liver Diseases
ADA	Asociación Americana de Diabetes/ <i>American Diabetes Association</i>
ADN/DNA	Ácido desoxirribonucleico/ <i>Deoxyribonucleic acid</i>
AGM/MUFAs	Ácidos grasos monoinsaturados/ <i>Monounsaturated fatty acid</i>
AGP/PUFAs	Ácidos grasos poliinsaturados/ <i>Polyunsaturated fatty acid</i>
AGS/SFA	Ácidos grasos saturados/ <i>Saturated fatty acid</i>
AKI	Lesión renal aguda/ <i>acute kidney injury</i>
ALT	Alanina aminotransferasa/ <i>alanine aminotransferase</i>
AOVE	Aceite de oliva virgen extra
ARN/RNA	Ácido ribonucleico/ <i>Ribonucleic acid</i>
AST	Aspartato aminotransferasa/ <i>aspartate aminotransferase</i>
ASVs	Variantes de secuencia de amplicón/ <i>Amplicon sequence variants</i>
CAT	Catalasa/ <i>catalase</i>
CKM	Síndrome Cardiovascular-Renal y Metabólico/ <i>Cardiovascular-Renal and Metabolic Syndrome</i>
CysC	Cistatina C / <i>Cystatin C</i>
DAMPs	Patrones moleculares asociados al daño/ <i>damage-associated molecular patterns</i>
DMT1	Diabetes Mellitus tipo 1/ <i>Type 1 diabetes mellitus</i>
DMT2	Diabetes Mellitus tipo 2/ <i>Type 2 diabetes mellitus</i>
DXA	Absorciometría dual de rayos X
ECNT	Enfermedades Crónicas No Transmisibles
ECV/CVD	Enfermedad Cardiovascular/ <i>Cardiovascular disease</i>
eGFR	Tasa de filtración glomerular estimada/ <i>Estimated glomerular filtration rate</i>
ENT	Enfermedades no transmisibles
ERC/CKD	Enfermedad crónica renal/ <i>Chronic kidney disease</i>
GGT	Gamma-glutamilttransferasa/ <i>Gamma-glutamyltransferase</i>
GPx	Glutación peroxidasa/ <i>glutathion peroxidase</i>

GRd	Glutati3n reductasa/ <i>glutathione reductase</i>
GSH	Glutati3n reducido/ <i>reduced glutathione</i>
GSSG	Glutati3n oxidado/ <i>oxidized glutathione</i>
HbA1c	Hemoglobina glicosilada A1c/ <i>Glycosylated hemoglobin A1c</i>
HDL	Lipoprote3na de alta densidad / <i>High Density Lipoprotein</i>
HUSE	Hospital Universitaria de Son Espases
IDF	Federaci3n Internacional de Diabetes/ <i>International Diabetes Federation</i>
IFN- $\gamma$	Interfer3n gamma/ <i>Interferon gamma</i>
IL	Interleuquina/ <i>interleukin</i>
IMC/BMI	3ndice de Masa Corporal / <i>body mass index</i>
JIS	<i>Joint Internim Statement</i>
LDL	Lipoprote3na de baja densidad/ <i>Low Density Lipoprotein</i>
MAFLD	<i>Enfermedad del h3gado graso asociada a disfunci3n metab3lica / Metabolic dysfunction -associated fatty liver disease</i>
MASH	<i>Esteatohepatitis asociada a disfunci3n metab3lica / Metabolic dysfunction-associated steatohepatitis</i>
MCP-1	Prote3na quimioatrayente de monocitos 1/ <i>Monocyte chemoattractant protein 1</i>
MDA	Malondialdeh3do/ <i>Malondialdehyde</i>
MedDiet	Dieta mediterr3nea/ <i>Mediterranean Diet</i>
METs	Tarea metab3lica equivalente / <i>Metabolic equivalent task</i>
MPO	Mieloperoxidasa/ <i>myeloperoxidase</i>
NGAL	lipocalina asociada a la gelatinasa de neutr3filos/ <i>neutrophil gelatinase-associated lipocalin</i>
NK	<i>Natural killer</i>
OMS/WHO	Organizaci3n Mundial de la Salud/ <i>World Health Organization</i>
OPUs	Unidades filogen3ticas operacionales/ <i>Operational Phylogenetic Units</i>
oxLDL	Lipoprote3na de baja densidad oxidada/ <i>Oxidized low-density lipoprotein</i>
OXPHOS	Fosforilaci3n oxidativa/ <i>Oxidative phosphorylation</i>
PAMPs	Patrones moleculares asociados a pat3genos/ <i>pathogen-associated molecular patterns</i>
PBMCs	C3lulas mononucleares de sangre perif3rica/ <i>Peripheral blood mononuclear cells</i>

PCR	Proteína C reactiva/ <i>C-reactive protein</i>
RMN/NMR	Resonancia Magnética Nuclear /nuclear magnetic rassionance
RNS	Especies reactivas de nitrógeno/ <i>Reactive nitrogen species</i>
ROS	Especies reactivas de oxígeno/ <i>Reactive Oxygen Species</i>
SEEDO	Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad
SMet/MetS	Síndrome Metabólico/ <i>Metabolic syndrome</i>
SOD	Superóxido dismutasa/ <i>Superoxide dismutase</i>
TAC	Capacidad Antioxidante Total/ <i>Total antioxidant Capacity</i>
TFG	Tasa de filtración glomerular/ <i>Glomerular filtration rate</i>
TGF- $\beta$	Factor transformante de crecimiento $\beta$ / Transforming growth factor $\beta$
TLR	receptores tipo Toll/ <i>Toll-like receptors</i>
TNF $\alpha$	Factor de necrosis tumoral $\alpha$ / Tumor necrosis factor $\alpha$
TrxR	Tiorredoxina reductasa/ <i>thioredoxin reductase</i>
UIB	Universidad de las Islas Baleares
UPF	Comida ultraprocesada/ <i>Ultraprocessed food</i>
VLDL	Lipoproteína de muy baja densidad/ <i>Very low density lipoprotein</i>
XOD	Xantina oxidasa / <i>Xanthine oxidase</i>
$\alpha$ 1m	Alfa1-microglobulina / <i>alpha1-microglobulin</i>



# **RESUMEN/RESUM/ ABSTRACT**



**EFFECTOS DE UNA INTERVENCIÓN NUTRICIONAL BASADA EN LA DIETA  
MEDITERRÁNEA SOBRE EL ESTADO INFLAMATORIO, FUNCIÓN HEPÁTICA Y RENAL EN  
PACIENTES MAYORES CON SÍNDROME METABÓLICO.**

Tesis doctoral, Maria Magdalena Quetglas Llabrés, Grupo de Investigación en Nutrición Comunitaria y Estrés Oxidativo, Departamento de Biología Fundamental y Ciencias de la Salud, Universidad de las Islas Baleares, IdISBa, Palma.

**RESUMEN**

El sobrepeso y la obesidad son condiciones crónicas asociadas con múltiples complicaciones de salud, entre ellas el síndrome metabólico (SMet), la enfermedad del hígado graso asociado a disfunción metabólica (MAFLD) y la enfermedad renal crónica (ERC). Estos trastornos están interconectados mediante mecanismos comunes como el estrés oxidativo y la inflamación crónica, que deterioran órganos como el hígado y los riñones. La MAFLD, caracterizada por la acumulación de grasa en el hígado sin consumo significativo de alcohol, está estrechamente relacionada con el SMet y puede progresar a fibrosis hepática y ERC.

El tratamiento de estas patologías requiere un enfoque integral que incluya cambios en el estilo de vida, como la dieta y el aumento de la actividad física. La dieta mediterránea (MedDiet), rica en antioxidantes y compuestos antiinflamatorios, ha demostrado ser efectiva para mejorar los marcadores de salud en pacientes con SMet y MAFLD. Esta tesis evalúa la eficacia de una intervención intensiva basada en la MedDiet y la actividad física en la mejora de estos trastornos, enfocándose en la reducción del índice de masa corporal (IMC) y el contenido de grasa intrahepática (IFC), así como en la modulación del estado proinflamatorio y el estrés oxidativo.

Los pacientes con MetS y baja adherencia a la MedDiet presentaron niveles elevados de hemoglobina glucosilada A1c (HbA1c) y triglicéridos, y niveles reducidos de colesterol HDL. Además, tuvieron mayores niveles plasmáticos de interleucinas (IL)-1 $\beta$ , IL-6, IL-15, factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), xantina oxidasa (XOD), grelina, y mayor actividad de superóxido dismutasa (SOD) y mieloperoxidasa (MPO). La producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) en células mononucleares de sangre periférica (PBMC) y neutrófilos estimulados con lipopolisacárido fue mayor en estos pacientes.

Los consumidores de alimentos ultraprocesados (UPF) mostraron una menor adherencia a la MedDiet, alta ingesta de fibra y concentraciones elevadas de polifenoles en orina. Aunque no se observaron diferencias significativas en el perfil bioquímico, los biomarcadores oxidativos e inflamatorios mostraron cambios relevantes. Los consumidores altos de UPF tuvieron menores actividades de catalasa y SOD, mayor actividad de MPO, y mayor producción de ROS en neutrófilos estimulados. Los biomarcadores como XOD, TNF $\alpha$ , IL-6, IL-15 y leptina fueron más altos en estos consumidores.

Después de seis años de intervención, los participantes con MetS que redujeron su IMC mostraron mejoras en la obesidad abdominal, la relación cintura/altura, presión arterial diastólica y niveles de glucosa, además de un aumento en el colesterol HDL. También se observaron mejoras en el estrés oxidativo y el estado proinflamatorio, incluyendo reducciones en la actividad de MPO, niveles de malondialdehído (MDA) y proteína quimioatrayente de monocitos-1 (MCP-1). Los participantes que no redujeron su IMC mostraron niveles más altos de TNF $\alpha$ , MCP-1 y mayor actividad de catalasa.

Niveles elevados de marcadores proinflamatorios (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF $\alpha$ , leptina) y estrés oxidativo (MDA) en una población con SMet están asociados con mayor riesgo de desarrollar ERC. Además, estos marcadores se correlacionaron con marcadores de función renal (UACR y eGFR). La creación de una puntuación compuesta de inflamación y estrés oxidativo, que integra varios biomarcadores, permite una evaluación más completa del perfil inflamatorio y su relación con la ERC, algo que no se encontraba comúnmente en estudios previos.

En una población con MAFLD, una intervención de estilo de vida basada en la MedDiet resultó en mejoras en los parámetros antropométricos y bioquímicos. Los participantes con alta adherencia a la MedDiet experimentaron una mayor disminución en el IMC, IFC, glicemia, colesterol total, colesterol LDL, triglicéridos, y enzimas hepáticas (AST, ALT, GGT), además de mejoras en la condición física medida por la prueba de Chester y un aumento del colesterol HDL.

Este grupo con alta adherencia mostró disminuciones significativas en MDA, LDL oxidado (oxLDL), citoqueratina-18 (CK-18), leptina, y otras proteínas, además de un aumento en la resolución de la inflamación. La actividad antioxidante en eritrocitos



mejoró, con incrementos en CAT, SOD, peroxidasa de glutatión (GPx) y glutatión total (GSH). También se observó una mayor expresión génica de CAT y una reducción en la producción de ROS. La adherencia a la MedDiet se asoció con una mejor puntuación antioxidante.

Después de dos años de intervención, los participantes que redujeron su IFC mostraron mejoras en parámetros antropométricos, perfil lipídico y enzimas hepáticas. También se observaron cambios en el microbioma fecal, con disminuciones en ciertos grupos bacterianos y aumentos en otros asociados con un menor contenido de IFC. Los biomarcadores inflamatorios y de estrés oxidativo variaron entre grupos, mostrando diferencias en la actividad antioxidante y parámetros renales.

En conclusión, esta tesis muestra que la MedDiet ofrece beneficios significativos en la gestión de enfermedades metabólicas como el SMet y la MAFLD, mejorando el peso corporal, la grasa hepática, el estado inflamatorio y la función renal. La MedDiet debería considerarse una herramienta clave para la prevención y tratamiento de estas patologías.



**EFFECTES D'UNA INTERVENCIÓ NUTRICIONAL BASADA EN LA DIETA MEDITERRÀNIA  
SOBRE L'ESTAT INFLAMATORI, FUNCIO HEPÀTICA I RENAL EN PACIENTS MAJORS AMB  
SÍNDROME METABÒLICA.**

Tesi doctoral, Maria Magdalena Quetglas Llabrés, Grup de Recerca en Nutrició Comunitària i Estrès Oxidatiu, Departament de Biologia Fonamental i Ciències de la Salut, Universitat de les Illes Balears, IdISBa, Palma.

**RESUM**

El sobrepès i l'obesitat són condicions cròniques associades a múltiples complicacions de salut, entre elles la síndrome metabòlica (SMet), la malaltia del fetge gras associada a disfunció metabòlica (MAFLD) i la malaltia renal crònica (ERC). Aquests trastorns estan interconnectats mitjançant mecanismes comuns com l'estrès oxidatiu i la inflamació crònica, que deterioren òrgans com el fetge i els ronyons. La MAFLD, caracteritzada per l'acumulació de greix al fetge sense consum significatiu d'alcohol, està estretament relacionada amb la SMet i pot progressar a fibrosi hepàtica i ERC.

El tractament d'aquestes patologies requereix un enfocament integral que inclogui canvis en l'estil de vida, com la dieta i l'augment de l'activitat física. La dieta mediterrània (MedDiet), rica en antioxidants i compostos antiinflamatoris, ha demostrat ser efectiva per millorar els marcadors de salut en pacients amb SMet i MAFLD. Aquesta tesi avalua l'eficàcia d'una intervenció intensiva basada en la MedDiet i l'activitat física en la millora d'aquests trastorns, enfocant-se en la reducció de l'índex de massa corporal (IMC) i el contingut de greix intrahepàtic (IFC), així com en la modulació de l'estat proinflamatori i l'estrès oxidatiu.

Els pacients amb MetS i baixa adherència a la MedDiet van presentar nivells elevats d'hemoglobina glucosilada A1c (HbA1c) i triglicèrids, i nivells reduïts de colesterol HDL. A més, van tenir nivells més elevats de interleucines (IL)-1 $\beta$ , IL-6, IL-15, factor de necrosi tumoral  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), xantina oxidasa (XOD), grelina, i major activitat de superòxid dismutasa (SOD) i mieloperoxidasa (MPO). La producció d'espècies reactives d'oxigen (ROS) en cèl·lules mononuclears de sang perifèrica (PBMCs) i neutròfils estimulats amb lipopolisacàrid va ser més gran en aquests pacients.

Els consumidors d'aliments ultraprocessats (UPF) van mostrar una menor adherència a la MedDiet, alta ingesta de fibra i concentracions elevades de polifenols en orina. Tot i que no es van observar diferències significatives en el perfil bioquímic, els biomarcadors oxidatius i inflamatoris van mostrar canvis rellevants. Els consumidors alts de UPF van tenir menors activitats de catalasa i SOD, major activitat de MPO, i major producció de ROS en neutròfils estimulats. Els biomarcadors com XOD, TNF $\alpha$ , IL-6, IL-15 i leptina van ser més alts en aquests consumidors.

Després de sis anys d'intervenció, els participants amb MetS que van reduir el seu IMC van mostrar millores en l'obesitat abdominal, la relació cintura/alçada, pressió arterial diastòlica i nivells de glucosa, a més d'un augment en el colesterol HDL. També es van observar millores en l'estrès oxidatiu i l'estat proinflamatori, incloent-hi reduccions en l'activitat de MPO, nivells de malondialdehid (MDA) i proteïna quimioattractant de monòcits-1 (MCP-1). Els participants que no van reduir el seu IMC van mostrar nivells més alts de TNF $\alpha$ , MCP-1 i major activitat de catalasa.

Nivells elevats de marcadors proinflamatoris (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF $\alpha$ , leptina) i estrès oxidatiu (MDA) en una població amb SMet estan associats a un major risc de desenvolupar ERC. A més, aquests marcadors es van correlacionar amb marcadors de funció renal (UACR i eGFR). La creació d'una puntuació composta d'inflamació i estrès oxidatiu, que integra diversos biomarcadors, permet una avaluació més completa del perfil inflamatori i la seva relació amb l'ERC, cosa que no es trobava comunament en estudis anteriors.

En una població amb MAFLD, una intervenció d'estil de vida basada en la MedDiet va resultar en millores en els paràmetres antropomètrics i bioquímics. Els participants amb alta adherència a la MedDiet van experimentar una major disminució en l'IMC, IFC, glicèmia, colesterol total, colesterol LDL, triglicèrids, i enzims hepàtics (AST, ALT, GGT), a més de millores en la condició física mesurada per la prova de Chester i un augment en el colesterol HDL.

Aquest grup amb alta adherència va mostrar disminucions significatives en MDA, LDL oxidat (oxLDL), citoqueratina-18 (CK-18), leptina, i altres proteïnes, a més d'un augment en la resolució de la inflamació. L'activitat antioxidant en eritròcits va millorar, amb increments en CAT, SOD, peroxidasa de glutatió (GPx) i glutatió total (GSH). També

es va observar una major expressió gènica de CAT i una reducció en la producció de ROS. L'adherència a la MedDiet es va associar amb una millor puntuació antioxidant.

Després de dos anys d'intervenció, els participants que van reduir el seu IFC van mostrar millores en paràmetres antropomètrics, perfil lipídic i enzims hepàtics. També es van observar canvis en el microbioma fecal, amb disminucions en certs grups bacterians i increments en altres associats amb un menor contingut de IFC. Els biomarcadors inflamatoris i d'estrès oxidatiu van variar entre grups, mostrant diferències en l'activitat antioxidant i paràmetres renals.

En conclusió, aquesta tesi mostra que la MedDiet ofereix beneficis significatius en la gestió de malalties metabòliques com la SMet i la MAFLD, millorant el pes corporal, el greix hepàtic, l'estat inflamatori i la funció renal. La MedDiet hauria de considerar-se una eina clau per a la prevenció i tractament d'aquestes patologies.



**EFFECTS OF A NUTRITIONAL INTERVENTION BASED ON THE MEDITERRANEAN DIET  
ON THE INFLAMMATORY STATE, LIVER AND KIDNEY FUNCTION IN ELDERLY PATIENTS  
WITH METABOLIC SYNDROME.**

PhD Thesis, Maria Magdalena Quetglas Llabrés, Community Nutrition and Oxidative Stress Research Group, Department of Basic Biology and Health Sciences, University of the Balearic Islands, IdISBa, Palma.

**ABSTRACT**

Overweight and obesity are chronic conditions associated with multiple health complications, including metabolic syndrome (MetS), metabolic dysfunction-associated fatty liver disease (MAFLD), and chronic kidney disease (CKD). These disorders are interconnected through common mechanisms such as oxidative stress and chronic inflammation, which impair organs like the liver and kidneys. MAFLD, characterised by fat accumulation in the liver without significant alcohol consumption, is closely linked to MetS and can progress to liver fibrosis and CKD.

The treatment of these pathologies requires a comprehensive approach that includes lifestyle changes such as diet and increased physical activity. The Mediterranean diet (MedDiet), rich in antioxidants and anti-inflammatory compounds, has proven effective in improving health markers in patients with MetS and MAFLD. This thesis evaluates the efficacy of an intensive intervention based on the MedDiet and physical activity in improving these disorders, focusing on reducing body mass index (BMI) and intrahepatic fat content (IFC), as well as modulating the pro-inflammatory state and oxidative stress.

Patients with MetS and low adherence to the MedDiet presented elevated levels of glycated haemoglobin A1c (HbA1c) and triglycerides, and reduced levels of HDL cholesterol. Moreover, they had higher plasma levels of interleukins (IL)-1 $\beta$ , IL-6, IL-15, tumour necrosis factor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), xanthine oxidase (XOD), ghrelin, and increased activity of superoxide dismutase (SOD) and myeloperoxidase (MPO). The production of reactive oxygen species (ROS) in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) and lipopolysaccharide-stimulated neutrophils was higher in these patients.

Consumers of ultra-processed foods (UPF) showed lower adherence to the MedDiet, high fibre intake, and elevated concentrations of polyphenols in urine. Although no significant differences were observed in the biochemical profile, oxidative and inflammatory biomarkers showed relevant changes. High UPF consumers had lower catalase and SOD activities, higher MPO activity, and greater ROS production in stimulated neutrophils. Biomarkers such as XOD, TNF $\alpha$ , IL-6, IL-15, and leptin were higher in these consumers.

After six years of intervention, MetS participants who reduced their BMI showed improvements in abdominal obesity, waist-to-height ratio, diastolic blood pressure, and glucose levels, as well as an increase in HDL cholesterol. Improvements in oxidative stress and the pro-inflammatory state were also observed, including reductions in MPO activity, malondialdehyde (MDA) levels, and monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1). Participants who did not reduce their BMI showed higher levels of TNF $\alpha$ , MCP-1, and increased catalase activity.

Elevated levels of pro-inflammatory markers (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF $\alpha$ , leptin) and oxidative stress (MDA) in a population with MetS are associated with an increased risk of developing CKD. Moreover, these markers correlated with renal function markers (UACR and eGFR). The creation of a composite score of inflammation and oxidative stress, integrating several biomarkers, allows for a more comprehensive evaluation of the inflammatory profile and its relationship with CKD, something not commonly found in previous studies.

In a population with MAFLD, a lifestyle intervention based on the MedDiet resulted in improvements in anthropometric and biochemical parameters. Participants with high adherence to the MedDiet experienced a greater reduction in BMI, IFC, glycaemia, total cholesterol, LDL cholesterol, triglycerides, and liver enzymes (AST, ALT, GGT), in addition to improvements in physical fitness measured by the Chester test and an increase in HDL cholesterol.

This high adherence group showed significant decreases in MDA, oxidised LDL (oxLDL), cytokeratin-18 (CK-18), leptin, and other proteins, along with an increase in the resolution of inflammation. Antioxidant activity in erythrocytes improved, with increases in CAT, SOD, glutathione peroxidase (GPx), and total glutathione (GSH). Greater gene



expression of CAT and a reduction in ROS production were also observed. Adherence to the MedDiet was associated with a better antioxidant score.

After two years of intervention, participants who reduced their IFC showed improvements in anthropometric parameters, lipid profile, and liver enzymes. Changes in the faecal microbiome were also observed, with reductions in certain bacterial groups and increases in others associated with lower IFC content. Inflammatory and oxidative stress biomarkers varied between groups, showing differences in antioxidant activity and renal parameters.

In conclusion, this thesis demonstrates that the MedDiet offers significant benefits in managing metabolic diseases such as MetS and MAFLD, improving body weight, liver fat, inflammatory status, and kidney function. The MedDiet should be considered a key tool for the prevention and treatment of these pathologies.







# INTRODUCCIÓN



## 1. SOBREPESO Y OBESIDAD

La acumulación de grasa corporal es un proceso complejo influenciado por diversos factores como la edad, el género, elementos hormonales y genéticos [1]. En condiciones óptimas, existe un equilibrio dinámico entre la deposición de grasa y su movilización, que puede verse alterado principalmente por una excesiva ingesta calórica y/o un estilo de vida sedentario. La Organización Mundial de la Salud (OMS) describe el sobrepeso como una condición que se caracteriza por depósitos excesivos de grasa y la obesidad como una enfermedad crónica compleja definida por una acumulación excesiva y anormal de grasa que puede ser perjudicial para la salud [2].

Para determinar la cantidad de grasa acumulada en el organismo pueden utilizarse diversos métodos que permiten estimar la composición corporal. La resonancia magnética nuclear (RMN), la tomografía axial computarizada (TAC), la absorciometría dual de rayos X (DXA) y la pletismografía son los métodos indirectos de análisis de la composición corporal más precisos para calcular la adiposidad abdominal y el tejido adiposo visceral. Sin embargo, estos recursos de imágenes no suelen estar disponibles para los profesionales de la salud fuera de los entornos de investigación. Por lo tanto, el uso de métodos doblemente indirectos como la impedancia bioeléctrica y antropometría (el IMC y el perímetro de cintura) son utilizados comúnmente como una medida sustituta para esta estimación [3]. En la **Tabla 1** aparecen los criterios que se han establecido para clasificar la composición corporal en función de la edad a partir del porcentaje de grasa.

**Tabla 1.** Clasificación por porcentaje de grasa corporal ideal en mujeres y hombres adultos.

Estado	20 – 39 años	40 – 59 años	Mayor de 60 años
<b>Mujeres</b>			
Bajo	≤ 20 %	≤ 22 %	≤ 24 %
Normal	21 – 32 %	23 – 34 %	25 – 37 %
Sobrepeso	33 – 39 %	35 – 41 %	38 – 43 %
Obesidad	≥ 40 %	≥ 40 %	≥ 40 %
<b>Hombres</b>			
Bajo	≤ 7 %	≤ 10 %	≤ 12 %
Normal	8 – 20 %	11 – 22 %	13 – 24 %
Sobrepeso	21 – 26 %	23 – 29 %	25 – 31 %
Obesidad	≥ 27 %	≥ 30 %	≥ 32 %

El **índice de masa corporal (IMC)** es el procedimiento más utilizado para clasificar el tipo corporal (**Tabla 2**). Este índice se obtiene dividiendo el peso en kilogramos por la altura en metros cuadrados. Tanto la Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad (SEEDO), las Directrices Europeas prácticas y centradas en el paciente para el tratamiento de la obesidad en adultos en atención primaria y la OMS consideran el adulto con sobrepeso cuando el  $IMC \geq 25 \text{ kg/m}^2$ , y con obesidad cuando el  $IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$ . Sin embargo, el IMC no diferencia entre la masa libre de grasa, que incluye el músculo y los huesos, y la masa grasa, ni tampoco considera su distribución. Es importante tener en cuenta que la grasa abdominal, especialmente la intra-abdominal, así como, la grasa en la región glúteo-femoral, pueden tener un impacto significativo en la salud [4].

**Tabla 2.** Clasificación del índice de masa corporal.

Puntos de corte IMC	SEEDO 2016 [5]	Guías Europeas 2019 [6]	OMS 2024 [7]
< 16,5 kg/m <sup>2</sup>	-	-	Severamente bajo peso
< 18,5 kg/m <sup>2</sup>	Peso insuficiente	Bajo peso	Bajo peso
18,5 – 24,9 kg/m <sup>2</sup>	Normopeso	Normopeso	Normopeso
25 – 26,9 kg/m <sup>2</sup>	Sobrepeso grado I	Sobrepeso	Pre-obesidad o sobrepeso
27 – 29,9 kg/m <sup>2</sup>	Sobrepeso grado II		
30 – 34,9 kg/m <sup>2</sup>	Obesidad leve o clase I	Obesidad clase I	Obesidad clase I
35 – 39,9 kg/m <sup>2</sup>	Obesidad moderada o clase II	Obesidad clase II	Obesidad clase II
$\geq 40 \text{ kg/m}^2$	Obesidad grave, mórbida o clase III	Obesidad clase III	Obesidad grave, extrema, masiva o clase III

El IMC presenta ciertas limitaciones ya que no solo ignora las diferencias entre masa muscular, ósea y grasa y su distribución, sino también factores como la etnia, el sexo, la edad, la estabilidad del peso, el historial de peso, enfermedades preexistentes, tratamientos farmacológicos, la fase del ciclo menstrual y la condición física [8]. Por este motivo, aunque el IMC ha sido tradicionalmente el método elegido para medir el tamaño corporal en los estudios epidemiológicos, medidas alternativas, como el perímetro de cintura, la ratio cintura-altura y la ratio cintura-cadera que reflejan la adiposidad central, se han sugerido como superiores al IMC para predecir el riesgo de enfermedad cardiovascular (ECV) [9].



El **perímetro de cintura** permite conocer el contenido de grasa visceral en el abdomen y el tamaño de los adipocitos de la región abdominal [10]. Éste es considerado un marcador de obesidad abdominal y se mide en el punto medio entre la cresta ilíaca y la última costilla con la persona en posición erguida y exhalación. El exceso de tejido adiposo visceral se ha relacionado fuertemente como un predictor de morbilidad y mortalidad cardiovascular y metabólica [11]. De hecho, se ha relacionado el aumento de 1 cm en el perímetro de cintura con un aumento del 2 % en el riesgo de sufrir ECV [12]. Por un lado, la Federación Internacional de Diabetes (IDF) define como valores críticos  $\geq 80$  cm para las mujeres y  $\geq 90$  cm para los hombres [13], mientras que la OMS [14], en 1997, sugirió umbrales para identificar a individuos en riesgo, creando tres categorías (**Tabla 3**). Sin embargo, existe debate sobre los umbrales adecuados para diferentes grupos étnicos o raciales [9].

**Tabla 3.** Perímetro de cintura ideal en mujeres y hombres [14].

Estado	Perímetro en mujeres	Perímetro en hombres
Normal	$\leq 80$	$\leq 94$
Riesgo alto	81-88 cm	95-102 cm
Riesgo muy alto	$> 88$ cm	$> 102$ cm

La **ratio cintura-altura**, tal y como indica su nombre, se calcula dividiendo el perímetro de la cintura y la altura, ambos en centímetros. También es considerado un marcador valioso para medir la adiposidad central. Se sugiere que un límite de 0.5 puede ser utilizado en diferentes grupos étnicos y sexuales, aplicándose tanto en niños (a partir de 6 años) como en adultos. Se trata de una herramienta sencilla de evaluación de riesgos para la detección primaria, que identifica a personas en riesgo cardiometabólico y de morbilidad por enfermedades no transmisibles [15]. Un aumento de 0,01 en esta ratio se ha visto relacionado con un aumento del 5 % la probabilidad de sufrir ECV [12].

La **ratio cintura-cadera** se calcula dividiendo el perímetro de la cintura y el perímetro de cadera, ambos en centímetros. El perímetro de cadera se mide alrededor de la máxima protrusión de los glúteos a nivel del trocánter mayor del fémur en ambos lados, lo cual generalmente coincide con la sínfisis pubiana. A mayor ratio, mayor proporción de adiposidad abdominal, y por tanto mayor aumento del riesgo para la salud del individuo. Se pueden identificar tres tipos distintos de obesidad [16]:

- Obesidad androide o abdominal: acumulación de grasa principalmente en la parte superior del tronco, específicamente en la región cervical y el abdomen superior. Este tipo de obesidad es más común en hombres y presenta un mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares y metabólicas.
- Obesidad ginoide o periférica: acumulación de grasa principalmente en las caderas, glúteos y muslos. Es más frecuente en mujeres y se ha asociado con osteoartritis en las articulaciones de carga, insuficiencia venosa, litiasis biliar, paniculopatía edemato fibroesclerótica y dificultades para la locomoción.
- Obesidad de distribución homogénea: la grasa se distribuye uniformemente sin predominar en ninguna zona específica.

## 1.1. ETIOLOGÍA

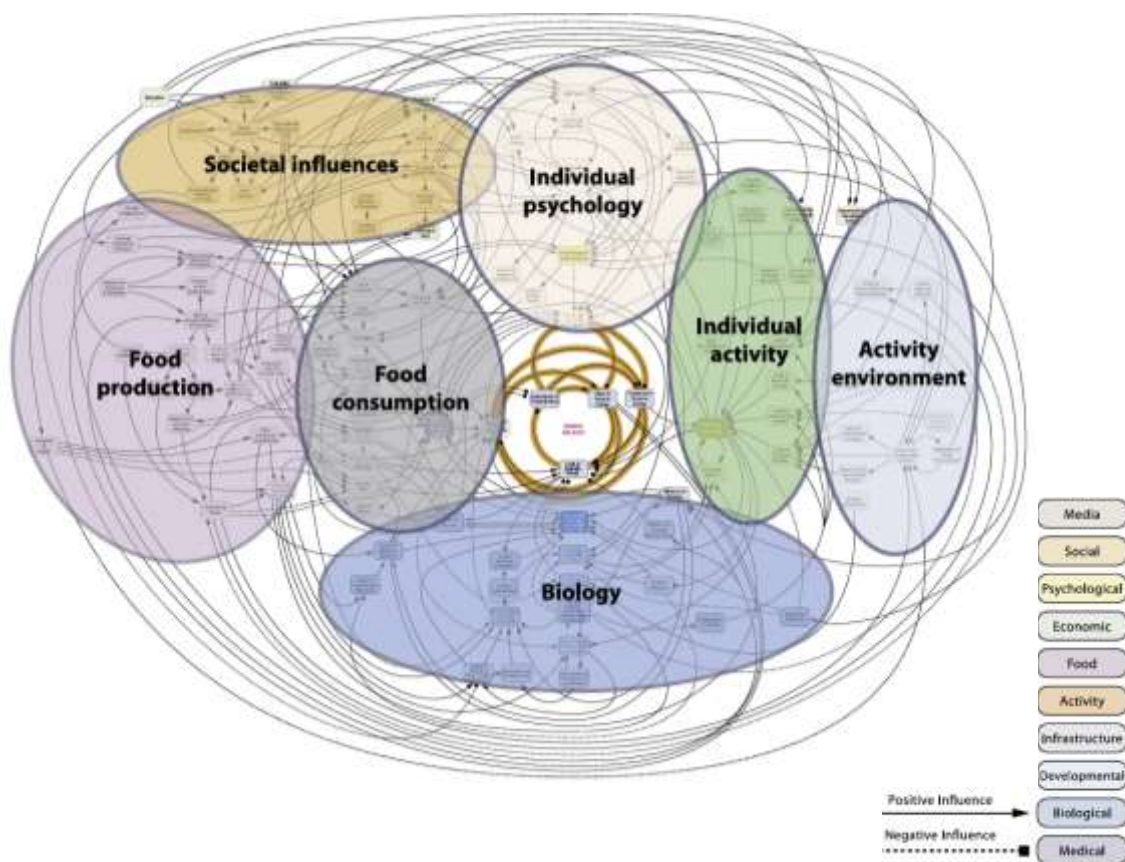
En la mayoría de los casos, la obesidad es una enfermedad multifactorial (

**Figura 1**), fruto de entornos obesogénicos, factores psicosociales y variantes genéticas. En un subgrupo de pacientes, se pueden identificar factores etiológicos principales: medicamentos, enfermedades, inmovilización, procedimientos iatrogénicos, enfermedad monogénica/síndrome genético [2]. Tanto el desarrollo de sobrepeso como de la obesidad son producto de un desequilibrio energético entre un excesivo consumo de calorías (dieta) y un escaso o insuficiente gasto energético (actividad física) [2].

Según la hipótesis del gen ahorrativo, los humanos fisiológicamente evolucionaron para almacenar calorías y conservar energía, lo que en un pasado probablemente transmitía una ventaja reproductiva y de supervivencia, protegiendo contra el hambre y evitando la anorexia inducida por enfermedades. Sin embargo, almacenar grandes cantidades de grasa habría aumentado la susceptibilidad a la depredación al dificultar movilidad. La ausencia de selección por depredación en los últimos 30,000 años permitió que los genes que promueven el almacenamiento de energía y la obesidad persistieran. Aunque la susceptibilidad genética a la obesidad influye en la actual epidemia de obesidad, el entorno obesogénico moderno y el estilo de vida occidental, caracterizado por el consumo excesivo de alimentos altos en calorías y la falta de actividad física, son

los principales catalizadores del rápido aumento de las tasas de obesidad en los últimos 50 años [17].

Hay cientos de genes que se han visto relacionados directamente con la obesidad y la distribución de la grasa como los que se concierne con defectos en la producción de leptina, un receptor de leptina defectuoso, anomalías en el gen de la proopiomelanocortina o en el sistema del receptor de melanocortina-4. Sin embargo, es evidente que, en un mismo entorno, algunas personas se vuelven obesas y otras no. Esta respuesta diferencial se debe a una combinación de muchos factores, varios de los cuales ya se han mencionado anteriormente [18].



**Figura 1.** Factores que a menudo conducen al sobrepeso/obesidad en adultos [19].

La alimentación es el principal agente ambiental de la obesidad, seguido por la disminución del nivel de actividad física. La dieta occidental incluye alimentos sabrosos, económicos y prácticos que activan los centros de placer del cerebro, similares a los activados por sustancias adictivas. Con la mayor disponibilidad de estos alimentos y la reducción de la actividad física, los principales impulsores de la obesidad se han fortalecido. Otros factores ambientales, como menos tiempo de sueño, disruptores

endocrinos, efectos epigenéticos e intergeneracionales, edad avanzada de los padres, ciertos medicamentos y menor consumo de tabaco, también se han relacionado en la contribución de la obesidad [20].

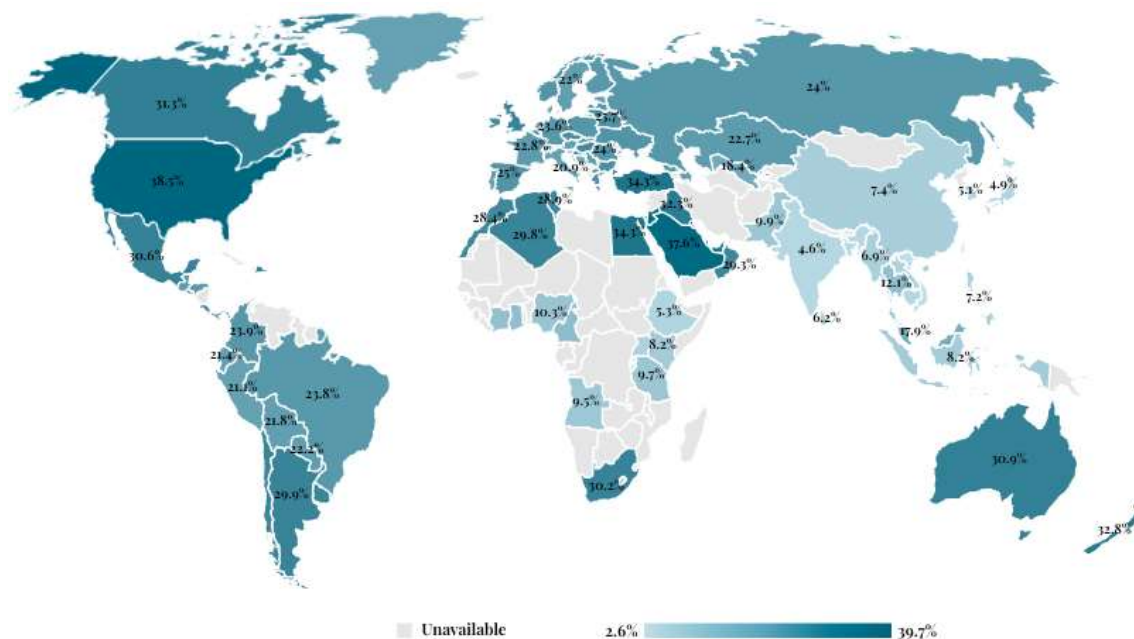
Los factores psicológicos y emocionales como el estrés, la ansiedad y la depresión también juegan un papel crucial en la etiología de la obesidad, ya que pueden influir en los hábitos alimentarios y la actividad física [21,22]. Con todo ello, es fundamental reconocer la variabilidad individual en la respuesta a estos factores obesogénicos y la necesidad de enfoques personalizados en el tratamiento y la prevención de la obesidad. Finalmente, es importante destacar la influencia del microbioma intestinal en el metabolismo y su papel en el desarrollo de la obesidad, ya que se ha demostrado que la composición del microbioma puede afectar tanto la absorción de nutrientes como el almacenamiento de grasa [23].

El entorno obesogénico que agrava la probabilidad de obesidad en individuos, poblaciones y en diferentes entornos está relacionado con factores estructurales que limitan la disponibilidad de alimentos saludables y sostenibles a precios localmente asequibles, la falta de movilidad física fácil y segura en la vida diaria de todas las personas y la ausencia de un entorno legal y regulatorio adecuado [2]. Al mismo tiempo, la falta de una respuesta eficaz del sistema de salud para identificar el exceso de peso y la deposición de grasa en sus primeras etapas está agravando la progresión hacia la obesidad [2].

## 1.2. EPIDEMIOLOGÍA

La obesidad se ha catalogado como una pandemia global [24], afectando a personas de todas las edades y grupos socioeconómicos en todo el mundo, sin importar el nivel de ingresos del país (**Figura 2**) [25]. En 2022, la OMS estimó que aproximadamente 2.500 millones de adultos mayores de 18 años tenían sobrepeso, mientras que unos 890 millones eran obesos. Esto significa que a nivel mundial el 43% de los adultos (con un 43% de hombres y un 44% de mujeres) padecían sobrepeso, y de éstos, alrededor del 16% eran obesos. La prevalencia mundial de la obesidad se ha más que duplicado desde 1990 hasta 2022, cuando el porcentaje de adultos con sobrepeso

era del 25% [2]. Si estas tendencias continúan, se espera que para 2025 habrá 2.700 millones de adultos con sobrepeso y más de 1.000 millones con obesidad [26].

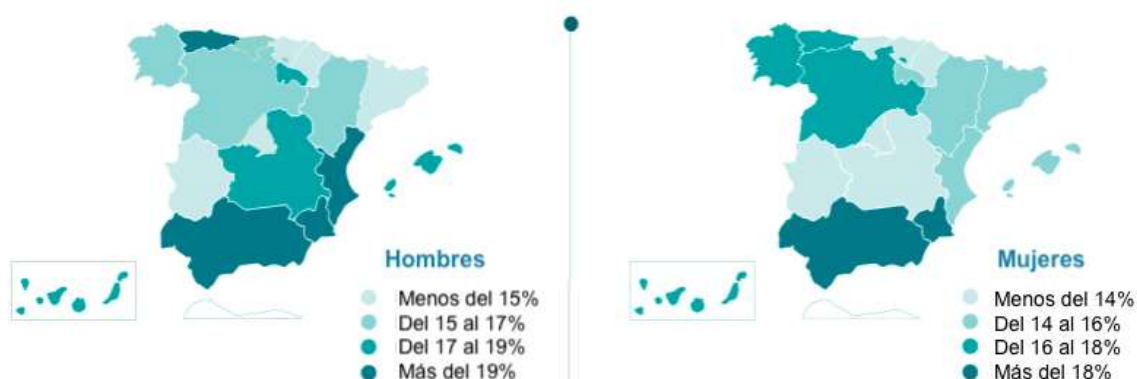


**Figura 2.** Porcentaje de adultos obesos en 2023 por país a nivel mundial [27].

En el Congreso Europeo sobre Obesidad que se celebró en 2022, se reveló que, en Europa, el 59% de los adultos y casi 1 de cada 3 niños (29% de los niños y 27% de las niñas) presentan sobrepeso u obesidad. Además, la prevalencia de la obesidad en los adultos se encuentra en segundo lugar, por detrás de América. El sobrepeso y la obesidad causan más de 1,2 millones de muertes al año en Europa, representando más del 13% de la mortalidad total. La pandemia de COVID-19 ha afectado desproporcionadamente a las personas con sobrepeso y obesidad, provocando cambios desfavorables en la alimentación y la actividad física. Se estima que estos cambios van a tener efectos negativos en la salud de la población durante los próximos años por lo que se requerirán esfuerzos importantes para revertirlos [28].

En España, se estima que en 2023, el 25% de los adultos mayores de 18 años tenía obesidad, situando al país en el número 37 del ranking a nivel mundial [27]. Entre las comunidades autónomas, destacan Andalucía y Murcia por tener una mayor prevalencia de obesidad, mientras que el País Vasco, Navarra, Madrid y Extremadura presentan una menor prevalencia, independientemente del sexo. Concretamente, en las Islas Baleares se estima que entre un 14 y un 16% de las mujeres presentaban obesidad,

mientras que el porcentaje en hombres era ligeramente superior, del 17 al 19% (**Figura 3**) [29].



**Figura 3.** Porcentaje de adultos obesos en España por comunidad autónoma en 2020 [29].

### 1.3. COMPLICACIONES Y COMORBILIDADES

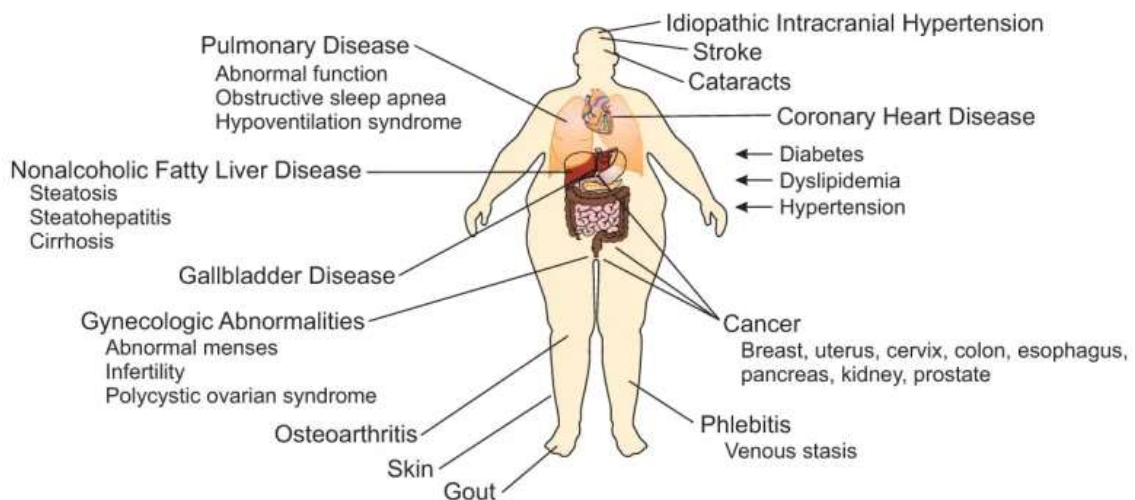
La OMS ha relacionado la obesidad con un mayor riesgo de padecer diabetes mellitus de tipo 2 (DMT2), enfermedades cardíacas y ciertos tipos de cáncer. Además, puede afectar la salud ósea y la reproducción. También destaca que la obesidad influye en aspectos de la calidad de vida, como el movimiento y el sueño [2].

La obesidad se ha relacionado con un estado crónico de inflamación que puede estar implicado en el desarrollo de comorbilidades como el síndrome metabólico, las enfermedades cardiovasculares, la esteatohepatitis no alcohólica y el cáncer [30]. Numerosos estudios epidemiológicos han informado sobre las asociaciones entre la obesidad y sus comorbilidades comunes, como diabetes, hipertensión, dislipidemia y apnea obstructiva del sueño [30,31].

Entre las comorbilidades relacionadas con la obesidad, destacan las siguientes: enfermedades coronarias (diabetes, dislipemia, hipertensión), enfermedades de hígado graso no alcohólico (esteatosis, esteatohepatitis, cirrosis), cánceres (mama, útero, cuello uterino, colon, esófago, páncreas, riñón, próstata), enfermedades respiratorias (asma, hipoxemia, apnea obstructiva del sueño, síndrome de hipoventilación de la obesidad), enfermedades del tracto genitourinario (irregularidad menstrual, infertilidad, síndrome de ovario poliquístico) y otras enfermedades como la enfermedad de la vesícula biliar, la

osteoartritis, diferentes infecciones de la piel, la hipertensión intracraneal idiopática, el accidente cerebrovascular, las cataratas, la pancreatitis y la gota [30].

La presencia de comorbilidades concurrentes está fuertemente asociada con los niveles de obesidad (**Figura 4**). En hombres con peso normal, la prevalencia de comorbilidades múltiples es del 23%, aumentando al 27% en sobrepeso, 33% en obesidad clase I, 38% en obesidad clase II y 44% en obesidad clase III. En mujeres, el patrón es similar pero con aumentos mayores en cada etapa: 28%, 34%, 41%, 45% y 51%, respectivamente [30].



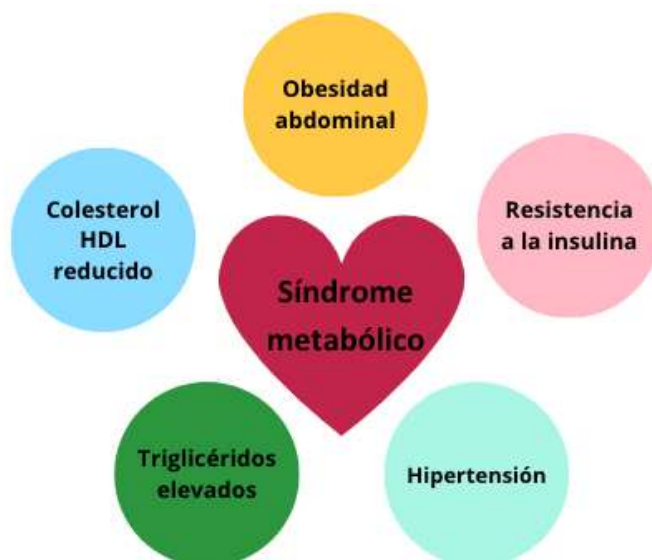
**Figura 4.** Comorbilidades asociadas a la obesidad [30].

La obesidad y el sobrepeso en la edad adulta están asociados con reducciones significativas en la esperanza de vida y un aumento en la mortalidad prematura, comparable a los efectos del tabaquismo [32]. Todo ello conduce a que la obesidad en la edad adulta pueda ser un fuerte predictor de mortalidad en etapas avanzadas de la vida [32]. En 2019, un IMC superior al óptimo causó aproximadamente 5 millones de muertes por enfermedades no transmisibles (ENT), tales como enfermedades cardiovasculares, diabetes, cánceres, trastornos neurológicos, enfermedades respiratorias crónicas y trastornos digestivos [33].

Quiero destacar la relación directa entre la obesidad y el síndrome metabólico, la enfermedad de hígado graso no alcohólico y la disfunción renal, tres comorbilidades de la obesidad que se abordarán en la presente tesis doctoral.

## 2. SÍNDROME METABÓLICO

El síndrome metabólico (SMet) es un conjunto de factores de riesgo que incluyen obesidad abdominal, hipertensión, dislipidemia y aumento de la glucosa en ayunas (Figura 5) [34].



**Figura 5.** Factores que definen el síndrome metabólico.

Esta patología fue descrita por primera vez en 1988 como síndrome X por Gerald M Reaven como resistencia a la captación de glucosa estimulada por la insulina, hiperglucemia, hiperinsulinemia, aumento de la concentración plasmática de triglicéridos VLDL, disminución de la concentración plasmática de colesterol HDL y presión arterial alta [35].

Las tres definiciones más comunes [36] utilizadas para encuestas y planes de atención médica son:

- OMS 1998 [37]: resistencia a la insulina o glucosa > 6,1 mmol/L (110 mg/dl), 2 h de glucosa > 7,8 mmol (140 mg/dl) junto con dos o más de los siguientes:
  - Colesterol HDL < 0,9 mmol/L (35 mg/dl) en hombres, < 1,0 mmol/L (40 mg/dl) en mujeres.
  - Triglicéridos > 1,7 mmol/L (150 mg/dl).
  - Relación cintura/cadera > 0,9 en hombres o > 0,85 en mujeres, o IMC > 30 kg/m<sup>2</sup>.
  - Presión arterial > 140/90 mmHg.



- NCEP (Programa Nacional de Educación sobre el Colesterol) ATP3 2005. Presencia de tres o más de los siguientes:
  - Glucosa en sangre > 5,6 mmol/L (100 mg/dl) o tratamiento farmacológico para la glucemia elevada.
  - Colesterol HDL < 1,0 mmol/L (40 mg/dl) en hombres, < 1,3 mmol/L (50 mg/dl) en mujeres o tratamiento farmacológico para niveles bajos de HDL-C.
  - Triglicéridos en sangre > 1,7 mmol/L (150 mg/dl) o tratamiento farmacológico para los triglicéridos elevados.
  - Cintura > 102 cm en hombres o > 88 cm en mujeres.
  - Presión arterial > 130/85 mmHg o tratamiento farmacológico para la hipertensión.
- IDF 2006 [38]. Cintura > 94 cm (hombres) o > 80 cm (mujeres) junto con la presencia de dos o más de los siguientes:
  - Glucosa en sangre > 5,6 mmol/L (100 mg/dl) o diabetes diagnosticada.
  - c-HDL < 1,0 mmol/L (40 mg/dl) en hombres, < 1,3 mmol/L (50 mg/dl) en mujeres o tratamiento farmacológico para niveles bajos de c-HDL.
  - Triglicéridos en sangre > 1,7 mmol/L (150 mg/dl) o tratamiento farmacológico para los triglicéridos elevados.
  - Presión arterial > 130/85 mmHg o tratamiento farmacológico para la hipertensión.

El SMet se ha relacionado con un aumento de cinco veces en el riesgo de padecer DMT2, así como con el doble de riesgo a largo plazo de desarrollar ECV y mortalidad cardiovascular y se ha asociado a una mayor tasa de cáncer en todo el mundo [39,40].

## 2.1. ETIOLOGÍA

El SMet se trata de un estado fisiopatológico complejo que se ve afectado por la composición genética/epigenética del individuo, el predominio del estilo de vida sedentario sobre la actividad física y otros factores como la calidad y composición de los alimentos y la composición de la microbiota intestinal [34]. De hecho, un estudio

reciente muestra una asociación positiva entre el comportamiento sedentario a largo plazo y un mayor riesgo de SMet [41].

Se cree que la etiología del SMet, aunque en gran medida desconocida, reside en una interacción compleja entre la predisposición genética y factores metabólicos y ambientales [42]. De hecho, se ha visto como el estilo de vida de la madre y la nutrición intrauterina y posnatal desempeñan un papel importante en la etiología y patogénesis del síndrome metabólico [43].

## 2.2. EPIDEMIOLOGÍA

El riesgo de desarrollar SMet aumenta con la edad, la obesidad, el historial de diabetes y ciertas enfermedades, siendo más común en algunas razas y etnias, especialmente entre mexicanos y afroamericanos. Además, factores como la grasa abdominal y condiciones como el hígado graso y problemas cardiovasculares incrementan significativamente este riesgo [44].

En los últimos 30 años, la prevalencia global de obesidad y dislipidemias ha aumentado considerablemente [45]. De manera similar, la prevalencia del SMet, la DMT2 y la obesidad se han incrementado rápidamente, convirtiéndose en importantes problemas de salud pública [34,46]. La incidencia del SMet a menudo sigue la misma tendencia que la obesidad y la DMT2 [34].

Disponer de datos globales completos sobre la epidemiología del SMet es desafiante debido a que esta patología involucra a varios componentes [45]. Sin embargo, dado que se estima que el SMet es tres veces más común que la diabetes, con una prevalencia a nivel mundial de 476 millones de afectados [45], se sugiere que aproximadamente una cuarta parte de la población mundial lo padece. En otras palabras, más de mil millones de personas en el mundo padecen actualmente SMet [34].

El riesgo cardiovascular conferido por el SMet es un tercio mayor en las mujeres que en los hombres [47]. Además, la prevalencia del SMet es mayor en mujeres, especialmente a partir de los 65 años, debido principalmente a los cambios inducidos por la menopausia, que incluyen un aumento en la adiposidad abdominal y el desarrollo de resistencia a la insulina y dislipidemia por déficit de estrógenos [48]. En personas con SMet, los criterios de glucemia y trigliceridemia son más frecuentes en varones, mientras

que la obesidad abdominal y el colesterol HDL son más comunes en mujeres [49]. En una población de bajo riesgo coronario como la española, el SMet se relaciona con una elevación hasta niveles moderados de esta enfermedad coronaria en ambos sexos. Aunque el riesgo absoluto de enfermedad coronaria asociado con el SMet es menor en las mujeres comparado con los hombres, el incremento en el riesgo de ésta, debido al SMet, es relativamente mayor en las mujeres cuando se compara con los hombres [49].

El estudio DARIOS (Dislipemia, riesgo aterosclerótico, proteína C reactiva de alta sensibilidad incrementada y estado inflamatorio y oxidativo en la población española) realizado en 2012, estimó que la prevalencia del SMet en España supera el 30% de la población adulta (32% en hombres y del 29% en mujeres), y predomina en hombres hasta la edad de 55 años y en las mujeres a partir de los 65; la mayor prevalencia en el país corresponde a Canarias e Islas Baleares [49].

## 2.3. CONDICIONES PATOLÓGICAS

### HIPERTENSIÓN

La hipertensión, conocida como tensión arterial alta, se define como un trastorno en el que los vasos sanguíneos están sometidos a una tensión persistentemente elevada. Esta condición puede ser grave si no se trata adecuadamente. Para determinar la presión arterial es necesario medir la presión sistólica, cuando el corazón se contrae, y la presión diastólica, cuando el corazón se relaja. Para un diagnóstico de hipertensión se requieren dos lecturas en días diferentes, ambas con valores sistólicos  $\geq 140$  mmHg y diastólicos  $\geq 90$  mmHg [50].

Entre los factores de riesgo que favorecen la hipertensión se incluyen una dieta poco saludable, inactividad física, consumo de tabaco y alcohol, y sobrepeso u obesidad, además de antecedentes familiares de hipertensión, edad avanzada (más de 65 años) y la presencia de otras enfermedades como diabetes o nefropatías [50].

Cabe destacar que la hipertensión es una de las principales causas de muerte prematura en el mundo. A nivel mundial, se estima que 1280 millones de adultos entre 30 y 79 años tienen hipertensión y que solo el 21% la tiene controlada. El 46% de los hipertensos no sabe que tiene la condición, y menos de la mitad recibe tratamiento

(42%). Se aspira a reducir su prevalencia en un 25% para 2030 en comparación con los valores de 2010 [50].

### DIABETES MELLITUS TIPO 2

La diabetes mellitus es una enfermedad crónica que se presenta cuando el páncreas es incapaz de secretar suficiente insulina o el propio organismo no utiliza eficazmente la que produce. Existen varios tipos de diabetes como son: diabetes mellitus tipo 1 (DMT1), DMT2 y diabetes gestacional [51].

A diferencia de la DMT1 caracterizada por una destrucción selectiva de las células beta del páncreas, la DMT2 se presenta cuando el organismo no utiliza eficazmente la insulina producida. Esta forma de diabetes afecta la manera en que el cuerpo utiliza la glucosa para obtener energía, impidiendo que se use la insulina adecuadamente. Como resultado, los individuos que padecen DMT2 y no reciben medicación adecuada presentan estados de hiperglucemia que pueden dañar gravemente los nervios y vasos sanguíneos con el tiempo [51]. La DMT2 es un factor de riesgo conocido para la enfermedad coronaria y el accidente cerebrovascular isquémico, aunque la magnitud de su efecto puede variar según la edad, el sexo y otros factores de riesgo convencionales [52].

Según la última actualización de la Asociación Americana de Diabetes (ADA) en 2022, la diabetes se diagnostica basándose en los siguientes criterios [53]:

- Glucosa plasmática en ayunas  $\geq 126$  mg/dL (7,0 mmol/L).
- Glucosa plasmática de 2 horas  $\geq 200$  mg/dL (11,1 mmol/L) durante una prueba de tolerancia a la glucosa oral de 75 g.
- Hemoglobina glicosilada A1c (HbA1c)  $\geq 6,5\%$  (48 mM).
- Glucosa plasmática aleatoria  $\geq 200$  mg/dL en pacientes con síntomas de hiperglucemia o crisis hiperglucémica.

Los datos de la OMS muestran que las tasas de mortalidad por diabetes aumentaron en un 3% en las últimas dos décadas, con 1,5 millones de defunciones en 2019, de las cuales el 48% tenía menos de 70 años [51]. La DMT2, anteriormente conocida como diabetes "no insulino dependiente" o "de inicio en la edad adulta", ahora se observa con mayor frecuencia en niños debido a factores como el sobrepeso, la falta de ejercicio y la predisposición genética [51,52]

La diabetes puede ser gestionada y sus consecuencias evitadas o retrasadas mediante el mantenimiento de un peso saludable, la práctica regular de actividad física y una alimentación balanceada. Además, es crucial evitar el consumo de tabaco, seguir la medicación prescrita y realizar pruebas de control de manera periódica [51].

### DISLIPEMIA

La dislipidemia se caracteriza por niveles anormales de colesterol total, triglicéridos o ambos [54]. Factores como la obesidad y la DMT2 predisponen a la dislipidemia. Esta condición aumenta el riesgo de enfermedad cardiovascular aterosclerótica debido a los altos niveles de colesterol total, colesterol LDL, triglicéridos y lipoproteína (a), y a la disminución de colesterol HDL [55].

La dislipidemia y la obesidad presentan un problema de salud consecuente, aunque no todos los pacientes obesos son dislipidémicos. De hecho, esta condición tiene frecuentemente la misma prevalencia en personas obesas y no obesas o está sólo ligeramente elevada en personas obesas [54]. La dislipidemia aterogénica, común en personas con obesidad abdominal, se caracteriza por niveles elevados de triglicéridos, VLDL, Apo B y no-HDL-C, y niveles bajos de colesterol HDL y Apo A-I [54].

El nivel óptimo de lípidos varía según la edad, el sexo y otros factores de riesgo del individuo, pero en general se recomiendan los siguientes rangos [56]:

- Colesterol LDL < 100 mg/dL.
- Colesterol HDL > 40 mg/dL para hombres y > 50 mg/dL para mujeres.
- Triglicéridos < 150 mg/dL.
- Colesterol total < 200 mg/dL.

El tratamiento de la dislipidemia va enfocado a la reducción de colesterol LDL, el aumento de colesterol HDL y la disminución de triglicéridos, adaptado a la gravedad y a la presencia de otros factores de riesgo como DMT2, hipertensión y obesidad. La dislipidemia es un problema de salud pública global que incrementa de forma notable el riesgo de enfermedad cardiovascular, influenciado por factores genéticos, ambientales y de estilo de vida [56].

## ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA

La Enfermedad Renal Crónica (ERC) se define como una tasa de filtración glomerular (TFG)  $< 60$  ml/min por  $1,73$  m<sup>2</sup> o marcadores de daño renal elevados, o ambas, de al menos 3 meses de duración [57]. La ERC está estrechamente relacionada con el SMet, un conjunto de factores de riesgo que incrementan la morbilidad y mortalidad cardiovascular, y que también puede causar la aparición y progresión de la ERC [58]. La creciente prevalencia del SMet, su impacto significativo en la salud renal, y la variabilidad en su presentación y efectos según factores étnicos y de estilo de vida, hacen que sea un área de gran interés y preocupación para los nefrólogos. Esto les permite desarrollar estrategias de prevención, diagnóstico y tratamiento más efectivas y personalizadas para sus pacientes. La creciente prevalencia del SMet, su impacto significativo sobre la salud renal, y la variabilidad en su presentación y efectos según factores étnicos y de estilo de vida, hacen que sea un área de gran interés y preocupación para los nefrólogos. Esto les permite desarrollar estrategias de prevención, diagnóstico y tratamiento del SMet más efectivas y personalizadas para sus pacientes [58]. La Asociación Estadounidense del Corazón (AHA) ha introducido recientemente el concepto de Síndrome Cardiovascular-Riñón y Metabólico (CKM), destacando la interacción entre la enfermedad cardiovascular, la ERC y la DMT2 [59]. La enfermedad renal asociada al SMet se caracteriza por hiperfiltración glomerular, una tasa de filtración estimada (eGFR)  $< 60$  mL/min por  $1,73$  m<sup>2</sup>, proteinuria, microalbuminuria, disfunción tubular renal, anomalías ecográficas y diversas patologías renales, incluyendo glomerulomegalia, podocitopatía y fibrosis intersticial [58]. Estudios epidemiológicos han demostrado una fuerte correlación entre el SMet y la ERC; por ejemplo, un seguimiento de 21 años de la cohorte NHANES III encontró que el odds ratio (OR) ajustado multivariado para ERC fue de 2,6 para sujetos con SMet, aumentando de 1,89 a 5,85 con la presencia de más factores de riesgo del SMet [60].

### 3. ENFERMEDAD DEL HÍGADO GRASO NO ALCOHÓLICO

---

El término enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD, del inglés *non-alcoholic fatty liver disease*) fue descrito por primera vez por Ludwig *et al.* a principios de los 1980 [61] y se refiere a la acumulación excesiva de grasa en el hígado, caracterizada por la presencia de esteatosis en más del 5% de los hepatocitos, en ausencia de una ingesta significativa de alcohol [62]. Recientemente, el término NAFLD ha sido reemplazado por el de enfermedad del hígado graso asociada al metabolismo (MAFLD, del inglés *metabolic dysfunction-associated fatty liver disease*), para resaltar la importancia de las anomalías metabólicas en la comprensión cambiante de los mecanismos de la enfermedad [63].

MAFLD es una enfermedad silenciosa, ya que en la mayoría de los casos no provoca síntomas específicos. Sin embargo, algunos pacientes pueden experimentar fatiga, malestar y molestias abdominales. El diagnóstico a menudo se realiza en pacientes con obesidad, especialmente obesidad mórbida (IMC > 35), resistencia a la insulina, DMT2, SMet, apnea del sueño obstructiva o elevaciones crónicas de las enzimas hepáticas aspartato aminotransferasa (AST)/ alanina aminotransferasa (ALT) sin otra causa aparente [64]. Las enzimas hepáticas, aunque frecuentemente anormales en pacientes con MAFLD, no son predictores precisos y pueden ser normales hasta en el 80% de los casos. En etapas avanzadas de la enfermedad, los niveles de ALT pueden incluso disminuir [64].

La biopsia hepática es la prueba de referencia para el diagnóstico y pronóstico de MAFLD, aunque es costosa, invasiva y conlleva riesgos de complicaciones como dolor, sangrado y, en casos raros, muerte [65]. Existen varios índices para detectar la esteatosis hepática, pero ninguno puede cuantificar la grasa hepática con precisión:

- **Puntuación de grasa hepática NAFLD (NLFS):** basada en SMet, DMT2, insulina sérica en ayunas, y la relación AST/ALT [66].
- **Índice de esteatosis hepática (HIS):** considera la relación AST/ALT, IMC, diabetes y sexo [67].
- **Índice de hígado graso (FLI):** utiliza el IMC, la circunferencia de la cintura y niveles séricos de triglicéridos y gamma-glutamilttransferasa (GGT) [68].

Las técnicas de imagen se mostraron más prometedoras en la evaluación de la esteatosis:

- **Ecografía:** no invasiva, ampliamente disponible y precisa para detectar MAFLD, recomendada como primera línea diagnóstica. Sin embargo, tiene limitaciones, como la incapacidad de estadificar la fibrosis y subestima la prevalencia de esteatosis cuando es inferior al 20% [69].
- **Elastografía transitoria (TE):** mide la rigidez hepática como sustituto de la fibrosis y se correlaciona con el grado de esteatosis [65].
- **Resonancia magnética nuclear (RMN):** las técnicas avanzadas permiten medir la fracción grasa de protones proporcionando una evaluación precisa y reproducible del contenido de grasa hepática. Además, ha sido validado frente a la histología hepática y ha demostrado ser más sensible para detectar cambios en el contenido de grasa hepática y la respuesta al tratamiento en ensayos clínicos [65].

Hasta hace poco, no había farmacoterapia aprobada por la FDA para hacer frente al MAFLD [70]. El tratamiento de MAFLD se centraba en regular el metabolismo de glucolípidos, reducir la inflamación y la fibrosis hepática mediante fármacos que mejorasen la resistencia a la insulina, controlasen la dislipidemia y la hipertensión. La combinación de estos fármacos puede ser beneficiosa [71]. La aprobación de Rezdiffra (resmetirom), un activador parcial de un receptor de la hormona tiroidea que reduce la acumulación de grasa hepática, como fármaco específico de MAFLD es un avance importante [72], pero la intervención en el estilo de vida sigue siendo crucial para el manejo de MAFLD.

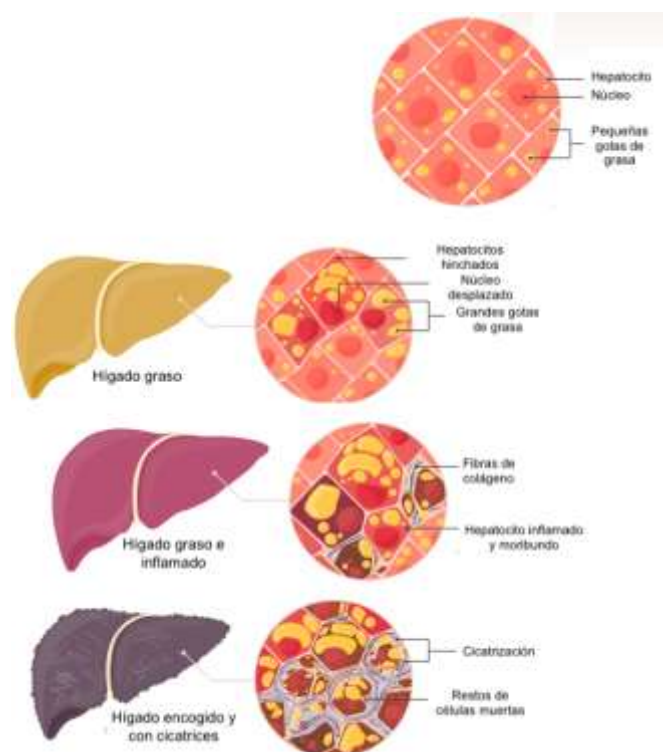
### 3.1. ETIOLOGÍA

El hígado es un órgano involucrado en multitud de tareas, como el procesamiento de los nutrientes absorbidos del intestino, la regulación de los niveles de glucosa, grasas y proteínas en la sangre, y el almacenamiento limitado de carbohidratos y grasa. Los hepatocitos, que constituyen la mayoría de las células del hígado, pueden metabolizar casi todos los tipos de nutrientes [73].



En un hígado sano, los hepatocitos tienen un núcleo central y gotitas de grasa distribuidas uniformemente. Sin embargo, en la MAFLD, los hepatocitos acumulan un exceso de grasa que puede provenir de la dieta, formarse en el hígado o ser liberada por el tejido adiposo resistente a la insulina. Este proceso es conocido como esteatosis. Cuando la grasa acumulada provoca estrés y daño a los hepatocitos, se desarrolla la esteatohepatitis no alcohólica (NASH), ahora conocida como esteatohepatitis asociada a disfunción metabólica (MASH) (**Figura 6**) [73].

Se estima que el 30% de las personas con MAFLD desarrollarán en un futuro MASH. Esta condición provoca que los hepatocitos, ya hinchados, se hinchen aún más y comiencen a morir, lo que causa inflamación e infiltración de células inmunitarias con perfil proinflamatorio. La cicatrización (fibrosis) ocurre cuando las fibras de colágeno reemplazan a las células muertas y, hasta este punto, el proceso es reversible. No obstante, con el tiempo, los hepatocitos muertos se descomponen y el tejido cicatricial se acumula, endureciendo el hígado y perjudicando su función. Este proceso se llama cirrosis y es irreversible, pudiendo llevar a insuficiencia hepática y aumentar el riesgo de cáncer de hígado. Se estima que el 20% de las personas con MASH pueden desarrollar cirrosis [73].

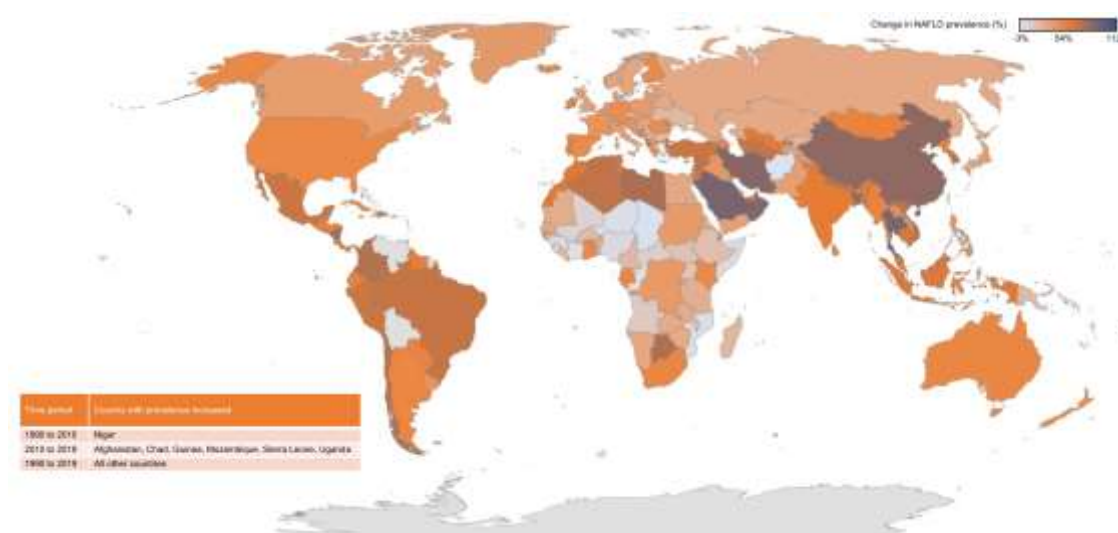


**Figura 6.** Progresión de MAFLD [73].

## 3.2. EPIDEMIOLOGÍA

MAFLD se ha convertido en la principal enfermedad hepática a nivel mundial, afectando aproximadamente al 38% de la población mundial [74], es decir, que afecta a casi dos mil millones de personas en todo el mundo [75]. Concretamente, la prevalencia global de MAFLD ha aumentado significativamente, del 25,3% en 1990-2006 al 38,0% en 2016-2019 (**Figura 7**) [76]. Esta varía según la etnia, siendo del 45% en hispanos, 33% en caucásicos americanos, 25% en asiáticos y 24% en afroamericanos [77].

Aunque la cirrosis y el carcinoma hepatocelular son resultados poco comunes en pacientes con MAFLD, el creciente número de personas en riesgo de padecer estas afecciones ha pasado a ser un motivo de preocupación [74]. La tendencia de MAFLD a manifestarse a edades más tempranas también plantea serias implicaciones para los resultados de salud a largo plazo [74].



**Figura 7.** Mapa del cambio en la prevalencia global de MAFLD [74].

Globalmente, la prevalencia de MAFLD es más alta en el Medio Oriente (32%) y más baja en África (13%). En China, Francia, Alemania, Italia, Japón, España, Reino Unido y Estados Unidos, se espera que esta carga aumente para 2030 [78].

En Europa, varios metaanálisis han estimado la prevalencia de MAFLD entre el 23,7% y el 26,9% [74], siendo mayor en hombres, en pacientes con SMet o cualquier comorbilidad relacionada, como obesidad, enfermedad cardiovascular o enfermedad renal crónica, sin observar diferencias significativas entre países mediterráneos y no mediterráneos [79]. Entre 2014 y 2017, el trasplante de hígado realizado en Europa

debido a cirrosis descompensada y carcinoma hepatocelular relacionado con MAFLD aumentó del 0,9% al 5,0% y del 0,2% al 1,2%, respectivamente [79]. En niños y adolescentes la prevalencia de MAFLD sigue siendo baja (<3%), pero parece exceder el 30% en aquellos con obesidad o sobrepeso en países europeos y ha aumentado en los últimos años, especialmente en países mediterráneos [79].

En España, la prevalencia de MAFLD diagnosticada mediante criterios ecográficos es del 25,8% en individuos de 15 a 85 años, con mayor probabilidad en pacientes mayores de 45 años [80]. Se estima que, para 2030, la prevalencia de MAFLD en España podría llegar al 27,6%, afectando a 12,7 millones de personas [78]. La presencia de carcinoma hepatocelular en pacientes con MAFLD en España se ha triplicado en la última década, lo que hace previsible que se convierta en una de las principales causas de cáncer de hígado en los próximos años [78].

### 3.3. MICROBIOTA INTESTINAL

La microbiota intestinal, compuesta por una extensa y diversa cantidad de microorganismos que residen en el tracto gastrointestinal, desempeña un papel crucial en la salud humana al influir en la digestión, la regulación del sistema inmune, la función endocrina y la señalización neurológica, así como en la producción de compuestos que afectan la salud metabólica del huésped [81].

Se han explorado los perfiles de la microbiota intestinal y los metabolitos asociados con MAFLD, MASH y fibrosis como alternativas atractivas para diagnosticar de forma no invasiva las primeras etapas de la enfermedad. La disbiosis, caracterizada por la reducción de los filos *Firmicutes*, el aumento de los filos *Proteobacteria* y la reducción de *Ruminococcus* tanto a nivel de género como de especie, se ha asociado con MAFLD y fibrosis en varios estudios en humano [82].

El desarrollo y la progresión de MAFLD están influenciados por una amplia gama de variables, que incluyen la edad, el sexo, los cambios metabólicos, los niveles de ejercicio, los hábitos dietéticos, las predisposiciones genéticas y el complejo equilibrio de las bacterias intestinales [83]. Este último participa en las complicadas interacciones dentro del eje intestino-hígado, mediadas por la microbiota intestinal, la barrera intestinal, el sistema inmunológico y el hígado [84].

Cada vez hay más pruebas que indican una relación sólida entre la disfunción metabólica y el microbioma, lo que sugiere la participación de la microbiota en la etiología de MAFLD [85]. Las investigaciones taxonómicas han propuesto diferentes firmas de microbiomas basadas en las alteraciones de la flora relacionadas con las distintas fases de la enfermedad [86]. La MedDiet puede influir positivamente en la composición general de la microbiota intestinal, favoreciendo la integridad de la barrera intestinal y reduciendo la inflamación y las bacterias patógenas como *Escherichia/Shigella*. Por el contrario, se ha descubierto que las dietas ricas en grasas aumentan la resistencia de ciertas especies de *Lactobacillus* a los ácidos biliares, lo que potencialmente afecta el metabolismo de los lípidos y contribuye al desarrollo de MAFLD [87].

### 3.4. CONDICIONES PATOLÓGICAS

#### RESISTENCIA A LA INSULINA

La esteatosis hepática también se asocia con el desarrollo/exacerbación de la resistencia sistémica a la insulina por mecanismos directos e indirectos. Entre los mecanismos directos, los lípidos intermedios como el diacilglicerol y la ceramida juegan un papel crucial. El diacilglicerol, un intermediario en la síntesis de triglicéridos, ha demostrado inhibir la señalización de la insulina en el receptor de insulina, mientras que la ceramida, un lípido de membrana complejo, interfiere en los mediadores proximales de esta señalización. Estos lípidos no solo afectan la señalización en el receptor de insulina, sino que también podrían bloquear la señalización en etapas posteriores de las cascadas de insulina mediante mecanismos aún no completamente determinados. La resistencia a la insulina puede promover la MAFLD al inducir una mayor liberación de ácidos grasos libres por el tejido adiposo e hiperglucemia/hiperinsulinemia, lo que promueve la lipogénesis hepática de *novo* [88].

#### ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA

Se estima que entre el 20% y el 25% de las personas con MAFLD también padecen ERC [89]. En particular, los individuos con MAFLD exhiben una mayor prevalencia de ERC y albuminuria anormal en comparación con aquellos sin MAFLD [90]. Varios estudios han mostrado que, aunque comorbilidades como la DMT2, la hipertensión y el SMet

aumentan el riesgo de ERC, MAFLD por sí sola sigue siendo un factor de riesgo significativo para el desarrollo de ERC, incluso cuando se controlan estos factores de riesgo [90,91]. La detección de MAFLD a través de enzimas hepáticas, técnicas de imagen o biopsias ha demostrado una relación significativa con el aumento del riesgo de ERC. En particular, los pacientes con MASH presentan un riesgo aún mayor de desarrollar ERC comparado con aquellos que solo tienen esteatosis simple. Además, aquellos con fibrosis avanzada tienen el riesgo más alto de ERC prevalente e incidente, lo que resalta la gravedad de la enfermedad hepática en estos casos [92].

Un metaanálisis de 2018, que incluyó nueve estudios longitudinales, documentó que los pacientes con MAFLD tenían un riesgo 1.37 veces mayor de desarrollar ERC en comparación con aquellos sin MAFLD, durante un seguimiento medio de casi 5 años [93]. Un metaanálisis posterior de 2022, que involucró 13 estudios longitudinales y más de un millón de individuos, confirmó esta asociación, encontrando que la MAFLD se asocia con índice de riesgo de 1,43 (intervalo de confianza del 95%: 1,33-1,54) durante una mediana de seguimiento de casi 10 años. Este aumento del riesgo es especialmente significativo en pacientes con formas avanzadas de MAFLD [94]. En resumen, la MAFLD es un factor de riesgo importante para la ERC y su prevalencia está en aumento, lo que subraya la necesidad de estrategias de detección y manejo eficaces para prevenir complicaciones renales.

## 4. ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA

La ERC, como ya se ha definido, se caracteriza por una tasa de filtración glomerular (TFG) < 60 ml/min por 1,73 m<sup>2</sup> o marcadores de daño renal (albuminuria ≥ 30 mg/g, anomalía del sedimento urinario, electrolitos u otra anomalía debida a trastorno tubular, anomalías en la histología, anomalías estructurales detectadas mediante imágenes y antecedentes de trasplante de riñón), o ambas, de al menos 3 meses de duración (**Figura 8**) [57].

				Persistent albuminuria categories Description and range		
				A1	A2	A3
				Normal to mildly increased	Moderately increased	Severely increased
				<30 mg/g <3 mg/1mmol	30-300 mg/g 3-30 mg/1mmol	>300 mg/g >30 mg/1mmol
GFR categories (ml/min/ 1.73 m <sup>2</sup> ) Description and range	G1	Normal or high	≥90			
	G2	Mildly decreased	60-89			
	G3a	Mildly to moderately decreased	45-59			
	G3b	Moderately to severely decreased	30-44			
	G4	Severely decreased	15-29			
	G5	Kidney failure	<15			

**Figura 8.** Pronóstico de la ERC por TFG y categorías de albuminuria: KDIGO 2012 [95].

Es importante señalar que en personas con obesidad y trastornos metabólicos, sean diabéticos o no, la ERC suele comenzar con un período de filtración excesiva en los riñones, conocido como hiperfiltración glomerular [96,97]. Esta fase de hiperfiltración se asocia con un mayor riesgo de deterioro rápido de la función renal y fuga de albúmina en la orina [98]. Los estudios han demostrado que la reducción de la hiperfiltración mediante fármacos dirigidos al sistema renina-angiotensina-aldosterona o la pérdida de peso puede ejercer efectos protectores sobre los riñones en pacientes con DMT2, ralentizando la disminución de la TFG con el tiempo. similar a la tasa observada en adultos mayores sanos [98,99]. Esto resalta la importancia de la detección temprana y el tratamiento de las complicaciones renales asociadas con los trastornos metabólicos.

## 4.1. ETIOLOGÍA

El sistema renal, compuesto por los riñones, los uréteres y la uretra, desempeña varias funciones esenciales. Entre ellas, la regulación de la osmolaridad del plasma al ajustar la cantidad de agua, solutos y electrolitos en la sangre; el mantenimiento de la homeostasis ácido-base a largo plazo; la producción de eritropoyetina, que estimula la formación de glóbulos rojos; la producción de renina para regular la presión arterial; y la conversión de la vitamina D a su forma activa [100,101]. Los riñones filtran alrededor de 200 litros de líquido al día del flujo sanguíneo renal, eliminando toxinas, productos de desecho metabólicos y exceso de iones, mientras conservan sustancias esenciales [100].

La filtración glomerular, el primer paso en la producción de orina, y consiste en un proceso pasivo selectivo que permite el paso de agua y solutos a través de la membrana de filtración, bloqueando las proteínas. La TFG mide la velocidad a la que se filtra el volumen de líquido en un minuto y es un indicador crucial de la función renal, ya que disminuye con la mayoría de las disfunciones renales y tras un daño estructural. Varios factores pueden alterar la TFG: cambios en el volumen sanguíneo, presión arterial, vasoconstricción, presión hidrostática en la cápsula de Bowman y daños estructurales que causan fugas en los filtros [100]. Debido a sus funciones, el riñón es susceptible al daño causado por estrés oxidativo por ser un órgano altamente energético [102].

Numerosas enfermedades crónicas pueden llevar a la ERC. En muchos países, la DMT2 es la principal causa, seguida por la hipertensión, enfermedades vasculares, glomerulares (primarias o secundarias), quísticas, tubulointersticiales, obstrucciones urinarias, cálculos renales recurrentes, defectos congénitos del riñón o vejiga, lesiones renales agudas no recuperadas y ciertos medicamentos como los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), inhibidores de la calcineurina y antirretrovirales [103].

Cada nefrona, de las cerca de un millón que contiene cada riñón, contribuye a la TFG total. La pérdida de función renal es gradual y a menudo asintomática en sus primeras etapas. La progresión de la insuficiencia renal depende de la etiología, pero generalmente implica mecanismos de hiperfiltración en las nefronas restantes. Estas nefronas compensan desarrollando hiperfiltración e hipertrofia, manteniendo la TFG incluso con la destrucción progresiva de otras nefronas. Como resultado, un paciente

con insuficiencia renal leve puede mostrar valores de creatinina normales, pasando la enfermedad desapercibida durante algún tiempo [104]. Aunque la hiperfiltración y la hipertrofia de las nefronas restantes son inicialmente beneficiosas, también son causas importantes de disfunción renal progresiva. La presión capilar glomerular elevada puede dañar los capilares, llevando a glomeruloesclerosis focal y segmentaria y, eventualmente, a glomeruloesclerosis global [103].

## 4.2. EPIDEMIOLOGÍA

La ERC es una condición que afecta a aproximadamente 850 millones de personas en todo el mundo, sin distinción de edad o etnia, aunque las poblaciones desfavorecidas enfrentan mayores riesgos [105]. Esta enfermedad, que deteriora significativamente la calidad de vida y requiere una considerable cantidad de recursos sanitarios, se ha convertido en un problema de salud pública de gran envergadura a nivel global [106].

La prevalencia de la ERC aumenta con la edad tanto en hombres como en mujeres. Entre 1990 y 2017, un informe de la colaboración internacional sobre la carga mundial de la ERC reveló un incremento significativo del 41,5% en las tasas de mortalidad por esta enfermedad [107,108]. Además, hay una relación directa entre el aumento del número de componentes del SMet y el incremento en la probabilidad de desarrollar de ERC y microalbuminuria [109]. Actualmente, la ERC es la tercera causa de muerte de más rápido crecimiento a nivel mundial y la única enfermedad no trasmisible que muestra un aumento continuo en la mortalidad ajustada por edad [110]. Se prevé que para 2040, la ERC será la quinta causa más importante de años de vida perdidos a nivel global [111].

En España, en 2022, la mayor prevalencia de pacientes con ERC se observó en la Comunidad Valenciana, seguida de Canarias, Cataluña, Galicia, Asturias y Murcia, con más de 1400 pacientes por millón de habitantes. Por otro lado, la menor prevalencia se registró en Melilla, Ceuta, Cantabria, Madrid y La Rioja, con menos de 1.200 pacientes por millón de habitantes. En el caso de las Islas Baleares, nuestra población de estudio, la incidencia en 2022 se estimó en 1243 pacientes por millón de habitantes [112].



## 4.3. CONDICIONES PATOLÓGICAS

### HIPERTENSIÓN ARTERIAL

La hipertensión y la ERC frecuentemente coexisten y su interrelación es bidireccional [113]. En pacientes con ERC, la prevalencia de hipertensión resistente es de 2 a 3 veces mayor en comparación con la población general [114]. La presión arterial alta persistente puede acelerar la progresión de la ERC, y la disminución progresiva de la TFG puede dificultar el control adecuado de la presión arterial. Esta combinación de hipertensión no controlada y ERC aumenta significativamente el riesgo de ECV, la principal causa de morbilidad en estos pacientes [113]. En este sentido, se ha visto una relación directa entre el grado de ERC, la albuminuria y la prevalencia de hipertensión resistente [115]. Además, existen disparidades raciales, étnicas y de género en la concienciación, prevalencia y tratamiento de la hipertensión en pacientes con ERC [116].

### DIABETES MELLITUS

El riñón es el principal órgano afectado por el daño microvascular en la diabetes. Aproximadamente la mitad de los pacientes con DMT2 y un tercio de los pacientes con DMT1 desarrollarán enfermedad renal debido a su diabetes y otras comorbilidades como hipertensión y obesidad. La ERC aumenta significativamente el riesgo de resultados adversos de salud y mortalidad prematura, por lo que su prevención y control son esenciales en el tratamiento de la diabetes. El control intensivo de glucosa en sangre, presión arterial y el bloqueo del sistema renina-angiotensina-aldosterona han reducido la incidencia y progresión de la enfermedad renal diabética en los últimos años [117].

## 5. ESTRÉS OXIDATIVO

---

El estrés oxidativo se define como un estado fisiológico de desequilibrio entre la aparición de especies reactivas de oxígeno (ROS, del inglés *reactive oxygen species*) y nitrógeno (RNS, del inglés *reactive nitrogen species*) y la capacidad del organismo para contrarrestar su acción por los sistemas de protección antioxidante [118].

### 5.1 LAS ESPECIES REACTIVAS Y SUS EFECTOS

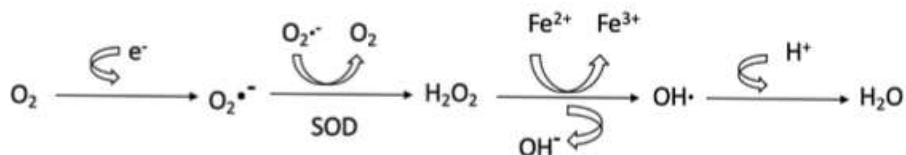
Las ROS y las RNS, son productos del metabolismo celular normal que pueden ser o bien beneficiosas o perjudiciales para el organismo según las concentraciones a las que se encuentren. Bajas o moderadas concentraciones de ROS en el organismo se han visto implicadas en funciones fisiológicas en las respuestas celulares como la defensa contra agentes infecciosos, la señalización celular y en la inducción de una respuesta mitogénica [119]. Sin embargo, altas concentraciones de estas especies conducen a un desequilibrio y por tanto a una situación de estrés oxidativo. La relación entre el estrés oxidativo y las principales enfermedades relacionadas con la edad como la diabetes, las ECV, las ERC, el cáncer, enfermedades neurodegenerativas y la enfermedad pulmonar obstructiva crónica [120].

#### ESPECIAS REACTIVAS DE OXÍGENO

El oxígeno ( $O_2$ ), un elemento esencial para la vida, puede ser convertido en especies reactivas de oxígeno (ROS) durante procesos metabólicos. Entre estas se encuentran radicales libres, que son átomos o moléculas con uno o más electrones desapareados, y especies no radicales, pero igualmente reactivas. Ejemplos de ROS incluyen el anión superóxido ( $O_2^-$ ), el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), y el radical hidroxilo ( $OH^\cdot$ ) [121].

Durante la respiración celular, las mitocondrias son los principales orgánulos encargados de metabolizar la mayor parte del  $O_2$  para producir energía en forma de ATP mediante la fosforilación oxidativa (OXPHOS). Este proceso está acoplado a la reducción del oxígeno por la cadena de transporte de electrones, formando agua ( $H_2O$ ) sin generar intermediarios tóxicos en condiciones normales [122]. Sin embargo, un pequeño porcentaje del  $O_2$  se convierte en  $O_2^-$ , particularmente en los complejos I y III de la mitocondria. Esto ocurre porque el  $O_2$  es un aceptor de electrones univalente

relativamente pobre, y solo los buenos donantes de electrones univalentes, como el CI mitocondrial, pueden transferirle un electrón. Las principales fuentes intracelulares de  $O_2^{\cdot -}$  incluyen la cadena respiratoria, la activación de células del sistema inmunitario como macrófagos y neutrófilos, y las reacciones catalizadas por oxidasas específicas como la xantina oxidasa (XO) [123]. Al tener una vida media bastante larga, es capaz de difundirse por la célula aumentando así el número de potenciales dianas de reacción [124]. Dentro de la matriz mitocondrial, el  $O_2^{\cdot -}$  se dismuta en  $H_2O_2$  a través de una reacción de dos electrones, que puede ocurrir de forma espontánea o ser catalizada por la Mn-superóxido dismutasa mitocondrial (MnSOD). Mientras que en el citosol el  $O_2^{\cdot -}$  es dismutado rápidamente por CuZnSOD [121]. En presencia de iones metálicos, como el  $Fe^{2+}$  y el  $Cu^+$ , el  $H_2O_2$  es parcialmente reducido al radical altamente nocivo  $OH^{\cdot}$  por la reacción de Fenton [125]. El  $OH^{\cdot}$  es muy reactivo porque tiene un alto potencial oxidante, lo que promueve que solamente reaccione con las moléculas cercanas a su lugar de formación. Este último es considerado la ROS más dañina debido a la imposibilidad de encontrar su presencia en organismos vivos más allá de detectar la existencia de productos específicos de su reacción [126]. En la **Figura 9** hay un esquema de la formación de estos principales radicales libres de oxígeno.



**Figura 9.** Formación de los principales radicales libres de oxígeno.

### EFFECTOS DE LAS ESPECIES REACTIVAS

$O_2^{\cdot -}$ ,  $H_2O_2$  y  $OH^{\cdot}$  son oxidantes potentes que extraen fácilmente electrones de moléculas como el proteínas, lípidos y ácidos nucleicos, alterando sus propiedades, y pueden dañar estos componentes celulares e inhibir su función normal cuando hay un exceso de ROS [121,127]. Por este motivo, el estrés oxidativo ha sido implicado en diversas enfermedades humanas y en el proceso de envejecimiento. El equilibrio entre los efectos beneficiosos y nocivos de los radicales libres es crucial para los organismos vivos, y se mantiene mediante mecanismos de "regulación redox", que protegen contra el estrés oxidativo y aseguran la "homeostasis redox" al controlar el estado redox in vivo [127].

Los ácidos grasos poliinsaturados (AGP) presentes en las membranas celulares, como el ácido araquidónico, son susceptibles de ser atacados por radicales libres, especialmente por el  $\text{OH}\cdot$ , a través de reacciones de **peroxidación lipídica** debido a que poseen dobles enlaces carbono-carbono. Estos hidroperóxidos formados tienen una vida media relativamente corta y se descomponen hasta formar aldehídos (4-hidroxinonanal (4-HNE) y malondialdehído (MDA)) o las sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico (TBARS) que pueden unirse a carbohidratos, otros lípidos, proteínas, y ADN, alterando su estructura y función [128].

Las **proteínas**, debido a su estructura compleja y a la gran cantidad de grupos funcionales oxidables, son susceptibles de reaccionar con las ROS, pudiendo sufrir oxidación a través de dos mecanismos diferentes. Por una parte, la reacción puede ser catalizada por metales formando grupos carbonilo en las cadenas laterales (donde los aminoácidos más dispuestos a esta transformación son la arginina, histidina, lisina y prolina). Mientras que, por otra parte, la cisteína, histidina, metionina y triptófano son propensos a ser atacados en ausencia de metales. Estos procesos de oxidación proteica pueden resultar en una modificación estructural que está asociada con un cambio funcional o incluso con la degradación oxidativa de la proteína. Con frecuencia, para determinar los niveles de estrés oxidativo se determinan los grupos carbonilo como un indicador de la oxidación de proteínas [129].

El **ADN** es modificado, especialmente por el  $\text{OH}\cdot$ , en las bases nitrogenadas o nucleótidos independientemente del estado oxidante de la célula, por lo que es habitual encontrarlo de forma abundante en las células humanas. De hecho, estas lesiones oxidativas en las bases del ADN se van acumulando con la edad y se han visto relacionadas con el envejecimiento [130,131]. La 8-hidroxi-7,8-dihidro-2'-desoxiguanosina (8-OHdG), el derivado más común de oxidación en las bases del ADN, se ha catalogado como un buen indicador de ECV en pacientes con DMT2 y se ha relacionado con el desarrollo del cáncer [132]. Para la investigación en la oxidación de ácidos nucleicos se determinan los niveles de 8-oxo-7,8-dihidro-2'-desoxiguanosina (8-oxodG), producto de la oxidación del ARN, y de 8-oxo-7,8-dihidroguanosina (8-oxoGuo), producto de la oxidación del ADN [133,134].

En los últimos años, las ROS ya no se consideran exclusivamente responsables de la oxidación de biomoléculas y de inducir inactivación y disfunciones moleculares, de hecho, se ha demostrado que estas desempeñan un papel crucial en diversas funciones fisiológicas. Entre estas funciones se encuentran la señalización celular, la regulación de los factores de transcripción, las modificaciones epigenéticas, regulación de los ritmos circadianos y la proteostasis [135]. Este cambio de paradigma ha sido impulsado por numerosos estudios que demuestran que las ROS son esenciales para la homeostasis celular y el metabolismo energético.

Las ROS, y en particular el  $H_2O_2$ , actúan como moléculas señalizadoras clave al oxidar reversiblemente residuos de cisteína en proteínas específicas. Esta oxidación modifica la actividad biológica de diversas enzimas y factores de transcripción, además de afectar su localización celular e interacciones proteicas. Un ejemplo destacado de esta regulación redox es la vía de señalización de la insulina. En la señalización de la insulina, el receptor de insulina, junto con otros componentes como RAC-beta serina/treonina-proteína quinasa (AKT2) y *Forkhead box O* (FOXO), contienen residuos de cisteína sensibles a la oxidación por  $H_2O_2$ . La oxidación de estos residuos es esencial para la activación y función de estas proteínas. Por ejemplo, la fosfatasa PTP1B, que normalmente actúa para contrarrestar la señalización de la insulina, es inactivada por la oxidación de sus residuos de cisteína. Esta inactivación es crucial para mantener una señalización efectiva de la insulina. Además, la redox modula directamente la actividad de AKT, una proteína central en la vía de señalización de la insulina, y sus objetivos *downstream*, como GSK3b e IKK. Estos, a su vez, regulan la actividad de diversos factores de transcripción, impactando en la expresión génica y en las respuestas celulares a la insulina. La alteración de estas vías puede llevar a disfunciones metabólicas y contribuir al desarrollo de enfermedades como la DMT2 [135].

## 5.2 MECANISMOS DE DEFENSA ANTIOXIDANTE

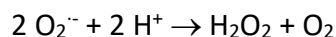
Los efectos que provocan un exceso de ROS son neutralizados o evitados por el sistema de defensa antioxidante del organismo, el cual está formado por mecanismos endógenos, producidos por el propio organismo, tanto enzimáticos como no enzimáticos; como exógenos, a través de la dieta.

## MECANISMOS ENDÓGENOS

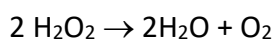
### Defensa enzimática

Las enzimas antioxidantes principales incluyen la catalasa (CAT), la superóxido dismutasa (SOD), la glutatión peroxidasa (GPx) y la glutatión reductasa (GRd).

La **SOD** es una familia ubicua de enzimas que catalizan eficientemente la dismutación de aniones superóxido. Esta enzima representa la primera línea de defensa antioxidante contra las ROS, especialmente los radicales anión superóxido. La SOD reacciona con el  $O_2^{\cdot -}$  transformándolo en  $H_2O_2$ , radical menos reactivo, y  $O_2$ . En mamíferos, se han descrito tres isoformas de SOD según su localización celular: la CuZnSOD se encuentra en el citoplasma, la MnSOD se encuentra en la matriz mitocondrial y requiere manganeso como cofactor y la superóxido dismutasa extracelular (ecSOD) se encuentra en el espacio extracelular y requiere cobre-zinc como cofactor [136].

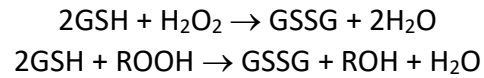


La **CAT** es enzima tetramérica con una estructura muy rígida y estable muy resistente al pH, la desnaturalización térmica y la proteólisis en comparación con la mayoría de las otras enzimas. Se encuentra por toda la célula y cataliza la descomposición del  $H_2O_2$  a  $H_2O$  mediante el uso de un cofactor, el hierro. Este une al centro activo de la enzima como parte de un grupo hemo y no requiere otro sustrato para realizar la reacción [137].



La **GPx**, al igual que la CAT, cataliza la descomposición del  $H_2O_2$  a  $H_2O$  utilizando un sustrato. Sin embargo, la CAT tiene una afinidad menor con la  $H_2O_2$  a bajas concentraciones que la GPx (CAT  $K_m = 1 \text{ mM}$  vs GPx  $K_m = 1 \mu\text{M}$ ) [138]. La GPx es también una enzima tetramérica que posee un residuo de seleno-cisteína en cada una de sus subunidades y que además de reducir el  $H_2O_2$ , también reduce los hidroperóxidos (ROOH) -productos de la oxidación de lípidos de membrana, proteínas y ácido nucleicos, a alcohol (ROH), mediante el glutatión reducido (GSH) como donador de electrones, el cual es oxidado a glutatión oxidado (GSSG) [139,140]. Se han descrito un total de cinco isoformas de glutatión peroxidasa que a pesar de que catalizan la misma reacción, difieren en la localización celular (mitocondria, citosol, etc.) y en la especificidad de

sustrato (diferentes hidroperóxidos) [141]. Puesto que la disponibilidad de GSH debe ser continua para la óptima función de la GPx, la célula debe disponer de un mecanismo de regeneración de GSH a partir de GSSG. Para ello cuenta con la glutatión reductasa (GRd), un flavoenzima que se encarga de la reducción de GSSG a GSH utilizando NADPH como cofactor [142].



### Defensa no enzimática

El **glutatión** es un antioxidante no enzimático importante en los organismos aeróbicos, esencial en mamíferos, que se le reconoce por proteger las células contra los radicales libres, concretamente  $\text{H}_2\text{O}_2$ , y otros prooxidantes. Además, también se ha visto implicado en otros muchos procesos celulares esenciales como las defensas antioxidantes; como cofactor de enzimas antioxidantes y desintoxicantes como las glutatión peroxidasas, las glutatión S-transferasas y las glioxalidas; desintoxicación de xenobióticos, protección de las proteínas tioles de la oxidación y el entrecruzamiento, degradación de proteínas con enlaces disulfuro, el plegamiento de proteínas, la protección de los tioles de proteínas de la oxidación y la reticulación, la regulación y proliferación del ciclo celular, el metabolismo del ascorbato, la apoptosis y la ferroptosis [143].

El **sistema de tiorredoxina** (Trx) está compuesto por NADPH, tiorredoxina reductasa (TrxR) y tiorredoxina. En las células de mamífero poseen dos sistemas Trx, el sistema Trx1 citosólico y el sistema Trx2 mitocondrial y en ambos TrxR son selenoenzimas de alto peso molecular, junto con el sistema glutatión-glutaredoxina (Grx) (NADPH, glutatión reductasa, GSH y Grx) controlan el entorno redox celular. Trx es un sistema antioxidante clave en la defensa contra el estrés oxidativo a través de su actividad disulfuro reductasa que regula el equilibrio de proteína ditiol/disulfuro. El sistema Trx proporciona electrones a las peroxidasas dependientes de tiol (peroxiredoxinas) para eliminar especies reactivas de oxígeno y nitrógeno con una velocidad de reacción rápida. Las funciones antioxidantes de Trx también se muestran por su participación en la reparación del ADN y las proteínas al reducir la ribonucleótido reductasa, las metionina sulfóxido reductasas y la regulación de la actividad de muchos factores de transcripción sensibles a redox. Además, los sistemas Trx desempeñan funciones fundamentales en la

respuesta inmunitaria, la infección viral y la muerte celular mediante la interacción con la proteína que interactúa con la tiorredoxina [144].

### MECANISMOS EXÓGENOS

Los antioxidantes exógenos presentes en los alimentos naturales, como las vitaminas A, E y C,  $\beta$ -carotenos, polifenoles, ácido tióico y coenzima Q, entre otros, son cruciales para la regulación de las ROS en el organismo. Estos antioxidantes actúan previniendo la producción excesiva de ROS y regulando sus niveles tras el daño celular, mitigando los efectos del estrés oxidativo [145].

La **vitamina A**, en sus formas bioactivas (retinol, retinal y ácido retinoico), participa en procesos biológicos esenciales como la visión, reproducción, crecimiento y mantenimiento de tejidos epiteliales. Los carotenoides como el  $\beta$ -caroteno, precursores de la vitamina A, se convierten en retinal en el organismo y neutralizan radicales libres, como el  $O_2^{\cdot-}$ , contribuyendo a la defensa antioxidante no enzimática. El licopeno y el  $\beta$ -caroteno han demostrado reducir el daño oxidativo del ADN y mejorar la inmunidad al incrementar los linfocitos sanguíneos [146].

La **vitamina E**, especialmente en su forma  $\alpha$ -tocoferol, es un antioxidante liposoluble predominante, cuya capacidad de eliminación de radicales libres es la mayor entre sus isoformas ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - y  $\delta$ -tocoferoles). Los tocoferoles se transportan mediante lipoproteínas o proteínas fijadoras de lípidos, como la proteína de transferencia de  $\alpha$ -tocoferol ( $\alpha$ -TTP), que tiene una alta afinidad por el  $\alpha$ -tocoferol. El  $\alpha$ -tocoferol protege las membranas celulares previniendo la peroxidación lipídica al reaccionar con radicales peroxilo, formando radicales tocoferoxilo, que luego se regeneran mediante ascorbato, glutatión reducido, urato o ubiquinol. Además, la vitamina E participa en la actividad de diversas enzimas facilitando su translocación a la membrana o afectando su activación transcripcional, y regula la expresión de genes involucrados en apoptosis, crecimiento celular e inflamación [146].

La **vitamina C**, un antioxidante hidrosoluble, actúa principalmente como donante de electrones, esencial para la hidroxilación de residuos de prolina y lisina en el colágeno, fortaleciendo el tejido conectivo y facilitando la cicatrización de heridas. Se encuentra en altas concentraciones en frutas y verduras como cítricos, tomate, fresas, pimientos y verduras de hojas verdes. Su solubilidad en agua le permite reaccionar fácilmente con



radicales libres en el plasma y líquidos extracelulares, disminuyendo el estrés oxidativo [146].

Los **polifenoles**, también son conocidos como potentes antioxidantes, se encuentran en diversos alimentos como frutas y verduras. Se dividen en flavonoides y no flavonoides; entre los flavonoides se incluyen las antocianinas, el epigallocatequina galato y la curcumina, mientras que un ejemplo de no flavonoide es el resveratrol. Debido a sus efectos sobre el estrés oxidativo, se han explorado su potencial en el tratamiento de enfermedades como el MAFLD, las enfermedades inflamatorias del intestino y otras condiciones relacionadas con el estrés oxidativo y la inflamación [147].

### 5.3 RELACIÓN ENTRE ESPECIES REACTIVAS Y LA OBESIDAD Y COMORBILIDADES ASOCIADAS

El estrés oxidativo es importante en la fisiopatología de la obesidad, alterando factores reguladores de la actividad mitocondrial, modificando la concentración de mediadores de la inflamación, promoviendo la lipogénesis, estimulando la diferenciación de preadipocitos a adipocitos maduros y regulando el apetito [148]. Además, juega un papel muy importante en el desarrollo de comorbilidades de ésta [149]. El estrés oxidativo aumenta progresivamente en personas con sobrepeso y obesidad en comparación con aquellas con peso normal. En concreto, se ha observado como un incremento gradual en la producción de ROS a medida que aumenta el IMC [150]. Además, los individuos obesos muestran niveles plasmáticos más elevados de MDA en comparación con los individuos de peso normal. Para contrarrestar este estrés oxidativo, las actividades de CAT, SOD, GPx y GRd se incrementan en las células mononucleares de sangre periférica (PBMCs, del inglés *peripheral blood mononuclear cells*), lo cual sugiere un mecanismo compensatorio frente al estímulo prooxidativo crónico. Específicamente, se han encontrado niveles más altos de la proteína catalasa en PBMCs de individuos obesos, mientras que la actividad de la reductasa de glutatión es mayor tanto en personas obesas como con sobrepeso en comparación con aquellas de peso normal [150].

El SMet también se ha vinculado a un aumento del estrés oxidativo, independientemente del género y considerando un IMC en el rango de obesidad. Se ha

observado que los pacientes con SMet tienen menores actividades de enzimas antioxidantes en plasma y niveles más altos de marcadores de daño oxidativo, principalmente peroxidación lipídica, en comparación con pacientes sanos [151]. Concretamente, un estudio previo de nuestro grupo de investigación muestra como hay mayores niveles de MDA plasmático en participantes obesos con SMet en comparación con aquellos sin SMet. Además, la actividad de la SOD disminuye tanto en hombres como en mujeres con SMet, mientras que la actividad de la mieloperoxidasa (MPO), enzima prooxidante que produce principalmente ácido hipocloroso, es mayor en sujetos masculinos con SMet. Por otro lado, a nivel de PBMCs, las actividades y los niveles de proteína de catalasa CAT y GRd son significativamente más altos en sujetos con SMet en ambos géneros [152].

El estrés oxidativo juega un papel crucial en el MAFLD, iniciando la peroxidación lipídica mediante la sobreproducción de ROS que daña las membranas celulares, proteínas clave para la función celular y promueve la oxidación de ácidos nucleicos. La acumulación de ácidos grasos saturados (AGS) estimula además la  $\beta$ -oxidación, aumentando la producción de ROS en la cadena respiratoria mitocondrial y exacerbando el estrés oxidativo, lo que daña las células y contribuyendo con la disfunción celular. A medida que incrementa el IFC, también lo hacen los marcadores de estrés oxidativo. De hecho, se ha visto como los participantes con un IFC alto mostraron niveles más altos de marcadores de daño oxidativo (MDA) y actividades enzimáticas antioxidantes plasmáticas (CAT, SOD), sin verse alterados los niveles de carbonilo de proteínas [153].

El estrés oxidativo desencadena la progresión de la ERC al alterar el equilibrio redox del riñón. Las ROS regulan fisiológicamente la función renal, haciendo al riñón especialmente susceptible a desequilibrios redox y estrés oxidativo. Este proceso puede afectar tanto la corteza como la médula renal, provocando desde alteraciones en el flujo sanguíneo renal por retención de sodio/líquido hasta inflamación, cambios fibróticos y aparición de proteinuria. En la ERC, se observa un aumento continuo de marcadores de estrés oxidativo como el superóxido mitocondrial, LDL oxidado, homocisteína, y una deficiencia de enzimas antioxidantes como SOD y GSH, correlacionándose con la progresión de la enfermedad. Además, toxinas urémicas, F<sub>2</sub>-isoprostanos y MDA también aumentan con el deterioro de la función renal [154].

## 6. RESPUESTA INFLAMATORIA

---

El propósito de una respuesta inflamatoria es proteger el cuerpo de las agresiones químicas, biológicas o físicas mediante una serie de fenómenos celulares, vasculares y moleculares [155]. Esta respuesta trata de eliminar o inhibir al agente causante del daño o infección celular para que el organismo pueda recuperar la funcionalidad del tejido u órgano afectado [156]. Se trata de una respuesta inmediata e inespecífica que ayuda a desarrollar una respuesta específica, es decir, que el proceso se concentra en una región específica del organismo, aunque puede haber excepciones, como en el caso de la inflamación sistémica. Durante esta respuesta, caracterizada por el movimiento de células inmunitarias hacia el foco inflamatorio, se produce una vasodilatación y se incrementa la permeabilidad de la zona con el fin de facilitar la llegada y transferencia de leucocitos y otras moléculas involucradas en el proceso [157].

Tradicionalmente se han considerado cuatro signos de la inflamación: calor, rubor, tumor y dolor. El rubor y el calor son el resultado de las alteraciones vasculares que provocan una acumulación de sangre en el foco, como veremos más tarde. El edema y la acumulación de células inmunes causan el tumor, mientras que el dolor es el resultado de la acción de ciertos mediadores sobre las terminaciones nerviosas del dolor [158].

Se postula que la respuesta inflamatoria se lleva a cabo de la siguiente forma: En presencia de determinados estímulos se produce la **síntesis y/o liberación de los mediadores**, moléculas de una sencillez estructural como citoquinas proinflamatorias, aminas (serotonina o histamina), óxido nítrico, heparina, enzimas proteolíticas y sustancias lipídicas sintetizadas a partir del ácido araquidónico como los leucotrienos, catalizados por la lipooxigenasa, y los tromboxanos y prostaglandinas, catalizados por la ciclooxigenasa. Cuando los mediadores son liberados al torrente sanguíneo, el **efecto de los mediadores** produce un aumento de la permeabilidad vascular y efectos quimiotácticos que facilitan la llegada al foco inflamatorio de células y moléculas inmunitarias. Una vez estas llegan **al foco inflamatorio**, los mediadores provocan primero cambios vasculares que permiten el paso de los mediadores del torrente sanguíneo al sitio inflamado, causando edema. Luego, estos cambios facilitan la llegada de células inmunitarias como linfocitos, basófilos, eosinófilos, neutrófilos y macrófagos desde la sangre y los tejidos cercanos. La propia respuesta inflamatoria se regula por sí

misma, es decir, tiene asociada una serie de mecanismos inhibidores capaces de equilibrar o/y finalizar el proceso mediante la síntesis de resolvinas, tromboxanos y leucotrienos a partir de AGP  $\omega$ -3 provenientes de los fosfolípidos de membrana [155,159].

## 6.1 RESPUESTA INFLAMATORIA AGUDA Y CRÓNICA

La respuesta inflamatoria puede clasificarse en aguda o crónica en función de su persistencia.

### AGUDA

La respuesta inflamatoria aguda puede ser desencadenada con rapidez por una infección o daño en los tejidos caracterizada por permeabilidad vascular, edema y una respuesta celular dominada por neutrófilos en el área afectada.

El reconocimiento de los patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs, del inglés *pathogen-associated molecular patterns*) por receptores del sistema inmunológico, como los receptores tipo Toll (TLR, del inglés *Toll-like receptors*), promueve la producción de citoquinas proinflamatorias. Esta respuesta inicia la inflamación y la liberación adicional de patrones moleculares asociados al daño (DAMPs, del inglés *damage-associated molecular patterns*) con la activación de cascadas de señalización que inducen la producción de mediadores inflamatorios como citoquinas y quimiocinas y de células inmunitarias innatas [160]. Los productos liberados por los macrófagos y los mastocitos generan efectos quimiotácticos que atraen a leucocitos y neutrófilos al sitio de inflamación. Al llegar, los neutrófilos se activan al interactuar con los patógenos o por las citoquinas liberadas por los macrófagos. Una vez activados, los neutrófilos liberan proteasas, enzimas prooxidantes como la MPO y la NADPH oxidasa, así como ROS y RNS [161].

En función de sus características bioquímicas, los mediadores que se liberan como resultado de la respuesta inflamatoria aguda se clasifican en: enzimas proteolíticas, fragmentos del sistema del complemento, citoquinas, quimioquinas, péptidos vasoactivos, aminas vasoactivas y mediadores lipídicos [162].

Generalmente, la respuesta inflamatoria aguda concluye con una resolución completa, regenerando el tejido y restaurando la funcionalidad de la zona afectada. Sin

embargo, no siempre se logra esta resolución completa; en algunos casos si la inflamación no se resuelve ni se repara el tejido, la respuesta inflamatoria aguda puede evolucionar hacia una inflamación crónica [163].

### CRÓNICA

La inflamación crónica, también conocida como inflamación de bajo grado o inflamación subclínica, se debe a la falta de resolución del proceso inflamatorio agudo o por infecciones perseverantes. Esta situación se caracteriza por niveles elevados de proteína C reactiva (PCR), factor de necrosis tumoral (TNF $\alpha$ ), interleuquina (IL) -6 e IL-1 $\beta$  en circulación, junto con la presencia de macrófagos infiltrados en los tejidos, acompañados en menor medida por linfocitos T citotóxicos [164].

La inflamación crónica se ha asociado con diversas enfermedades metabólicas como obesidad, SMet, DMT2, MAFLD, e incluso en casos de cáncer [165,166]. De hecho, las personas con obesidad, al tener una mayor cantidad de tejido adiposo, las hace más propensas a experimentar lipoperoxidación, proceso que conlleva un aumento de especies reactivas [167]. Niveles elevados de ROS y RNS pueden aumentar la expresión y secreción de citoquinas proinflamatorias como TNF $\alpha$ , IL-6 e IL-1 $\beta$  mientras que reducen los niveles de citoquinas y adipoquinas antiinflamatorias como IL-10 y leptina [167–169]. La inflamación crónica asociada con trastornos metabólicos depende de la activación de receptores de reconocimiento de patrones presentes en macrófagos y otros tipos celulares. Estos receptores, como se ha explicado anteriormente, pueden detectar los PAMPs y los DAMPs [160].

## 6.2. RESOLUCIÓN DE LA INFLAMACIÓN

Para evitar que una inflamación aguda se convierta en una inflamación crónica constante, es crucial finalizar la respuesta inflamatoria para prevenir un daño tisular adicional. La resolución de la inflamación es un proceso que implica la producción regulada de varios mediadores específicos. Estos mediadores pro-resolutivos son las resolvinas, protectinas y maresinas, los cuales fomentan respuestas innatas autolimitadas, mejoran la eliminación microbiana innata y protegen los órganos [170].

Finalmente, los leucocitos circulantes dejan de detectar los gradientes de quimiocinas y no son reclutados hacia los sitios de lesión. Si este proceso se desregula, puede resultar en una inflamación crónica incontrolada [171].

Los mecanismos de resolución de la inflamación que permiten recuperar la homeostasis tisular incluyen: la reducción o cese de la infiltración de neutrófilos agotados en los tejidos, la contrarregulación de quimiocinas y citoquinas, la transformación de macrófagos de un estado clásicamente activado a uno alternativamente activado, y el inicio del proceso de curación [172,173]

### 6.3. MEDIADORES DE LA INFLAMACIÓN

La inflamación se regula a través de diversos factores solubles liberados por células inmunitarias, que actúan en efectos tanto paracrinicos como autocrinos, destacando entre ellos las citoquinas. Estas últimas son esenciales como mediadores clave de la respuesta inflamatoria. Se caracterizan por ser moléculas proteicas de bajo peso molecular, solubles, con una vida media muy corta, y suelen ser sintetizadas por el sistema inmunitario en respuesta a estímulos perjudiciales para el organismo. El término citoquina abarca una diversidad de mediadores que incluyen interleuquinas, quimioquinas, factores de crecimiento, factores transformantes e interferones. Además de estos mediadores proteicos, también participan diversos factores no proteicos, principalmente derivados de ácidos grasos como los eicosanoides [174]. En la presente Tesis Doctoral se han determinado las siguientes citoquinas y otros marcadores de inflamación.

#### CITOQUINAS

**TNF $\alpha$**  se origina inicialmente como una proteína transmembrana en los adipocitos. Es producida por linfocitos T, linfocitos *natural killer* (NK), mastocitos, monocitos y macrófagos. Esta citoquina multipotente también desencadena respuestas inflamatorias y autoinmunes, reclutando células inmunes y activando vías transcripcionales que promueven el estrés oxidativo y la inflamación, facilitando así la degeneración celular y la producción de prostaglandinas. Además se ha visto como desempeña un papel crucial en la inducción de la resistencia a la insulina y la patogénesis de la DMT2 y tiene la

capacidad de estimular la síntesis de IL-6, la apoptosis y la síntesis de proteínas de fase aguda en el hígado [174,175].

**IL-6** presenta con un papel importante en la estimulación de las células B, la inducción de proteínas hepáticas de fase aguda, y también tiene funciones metabólicas y neurotróficas. A pesar de que los efectos proinflamatorios de la IL-6 son bien conocidos, también actúa como una molécula antiinflamatoria y protectora en muchas situaciones. La IL-6 es esencial para la inmunidad innata y adaptativa, es necesaria para la eliminación eficiente de patógenos, y tiene un importante papel fisiológico en los humanos, regulando la respuesta de fase aguda, la hematopoyesis, la tasa metabólica y la homeostasis de lípidos [176,177]. Producida tras el ejercicio agudo por fagocitos mononucleares, linfocitos T y células musculares, la IL-6 fomenta la maduración de los linfocitos B y actúa como un factor de crecimiento [178]. Además, puede inducir la síntesis de IL-2 e IL-10, y tiene la capacidad de inhibir la producción de TNF $\alpha$  [179].

IL-1, que incluye IL-1 $\alpha$  e **IL-1 $\beta$** , ejerce fuertes actividades proinflamatorias y desempeña un papel crucial en las respuestas del huésped a estímulos nocivos tanto exógenos y endógenos. Estas actividades proinflamatorias están reguladas por varios inhibidores endógenos, como el antagonista del receptor de IL-1 (**IL-1ra**), el receptor de IL-1 tipo II soluble y unido a la membrana, y la proteína accesoria del receptor de IL-1 [180]. IL-1 $\beta$ , en particular, se libera tempranamente durante la inflamación, iniciando una respuesta inflamatoria localizada que puede progresar a inflamación sistémica y fiebre. Además de su papel en la fiebre, IL-1 $\beta$  está implicada en diversos sistemas orgánicos como el vascular en angiogénesis tumoral, y en enfermedades como artritis reumatoide, osteoartritis y diabetes, donde el bloqueo de IL-1 se considera una opción terapéutica efectiva [181]. **IL-18** es una citoquina proinflamatoria que pertenece a la familia de las IL-1. Es secretada principalmente por macrófagos y células dendríticas tras la activación por caspasa-1. IL-18 promueve la producción de interferón gamma (IFN- $\gamma$ ), especialmente en combinación con IL-12, y desempeña un papel crucial en la respuesta inmune tipo 1. Además, IL-18 estimula las células NK, células NKT CD4<sup>+</sup> y células Th1 establecidas para producir otras citoquinas y mediadores químicos, como IL-3, IL-9, IL-13, IL-4 e histamina. Está implicada en procesos fisiológicos como la inflamación, defensa contra infecciones y alergias innatas [182].

**IL-15** está implicada en enfermedades autoinmunes, actúa como un potente mediador proinflamatorio induciendo la expresión de TNF $\alpha$ , IL-1 e IFN- $\gamma$ . Además, se ha visto como un potente factor de crecimiento, un quimioatrayente para las células T de memoria activadas en sitios de inflamación, regulador en la reparación de tejidos y la localización de las células B, modulador la inflamación y activador las células NK [183,184].

**IFN- $\gamma$**  es crucial en la regulación de la respuesta inmune, especialmente en la inmunidad contra infecciones virales y tumores. Es producido principalmente por células T y células NK. IFN- $\gamma$  actúa modulando la actividad de macrófagos y mejorando la presentación de antígenos. En relación con la obesidad, el IFN- $\gamma$  puede contribuir a la inflamación crónica de bajo grado, lo cual está asociado con resistencia a la insulina y otras complicaciones metabólicas [185].

El **factor transformante de crecimiento  $\beta$**  (TGF- $\beta$ ), sintetizado por linfocitos T, plaquetas y monocitos, tiene la capacidad de inhibir tanto la proliferación como la activación de los linfocitos T tanto reguladores/inhibidores como proinflamatorias, dependiendo de si están presentes citoquinas proinflamatorias como la IL-6. Este comprende una gran cantidad de proteínas secretadas y estructuralmente relacionadas con múltiples funciones en los patrones de desarrollo, la diferenciación de tejidos y el mantenimiento de la homeostasis [186,187].

La proteína quimioatrayente de monocitos 1 (**MCP-1**) tiene un papel vital en el proceso de inflamación, donde atrae o mejora la expresión de otros factores y células inflamatorias. Conduce al avance de muchos trastornos a través del mecanismo principal de migración e infiltración de células inflamatorias como monocitos/macrófagos y otras citoquinas hacia el sitio de inflamación [188].

La **irisina** está implicada en el control de la obesidad y la mejora de la homeostasis glucémica al actuar sobre las células del tejido adiposo blanco y aumentar el consumo total de energía, por lo que se la reconoce como un buen marcador de resistencia a la insulina y enfermedad metabólica. Además, también se la ha relacionada como un marcador de ejercicio físico ya que es secretada por las células musculares después del ejercicio. En el caso de personas obesas con enfermedades metabólicas como MAFLD y



DMT2, los niveles de irisina se han visto elevados debido a la secreción de esta por el tejido adiposo blanco [189,190].

La **resistina** se considera un importante mediador proinflamatorio y puede desempeñar un papel en la instauración de la resistencia a la insulina a través de acciones antagónicas a las de la insulina [191]. También se ha informado que la expresión de resistina en PBMCs es una fuente importante de esta hormona y su expresión es inducida por citoquinas proinflamatorias (TNF $\alpha$ , IL-6 e IL-1) [192].

La **leptina** es una hormona producida principalmente por el tejido adiposo. Su principal función es regular el balance energético al inhibir el hambre, lo que en última instancia ayuda a regular el peso corporal [193]. Además, influye en varias funciones fisiológicas, incluyendo la reproducción, la inmunidad y la angiogénesis. En individuos obesos, aunque los niveles de leptina en sangre son elevados debido a la mayor cantidad de tejido adiposo, la sensibilidad a la leptina puede estar reducida, lo que se conoce como resistencia a la leptina. Esta resistencia impide que la leptina ejerza su efecto normal de inhibición del apetito, contribuyendo al mantenimiento o incremento del peso corporal [194].

La **omentina** es una adipocina secretada principalmente por el tejido adiposo visceral, con funciones sensibilizadoras a la insulina, antiinflamatorias y antipérdida ósea, siendo influenciada por factores hormonales y dietéticos. La reducción de sus niveles en obesos contribuye al desarrollo de enfermedades cardiometabólicas, de hecho personas con obesidad, resistencia a la insulina y DMT2 poseen niveles reducidos de esta adipocina, mientras que en ciertos cánceres sus niveles son elevados [195,196].

La **quemerina** es una quimiocina involucrada en la inmunomodulación y procesos metabólicos, principalmente en el tejido adiposo y el hígado. Contribuye a la diferenciación de preadipocitos a adipocitos y a la angiogénesis. Niveles elevados de quemerina están asociados con trastornos del metabolismo, resistencia a la insulina y enfermedades cardiometabólicas [197,198].

#### OTROS MEDIADORES DE LA INFLAMACIÓN

La lipocalina asociada a la gelatinasa de neutrófilos (**NGAL**) es una proteína secretada principalmente por neutrófilos activados, pero también por otras células

como macrófagos, células dendríticas y diversos tejidos epiteliales. Su producción aumenta en respuesta a la inflamación y el daño tisular, particularmente en el contexto de lesiones renales agudas. Los niveles de NGAL se incrementan en estados inflamatorios crónicos, como los observados en la obesidad, y están asociados al desarrollo de resistencia a la insulina, DMT2 y otras complicaciones metabólicas [199].

La **XOD** es una enzima prooxidante principalmente hepática que cataliza la oxidación de hipoxantina a xantina y posteriormente a ácido úrico. Durante el daño hepático, este ácido úrico se libera a la circulación y puede ser considerado un marcador de estado proinflamatorio [200].

La citoqueratina 18 (**CK-18**) es una proteína de filamento intermedio específica de los hepatocitos. Su liberación en la circulación ocurre cuando estos hepatocitos sufren daño, lo que la hace un biomarcador valioso para la evaluación del avance de MAFLD y el daño hepático [201].

La **zonulina** participa en la inmunidad innata intestinal y que está regulada positivamente en varias enfermedades autoinmunes, incluida la enfermedad celíaca y la DMT1 [202]. Además, se ha descrito como un marcador de permeabilidad intestinal, que aumenta en la obesidad y en la MAFLD con un fuerte aumento en pacientes con MASH [203,204].

La **endotoxina**, o lipopolisacárido, es una molécula con potente actividad proinflamatoria, constituyente de la membrana celular externa de bacterias gram-negativas. En el contexto de MAFLD, se ha encontrado que los niveles de endotoxinas están elevados en la sangre y el hígado, lo que sugiere un papel significativo en la inflamación y progresión de esta condición hepática. La endotoxina contribuye a la inflamación crónica y puede agravar la disfunción hepática asociada con MAFLD [205].

La resolvina D1 (**RvD1**), derivada del ácido docosahexaenoico, es un mediador lipídico con efectos antiinflamatorios e inmunorreguladores. Producida por leucocitos y presente en el hígado. RvD1 previene la migración de neutrófilos, mejora la eferocitosis de macrófagos y regula los factores inflamatorios. También inhibe la polarización de macrófagos M1 y promueve la activación de macrófagos M2. Estas propiedades la hacen

crucial en la resolución de inflamación en enfermedades hepáticas como MAFLD, fibrosis hepática y cáncer de hígado, ofreciendo un gran potencial terapéutico [206].

La **MPO** es una peroxidasa que contiene hemo, expresada principalmente en neutrófilos y liberada durante el proceso de desgranulación en presencia de inflamación [207]. Se ha demostrado que la MPO actúa como un mediador local del daño tisular y la inflamación en diversas enfermedades inflamatorias. Específicamente, se considera un biomarcador de estado pro-inflamatorio y puede ser un buen indicador no invasivo para diferenciar la MASH de la simple esteatosis [208,209].

La **PCR** es una proteína de fase aguda cuya concentración aumenta en respuesta a inflamación o infección. Aunque se sintetiza principalmente en hepatocitos, también es producida por células del músculo liso, macrófagos, células endoteliales, linfocitos y adipocitos. La PCR desempeña un papel crucial en los procesos inflamatorios y en la respuesta a infecciones, incluyendo la producción de citoquinas, en particular IL-6 y TNF $\alpha$  [210].

#### 6.4. RELACIÓN ENTRE INFLAMACIÓN Y LA OBESIDAD Y COMORBILIDADES ASOCIADAS

La obesidad se asocia con inflamación crónica de bajo grado en el tejido adiposo, donde las células inmunitarias, especialmente los macrófagos, liberan citoquinas proinflamatorias como TNF $\alpha$  e IL-6. Estas citoquinas provocan inflamación sistémica, que contribuye a la resistencia a la insulina y al desarrollo de DM2, enfermedades cardiovasculares y otros problemas metabólicos. Así, la inflamación juega un papel central en la conexión entre la obesidad y sus comorbilidades [211].

El SMet está estrechamente relacionado con un aumento significativo de mediadores inflamatorios en el plasma, como la IL-6 y el TNF $\alpha$ . Un estudio previo del grupo de investigación mostró que en pacientes obesos con SMet, los niveles circulantes de TNF $\alpha$  e IL-6 eran considerablemente más altos en comparación con aquellos pacientes obesos que no presentaban SMet. Este incremento en los niveles de citoquinas proinflamatorias puede derivarse de la expansión del tejido adiposo, caracterizada por la hipertrofia y la hiperplasia de los adipocitos. La expansión del tejido

adiposo conduce a la producción de adipocinas, las cuales fomentan un estado inflamatorio que contribuye al desarrollo y progresión del síndrome metabólico [152].

La inflamación es un componente clave en la progresión de MAFLD. El sistema inmunitario hepático juega un papel central en este proceso inflamatorio. En MAFLD, la acumulación de grasa en el hígado provoca una respuesta inflamatoria que involucra la activación de diversas células inmunitarias, como macrófagos y células T, las cuales liberan citoquinas proinflamatorias. Estas citoquinas, a su vez, promueven la fibrogénesis hepática, un proceso que puede llevar a la progresión de la enfermedad hacia formas más severas, como MASH y la fibrosis hepática. La inflamación crónica resultante del exceso de grasa hepática no solo daña el hígado, sino que también está asociada con un mayor riesgo de desarrollar otras comorbilidades metabólicas, subrayando la importancia de abordar tanto la inflamación como el manejo de la grasa hepática en el tratamiento de MAFLD [212]. Entre los marcadores de inflamación que se han relacionado con MAFLD, destacar como los pacientes con un IFC alto, se observan niveles elevados de IL-6, CK-18 e irisina, y niveles reducidos de RvD1 [153].

La inflamación juega un papel fundamental en la progresión de la lesión renal aguda a la ERC. La respuesta inflamatoria en la lesión renal aguda (AKI, del inglés *acute kidney injury*) involucra la activación y acumulación de células inmunitarias en el riñón, lo que contribuye a un daño renal sostenido. Las citoquinas proinflamatorias liberadas durante este proceso promueven la fibrosis renal y la pérdida de la función renal. En pacientes obesos, esta inflamación exacerbada puede acelerar la transición de AKI a CKD, vinculando directamente la inflamación con la progresión de la enfermedad renal. La obesidad, al inducir un estado inflamatorio crónico, no solo afecta la homeostasis metabólica, sino que también aumenta el riesgo y la gravedad de CKD a través de mecanismos inflamatorios similares [213].

## 7. ESTILOS DE VIDA

---

### 7.1. DIETA MEDITERRANEA Y ULTRAPROCESADOS

El proceso de globalización ha provocado cambios drásticos en los patrones dietéticos en todo el mundo [214], generalizando las dietas occidentales y promoviendo una alimentación poco saludable. La demanda de alimentos con mayor vida útil y palatabilidad ha llevado a la incorporación de ingredientes naturales y artificiales que afectan negativamente la calidad nutricional de los alimentos [215]. Este fenómeno ha incrementado el consumo de alimentos ultraprocesados (UPF, del inglés *ultraprocessed food*), que actualmente representan entre el 50% y el 60% del consumo calórico diario reemplazando a los alimentos frescos y mínimamente procesados en muchos países de ingresos medios y altos [216].

El sistema de clasificación NOVA es ampliamente considerado como el más preciso y práctico para categorizar alimentos según su grado de procesamiento. Según el grado y el uso del procesamiento industrial, NOVA clasifica los alimentos y productos alimenticios en cuatro categorías: alimentos no procesados o mínimamente procesados, alimentos culinarios procesados, alimentos procesados y UPF. Los UPF se definen como alimentos que han sido sometidos a un procesamiento industrial significativo y están compuestos principalmente de sustancias utilizadas en aplicaciones industriales [217]. Contienen pocos o ningún alimento natural, y suelen incluir aditivos para prolongar su vida útil, lo que los hace muy apetecibles y rentables [218]. Ejemplos de UPF incluyen alimentos listos para el consumo como refrigerios envasados, refrescos, dulces, helados, panes y bollos envasados, margarinas, galletas, pasteles y cereales para el desayuno [219]. Estos alimentos tienen un perfil nutricional deficiente, siendo ricos en calorías, grasas saturadas, sal y azúcares, y bajos en fibra y minerales, lo que resulta en una alta carga glucémica y menos saciantes [220,221].

El consumo excesivo de UPF se ha vinculado con numerosos efectos adversos para la salud, incluidas las enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) [222]. Un aumento del 10% en la ingesta de UPF se asocia con un 15% más de riesgo de mortalidad por todas las causas y un 13% más de riesgo de DMT2 y ECV [223,224]. Además, se ha demostrado que una elevada ingesta de UPF está relacionada con dislipidemia,

alteraciones en el estado redox, alteración de la microbiota intestinal y alta respuesta inflamatoria y marcadores relacionados con enfermedades hepáticas y metabólicas, como MAFLD [225–227]. La baja ingesta de fibra, nutriente generalmente eliminado durante el procesado de los alimentos, también se ha relacionado con cambios en la composición de la microbiota intestinal, la diversidad y la epigenética, lo que provoca disbiosis intestinal [228].

En contraste, los patrones dietéticos basados en el consumo de plantas que enfatiza el consumo de verduras, frutas, cereales integrales, legumbres, nueces y semillas, al tiempo que minimizan el consumo de UPFs y alimentos de origen animal con alto contenido de grasas saturadas y colesterol, no solo previenen el sobrepeso y la obesidad, sino que también reducen los factores de riesgo cardiovascular como la hipertensión y la diabetes [26]. La mejor estrategia para prevenir el SMet y sus complicaciones es adoptar una dieta equilibrada y un estilo de vida saludable [229]. La adherencia a la MedDiet se asocia con una mejora significativa en la prevención y el tratamiento de la MAFLD, siendo recomendada por diversas organizaciones clínicas [230–232].

La MedDiet se define como un patrón dietético con un alto consumo de cereales integrales, frutas, legumbres, verduras y frutos secos. Por el contrario, aboga por un consumo mínimo de carne y aves, una ingesta moderada de lácteos y un consumo moderado de alcohol, especialmente cuando se consume vino tinto con las comidas [233]. Una característica distintiva de la MedDiet es el uso predominante de aceite de oliva virgen extra (AOVE), conocido por sus propiedades beneficiosas para la salud, mientras que los AGS se mantienen al mínimo [233]. Este patrón dietético enfatiza una mayor ingesta de ácidos grasos monoinsaturados (AGM) y AGP  $\omega$ -3 y una disminución de los carbohidratos, especialmente los que se encuentran en dulces y productos refinados [234]. Su eficacia proviene de la combinación sinérgica de varios alimentos que poseen propiedades antioxidantes y antiinflamatorias, superando el impacto de cualquier nutriente o componente dietético individual [235]. En este sentido, varios estudios destacan el efecto protector de la MedDiet sobre los diferentes componentes del SMet [229,236], sin ser este atribuido a un nutriente en particular, sino a todo el patrón alimentario y el estilo de vida [237]. El papel protector del patrón de la MedDiet

deriva de la alta presencia de compuestos bioactivos como antioxidantes, ácidos grasos saludables, fibra y fitoesteroles que se encuentran principalmente en verduras, frutas, legumbres, AOVE, pescado, frutos secos, vino tinto, y probióticos derivados de alimentos fermentados [238,239].

La MedDiet tiene efectos positivos sobre el metabolismo, reduciendo la incidencia del SMet y sus componentes, especialmente gracias al consumo de AOVE con sus efectos antiinflamatorios y antioxidantes, así como los polifenoles quercetina y resveratrol. Además, al ser una dieta rica en nueces con propiedades antioxidantes, puede ayudar a reducir la carga de la MAFLD mediante la reducción de lípidos y la resistencia a la insulina hepática, y sus propiedades antiinflamatorias y antioxidantes. Se ha demostrado que una MedDiet enriquecida en plantas y baja en carne roja, combinada con actividad física, reduce el IFC y la puntuación de MAFLD [240].

## 7.2. ACTIVIDAD FÍSICA Y SEDENTARISMO

Las personas en todo el mundo se han vuelto cada vez más sedentarias a medida que los avances tecnológicos en los lugares de trabajo, el transporte, las comunicaciones y el entretenimiento doméstico han fomentado entornos que necesitan y alientan estar sentados durante mucho tiempo [241,242]. Numerosas evidencias han demostrado que el comportamiento sedentario, definido como cualquier comportamiento de vigilia caracterizado por un gasto de energía  $\leq 1,5$  equivalentes metabólicos (METs) mientras se está sentado, reclinado o acostado [243], aumenta significativamente el riesgo de padecer varias enfermedades no transmisibles importantes como ECV, DMT2 y cáncer, y de mortalidad general [244]. Se ha visto como una de las mejores formas de reducir el tiempo sedentario es dedicar más tiempo a la actividad física y al ejercicio [244,245].

La OMS define la actividad física como todo movimiento corporal producido por los músculos esqueléticos que requiere consumir energía. Debido a la problemática actual ha establecido un plan de acción mundial para concienciar a las personas de la vital importancia de la actividad física y animarlas ser más activas (**Figura 10**). A nivel mundial, existen diferencias notables por edad y género en los niveles de inactividad física. A partir de los 60 años los niveles de inactividad física aumentan tanto en hombres como en mujeres. Siendo en general las mujeres menos activas que los hombres [246].



**Figura 10.** Guía de la OMS sobre la actividad física y comportamiento sedentario.

La actividad física regular es uno de los componentes más importantes para un envejecimiento saludable [247]. El ejercicio aeróbico reduce el riesgo de ECV, mejora la tolerancia a la glucosa y la densidad mineral ósea, disminuye la inflamación y el estrés oxidativo, e incrementa la biogénesis mitocondrial y la síntesis de proteínas en el músculo esquelético [248]. La clave no radica tanto en el tipo de ejercicio aeróbico como en la frecuencia, duración y esfuerzo dedicado. Si bien, las actividades aeróbicas que incluyen ejercicios de intensidad moderada y vigorosa tienen una reducción más significativa en la mortalidad [249]. Por otro lado, el entrenamiento de fuerza implica el uso de resistencia para generar contracciones musculares, mejorando así la capacidad para producir fuerza muscular. Este tipo de entrenamiento no solo promueve la hipertrofia muscular, sino también la resistencia anaeróbica, aumenta la densidad ósea, reduce la resistencia a la insulina, mejora la movilidad, disminuye la incidencia de fragilidad y reduce la mortalidad por todas las causas [250,251].

Además, una actividad física de intensidad moderada y regular junto con un patrón dietético saludable y con restricción energética son estrategias clave para prevenir o mejorar los trastornos metabólicos [252,253].



### 7.3. SALUD MENTAL Y BIENESTAR

Si bien eslóganes como "no hay salud mental sin salud física" y "no hay salud física sin salud mental" están ganando popularidad, muchos profesionales y la población en general no son conscientes de la creciente evidencia que respalda cómo los estilos de vida saludables benefician tanto la salud física como la mental [254]. La modificación positiva de factores del estilo de vida es esencial para mejorar y mantener la salud en ambas dimensiones [254]. Altos niveles de actividad física, bajos niveles de sedentarismo y un sueño adecuado se han asociado con una mejor salud mental [255]. Además, existe una relación bidireccional entre la obesidad y la psicopatología, con la obesidad vinculada a trastornos psiquiátricos como la ansiedad, los trastornos del estado de ánimo y la esquizofrenia [256]. La pandemia de COVID-19 exacerbó problemas de salud mental debido al aislamiento, la pérdida de empleo y la interrupción de rutinas, lo que llevó a comportamientos poco saludables, como menor actividad física, dieta de baja calidad y mayor sedentarismo. Estos comportamientos se observaron especialmente entre personas con obesidad y condiciones mentales preexistentes [257].

La actividad física no solo mejora la cognición y la memoria, sino que también proporciona efectos antidepresivos. Reducir el tiempo sedentario es igualmente crucial, ya que está asociado con peor salud mental. Promover la actividad física regular y minimizar el comportamiento sedentario son fundamentales para un bienestar mental óptimo [258].

### 7.4. EDUCACIÓN Y CONSCIENCIA

La educación y la consciencia sobre la salud son fundamentales para la adopción de estilos de vida saludables. Las personas con mayor nivel educativo suelen tener mejor conocimiento sobre prácticas saludables, lo que conduce a ser más activas físicamente, tener una dieta de mejor calidad y ser menos sedentarias. Además, el nivel educativo influye en la capacidad de manejar enfermedades crónicas, como las cardiovasculares, lo que resalta la importancia de programas educativos en políticas de salud pública para promover estilos de vida saludables y reducir disparidades en salud [259]. Las disparidades en la diabetes también están documentadas entre los adultos con un nivel socioeconómico más bajo, especialmente aquellos con un bajo nivel educativo, que

exhiben una mayor prevalencia de diabetes y peores resultados relacionados con la diabetes en comparación con sus homólogos con mayor nivel educativo [260].

## 7.5. SUEÑO

Dormir es esencial tanto para la salud tanto física como la mental. Aun así, las alteraciones del sueño afectan entre el 30% y el 50% de la población mundial y se están convirtiendo en un problema de salud pública grave. Los trastornos del sueño y la mala calidad del sueño están asociados con una serie de enfermedades crónicas, incluidas la obesidad [261], la hipertensión [262], la diabetes [263] y la depresión [264]. La evidencia indica que los factores del estilo de vida, como reducir el tiempo de sedentarismo y aumentar el ejercicio, tienen un impacto significativo en la prevalencia de los problemas del sueño. El ejercicio regular, a diferencia del sedentarismo, proporciona numerosos beneficios para la salud y mejora la calidad del sueño [245].

# **HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**



## 1. HIPÓTESIS

---

A partir de los antecedentes expuestos y la situación actual de las patologías mencionadas, se plantea que una intervención intensiva sobre el estilo de vida, dirigida a la pérdida de peso y basada en el patrón de MedDiet hipocalórica es una aproximación sostenible y eficaz a largo plazo para la prevención y reversión del SMet y de la MAFLD. Además, se espera que los pacientes con SMet y/o MAFLD disminuyan el estado proinflamatorio asociado a la obesidad y experimenten una mejora en las funciones hepática y renal, que se ven alterada en estas patologías.

## 2. OBJETIVOS

---

El objetivo principal de la presente tesis doctoral es poner de manifiesto los efectos beneficiosos de una intervención nutricional basada en la dieta mediterránea hipocalórica y actividad física en pacientes con SMet y MAFLD analizando la evolución de las patologías, de estado proinflamatorio y de la función hepática y renal.

Este objetivo general se puede desglosar en los siguientes objetivos específicos:

1. Identificar el estado antioxidante y proinflamatorio mediante biomarcadores en pacientes con SMet, según la adherencia a la MedDiet.
2. Analizar cómo el consumo de UPF afecta el estado oxidativo e inflamatorio en plasma, neutrófilos y orina de adultos mayores con SMet.
3. Evaluar los efectos de una intervención nutricional y de estilo de vida durante 6 años sobre la reducción del IMC y sus marcadores oxidativos e inflamatorios en españoles mayores con SMet y alto riesgo de ECV.
4. Determinar la asociación de varios niveles de biomarcadores de estrés inflamatorio y oxidativo con el riesgo de ERC incidente después de un año de seguimiento en individuos de edad avanzada con sobrepeso/obesidad y SMS.
5. Analizar el estado antioxidante y proinflamatorio mediante biomarcadores plasmáticos, séricos y eritrocitarios en pacientes con NAFLD después una intervención en el estilo de vida según la adherencia a la MedDiet.

6. Evaluar si una intervención nutricional basada en una MedDiet hipocalórica combinada con la promoción de la actividad física, diseñada específicamente para pacientes con MAFLD, puede reducir el IFC y afectar la función renal.
7. Identificar los cambios en la microbiota de pacientes con MAFLD cuando, mediante una intervención de estilo de vida de 2 años basada en una MedDiet, reducen su IFC.

# MÉTODOS





# 1. DISEÑO DEL ESTUDIO PREDIMED-PLUS

## 1.1. DESCRIPCIÓN Y OBJETIVOS DEL ESTUDIO

El estudio PREDIMED (PREvención con Dieta MEDiterránea) se trata de un ensayo clínico nutricional para la prevención primaria de las enfermedades cardiovasculares (ECV) basado en una intervención nutricional [265]. Parte de la investigación de la presente Tesis Doctoral se ha llevado a cabo en el marco del estudio PREDIMED-Plus, una continuación de PREDIMED. Dicho estudio es un ensayo clínico aleatorizado, de grupos paralelos y multicéntrico, donde participan un total de 23 centros nacionales reclutadores (**Figura 11**, en rojo) repartidos por las siguientes comunidades autónomas: Andalucía, Castilla y León, Cataluña, Comunidad Foral de Navarra, Comunidad Valenciana, Comunidad de Madrid, Islas Baleares, Islas Canarias y País Vasco y 7 grupos de apoyo (**Figura 11**, en azul). El reclutamiento de los participantes se inició en septiembre de 2013 y finalizó en diciembre de 2016, con un total de 6.874 participantes. La intervención del estudio se realizó durante 6 años más un seguimiento medio de 2 años más para eventos clínicos. Este empezó en noviembre de 2013 y finalizará en diciembre de 2024.



**Figura 11.** Centros nacionales reclutadores (en rojo) y de apoyo (en azul) repartidos por la geografía nacional que participan en el estudio PREDIMED-Plus.

El objetivo principal del estudio se centra en evaluar y comparar los efectos de dos estrategias dietéticas distintas en la prevención primaria de ECV y la mejora de las comorbilidades asociadas en adultos que padecen de SMet y que poseen exceso de peso u obesidad. La primera estrategia se basa en una intervención intensiva sobre el estilo de vida, en el que se combina una dieta mediterránea tradicional junto con una restricción energética, promoción de la actividad física y tratamiento conductual, frente a un segundo grupo, un grupo control al que se le ofrece una intervención con dieta mediterránea sin restricciones energéticas y algún consejo para aumentar la actividad física. La dieta mediterránea tradicional asignada al grupo control ya se demostró efectiva en el ensayo previo ya mencionado, el estudio PREDIMED [266,267]. El propósito del estudio es proporcionar un tratamiento efectivo que reduzca la morbilidad y mortalidad relacionadas con ECV. Para ello los objetivos específicos del proyecto PREDIMED-Plus incluyen por una parte la incidencia de enfermedades cardiovasculares, concretamente sobre el infarto de miocardio no mortal, el ictus no mortal y la muerte por causas cardiovasculares y por otra parte la pérdida de peso y su mantenimiento a largo plazo.

Los objetivos adicionales de este estudio implican la disminución del tamaño de la circunferencia de la cintura y de otras afecciones cardiovasculares (como los ataques cardíacos agudos, procedimientos de revascularización coronaria, insuficiencia cardíaca, enfermedad arterial periférica, coágulos de sangre en las venas, fibrilación auricular), así como la reducción de la incidencia de la DMT2 y sus complicaciones, cáncer, fracturas óseas, cálculos biliares, niveles elevados de ácido úrico y ataques de gota, enfermedades neurodegenerativas, trastornos psiquiátricos (depresión y trastornos alimentarios) y una disminución en la tasa de mortalidad general. También se busca evaluar resultados intermedios, como otros marcadores biológicos o la dieta consumida.

Aparte de los objetivos compartidos por todos los nodos del proyecto, uno de los principales objetivos de nuestro grupo es analizar cómo la intervención nutricional afecta a los marcadores de estrés oxidativo e inflamación.

## 1.2. RECLUTAMIENTO Y ALEATORIZACIÓN DE LOS PARTICIPANTES

Los criterios de inclusión que debían cumplir los voluntarios para ser seleccionados y formar parte del estudio PREDIMED-Plus fueron los siguientes [268]:

- Edad comprendida entre 55 y 75 años en hombres, y entre 60 y 75 años en mujeres.
- Presentar sobrepeso u obesidad, es decir, poseer un IMC de entre 27 y 40 kg/m<sup>2</sup>.
- Cumplir con al menos 3 de los criterios que conforman la patología de la SMet según especificó el *Joint Internim Statement* (JIS) en 2009 (Declaración conjunta entre la IDF y el AHA/NHLBI) [269]. Los participantes diabéticos no representarán más del 25% de la muestra final. Estos son los siguientes:
  - Obesidad abdominal: circunferencia de la cintura superior a 102 cm en hombres y 88 cm en mujeres.
  - Hiperglucemia en ayunas: valores iguales o superiores a 100 mg/dL o estar en tratamiento farmacológico hipoglucemiante.
  - Presión arterial sistólica superior a 130 mmHg o presión arterial diastólica superior a 80 mmHg o estar en tratamiento farmacológico antihipertensivo.
  - Colesterol HDL inferior a 40 mg/dL en hombres y 50 mg/dL en mujeres o estar en tratamiento farmacológico (ácido nicotínico).
- Consentimiento informado por escrito.

En el caso de que los candidatos que se presentaron padeciesen alguno de los siguientes puntos fueron excluidos de la participación al estudio PREDIMED-Plus [268]:

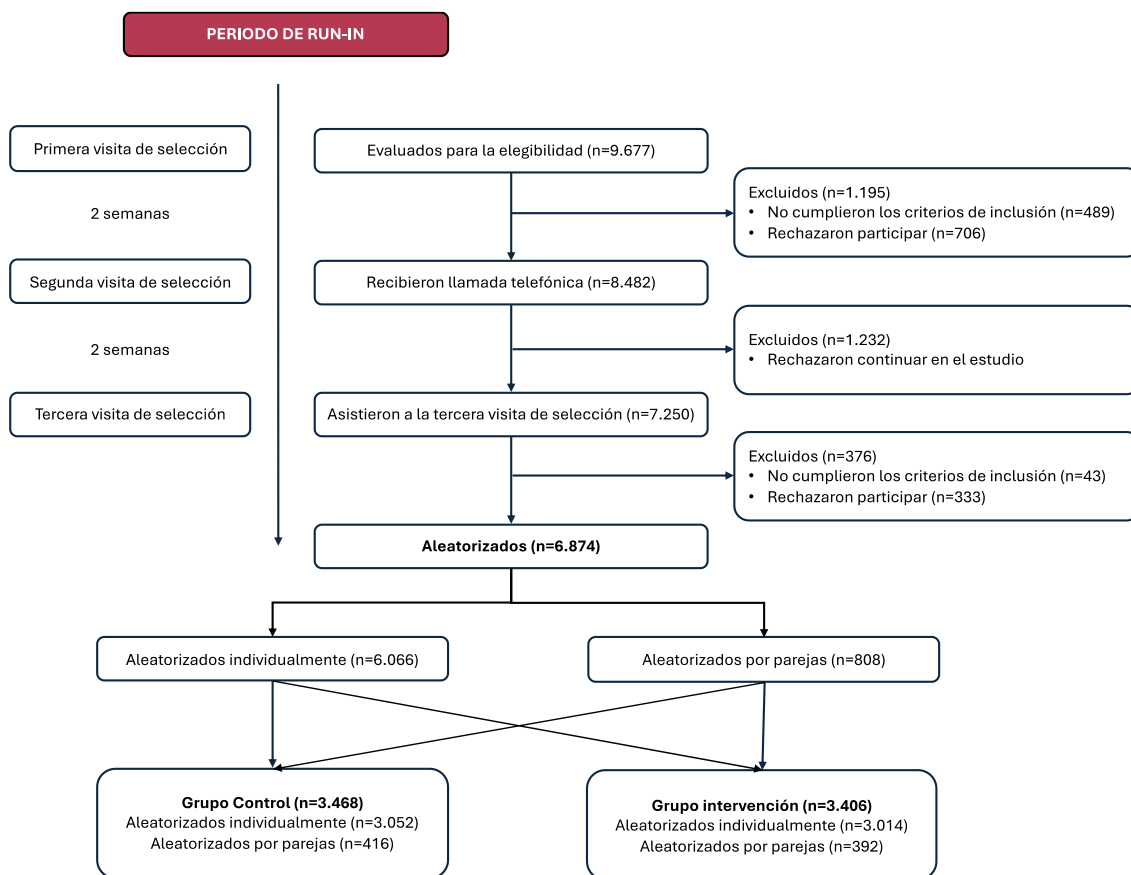
1. Haber participado en el estudio previo PREDIMED.
2. Haber sido incluido en otro programa de consejos para la pérdida de peso de más de 5 kg o haber seguido una dieta de muy bajo valor calórico durante los 6 meses previos al inicio del estudio.
3. Falta de voluntad o incapacidad para dar el consentimiento informado por escrito o comunicarse con el personal del estudio o analfabetismo.

4. Institucionalización del participante, es decir, que este habite en residencias o centros de larga distancia).
5. Presentar obstáculos en seguir la dieta recomendada por alergias a alimentos o componentes de la MedDiet, motivos religiosos, problemas de deglución...
6. Poseer una incapacidad para la realización de actividad física.
7. Tener una baja probabilidad predicha en el cambio de hábitos alimenticios de acuerdo a los estudios previos de Prochaska y DiClemente del modelo de estadios de cambio [270].
8. Tener inconvenientes para seguir las visitas programadas en la intervención (individuos institucionalizados, falta de autonomía, incapacidad para caminar, falta de un domicilio estable, planes de viaje, etc.).
9. Poseer un evento cardiovascular previo documentado, que incluye miocardiopatía hipertrófica y antecedentes de aneurisma aórtico de 5,5 cm de diámetro o más, procedimientos de revascularización coronaria, infarto de miocardio, enfermedad arterial periférica sintomática que requiriera cirugía o no estuviera controlada, accidente cerebrovascular (tanto isquémico como hemorrágico, incluyendo los ataques isquémicos transitorios), angina de pecho, insuficiencia cardíaca congestiva (Clase III o IV según la *New York Heart Association*), o cirugía de aneurisma de aorta.
10. Poseer antecedentes de procedimientos quirúrgicos relacionados en una pérdida de peso o tener la intención de someterse a una cirugía bariátrica en los siguientes 12 meses.
11. Tener un cáncer activo o poseer antecedentes de tumores malignos en los últimos 5 años, exceptuando el cáncer de piel no melanoma.
12. Poseer obesidad derivada de un origen endocrino conocido, excepto si es un hipotiroidismo tratado.
13. Historia de resección del intestino delgado o grueso.
14. Historia de enfermedad inflamatoria intestinal.
15. Historia del trasplante de órgano vital.
16. Inmunodeficiencia o estado VIH positivo
17. Insuficiencia hepática o cirrosis

18. Trastornos psiquiátricos graves como esquizofrenia, trastornos de la conducta alimentaria, trastorno de bipolaridad y/o depresión con hospitalización en los 6 meses previos al estudio.
19. Toda condición severa de comorbilidad con menos de 2 años de esperanza de vida.
20. Síndrome de dependencia alcohólico (ingesta total de > 50g/día) o consumo problemático de alcohol, o abuso de drogas en los 6 meses previos al estudio.
21. Tratamiento actual con corticosteroides sistémicos.
22. Tratamiento concomitante con fármacos inmunosupresoras o agentes citotóxicos.
23. Uso de medicación para la pérdida de peso
24. Participación simultánea en otro ensayo clínico aleatorizado
25. Los participantes con una infección aguda o inflamación (como una neumonía) se les permitirá participar en el estudio después de 3 meses de su recuperación.
26. Cualquier otra condición que pueda interferir con la realización del protocolo del estudio.

Si el voluntario cumplía con los criterios de inclusión y no presentaba ninguno de los puntos de exclusión pasaba a formar parte del estudio y por tanto era aleatorizado al azar a uno de los grupos de intervención (control o grupo de intervención intensiva). La aleatorización de los participantes se realizó en cada centro de reclutamiento con la ayuda de una secuencia numérica aleatoria generada por un ordenador y asignada centralmente. Fue posteriormente, el centro de coordinación, el responsable del procedimiento de aleatorización de los participantes, y estos fueron asignados al grupo de intervención de forma estratificada por centro, sexo y grupo de edad (<65, entre 65 y 70, >70 años). En el caso de que dos participantes fueran un matrimonio o bien pareja que compartiesen el mismo hogar fueron aleatorizados conjuntamente, mientras que en los casos específicos de parejas en las que el primer cónyuge fue reclutado previamente en un momento distinto, el último cónyuge adherido al estudio fue asignado directamente al mismo grupo de estudio que su pareja.

La aleatorización de los participantes se llevó a cabo en una proporción de 1:1 (grupo control: grupo intervención intensiva). En la **Figura 12** se muestra el diagrama de flujo de la inclusión de todos los participantes que forman parte del estudio PREDIMED-Plus.



**Figura 12.** Diagrama de flujo de la inclusión de participantes en el estudio PREDIMED-Plus. Fuente: Martínez-González *et al.* [268].

Concretamente, nuestro nodo consiguió reclutar un total de 270 participantes que cumplieran con los criterios de inclusión del estudio mencionados anteriormente de los 381 voluntarios que fueron entrevistados.

### 1.3. COMITÉ DE ÉTICA Y CONSENTIMIENTO INFORMADO

Los procedimientos del estudio cumplieron con las normas éticas establecidas en la Declaración de Helsinki y recibieron la aprobación de todas las instituciones participantes. Se informó a todos los participantes sobre el propósito y las implicaciones del estudio, y dieron su consentimiento por escrito para participar de manera libre y voluntaria, firmando el consentimiento informado. Se les explicó que su participación

era voluntaria, permitiéndoles optar por no participar o retirar su consentimiento en cualquier momento. También se les proporcionó información sobre el tipo de datos que se recopilarían y su derecho a decidir sobre el uso de dicha información.

El protocolo del estudio se registró en 2014 como *International Standard Randomized Controlled Trial* (ISRCT) con el número 89898870 en el sitio <https://www.isrctn.com/ISRCTN89898870>. El Comité Ético de Investigación Clínica de las Islas Baleares aprobó el estudio el 26 de febrero de 2014, con la referencia IB/PI/2251/14.

## 1.4. ESTRATEGIAS DE INTERVENCIÓN

Como se ha mencionado anteriormente, los participantes que entraron al estudio y fueron aleatorizados en dos grupos: grupo control y grupo de intervención intensiva con MedDiet hipocalórica.

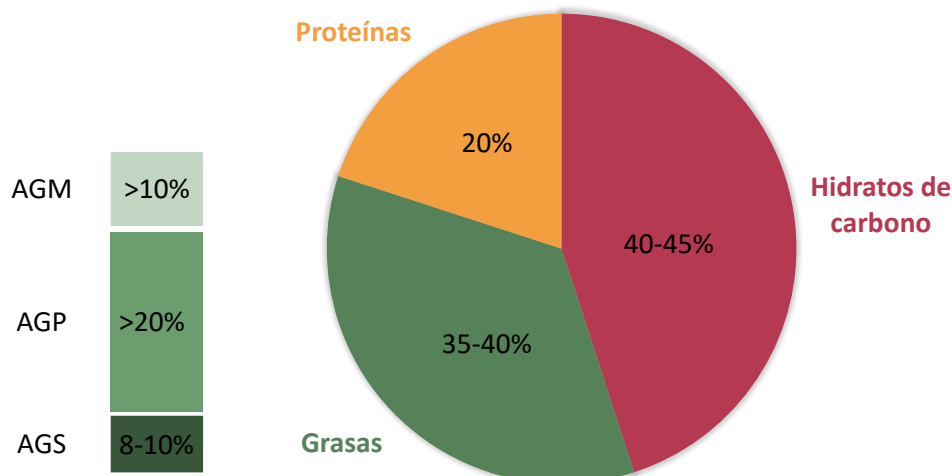
### GRUPO DE INTERVENCIÓN INTENSIVA CON DIETA MEDITERRÁNEA HIPOCALÓRICA

La intervención realizada en este grupo se basó en tres pilares fundamentales:

1. Seguimiento de una MedDiet tradicional con restricción energética.
2. Promoción de la actividad física.
3. Intervención cognitivo-conductual.

Los objetivos de esta intervención fueron lograr una reducción del peso alrededor del 10% del peso inicial y entre el 5% y el 10% del perímetro de la cintura inicial en los primeros seis meses y mantener esta reducción de peso a largo plazo.

La MedDiet hipocalórica que se les pautó a los participantes del grupo intensivo diseñada por el personal dietista-nutricionista del equipo de investigación debía cumplir con la distribución de macronutrientes de la **Figura 13** y las siguientes premisas:



**Figura 13.** Distribución de energía en el grupo intensivo. Abreviaturas: AGM, ácidos grasos monoinsaturados; AGP, ácidos grasos poliinsaturados; AGS, ácidos grasos saturados

- Reducción calórica: Se buscó reducir la ingesta diaria de energía en un 30% según las ecuaciones del *Institute of Medicine* [271], considerando el metabolismo basal y el nivel de actividad física de cada participante. Esto equivalía a una reducción de entre 500 y 1000 kcal/día, lo cual debería resultar en una pérdida de peso de 0,5 a 1,0 kg por semana.
- Aporte de micronutrientes: Se aseguraron los requerimientos de micronutrientes, incluyendo 1000-1500 mg/día de calcio en mujeres, 30-35 g de fibra, no más de 300 mg de colesterol y 6 g de cloruro sódico al día.
- Restricción de grasas animales: Se limitó la ingesta de grasas provenientes de alimentos de origen animal, prefiriendo las grasas de origen vegetal como el AOVE y los frutos secos.
- Proteínas vegetales: Se priorizó el aporte de proteínas de origen vegetal y, de manera secundaria, las fuentes magras de origen animal como el pescado o el ave.
- Hidratos de carbono con bajo índice glucémico: Se fomentó el consumo de carbohidratos de bajo índice glucémico provenientes de alimentos sólidos, poco procesados y ricos en fibra, como verduras, frutas y cereales integrales, que son fuentes de vitaminas, minerales y fibra.

El protocolo de intervención en actividad física tenía como objetivos:



- Conseguir que los participantes cumplieren las recomendaciones mínimas de actividad física para su edad:
  - Realizar al menos 150 minutos semanales de actividad física aeróbica moderada, o bien 75 minutos de actividad física aeróbica vigorosa cada semana, o bien una combinación equivalente de estas. Por lo tanto, los participantes debían conseguir al menos 10.000 pasos diarios (al menos 5 días a la semana).
  - Mediante sesiones de trabajo de fuerza de 30 a 40 minutos al día, realizar dos veces o más por semana actividades de fortalecimiento de los grandes grupos musculares. En cada ejercicio realizado deberían realizarse de 2 a 4 series con de 8 a 12 repeticiones del movimiento.
- Desarrollar un estilo de vida activo, más allá de la práctica de ejercicio físico
- Reducir el tiempo de comportamientos sedentarios (7 o más horas de tiempo sentado al día) para incrementar la actividad física, especialmente la intensidad ligera.

#### GRUPO CONTROL

Los participantes del grupo control recibieron orientación sobre cómo seguir una MedDiet con AOVE y frutos secos, así como recomendaciones generales sobre el manejo del SMet en reuniones semestrales [268]. No se les recomendó una pérdida de peso ni el aumento de la actividad física, sino que estos participantes recibieron la atención habitual por parte del personal sanitario de los Centros de Salud.

### 1.5. RECOGIDA DE DATOS

En esta tesis doctoral, la cual se centra mayoritariamente en la determinación de diferentes biomarcadores en muestras biológicas como sangre y orina de los participantes de nuestro centro de investigación, también se han utilizado los datos obtenidos por el equipo de dietista-nutricionista (medidas antropométricas: peso, altura, IMC, circunferencias de cintura y cadera; evaluaciones dietéticas: FFQ de 143 ítems y cuestionario de adherencia a la MedDiet de 17 ítems), por el equipo de enfermería (presión arterial y datos de las analíticas: bioquímica y hemograma) y por el

personal encargado de la evaluación de la actividad física (tarea metabólica equivalente (MET) en minutos por semana y tiempo sedentario). En la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** se describen las principales actividades de recolección de datos en cada visita del estudio PREDIMED-Plus.

**Tabla 4.** Recogida de datos y/o muestras en las visitas PREDIMED Plus.

	S1	S2	S3	00	v6m	v01	v02	v03	v04	v05	v06	v07	v08
Cuestionario de elegibilidad	X												
Mediciones antropométricas <sup>1</sup>	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Cuestionario general				X									
143-item FFQ			X		X	X	X	X	X	X	X	X	X
17/14-items MedDiet				X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Cuestionarios actividad física <sup>2</sup>			X*	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Cuestionario de seguimiento					X	X	X	X	X	X	X	X	X
Mediciones Tensión arterial	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Muestras biológicas				X	X	X		X		X		X	X

<sup>1</sup>Las mediciones antropométricas incluyen: peso, talla, circunferencia de la cintura y de la cadera.

<sup>2</sup>Cuestionario de actividad física en el tiempo libre de Minnesota en su versión reducida, y los cuestionarios RAPA (RAPA1 y RAPA2). \*Cuestionario de actividad física en su versión larga en el tiempo libre.

### EVALUACIÓN DE ANTROPOMETRÍA

Dietistas profesionales capacitados realizaron mediciones antropométricas precisas y consistentes, habiendo recibido una formación rigurosa e idéntica para minimizar el impacto de los coeficientes de variación entre observadores.

Todos los parámetros fueron tomados en cada visita, por duplicado, con el participante ligero de ropa, descalzo y sin complementos que pudieran afectar las mediciones. La altura se midió con un antropómetro móvil (Seca 213, SECA Deutschland, Hamburgo, Alemania), asegurando que la cabeza del paciente estuviera en la posición del plano horizontal de Frankfort. El peso y la grasa corporal, determinados sin zapatos, se evaluaron mediante un analizador de composición corporal segmental (Tanita BC-418,

Tanita, Tokio, Japón), descontando 0,6 kg por la ropa ligera. A partir de estas medidas, se calculó el IMC ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ).

Con los sujetos de pie, se midió la circunferencia de la cintura a medio camino entre la última costilla y la cresta ilíaca, y la circunferencia de la cadera en la línea horizontal más ancha de las caderas.

### PRESIÓN SANGUÍNEA Y EVALUACIÓN BIOQUÍMICA

El equipo de enfermería midió por triplicado la presión arterial mientras el paciente estaba sentado y relajado, usando un oscilómetro validado (Omron HEM, 750CP, Holanda) (precisión  $\pm 1$  mmHg de presión y  $\pm 5\%$  en pulso) según el procedimiento de la *European Society of Hypertension*.

Además, se realizaron extracciones de muestras sanguíneas en ayunas y recolección de muestras de orina de la primera hora de la mañana. Parte de las muestras fueron congeladas para análisis posteriores, especificados más adelante en la presente tesis doctoral, mientras que otras fueron enviadas al Hospital Universitari Son Espases (Palma) para realizar una analítica y obtener los siguientes parámetros: glucosa, hemoglobina glicosilada (HbA1c), triglicéridos, colesterol total, colesterol HDL, colesterol VLDL, hemograma, ionograma y concentraciones séricas de calcio, ácido úrico, urea, creatinina y PCR, así como la velocidad de sedimentación globular y pruebas de función hepática en el laboratorio local.

### EVALUACIÓN DIETÉTICA

Para la evaluación dietética se realizó mediante 2 tipos de cuestionarios:

#### Cuestionario semicuantitativo de frecuencia de consumo de 146 alimentos

Se trata de un cuestionario validado que recoge la ingesta dietética del último año a través de una lista extensa de 146 alimentos y bebidas con proporciones o cantidades determinadas [272]. En este cuestionario, se le pregunta al participante sobre la frecuencia de consumo de los 146 alimentos, desde "nunca o casi nunca" hasta "seis o más veces al día". A partir de esta información y mediante un programa informático basado en las tablas de composición de alimentos [273] se calcularon los macronutrientes (carbohidratos totales y fibra; grasa totales, grasas de origen vegetal y animal, AGM, AGP, AGS, colesterol; proteínas totales y proteínas de origen animal y

vegetal; ingesta de alcohol y energía total) y los micronutrientes (fósforo, calcio, potasio, calcio, hierro, magnesio, selenio, vitaminas A, B1, B2, B3, B6, B12, C, D y E) ingeridos.

#### Cuestionario de MedDiet

Se trata de un cuestionario de 17 ítems, originario del estudio PREDIMED, en el cual si el participante cumple con la ingesta establecida en cada ítem se le asigna 1 punto, de lo contrario 0 puntos. Una vez completado el cuestionario, el resultado final va de entre 0 a 17 puntos, siendo 0 ninguna adherencia a la MedDiet y 17 una adherencia total a la MedDiet [274].

#### Evaluación de la actividad física

Para el seguimiento de la actividad física los participantes completaron un cuestionario previamente validado para la actividad física en su versión reducida (*Short Spanish versión of the Minnesota leisure-time physical activity questionnaire, Minnesota LTPA*) [275,276]. En tales visitas se les realizó el test de la silla [277] para evaluar su forma física y los cuestionarios PAR-Q (*Physical Activity Readiness Questionnaire*) [278], RAPA (*Rapid Assessment of Physical Activity*) (RAPA1 y RAPA 2) [279], y el de sedentarismo del NHS (*Nurses' Health Study*) [280].

## 2. DISEÑO DEL ESTUDIO LIKIDI

---

### 2.1. DESCRIPCIÓN Y OBJETIVOS DEL ESTUDIO

El estudio LIKIDI (Intervenciones en el estilo de vida y enfermedad renal crónica: inflamación, estrés oxidativo y perfil metabólico) es un estudio auxiliar dentro del ensayo PREDIMED-Plus en el que se pretende tratar los efectos de un año de la intervención basada en una MedDiet sobre la incidencia de ERC entre una submuestra del proyecto matriz de 3.200 adultos, de 55 a 75 años, con sobrepeso/obesidad con SMet de alto riesgo cardiovascular y libres de ERC al inicio del estudio. Una de las partes de la investigación de la presente Tesis Doctoral se ha llevado a cabo en el marco de este subestudio.

Los resultados que se presentan derivan de un estudio de casos y controles anidado, con la participación de 117 casos seleccionados aleatoriamente de los participantes que desarrollaron nueva aparición de ERC al año del seguimiento (50% del total de los casos de incidentes) y 117 controles emparejados entre los participantes inicialmente libres de ERC que no desarrollan la enfermedad.

El proyecto es una colaboración multidisciplinar y multiinstitucional con 5 investigadores jóvenes de 5 centros (Universidad Rovira i Virgili, Universidad de Illes Balears, Hospital Virgen de la Victoria de Málaga y dos centros de la Universidad de Navarra) de los 23 centros españoles que participan en el ensayo PREDIMED-Plus financiado por un proyecto intramural CIBER, Ministerio de Economía y Competitividad, Instituto de Salud Carlos III (OBN20PI01/2020).

El objetivo principal del estudio LIKIDI es determinar los efectos de un año de intervención basada en una MedDiet, actividad física y el apoyo conductual sobre la incidencia de ERC en sujetos del ensayo PREDIMED-Plus con alto riesgo de CVD y libres de ERC al inicio.

Los objetivos adicionales son:

- Evaluar si una intervención intensiva sobre el estilo de vida que consiste en una MedDiet restringida en energía (er-MedDiet), aumento de la

actividad física y pérdida de peso, reduce la incidencia de la ERC en comparación con un grupo control después de un seguimiento de un año.

- Evaluar los efectos de un año de la intervención intensiva de pérdida de peso en el estilo de vida PREDIMED-Plus sobre las concentraciones de cistatina C sérica (SCysC) y las medidas de tasa de filtración glomerular estimada (eGFR) basadas en ecuaciones derivadas de creatinina sérica (eGFRcr), SCysC (eGFRcys) o ambas (eGFRcr-cys).
- Explorar los vínculos entre factores de riesgo no tradicionales, incluidos múltiples marcadores de inflamación (IL-1 $\beta$ , IL-1ra, IL-6, MCP-1, TNF $\alpha$  y Leptina) y la oxidación (MDA y proteínas carbonilos) medidos al inicio, en relación con el riesgo de ERC incidente.
- Investigar la asociación entre varios metabolitos y ERC mediante un enfoque de metabolómica no dirigida, en un estudio de casos y controles anidado.

El objetivo secundario es evaluar los efectos de un año de una intervención intensiva en la pérdida de peso, incluida una er-MedDiet y la promoción de la actividad física, en la calidad de vida relacionada con la salud en sujetos con ERC al inicio.

## 2.2. RECLUTAMIENTO Y ALEATORIZACIÓN DE LOS PARTICIPANTES

Los participantes seleccionados para este estudio son adultos con SMet procedentes del estudio PREDIMED-Plus, con edades comprendidas entre 55 y 75 años para hombres, y entre 60 y 75 años para mujeres, sin antecedentes de enfermedad cardiovascular (ECV) al inicio del estudio, y con sobrepeso u obesidad (IMC < 27 – 40 kg/m<sup>2</sup>). Como participantes del estudio PREDIMED-Plus, debían cumplir todos los criterios de inclusión de dicho estudio y no presentar ninguno de los criterios de exclusión [268].

Un total de 6.874 participantes fueron asignados aleatoriamente al grupo control (n = 3.468) o al grupo de intervención en el estilo de vida (n = 3.406). Para los análisis principales del presente estudio, se incluirán solo los participantes sin ERC al inicio del estudio. De los 6.874 participantes, se excluyeron aquellos que desarrollaron cualquier tipo de cáncer (n = 65) o que se sometieron a cirugía bariátrica (n = 1) dentro del primer

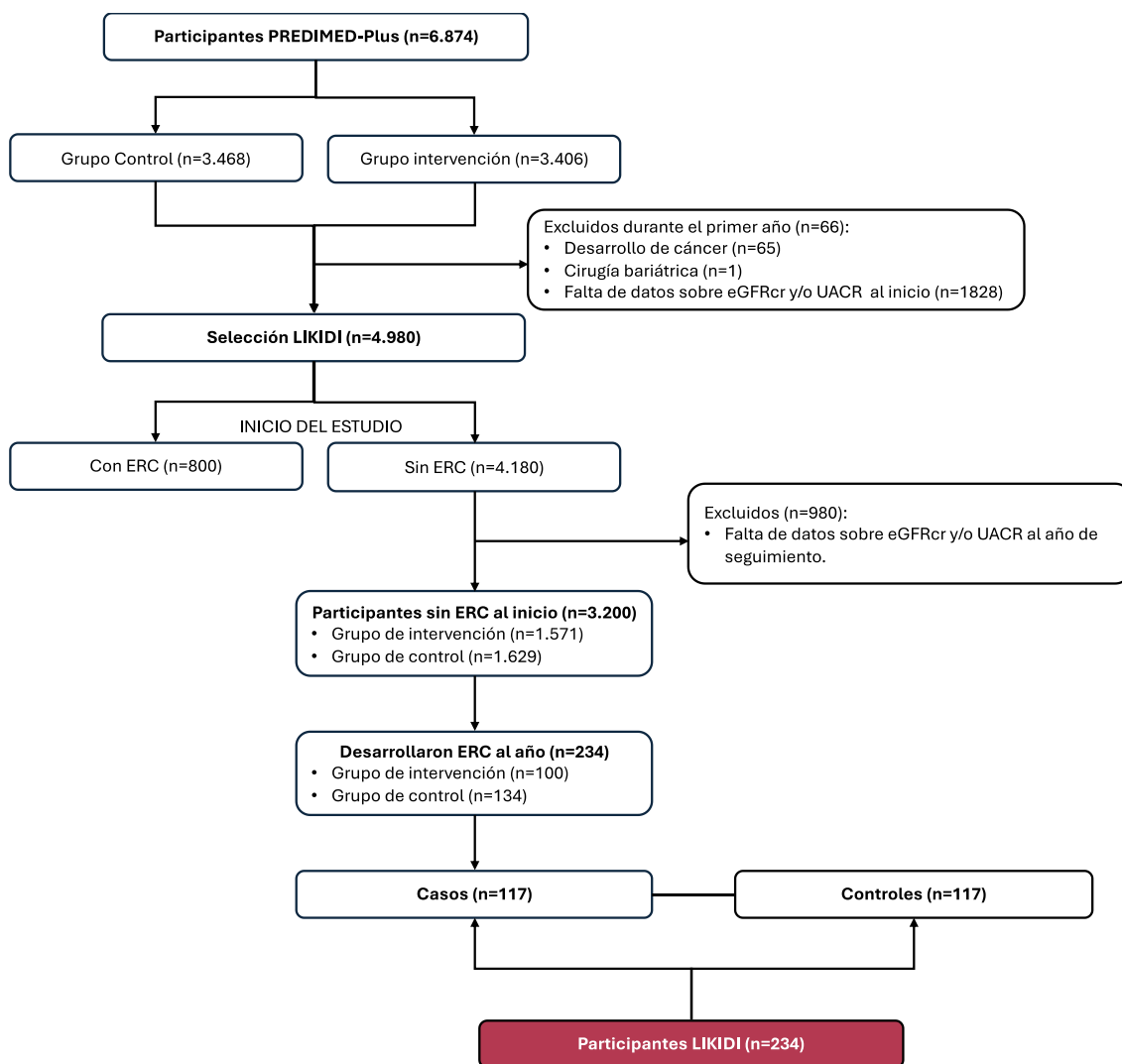
año de seguimiento. También se excluyeron las personas sin mediciones de eGFRcr y/o UACR para definir la ERC al inicio del estudio (n = 1.828). De los 4.980 participantes restantes con información disponible para la determinación de la ERC, 800 (16,1%) tenían ERC al inicio del estudio y 4.180 (83,9%) no la tenían. De estos, se excluirán 980 participantes debido a la falta de datos sobre eGFRcr y/o UACR para definir ERC después de un año de seguimiento. El tamaño de muestra final para el análisis de la incidencia de ERC será de 3.200 participantes libres de ERC al inicio del estudio (n = 1.571, grupo de intervención y n = 1.629, grupo de control). La ERC prevalente se define por una tasa de filtración glomerular estimada (eGFR) reducida  $<60$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup> y/o la presencia de albuminuria (UACR  $\geq 30$  mg/g), que es muy común entre los ancianos.

Para este estudio de casos y controles se evaluaron los efectos de la intervención en el estilo de vida en un total de 3.200 hombres y mujeres participantes del proyecto PREDIMED-Plus. Se seleccionaron aleatoriamente un total de 117 participantes que al año de seguimiento (50% del total de casos incidentes) apareció ERC y 117 participantes controles emparejados que no desarrollaron dicha disfunción.

En la **Figura 14** se muestra el diagrama de flujo que especifica la selección de los participantes PREDIMED-Plus para formar parte del estudio LIKIDI: desde los que presentan o no ERC al inicio del estudio, hasta los que desarrollan o no ERC al año de estar aleatorizados.

### 2.3. COMITÉ DE ÉTICA Y CONSENTIMIENTO INFORMADO

Los procedimientos del estudio cumplieron con las normas éticas establecidas en la Declaración de Helsinki y recibieron la aprobación de todas las instituciones participantes. Dado que el estudio LIKIDI es un estudio auxiliar dentro del proyecto PREDIMED-Plus, los participantes ya habían sido informados sobre el propósito y las implicaciones del estudio, y habían considerado de forma libre y voluntaria su participación firmando el consentimiento informado. Los participantes eran conscientes de que su participación era voluntaria y podían optar por no participar o retirar su consentimiento en cualquier momento. También se les proporcionó información sobre el tipo de datos que se recopilarían y su derecho a decidir sobre el uso de dicha información.



**Figura 14.** Diagrama de flujo de la selección de participantes del proyecto LIKIDI procedentes del proyecto PREDIMED-Plus. Fuente: Elaboración propia.

## 2.4. RECOGIDA DE DATOS

Al inicio del estudio y al año de la intervención se recopiló información detallada mediante un cuestionario de frecuencia alimentaria de 143 ítems y cuestionarios validados sobre actividad física, además de datos sociodemográficos y de estilo de vida, nivel educativo, antecedentes médicos individuales y familiares, uso de medicamentos y calidad de vida relacionada con la salud. Adicionalmente, se recogieron variables antropométricas, mediciones de presión arterial, y se obtuvieron muestras de sangre en ayunas y orina para realizar análisis bioquímicos de rutina. Estos análisis incluyeron niveles de glucosa en ayunas, perfil lipídico, y concentraciones de creatinina sérica (SCr) y albúmina en orina. A continuación, se muestran las evaluaciones realizadas en cada



visita del estudio PREDIMED-Plus desde el inicio hasta un año de seguimiento, para llevar a cabo el estudio auxiliar LIKIDI:

**Tabla 5.** Recogida de datos y/o muestras biológicas en las visitas LIKIDI.

	Evaluación previa	Inicio	6 meses	1 año
Cuestionario de elegibilidad	X			
Registro de alimentos	X			
Mediciones antropométricas <sup>1</sup>	X	X	X	X
Cuestionario general		X		
FFQ de 143 ítems		X	X	X
Cuestionario MedDiet <sup>2</sup>		X	X	X
Cuestionario de actividad física <sup>3</sup>		X*	X	X
Cuestionario de seguimiento			X	X
Electrocardiograma	X		X	X
Mediciones de la presión arterial		X	X	X
Muestra de sangre y orina		X	X	X
Cuestionarios de calidad de vida		X	X	X

FFQ: cuestionario validado semicuantitativo de frecuencia de consumo de alimentos

<sup>1</sup>Las mediciones antropométricas incluyen: peso, talla, circunferencia de la cintura y de la cadera.

<sup>2</sup>Cuestionarios breves de adhesión a MedDiet. Se utilizará el mismo cuestionario que se usó en PREDIMED (Schroeder et al., 2011) de 14 ítems y el cuestionario de MedDiet hipocalórica de 17 ítems.

<sup>3</sup>Cuestionario de actividad física en el tiempo libre de Minnesota en su versión reducida, y los cuestionarios PAR-Q, RAPA (RAPA1 y RAPA2) y el de preguntas de sedentarismo del NHS;

\*Cuestionario de Actividad física en el tiempo libre de Minnesota largo.

## 3. DISEÑO DEL ESTUDIO FLIPAN

---

### 3.1. DESCRIPCIÓN Y OBJETIVOS DEL ESTUDIO

Parte de la investigación de esta Tesis Doctoral también se ha llevado a cabo en el marco del estudio FLIPAN (Prevención y Reversión de la Enfermedad del Hígado Graso No Alcohólico en Pacientes Obesos con Síndrome Metabólico, mediante Dieta Mediterránea y Actividad Física) financiado por la “Fundació Marató de TV3”, Ref: 549/U/2016. El estudio FLIPAN es un ensayo clínico prospectivo, aleatorizado y bicéntrico (Islas Baleares y Navarra) que incluye un total de 155 pacientes con sobrepeso y obesidad que presentan al menos tres de las principales características del SMet y un diagnóstico de EHGNA confirmado por elastografía y RMN.

El reclutamiento de los participantes en ambos centros de investigación empezó el 26 de octubre de 2017 y terminó el 29 noviembre de 2019, donde se identificaron un total de 237 pacientes entre los pacientes que acudieron a los centros de atención primaria asociados a las dos universidades. La intervención tuvo una duración de 24 meses, la cual empezó en marzo de 2018 y finalizó en marzo de 2021.

El objetivo del estudio es evaluar el papel de la intervención dietética y de actividad física personalizada en los cambios de los depósitos de grasa en el hígado y la progresión de la EHGNA durante un período de seguimiento de 24 meses.

El proyecto propone una intervención nutricional personalizada basada en una MedDiet adaptada, que incorpora numerosos componentes bioactivos antioxidantes y antiinflamatorios. Junto con la promoción de la actividad física, se pretende prevenir y revertir el hígado graso no alcohólico en pacientes con sobrepeso y obesidad que presentan SMet. Esta intervención se comparará con otras dos intervenciones nutricionales, una más convencional basada en la propuesta por la AASLD, y otra basada en la MedDiet distribuida en 7 tomas al día.

El objetivo principal es evaluar si, y en qué medida, la intervención dietética y la actividad física personalizada mejoran la EHGNA hasta lograr su regresión o prevención en etapas posteriores de la enfermedad en pacientes obesos con SMet. Asimismo, se busca identificar nuevos biomarcadores posibles, no invasivos y de bajo coste, para el diagnóstico precoz de EHGNA y para monitorear los cambios en los depósitos hepáticos.

Los objetivos secundarios comprenden evaluar los efectos de las diferentes intervenciones dietéticas, con o sin actividad física personalizada, sobre:

- La composición corporal: peso, circunferencia de la cintura, grasa corporal, masa muscular, densidad mineral ósea.
- El estado físico.
- Las pruebas de función hepática: niveles de aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT), gamma-glutamilttransferasa (GGT), fosfatasa, albúmina, bilirrubina total, tiempo de protrombina y recuento de plaquetas).
- Los factores de riesgo asociados a la enfermedad hepática: IMC, obesidad abdominal, hipertensión, resistencia a la insulina, inflamación y estrés oxidativo.
- Factores de riesgo relacionados con complicaciones cardiovasculares.
- Calidad de vida.
- Bienestar psicológico.
- Calidad del sueño.
- Costos del tratamiento (incluida una menor necesidad de medicamentos farmacológicos).

### 3.2. RECLUTAMIENTO Y ALEATORIZACIÓN DE LOS PARTICIPANTES

Los criterios de inclusión que debían cumplir los voluntarios para ser seleccionados y formar parte del estudio FLIPAN fueron los siguientes

1. Edad comprendida entre 40 - 60 años.
2. Diagnóstico de EHGNA por ecografía, elastografía y RMN.
3. Presentar sobrepeso u obesidad, es decir, poseer un IMC de entre 27 y 40 kg/m<sup>2</sup>.
4. Cumplir con al menos 3 de los criterios que conforman la patología de la SMet según especificó el consenso de la IDF [269]:
  - IMC > 30 kg/m<sup>2</sup> o aumento de la circunferencia de la cintura: 94 cm en los hombres y 80 cm en mujeres.

- Presión arterial sistólica superior a 130 mmHg o presión arterial diastólica superior a 80 mmHg o estar en tratamiento farmacológico antihipertensivo.
- Hiperglucemia en ayunas: valores iguales o superiores a 100 mg/dL (5,6 mmol/L) o DMT2 previamente diagnosticada y estar en tratamiento farmacológico.
- Niveles de triglicéridos 150 mg/dL (1,7 mmol/L) o tratamiento específico.
- Colesterol HDL inferior a 40 mg/dL en hombres (1,0 mmol/L) y 50 mg/dL (1,29 mmol/L) en mujeres o estar en tratamiento farmacológico específico.

5. Consentimiento informado por escrito.

En el caso de que los candidatos que se presentaron padeciesen alguno de los siguientes puntos fueron excluidos de la participación al estudio FLIPAN:

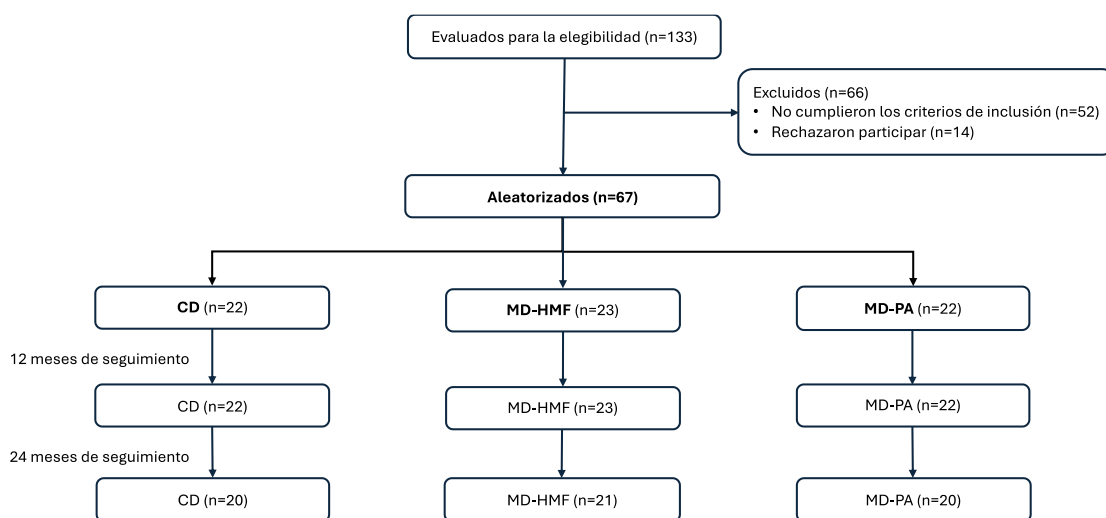
1. Incapacidad o falta de voluntad para dar un consentimiento informado o comunicarse con el personal del estudio.
2. Poseer un evento cardiovascular previo documentado, que incluye miocardiopatía hipertrófica y antecedentes de aneurisma aórtico de 5,5 cm de diámetro o más, procedimientos de revascularización coronaria, infarto de miocardio, enfermedad arterial periférica sintomática que requiriera cirugía o no estuviera controlada, accidente cerebrovascular (tanto isquémico como hemorrágico, incluyendo los ataques isquémicos transitorios), angina de pecho, insuficiencia cardíaca congestiva (Clase III o IV según la *New York Heart Association*), o cirugía de aneurisma de aorta.
3. Historial documentado de enfermedades hepáticas previas (distintas de EHGNA).
4. Cáncer activo o una historia de malignidad en los últimos 5 años.
5. Tener una baja probabilidad pronosticada de cambiar los hábitos alimenticios de acuerdo con el Modelo de Etapas de Cambio [270].
6. Falta de voluntad o incapacidad para cumplir con la intervención dietética y de actividad física durante todo el período del estudio.

7. Incapacidad para cumplir las visitas programadas.
8. Haber perdido más de 5 kg durante los 6 meses anteriores de la visita.
9. Uso de medicamentos para perder peso durante 6 meses antes de la visita.
10. Procedimientos quirúrgicos previos para pérdida de peso o cirugía bariátrica programada en los próximos 12 meses.
11. Antecedentes de resección intestinal, enfermedad inflamatoria intestinal.
12. Poseer obesidad derivada de un origen endocrino conocido, excepto si es un hipotiroidismo tratado.
13. Poseer alergia a alimentos o componentes dietéticos mediterráneos.
14. Padeecer trastornos psiquiátricos graves como la esquizofrenia, el trastorno de bipolaridad, trastornos de la alimentación o depresión con hospitalización en los últimos 6 meses o una puntuación mayor a 30 del Test de Depresión de Beck [281].
15. Toda condición severa de comorbilidad con menos de 2 años de esperanza de vida.
16. Abuso crónico de drogas o alcohol (>21 unidades/alcohol-semana en hombres y >14 unidades/alcohol-semana en mujeres, 1 unidad = 125mL de vino).
17. Tratamiento con esteroides.
18. Embarazo.

Después de una evaluación inicial de los parámetros clínicos (altura, peso corporal, circunferencia abdominal y presión arterial), historial médico previo, medicamentos previos y síntomas depresivos evaluados a través del Inventario de Depresión de Beck para excluir los síntomas depresivos que posiblemente podrían poner en peligro la adherencia a la dieta [281], un total de 155 voluntarios cumplieron con los criterios de selección y dieron su consentimiento para participar en el estudio. Estos participantes fueron posteriormente aleatorizados mediante el programa de minimización de escritorio de código abierto MinimPy [282], según su estado de EGHNA (medio, moderado o severo), presencia o ausencia de DMT2, y género (hombre o mujer), a uno de los tres grupos de intervención en una proporción 1:1:1 durante un período de 24 meses:

- Grupo con una dieta convencional (CD)
- Grupo con MedDiet con alta frecuencia de ingestas (MD-HMF)
- Grupo con MedDiet y actividad física (MD-PA)

En la **Figura 15** se observa el diagrama de flujo donde se especifica el progreso a través de las fases del ensayo: desde la inscripción, la asignación de intervención, el seguimiento y finalmente el análisis de datos de todos los participantes que se incluyeron en el estudio en el nodo de la Universidad de las Islas Baleares (UIB). Es importante recalcar que, aunque fueron 67 los participantes aleatorizados, no todos los datos han sido utilizados en la presente tesis doctoral para el análisis estadístico de los diferentes artículos presentados. El motivo es debido a la ausencia de información de algunas variables o bien el abandono voluntario del estudio de algunos de los participantes a lo largo de los dos años de duración de este.



**Figura 15.** Diagrama de flujo de la inclusión de participantes voluntarios para el estudio FLIPAN en el nodo de la UIB. Fuente: Elaboración propia.

### 3.3. COMITÉ DE ÉTICA Y CONSENTIMIENTO INFORMADO

Los procedimientos del estudio cumplieron con las normas éticas establecidas en la Declaración de Helsinki y recibieron la aprobación del Comité Ético de las Islas Baleares (ref. IB 2251/14 PI) y del Comité Ético de la UNAV (ref. 054/2015mod2).

Todos los participantes fueron informados del propósito y las implicaciones del estudio FLIPAN y todos dieron su consentimiento por escrito para participar. Así como se

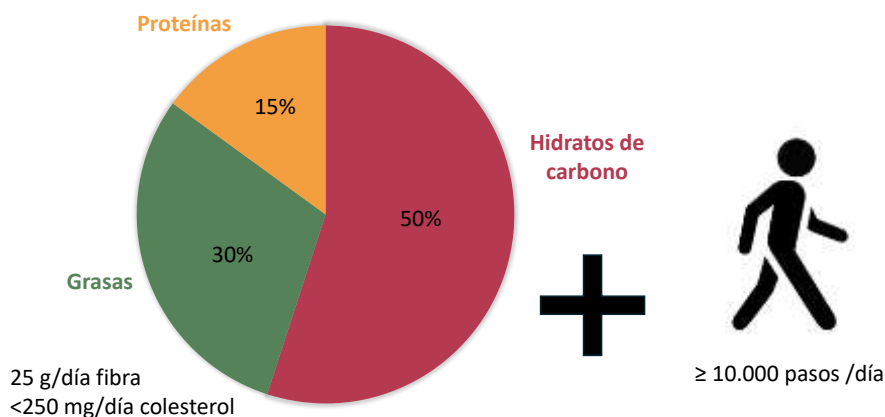
específica en el formulario de consentimiento, la participación fue por voluntad propia y los participantes tenían derecho a retirarse del estudio en cualquier momento.

El ensayo se registró en ClinicalTrials.gov con el número de registro NCT04442620 (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04442620>).

### 3.4. ESTRATEGIAS DE INTERVENCIÓN

Como se ha mencionado anteriormente, los participantes que entraron al estudio y fueron aleatorizados en tres grupos de intervención distintos en donde se les daba una pauta dietética y una pauta de actividad física característica de cada uno: grupo CD, grupo MD-HMF y grupo MD-PA.

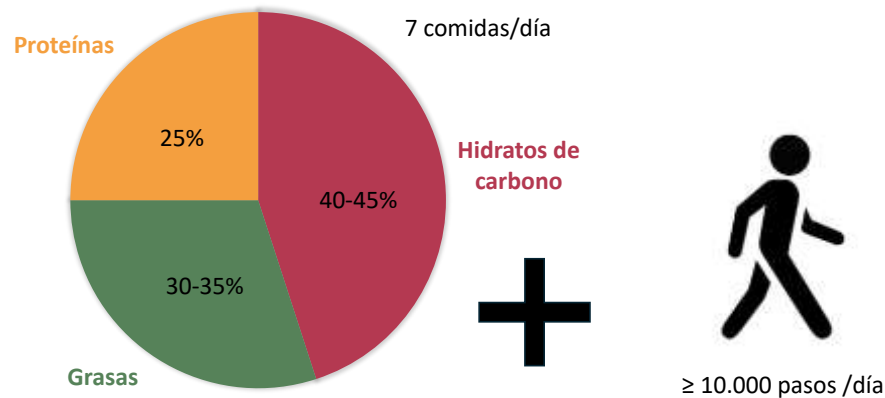
Los participantes del **grupo CD** siguieron las pautas establecidas por la Asociación Estadounidense para el Estudio de Enfermedades Hepáticas (AASLD) [283], con el objetivo de una pérdida de peso del 3 al 5% para mejorar la esteatosis y del 7 al 10% para mejorar la mayoría de las características histopatológicas relacionadas con EHNA, incluida la fibrosis. Para ello se realizarán restricciones energéticas en consonancia con las pautas dietéticas generales del Departamento de Salud y Servicios Humanos de EE.UU. y el Departamento de Agricultura de EE.UU., que consisten en 45-65% de carbohidratos, 20-35% de grasa y 10-35% de proteína (**Figura 16**) [284]. Además de dicha distribución de macronutrientes, a estos participantes se les recomendará reducir su ingesta calórica en un 25-30% y mantener una ingesta de fibra (35 g/día) y de colesterol (<250 mg/día) adecuada. Se les recomendó acumular un mínimo de 10.000 pasos diarios tal y como recomienda la misma OMS en las guías de actividad física. Para ello, podían registrar su actividad mediante una aplicación móvil en sus teléfonos personales o relojes inteligentes.



**Figura 16.** Recomendaciones dietéticas y de actividad física del grupo CD.

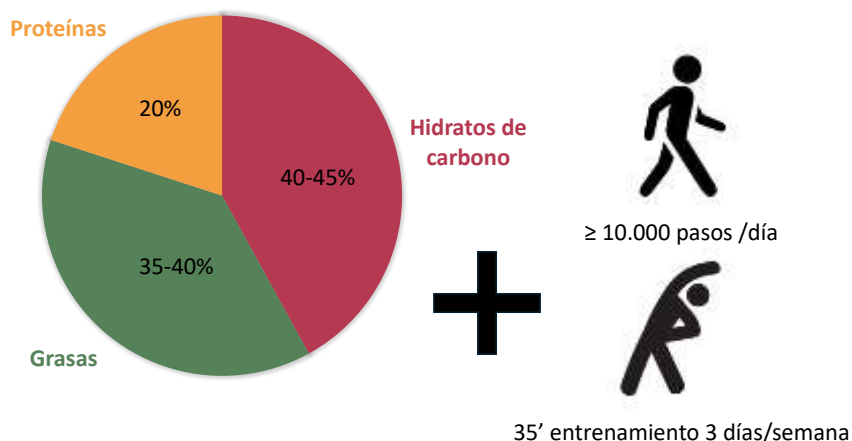
Los participantes del **grupo MD-HMF** siguieron una MedDiet con una distribución de macronutrientes de 40-45% de carbohidratos (50-70% son de bajo índice glucémico y ricos en fibra), 30-35% de grasa (principalmente AGM y AGP procedentes del AOVE, nueces y alimentos que contienen  $\omega$ -3) y 25% de proteína (principalmente de origen vegetal) (**Figura 17**). Esta dieta se la conoce como “dieta RESMENA”, una dieta diseñada para reducir el peso y la masa grasa, así como el estrés oxidativo general en pacientes con SMet [285]. Dado que factores como la frecuencia y distribución de las comidas pueden ayudar a reducir la sensación de hambre y mejorar el cumplimiento de un régimen dietético restringido de energía, la dieta RESMENA se enfoca en proporcionar una alta Capacidad Antioxidante Total (TAC) y en la distribución cronológica de las comidas [286,287]. Las comidas con la mayor cantidad de calorías serán las primeras siete comidas del día. Además de dicha distribución de macronutrientes, a estos participantes también se les recomendará reducir su ingesta calórica en un 25-30% y se les aconsejará que dividan en siete comidas su ingesta calórica diaria, con las comidas de mayor contenido calórico se consumieron temprano en el día. Al igual que el grupo anterior, también se les recomendó acumular un mínimo de 10.000 pasos al día.





**Figura 17.** Recomendaciones dietéticas y de actividad física del grupo MD-HMF.

Los participantes del **grupo MD-PA** siguieron una MedDiet con restricción calórica en un 25 – 30% con cuatro a cinco comidas por día, incluyendo meriendas. Su distribución de la ingesta calórica total consistió en 40-45% de carbohidratos (principalmente de bajo índice glucémico), 35-40% de grasas (8-10% de AGS, >20% de AGM, >10% de AGP y <300 mg/día de colesterol), y aproximadamente 20% de proteínas (**Figura 18**). La ingesta de cloruro de sodio se limitó a 6 g/día (2,4 g de sodio) y la fibra dietética se fijó en un mínimo de 30 - 35 g/día. Al igual que los dos grupos de intervención previos, se les sugirió alcanzar un mínimo de 10.000 pasos diarios. Además, los participantes de este grupo realizaron tres sesiones semanales de entrenamiento en intervalos de 35 minutos. Estas sesiones consistieron en dos entrenamientos presenciales guiados por un instructor y una sesión remota prescrita semanalmente. Cada sesión de 35 minutos incluía un calentamiento de 5 minutos, 20 minutos de entrenamiento de intervalos y 10 minutos de respiración y estiramiento. El entrenamiento de intervalos se componía de cinco actividades de intensidad moderada destinadas a trabajar todos los grupos musculares. Especialistas del Departamento de Educación Física y Deporte de la Universidad de las Islas Baleares diseñaron los entrenamientos tanto presenciales como a distancia, y ofrecieron formación y apoyo a los voluntarios del equipo de investigación que dirigían las sesiones. La actividad física aeróbica semanal propuesta, equivalente a 10.000 pasos diarios en términos de gasto calórico (400 kcal para una persona de 70 kg), se ajustó en intensidad a la condición física de cada participante.



**Figura 18.** Recomendaciones dietéticas y de actividad física del grupo MD-PA.

### 3.5. RECOGIDA DE DATOS

En esta tesis doctoral, que se centra principalmente en la determinación de diferentes biomarcadores en muestras biológicas como sangre, orina y heces de los participantes de nuestro centro de investigación, también se han utilizado los datos obtenidos por el equipo de dietistas-nutricionistas (medidas antropométricas: peso, altura, IMC, circunferencias de cintura y cadera; evaluaciones dietéticas: FFQ de 148 ítems y cuestionario de adherencia a la MedDiet), por el equipo de enfermería (presión arterial y datos de las analíticas: bioquímica y hemograma), por el personal encargado de la evaluación de la actividad física (tarea metabólica equivalente (MET) en minutos por semana y capacidad del VO<sub>2</sub> máx medida a partir de la prueba Chester Step) y por el personal médico del Hospital Juaneda Miramar (ultrasonido, elastografía y resonancia magnética). Las principales actividades de recolección de datos en cada visita del estudio FLIPAN se describen en la **Tabla 6**.

**Tabla 6.** Recogida de datos y/o muestras biológicas en las visitas FLIPAN.

Número de visita	v1	v2	v3	v4	v5	v6
Tiempo <sup>1</sup>	0	5%	10%	6m	12m	24m
Datos iniciales <sup>2</sup>	X					
Recordatorio dietético de 24h	X					
Criterios de inclusión y exclusión	X					
Aleatorización	X					
Antropometría <sup>3</sup>	X	X	X	X	X	X
Ultrasonografía	X			X	X	X
Evaluación de la fibrosis hepática <sup>4</sup>	X			X	X	X
Resonancia magnética	X			X	X	X
Evaluación dietética <sup>5</sup>	X	X*	X*	X	X	X
Índice de resistencia a la insulina (HOMA-IR)	X			X	X	X
Cuestionario de Beck	X			X	X	X
Cuestionarios sobre calidad de vida y psicológicos <sup>6</sup>	X			X	X	X
Evaluación de la actividad física <sup>7</sup>	X	X <sup>#</sup>	X <sup>#</sup>	X	X	X
Medición de la presión arterial <sup>8</sup>	X	X	X	X	X	X
Electrocardiograma en reposo	X			X	X	X
Determinaciones de sangre al laboratorio	X			X	X	X
Colección de orina de la mañana <sup>9</sup>	X			X	X	X
Patrones de defecación y evaluación de heces <sup>10</sup>	X			X	X	X
Tratamientos concomitantes	X	X	X	X	X	X
Eventos adversos	X	X	X	X	X	X

<sup>1</sup>**Tiempo.** m: mes, 5%: el paciente ha alcanzado una pérdida del 5% de su peso inicial, 10%: el paciente ha alcanzado una pérdida del 10% de su peso inicial.

<sup>2</sup>**Datos iniciales:** consentimiento informado escrito para la prueba de ADN, datos demográficos del paciente, altura, información sobre el estilo de vida, estado civil, nivel educativo, situación laboral, capacidad reproductiva, antecedentes familiares, enfermedades previas y tratamientos anteriores.

<sup>3</sup>**Antropometría:** peso corporal, IMC, circunferencias de cintura, cadera y cuello y prueba de bioimpedancia.

<sup>4</sup>**Evaluación de fibrosis hepática:** determinada mediante medición de ondas de corte (UIB) o elastografía transitoria (UNAV).

<sup>5</sup>**Evaluación dietética:** cuestionario de frecuencia de alimentos y bebidas (FFQ de 148 ítems), cuestionario de adherencia a la MedDiet, diario alimentario de 72 horas. \*Solo el cuestionario de adherencia a la MedDiet.

<sup>6</sup>**Cuestionarios sobre calidad de vida y aspectos psicológicos:** SF-36, STAI (Inventario de Ansiedad Estado-Rasgo), VAS (Escala Visual Análoga), cuestionario de saciedad e Índice de Calidad del Sueño de Pittsburgh.

<sup>7</sup>**Evaluación de la actividad física:** Registro semanal de pasos, cuestionario de Minnesota, batería de prueba de ajuste ALPHA, y VO<sub>2</sub> máx. evaluado mediante la prueba de pasos de Chester. <sup>#</sup>Solo recuento semanal de pasos.

<sup>8</sup>**Medición de la presión arterial:** se determina el brazo con la presión más alta en la primera visita. Las mediciones siguientes se realizarán en el mismo brazo.

<sup>9</sup>**Recogida de orina matutina:** albúmina, creatinina, relación albúmina/creatinina.

<sup>10</sup>**Patrones de defecación y evaluación de heces:** cuestionario sobre el patrón de defecación y la escala de heces de Bristol, respectivamente.

## EVALUACIÓN DE ANTROPOMETRÍA

Dietistas profesionales capacitados realizaron mediciones antropométricas precisas y consistentes, quienes se sometieron a una capacitación idéntica y rigurosa para minimizar el impacto de los coeficientes de variación inter-observadores.

Todos los parámetros (peso y composición corporal, IMC, y la circunferencia de cintura, cadera y cuello) fueron tomados en cada visita, excepto la altura que sólo se tomó en el primera. Dichas medidas se tomaron por duplicado y con el participante ligero de ropa, descalzo y evitando el uso de algún complemento que pudiera enmascarar las mediciones. Las mediciones de altura se tomaron con un antropómetro móvil (Seca 214, SECA Deutschland, Hamburgo, Alemania), asegurando que la cabeza del paciente estuviera en la posición del plano horizontal de Frankfort. El peso y composición corporal, determinados sin zapatos, se evaluaron mediante un analizador de composición corporal segmental (Tanita BC-418, Tanita, Tokio, Japón), con una reducción de 0,6 kg por ropa ligera. A partir de ambas medidas, se calculó el IMC ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ).

Mientras los sujetos estaban de pie, se midió la circunferencia de su cintura, a medio camino entre la última costilla y la cresta ilíaca, la circunferencia de su cadera, en la línea horizontal más ancha de las caderas, y el cuello en la línea horizontal entre la mitad de la columna cervical y la mitad del cuello anterior.

## PRESIÓN SANGUÍNEA Y EVALUACIÓN BIOQUÍMICA

El equipo de enfermería midió por triplicado la presión arterial mientras el paciente estaba sentado, utilizando un oscilómetro semiautomático validado (Omron HEM, 750CP, Hoofdrop, Países Bajos). Además, se realizaron extracciones de muestras sanguíneas en ayunas y recolección de muestras de orina de la primera hora de la mañana y heces. Parte de las muestras fueron congeladas para análisis posteriores, especificados más adelante en la presente tesis doctoral, mientras que otras fueron enviadas al Hospital Universitari Son Espases (Palma) para realizar una analítica y obtener los siguientes parámetros: glucosa, hemoglobina glicosilada (HbA1c), insulina, hemoglobina corpuscular media y concentración de hemoglobina corpuscular media, triglicéridos, colesterol total, colesterol HDL y LDL, AST, ALT, GGT, PCR, bilirrubina directa y total, fosfatasa alcalina, albúmina, ácido úrico, creatinina, homocisteína total, hormona estimulante de las tiroides, tiempo de protrombina, calcio, cloro, ferritina, hierro,

potasio, sodio, transferrina y saturación de transferrina, urea, creatina fosfoquinasa, osmolaridad sérica, fibrinógeno, colesterol no-HDL, VLDL, tiroxina, hematocrito, recuento de eritrocitos, leucocitos, neutrófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos y basófilos.

### EVALUACIÓN DE IMÁGENES HEPÁTICAS

Las imágenes hepáticas fueron realizadas en el Hospital Juaneda Miramar (Palma) y fueron las siguientes:

#### Ecografía y medición de fibrosis (Elastografía)

La técnica de ultrasonografía evalúa el nivel de esteatosis hepática a través de la observación visual de la ecogenicidad del hígado, la comparación visual de la diferencia en la amplitud del eco entre el hígado y los riñones, y la determinación de la claridad de las estructuras vasculares hepáticas. La clasificación del hígado graso con esta técnica de imagen es la siguiente: grado 0 si es <5%, grado 1 si es 5-33%, grado 2 si es 33-66% y grado 3 si es >66% [288].

La evaluación de la fibrosis hepática se realizó mediante la medición de la rigidez del hígado usando el ecógrafo Arietta V70 (Hitachi Medical System Europe Holding AG, Steinhausen, Suiza) con una sonda convexa y software de medición de ondas de cizallamiento (SWM, por sus siglas en inglés). Para el SWM, el personal encargado colocó una región de interés en el parénquima hepático excluyendo los vasos sanguíneos. Luego, el impulso de ultrasonido generado por el ecógrafo produjo ondas de cizallamiento, cuya velocidad de propagación se convierte en una medida cuantitativa de la rigidez del tejido hepático, expresada en kPa. A mayor rigidez del hígado, mayor velocidad de propagación de las ondas de cizallamiento. Además, en la ecografía transitoria, se realizaron múltiples mediciones tras encontrar una sección hepática adecuada, libre de grandes vasos, hasta obtener un total de 10 mediciones válidas [289]. Finalmente, la fibrosis hepática se clasificó según la puntuación METAVIR: F0-F1 (sin fibrosis o fibrosis leve), F2 (fibrosis moderada > 6.44 kPa), F3 (fibrosis severa > 7.82 kPa) y F4 (cirrosis > 8.40 kPa) [290].

### Resonancia magnética nuclear

Se trata de una técnica no invasiva que permite cuantificar el porcentaje de grasa intrahepática media en cada individuo mediante una resonancia magnética abdominal (Signa Explorer 1,5 T, General Electric Healthcare, Chicago, Illinois, EE.UU.) utilizando una bobina de matriz en fase de 12 canales. La RMN se basa en el principio de la diferencia de frecuencia inherente entre la resonancia del grupo metilo en los lípidos y el agua. La disminución de la señal durante la prueba es proporcional a la cantidad de lípidos acumulados, lo que permite determinar la cantidad de grasa en el hígado en función del grado de pérdida de señal [291].

Según la clasificación de Tang, la EHGNA evaluada por RMN se clasifica en: inexistente o grado 0 si el porcentaje de grasa intrahepática es <6.4%, leve o grado 1 si está entre 6.4-17.4%, moderada o grado 2 si es >17.4-22.1% y severa o grado 3 si es >22.1% [292].

### EVALUACIÓN DIETÉTICA

La recogida de datos para la evaluación dietética la realizaron un equipo de dietistas-nutricionistas preparadas y entrenadas. Para la evaluación se realizaron 3 tipos de cuestionarios:

#### Recordatorio de 72h

Se trata de un cuestionario elaborado por las dietistas-nutricionistas en el cual los participantes antes de cada visita debían reportar todo lo ingerido los 3 días anteriores a esta. Debían anotar desde los tipos de alimentos que habían consumido, hasta su forma de cocción y el peso crudo o cocinado de estos, además de las bebidas.

#### Cuestionario de adherencia a la MedDiet

Se trata de un cuestionario de 17 ítems, originario del estudio PREDIMED, en el cual si el participante cumple con la ingesta establecida en cada ítem se le asigna 1 punto, de lo contrario 0 puntos. Una vez completado el cuestionario, el resultado final va de entre 0 a 17 puntos, siendo 0 ninguna adherencia a la MedDiet y 17 una adherencia total a la MedDiet [274].

### Cuestionario de frecuencia de alimentos y bebidas

Se trata de un cuestionario validado que recoge la ingesta dietética del último año a través de una lista extensa de 148 alimentos y bebidas con proporciones o cantidades determinadas [272]. En este cuestionario, se le pregunta al participante sobre la frecuencia de consumo de los 148 alimentos, desde "nunca o casi nunca" hasta "seis o más veces al día". A partir de esta información y mediante un programa informático basado en las tablas de composición de alimentos [273] se calcularon los macronutrientes (carbohidratos totales y fibra; grasa totales, grasas de origen vegetal y animal, AGM y AGP, AGS, colesterol; proteínas totales y proteínas de origen animal y vegetal; ingesta de alcohol y energía total) y los micronutrientes (fósforo, calcio, potasio, calcio, hierro, magnesio, selenio, vitaminas A, B1, B2, B3, B6, B12, C, D y E) ingeridos.

### EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD FÍSICA

La recogida de datos de las pruebas de evaluación de estado físico en cada visita fue llevada a cabo por personal entrenado a tal fin.

### Cuestionario Minnesota

El cuestionario Minnesota recoge la actividad realizada por los participantes en su tiempo libre y/o realizando tareas del hogar durante el último año [275,276]. Este se basa en un total de 63 actividades distintas divididas en 8 categorías específicas. En este cuestionario el participante indicó el promedio de veces al mes que realizaba cada una de esas actividades y su duración. A partir de estos datos se calculaba el gasto energético reportado expresado como equivalentes metabólicos de trabajo (MET) · min al día [293].

### Pruebas ALPHA-Fit

Mediante las pruebas de ALPHA-Fit [294] se evaluó la aptitud funcional de los participantes:

- Prueba de equilibrio: aguantar el propio peso corporal sobre una pierna el máximo de tiempo posible (máximo 1 minuto) sin ningún tipo de apoyo.
- Prueba de la fuerza de agarre y presión manual: apretar con la máxima fuerza un dinamómetro (Takei TTK 5401, Tokio, Japón, rango = 5-100 kg, precisión = 0.1 kg) con el brazo dominante y estando de pie y sentados.

- Prueba de salto: para conocer la potencia extensora de las extremidades inferiores.
- Prueba de estabilidad del tronco: número de flexiones realizadas correctamente en 40 segundos.

### Chester Step

A través de la prueba del Chester Step se midió la capacidad aeróbica máxima ( $VO_2$  máx) [295]. Esta prueba consiste en subir y bajar un escalón con una altura de 15 centímetros (Chester Step Test Single Step 15 cm Height, Cartwright Fitness Limited, Huntington, Chester CH3 6DF, Reino Unido) al ritmo marcado por un metrónomo durante 2 minutos, sin ningún tipo de apoyo. El personal tomaba la frecuencia cardíaca y aumentaba ligeramente el ritmo hasta que el propio participante indicaba que no podía continuar, hasta que completaban los 5 niveles establecidos o hasta que el pulsioxímetro marcaba alrededor del 80% de la frecuencia cardíaca máxima de cada participante. Posteriormente se calculaba la  $VO_2$  máx a través de un programa informático del Chester Step introduciendo la edad, sexo y los datos de frecuencia cardíaca obtenidos durante la prueba.



## 4. RECOGIDA Y PROCESAMIENTO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS

---

Las muestras biológicas de los diferentes proyectos de investigación fueron recolectadas por nuestro equipo de enfermería. Los participantes trajeron de casa la primera orina del día, recolectada tras 12 horas de ayuno nocturno, y muestras de heces en recipientes esterilizados específicos. En enfermería se realizó la extracción de sangre. Las muestras de sangre venosa se obtuvieron tras 12 horas de ayuno en la vena antecubital, usando varios vacutainers apropiados, con y sin EDTA como anticoagulante. Parte de la muestra de orina se trasvasó a otro tubo para su análisis. Posteriormente, estas muestras se dividieron entre el Hospital Universitario Son Espases (HUSE) y la UIB según las necesidades.

En el HUSE se realizaron los análisis clínicos de estas muestras biológicas. Los análisis hematológicos se realizaron a partir de los vacutainers con EDTA, mientras que los análisis bioquímicos se realizaron con los vacutainers sin anticoagulante. A partir de la orina recibida se determinaron los niveles de albúmina y creatinina.

Esta Tesis Doctoral corresponde al equipo de laboratorio de la UIB, que se ha encargado específicamente de procesar las muestras de sangre venosa, orina y heces, tanto en el proyecto FLIPAN, que recolecta los tres tipos de muestras mencionadas, como en el proyecto PREDIMED-Plus, que no incluye recolección de heces.

En nuestro laboratorio, a partir de dos tubos de sangre con EDTA y dos sin coagulante, se realizó la separación de plasma y suero, respectivamente. Los tubos de sangre fresca se centrifugaron a 1700xg durante 15 minutos a 18°C.

Además, a partir de otros dos tubos de sangre con EDTA se realizó la extracción de PBMCs para el proyecto FLIPAN, y de PBMCs y neutrófilos para el proyecto PREDIMED-Plus. Se siguió un protocolo de separación de glóbulos blancos basado en una centrifugación en gradiente de densidad, utilizando 4 mL del reactivo Ficoll-Paque PLUS. De cada participante se guardaron tres alícuotas de PBMCs y tres de neutrófilos. Una alícuota se trató con Tripure® para aislar ARN y realizar determinaciones genéticas mediante la transcripción inversa-reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR). Otra alícuota, de PBMCs y neutrófilos, se almacenó con RIPA 1x para posteriores

determinaciones por *Western Blot*. La última alícuota se recogió sin aditivos para su posterior resuspensión con agua miliQ y determinaciones de actividades enzimáticas y MDA en PBMCs y neutrófilos. El mismo día de la extracción, se midió la producción de ROS en PBMCs y neutrófilos mediante un método fluorimétrico, estimulándolos con zymosan o lipopolisacárido (LPS).

Las muestras de orina de ambos proyectos fueron alicuotadas y almacenadas para sus posteriores análisis. Las muestras de heces del proyecto FLIPAN fueron alicuotadas y almacenadas para la extracción de ADN y secuenciación masiva, con el fin de determinar los microorganismos presentes en la microbiota.

Al tratarse de dos proyectos nacionales colaborativos con otras universidades del país, parte de las muestras obtenidas se enviaron a diferentes nodos receptores. Las muestras almacenadas en el laboratorio de la UIB se conservaron con el objetivo de realizar determinaciones de marcadores de estrés oxidativo e inflamación, que se detallarán más adelante, siendo este el propósito de la presente Tesis Doctoral.

Una de las alícuotas de orina de los participantes del proyecto PREDIMED-Plus se envió y analizó en el Copenhagen University Hospital, con la colaboración del Dr. Henrik E. Poulsen, para la determinación de marcadores específicos de daño en ácidos nucleicos.

Todas las muestras se almacenaron en ultracongeladores a  $-80^{\circ}\text{C}$  y se organizaron en racks, siguiendo un registro informático riguroso hasta el momento de las determinaciones, que se explicarán a continuación.

## 5. DETERMINACIONES EN EL LABORATORIO

---

En la presente Tesis Doctoral se han analizado diferentes biomarcadores de estrés oxidativo e inflamación en muestras de plasma, suero, orina, PBMCs y neutrófilos, además de determinar la microbiota en las heces de los participantes.

### 5.1. BIOMARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO

Para determinar los diferentes biomarcadores de estrés oxidativo en las muestras biológicas recogidas en los diferentes proyectos se utilizaron varias técnicas bien establecidas en nuestro laboratorio.

#### DETERMINACIONES DE ANTIOXIDANTES

Todas las determinaciones de antioxidantes se evaluaron utilizando un espectrofotómetro Shimadzu UV-2100 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japón) a 37°C. La actividad de la CAT se determinó en plasma y eritrocitos mediante el método espectrofotométrico descrito por Aebi que monitorea la descomposición de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [296]. La actividad de la SOD se determinó en plasma y eritrocitos siguiendo el método desarrollado por McCord y Fridovich [297]. La actividad de la MPO se midió en plasma utilizando guaiacol como sustrato monitoreando la formación de productos de polimerización de guaiacol oxidado a 470 nm [298]. La actividad de la GPx se evaluó en eritrocitos a 339 nm utilizando una adaptación del método Flohé y Günzler [299]. La actividad de la GRd se midió en eritrocitos a 339 nm utilizando una adaptación del método Goldberg y Spooner [300]. El GSH se cuantificó en eritrocitos a 412 nm empleando el método de Tietze [301], que implica la desproteinización de muestras, la neutralización antes de la reducción de DTNB y la referencia a una curva de calibración construida con glutatión estándar.

#### ENSAYO DE MALONDIALDEHÍDO

Los niveles de MDA, como biomarcador de peroxidación lipídica, se determinó en plasma, suero y en orina de todos los participantes mediante un kit de ensayo colorimétrico específico (Sigma-Aldrich Merck®, St. Louis, MO, EE.UU.) siguiendo las instrucciones del fabricante. El método se basa en la reacción de MDA con n-metil-2-fenilindol, generando un cromóforo estable. Los estándares y las muestras se introdujeron en *eppendorfs* que contenían n-metil-2-fenilindol en una mezcla de

metanol:acetonitrilo (1:3). Se agregaron 75 µL de HCl (12 N) y las muestras se incubaron durante 60 minutos a 45°C. Después de eso, se midió la absorbancia a 586 nm (Epoch, BioTek® Instruments GmbH, Bad Friedrichshall, Alemania) y se calculó la concentración de MDA con una curva estándar de concentraciones conocidas.

### DAÑO EN ÁCIDOS NUCLEICOS

Las concentraciones urinarias de 8-oxo-7,8-dihidroguanosina (8-oxodG) y 8-oxo-7,8-dihidroguanosina (8-oxoGuo), como biomarcadores de daño oxidativo en ADN y ARN, respectivamente, se analizaron en el Copenhagen University Hospital en colaboración con el Dr. Henrik E. Poulsen. El análisis se realizó mediante cromatografía líquida de ultra rendimiento junto con espectrometría de masas en tándem (UPLC-MS/MS; Waters, Milford, MA, EE.UU.), siguiendo protocolos previamente descritos [133,134,302].

### DETERMINACIÓN DE GRUPOS CARBONILOS

En primer lugar, se determinaron los niveles de proteína total de las muestras de plasma y suero utilizando un reactivo comercial de Bradford (Merck Life Science S.L.U., Madrid, España). Posteriormente, mediante un kit de inmunotransferencia de proteína carbonilo OxiSelect™ (CELL BIOLABS®, San José, CA, EE.UU.) se determinaron los derivados de proteína carbonilo siguiendo las pautas de uso proporcionadas por el fabricante. De forma breve, siguiendo el método de transferencia puntual (Bio-Rad, Hercules, CA, EE.UU.), se transfirieron 10 µg de proteína a una membrana de nitrocelulosa, que se incubó con 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH). La membrana se incubó con el anticuerpo primario específico de DNPH (1:1000) y luego se incubó con el anticuerpo secundario IgG anticonejo de cabra (1:5000). Después de eso, el desarrollo de la inmunotransferencia se llevó a cabo utilizando un kit de quimioluminiscencia mejorado (reactivo del kit Immun-Star Western C, Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, EE.UU.). Mediante el programa de análisis de imágenes, *Quantity One* (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, EE.UU.), se cuantificaron las bandas de carbonilo de proteína.

### PRODUCCIÓN DE ROS EN PBMCS Y NEUTRÓFILOS

La producción de ROS por PBMCS y neutrófilos se midió después de la activación con Zymosan A (1 mg/mL PBS) de *Scaccharmoyces cervisiae* (Sigma-Aldrich) y lipopolisacárido (LPS) de *Escherichia coli* (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE.UU.). Se

introdujeron suspensiones celulares ( $6 \times 10^5$  células) en una microplaca de 96 pocillos que contenía LPS preparado en 2 mM en solución salina tampón fosfato, pH 7,4. Luego, se añadió a todos los pocillos la sonda permeable a las células diacetato de 2,7-diclorofluoresceína (DCFH-DA, 61,6  $\mu$ M en medio de sales equilibradas de Hanks) como indicador. La fluorescencia (Ex, 480 nm; Em, 530 nm) se registró durante 1 h a 37°C en un lector de fluorescencia de microplacas FLx800 (Biotek Instruments, Inc., Winuschi, VT, EE.UU.).

### EXPRESIÓN DE GENES

La extracción de ARN de PBMCs se llevó a cabo utilizando Tripure® (Tripure Isolation Reagent, Roche Diagnostics, Mannheim, Alemania). Después, 1  $\mu$ g de ARN por muestra se sometió a transcripción inversa utilizando TaqMan Reverse Transcription Reagents (Life Technologies®, Vall Allen Way Carlsbad, CA, USA) a 42°C durante 60 min, seguido de 5 min a 99°C, en un volumen final de 10  $\mu$ L, según instrucciones del fabricante. Se amplificó un total de 3  $\mu$ L del ADNc resultante utilizando Light-Cycler® 480 SYBR® Green I Master (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemania). Los ADNc diana se amplificaron usando LightCycler® 96 durante 45 ciclos después de un paso de desnaturalización inicial de 10 minutos a 95°C. Se empleó PCR en tiempo real para medir la expresión de ARNm de CAT, superóxido dismutasa de manganeso (MnSOD) y el receptor tipo Toll 4 (TLR4), utilizando ARN ribosómico 18S humano como gen de referencia. En la **Tabla 7** hay los cebadores y condiciones utilizadas para la amplificación de cada gen.

### NIVELES PROTEICOS DE ENZIMAS PROOXIDANTES

Los niveles plasmáticos de XOD y MPO se determinaron utilizando los kits ELISA (Cusabio® Technology Llc, Houston, TX, EE.UU.) siguiendo las pautas establecidas en los propios protocolos.

### NIVELES DE LIPOPROTEÍNAS DE BAJA DENSIDAD OXIDADAS

Los niveles de lipoproteínas de baja densidad oxidadas (oxLDL) se determinaron en plasma mediante un kit ELISA (FineTest®, Wuhan, China), siguiendo el procedimiento establecido por el fabricante.

**Tabla 7.** Cebadores y condiciones utilizadas en PCR en tiempo real.

Gen	Cebador	Condiciones	
18S	Fw: 5'-ATgTgAAgTCACTgTgCCAg	95°C	10 s
	Rv: 5'-gTgTAATCCgTCTCCACAgA	60°C	10 s
		72°C	15 s
CAT	Fw: 5'-TTTggCTACTTTgAggTCAC	95°C	10 s
	Rv: 5'-TCCCCATTTgCATTAAACCAg	60°C	10 s
		72°C	15 s
MnSOD	Fw: 5'- CgTgCTCCCACACATCAATC	95°C	10 s
	Rv: 5'- TgAACgTCACCgAggAgAAg	60°C	10 s
		72°C	12 s
TLR4	Fw: 5'-ggTCACCTTTTCTTgATTCCA	95°C	10 s
	Rv: 5'-TCAgAggTCCATCAAACATCAC	60°C	10 s
		72°C	15 s
GPx	Fw: 5'-TTCCCgggCAACCAgTTTg	95°C	10 s
	Rv: 5'-TTCACCTCTCACTTCTCgAA	63°C	10 s
		72°C	15 s
GRd	Fw: 5'-TCACgCagTTACCAAAAaggAAA	95°C	10 s
	Rv: 5'-CACACCAAgtCCCCTgCATAT	63°C	10 s
		72°C	15 s

## DETERMINACIÓN DE POLIFENOLAS

El contenido de polifenoles totales en muestras de plasma y orina se evaluó mediante la técnica de Folin-Ciocalteu en los sobrenadantes de muestras desproteinizadas con acetona fría (1:1,2) y L-tirosina como referencia. Una vez que comenzó la reacción, se dejó reposar durante 1,5 horas antes de medir la absorbancia a 760 nm usando un espectrofotómetro de microplacas (Epoch, BioTek® Instruments GmbH, Bad Friedrichshall, Alemania). Posteriormente se calculó la concentración de polifenoles a partir de la curva estándar de L-tirosina para su cuantificación.

## 5.2. BIOMARCADORES DE INFLAMACIÓN

Para la determinación de biomarcadores relacionados con la inflamación, se emplearon kits de enzimoanálisis de absorción (ELISA) en modalidades sándwich, directos y competitivos, en una única determinación a una absorbancia de 540 nm (Epoch, BioTek® Instruments GmbH, Bad Friedrichshall, Alemania). Así como Ensayos Multiplex utilizando la tecnología de multiplexación basada en perlas utilizando

el instrumento Luminex MAGPIX® (Millipore). Todos los kits de se realizaron siguiendo las instrucciones de uso del fabricante.

A continuación, se especifican los marcadores evaluados según el proyecto de investigación.

### PROYECTO PREDIMED-PLUS

Los niveles de IL-1 $\beta$  y MCP-1 se midieron en plasma utilizando kits ELISA específicos (RayBiotech®, Parkway Lane, Suite, Norcross, GA, EE.UU.)

Los niveles de TNF $\alpha$  se determinaron en plasma mediante un kit ELISA (Diacclone, Besancon CEDEX, Francia).

Los niveles de grelina, leptina, resistina, IL-6, IL-15 e INF- $\gamma$  se determinaron en plasma utilizando Human Custom ProcartaPlex™ (Invitrogen de Thermo Fisher Scientific, Bender MedSystems GmbH, Viena, Austria).

### PROYECTO LIKIDI

Se midieron simultáneamente los niveles de TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-1ra, IL-6, MCP-1 y leptina en suero con tecnología de multiplexación basada en perlas utilizando el instrumento Luminex MAGPIX® (Millipore). Las determinaciones se realizaron utilizando Human Custom ProcartaPlex™ (Invitrogen de Thermo Fisher Scientific, Bender MedSystems GmbH, Viena, Austria) siguiendo las instrucciones del fabricante.

### PROYECTO FLIPAN

Los niveles plasmáticos de zonulina se midieron utilizando kits ELISA (Cusabio® Technology Llc, Houston, TX, EE.UU.).

Los niveles de RvD1 se midieron en plasma utilizando un kit ELISA (Cayman Chemical®, Ann Arbor, MI, EE.UU.).

Los niveles de CK-18 también se midieron en plasma utilizando un kit ELISA M30 Apoptoense® (VLVbio AB, Nacka, Suecia) en el que las unidades medidas se definen frente a un antígeno nativo y se calibra frente a un estándar de proteína recombinante que 1 U/L = 1,24 pM.

Los niveles plasmáticos de EDA se determinaron utilizando un kit ELISA (Assay Genie, Dublín, Irlanda).

Los niveles de quemerina y omentina se midieron en plasma y suero respectivamente utilizando kits ELISA (Abcam®, Países Bajos, Ámsterdam).

Las concentraciones de endotoxina se midieron en plasma mediante un kit Endotoxin disponible comercialmente (Abbexa Ltd., Cambridge Science Park, Cambridge, Reino Unido).

Los niveles de IL-18 y TGF- $\beta$ 1 se determinaron en plasma utilizando el kit ELISA de IL-18 humano (Elabscience®, Elabscience Biotechnology, Houston, TX, EE.UU.) y el kit ELISA de TGF- $\beta$ 1 humano (Elabscience®, Elabscience Biotechnology, Houston, TX, EE.UU.) respectivamente.

Los niveles de IL-1 $\beta$ , IL-1ra, IL-6, MCP-1, TNF $\alpha$  y leptina se determinaron en plasma utilizando Human Custom ProcartaPlex™ (Invitrogen de Thermo Fisher Scientific, Bender MedSystems GmbH, Viena, Austria).

Los niveles de CysC, NGAL y alfa1-microglobulina ( $\alpha$ 1m) se determinaron en orina utilizando los paneles Human Custom Procarta-Plex™ Human, NHP y Canine Mix & Match (Invitrogen de Thermo Fisher Scientific, Bender MedSystems GmbH, Viena, Austria).

### 5.3. DETERMINACIÓN DE LA MICROBIOTA

Los microorganismos presentes en la microbiota de diferentes participantes del proyecto FLIPAN a nivel basal y a los 24 meses de la intervención en estilo de vida mediante la extracción de ADN presente en heces y su posterior amplificación con PCR.

El ADN total se extrajo de 500 mg de heces de cada participante utilizando el Kit FastDNA® SPIN (MP Biomedicals), siguiendo las indicaciones del fabricante. El ADN extraído se cuantificó utilizando un espectrofotómetro y la placa Take3 (Epoch, BioTek® Instruments GmbH, Bad Friedrichshall, Alemania) y luego se almacenó a -20 °C.

El gen 16S rRNA se amplificó utilizando el par de primers 515F (5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3') y 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'), diseñados específicamente para amplificar tanto Bacteria como Archaea mediante secuenciación de la comunidad 16S de extremos emparejados en la plataforma Illumina para incorporar etiquetas [303]. La calidad del amplicón se verificó con el fluorímetro Qubit



4.0 y se secuenció mediante la tecnología Illumina Miseq™ en Macrogen Inc. (Seúl, República de Corea).

Las lecturas emparejadas de Illumina se recortaron utilizando QIIME2 v2-2020.2 [304] con los parámetros p-trunc-len-f 280, p-trunc-len-r 220, p-trim-left-f 19 y p-trim-left-r 22. Las variantes de secuencia de amplicón (ASVs, del inglés amplicon sequence variants) se obtuvieron utilizando el paquete DADA2 R [305] implementado en el entorno QIIME2. La secuencia más larga de cada ASV se consideró como representativa y se alineó utilizando la herramienta SINA [306] implementada en el programa ARB [307]. Las ASVs representativas se insertaron por parsimonia en la base de datos no redundante SILVA REF 138.1 [308]. Como se ha recomendado previamente [309–313], los ASV se agruparon en unidades filogenéticas operacionales (OPUs, del inglés *operational phylogenetic units*), que son equivalentes a las especies [310,314].

## 5.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todos los datos se analizaron con el programa informático *Statistical Package for Social Sciences* v.29 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). La normalidad de las variables cuantitativas fue evaluada mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Entonces se expresaron como media y desviación estándar (SD) o error estándar (SEM). Las variables cualitativas se expresaron como número de participantes (n) y porcentaje (%). El nivel de significación aceptado en todas las pruebas estadísticas fue de  $P \leq 0.05$ .

### ANÁLISIS TRANSVERSAL

En las variables con distribución normal, las diferencias entre las medias de dos grupos fueron evaluadas mediante la prueba t de *Student* para datos desapareados para determinar la importancia de los datos. Se realizó un análisis de covarianza bidireccional (ANCOVA) previo ajuste por la intervención (dieta y actividad física) en el caso de comparar tres o más grupos, realizando un análisis *post hoc* de *Bonferroni*. En las variables con una distribución anormal, las diferencias entre las medias de dos grupos fueron evaluadas mediante la prueba U de Mann-Whitney. Mientras que si se trataba de tres o más se realizó la prueba de Kruskal-Wallis, realizando un análisis *post hoc* de *Bonferroni*. Para las variables cualitativas se utilizó la prueba estadística  $\chi^2$ .

## ANÁLISIS LONGITUDINAL

Al seguir las variables una distribución normal, el análisis estadístico aplicado para estudiar los cambios ocurridos entre los diferentes tiempos de estudio fue el ANCOVA de medidas repetidas de dos factores, a través del Modelo Lineal Generalizado y ajustando el análisis por diferentes factores según el estudio (edad, sexo, grupo intervención). Todas las pruebas post-hoc se ajustaron por Bonferroni, tanto en las comparaciones intra-grupos como en las inter-grupos.

Únicamente los datos obtenidos de la microbiota fueron analizados con el programa informático RStudio por su mayor versatilidad en los análisis requeridos. La alfa-diversidad microbiana y las curvas de rarefacción se analizaron mediante R v.4.1.2 ([www.r-project.org](http://www.r-project.org)). La matriz de disimilitud de Bray-Curtis y el escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) basado en las abundancias relativas microbianas se realizaron utilizando el paquete vegan en R [315]. La abundancia diferencial de las OPUs entre grupos se evaluó mediante la herramienta LefSe v1.1.2 [316]. Se consideraron significativos los Análisis Discriminantes Lineales (LDA) con valores  $> 2$  y  $p < 0.05$ . Las correlaciones entre los niveles de cambios en IFC y la abundancia de géneros bacterianos se determinaron utilizando el paquete corr de R.

# RESULTADOS



## MANUSCRITO I

---

### **Inflammatory and Oxidative Stress Markers Related to Adherence to the Mediterranean Diet in Patients with Metabolic Syndrome.**

Quetglas-Llabrés MM, Monserrat-Mesquida M, Bouzas C, Gómez C, Mateos D, Ripoll-Vera T, Tur JA, Sureda A.

Antioxidants (Basel). 2022 May 1;11(5):901.

DOI: 10.3390/antiox11050901; PMID: 35624765; PMCID: PMC9137637.

Journal Impact Factor (2022): 7.0  
46/285 Biochemistry & Molecular Biology, Q1  
6/60 Chemistry, Medicinal, Q1  
13/142 Food Science & Technology, Q1

## MANUSCRITO II

---

### **Oxidative Stress and Inflammatory Biomarkers Are Related to High Intake of Ultra-Processed Food in Old Adults with Metabolic Syndrome.**

Quetglas-Llabrés MM, Monserrat-Mesquida M, Bouzas C, Mateos D, Ugarriza L, Gómez C, Tur JA, Sureda A.

Antioxidants (Basel). 2023 Jul 31;12(8):1532.

DOI: 10.3390/antiox12081532; PMID: 37627527; PMCID: PMC10451674.

Journal Impact Factor (2023): 6.0  
50/313 Biochemistry & Molecular Biology, Q1  
8/72 Chemistry, Medicinal, Q1  
20/173 Food Science & Technology, Q1

## MANUSCRITO III

---

### **Long-Term Impact of a 6-Year Nutritional and Lifestyle Intervention on Oxidative and Inflammatory Profiles in Patients with Metabolic Syndrome.**

Quetglas-Llabrés MM, Monserrat-Mesquida M, Bouzas C, García S, Mateos D, Ugarriza L, Gómez C, Sureda A, Tur JA.

Nutrients. 2024 Jul 3;16(13):2121.

DOI: 10.3390/nu16132121. PMID: 38999869; PMCID: PMC11243639.

Journal Impact Factor (2023): 4.8  
18/114 Nutrition & Dietetics, Q1

## MANUSCRITO IV

---

**Markers of inflammation predict the risk of developing chronic kidney disease in a high cardiovascular risk population: a nested case-control study.**

Quetglas-Llabrés MM, Monserrat-Mesquida M, Bouzas C, Díaz-López A, Toledo E, Abete I, Cornejo-Pareja I, Martinez-Gonzalez MA, Martínez JA, Tinahones FJ, Salas-Salvadó J, Tur JA, Sureda A.

(Submitted article)



## MANUSCRITO V

---

**Mediterranean Diet Improves Plasma Biomarkers Related to Oxidative Stress and Inflammatory Process in Patients with Non-Alcoholic Fatty Liver Disease.**

Quetglas-Llabrés MM, Monserrat-Mesquida M, Bouzas C, Llompart I, Mateos D, Casares M, Ugarriza L, Martínez JA, Tur JA, Sureda A.

Antioxidants (Basel). 2023 Mar 29;12(4):833.

DOI: 10.3390/antiox12040833; PMID: 37107208; PMCID: PMC10134978.

Journal Impact Factor (2023): 6.0  
50/313 Biochemistry & Molecular Biology, Q1  
8/72 Chemistry, Medicinal, Q1  
20/173 Food Science & Technology, Q1

## MANUSCRITO VI

---

### **Impact of Adherence to the Mediterranean Diet on Antioxidant Status and Metabolic Parameters in NAFLD Patients: A 24-Month Lifestyle Intervention Study.**

Quetglas-Llabrés MM, Monserrat-Mesquida M, Bouzas C, García S, Argelich E, Casares M, Ugarriza L, Llupart I, Tur JA, Sureda A.

Antioxidants (Basel). 2024 Apr 17;13(4):480.

DOI: 10.3390/antiox13040480. PMID: 38671927; PMCID: PMC11047536.

Journal Impact Factor (2023): 6.0  
50/313 Biochemistry & Molecular Biology, Q1  
8/72 Chemistry, Medicinal, Q1  
20/173 Food Science & Technology, Q1.

## **MANUSCRITO VII**

---

**Effects of a Two-Year Lifestyle Intervention on Intrahepatic Fat Reduction and Microbiota in MAFLD patients.**

Quetglas-Llabrés MM, Bustos-Caparros E, Bouzas C, Monserrat-Mesquida M, García S, Mateos D, Casares M, Ugarriza L, Llompart I, Rossello-Mora R, Sureda A, Tur JA.

(Submitted article)

## MANUSCRITO VIII

---

**Effects of a Two-Year Lifestyle Intervention on Intrahepatic Fat Reduction and Renal Health: Mitigation of Inflammation and Oxidative Stress, a Randomized Trial.**

Quetglas-Llabrés MM, Monserrat-Mesquida M, Bouzas C, García S, Mateos D, Casares M, Gómez C, Ugarriza L, Tur JA, Sureda A.

Antioxidants (Basel). Jun 21;13(7):754.

DOI: 10.3390/antiox13070754. PMID: 39061823; PMCID: PMC11273830.

Journal Impact Factor (2023): 6.0  
50/313 Biochemistry & Molecular Biology, Q1  
8/72 Chemistry, Medicinal, Q1  
20/173 Food Science & Technology, Q1

# RECAPITULACIÓN



La obesidad, reconocida como una pandemia global [24], se ha asociado con un estado crónico de inflamación que puede contribuir al desarrollo de comorbilidades como las ECV, el SMet y la MAFLD [30]. El aumento de la prevalencia de estas condiciones se debe, en gran parte, a un estilo de vida cada vez más sedentario [244] y a hábitos alimentarios poco saludables [222]. En este contexto, la adopción / recuperación de un patrón de MedDiet [230–232] y la práctica regular y moderada de actividad física [252,253] se han propuesto como estrategias efectivas para mejorar y prevenir la obesidad y sus complicaciones asociadas.

## 1. POBLACIÓN CON SMET

---

### 1.1. ADHERENCIA A LA MEDDIET EN UNA POBLACIÓN CON SMET

El estudio transversal que se llevó a cabo en una población con SMet mostró que aquellos participantes con una mayor adherencia a la MedDiet presentaban mejores parámetros antropométricos y bioquímicos, así como un mejor estado oxidativo e inflamatorio. En contraste, los pacientes con baja adherencia a la MedDiet tenían mayor peso corporal, niveles de HbA1c y triglicéridos, y menor colesterol HDL, lo cual está asociado con un estado nutricional desequilibrado y puede llevar al desarrollo de DMT2 si no se revierte [252].

Seguir una MedDiet se ha relacionado con una mejoría en el perfil glucémico y lipídico, mayor ingesta de ácidos grasos  $\omega$ -9, vitamina E, zinc y selenio, y menores niveles de AGS [317], así como mayor concentración de colesterol HDL y niveles más bajos de triglicéridos [318]. Aunque los pacientes con alta adherencia a la MedDiet mostraron un perfil inflamatorio más bajo, no se observaron diferencias significativas en los niveles plasmáticos de polifenoles debido, probablemente, a su rápida metabolización y excreción [319]. Sin embargo, la concentración de polifenoles/creatinina en orina fue significativamente mayor en estos pacientes, en concordancia con estudios previos, sugiriendo una mayor ingesta y, por lo tanto, una mayor capacidad de actuar como antioxidantes [320–323].

No se observaron diferencias significativas en las células inmunitarias sanguíneas entre ambos grupos, lo que sugiere que la MedDiet no influye significativamente en el

número de estas células en pacientes con SMet a pesar de tener efectos protectores frente a la ECV y la obesidad [237]. No obstante, las células inmunes en pacientes con menor adherencia a la MedDiet mostraron una mayor capacidad para producir ROS al ser estimuladas, indicando que se encuentran un estado preactivación más elevado respondiendo antes y de una forma más intensa [150]. Un estudio previo evidenció que el aumento de la producción de ROS por parte de las células inmunitarias está relacionado con un mayor IMC, lo cual favorece el estrés oxidativo y la inflamación en obesos [150]. Suplementar la dieta con arándanos o AOVE, ricos en compuestos bioactivos, ha demostrado reducir la producción de ROS [324] y la actividad de la MPO [325] respectivamente, disminuyendo el estado prooxidativo en estos pacientes.

Las enzimas prooxidantes como la XOD pueden generar ROS en los vasos sanguíneos, contribuyendo a la inflamación y daño tisular [326]. Los niveles de XOD, vinculada con la disfunción endotelial, la ECV y el SMet, se encuentra más elevada en sujetos con SMet comparado con sujetos sanos [326]. Además, los pacientes con mayor adherencia a la MedDiet mostraron niveles más bajos de XOD, lo que podría reflejar los efectos beneficiosos de esta dieta sobre los componentes del SMet. De forma adicional, en un estudio previo, se ha observado una disminución en la XOD tras una intervención nutricional de cinco años con MedDiet suplementada con AOVE o nueces [327].

Además, aquellos pacientes con una mayor adherencia a la MedDiet presentaron menor actividad de las enzimas antioxidantes CAT y SOD en plasma. Estos hallazgos concuerdan con estudios previos que evidenciaron que niveles elevados de ROS pueden reducir la actividad de enzimas antioxidantes contribuyendo a un mayor estado prooxidativo [328,329]. Esta diferencia podría explicarse porque una dieta de mejor calidad aumenta los niveles de antioxidantes exógenos en plasma, además de tener un perfil antiinflamatorio [330]. Los niveles de MDA tanto en plasma como en orina, así como los niveles de 8oxoGuo/creatinina y 8oxodG/creatinina, no variaron según la adherencia a la MedDiet, lo que sugiere que los mecanismos de defensa antioxidante podrían ser suficientes para prevenir de incrementos en el daño oxidativo. Aunque no se observaron diferencias en otros marcadores de estrés oxidativo, sí que se han observado niveles plasmáticos más altos de MDA en personas con SMet [150].



En cuanto a las citoquinas circulantes, los pacientes con mayor adherencia a la MedDiet mostraron niveles más bajos de las citoquinas proinflamatorias clásicas como la IL-6 y TNF $\alpha$ . También se observaron niveles más bajos de IL-1 $\beta$  y IL-15 en este grupo, ambas relacionadas con vías proinflamatorias y un estado de inflamación crónica [183,331]. Estos resultados coinciden con estudios que demuestran que una dieta rica en ácidos grasos  $\omega$ -3, como la MedDiet, reduce la síntesis de estas citoquinas favoreciendo un ambiente antiinflamatorio [332,333]. Estudios anteriores han asociado una baja adherencia a la MedDiet con niveles más altos de marcadores inflamatorios como TNF $\alpha$ , inhibidor del activador del plasminógeno 1 (PAI-1) y PCR [334]. Además, la pérdida de peso mediante la MedDiet se relaciona con la reducción de citoquinas inflamatorias, sugiriendo que una mejor calidad y reducción en la cintura son cruciales para disminuir el riesgo de inflamación y enfermedades asociadas [335,336]. En cambio, no se encontraron diferencias en las citoquinas MCP-1 e INF- $\gamma$ , aunque estudios previos han demostrado que intervenciones nutricionales prolongadas pueden también reducirlas [331].

Respecto a las hormonas que regulan el balance energético, solo se observaron diferencias en la grelina, una hormona relacionada con el control del apetito [337]. La grelina también está implicada en la regulación de la respuesta de los PBMCs a los nutrientes y podría ayudar a explicar la reducción de la inflamación observada en dietas enriquecidas con AGP  $\omega$ -3 [338]. Los pacientes con mayor adherencia a la MedDiet presentaban menores concentraciones de grelina, posiblemente debido al carácter saciante de esta dieta [339]. No se encontraron diferencias significativas en los niveles de resistina y leptina, aunque la resistina se asocia con inflamación [192] y resistencia a la insulina [191]. Los resultados sugieren que la adherencia a la MedDiet mejora diversos parámetros metabólicos y reduce la inflamación, pero no parece afectar significativamente los niveles de resistina en pacientes con SMet. Del mismo modo, la MedDiet no parece tener un impacto significativo en los niveles de leptina ni en la relación leptina-adiponectina [340].

Finalmente, se observa una correlación inversa entre la adherencia a la MedDiet y varios parámetros clínicos, como el peso, la obesidad abdominal, los niveles de HbA1c y triglicéridos, lo que indica que una mayor adherencia se asocia con un mejor perfil

antropométrico y bioquímico, así como con una menor inflamación y estrés oxidativo [341,342].

## 1.2. EFECTOS DEL CONSUMO DE UPFS UNA POBLACIÓN CON SMET

En la misma población con SMet se realizó un estudio transversal que mostró como los participantes del grupo que presentaba una ingesta de UPFs superior al 10% de la ingesta calórica total exhibían un estado más prooxidante y proinflamatorio sin diferencias en sus parámetros antropométricos y perfil bioquímico. De hechos, hay estudios que muestran como un consumo de más del 10% de UPFs se relaciona con un mayor riesgo de desarrollar ECV, accidentes cerebrovasculares, riesgo de cáncer e incluso mayores tasas de mortalidad [343,344].

Los participantes con alta ingesta de UPFs mostraron menor adherencia a la MedDiet y una menor calidad dietética en comparación con los que consumían menos UPF, siendo esto un indicador de una menor calidad de la dieta [345]. Además, un mayor consumo de UPF se asoció con un índice inflamatorio de la dieta más alto. Este hallazgo confirma resultados similares a los observados en un estudio previo que también encontró un aumento en los eventos cardiovasculares en pacientes con riesgo cardiometabólico [346].

El procesamiento de alimentos puede alterar sus características nutricionales y estructurales, afectando la salud y la saciedad debido a la incorporación de aditivos y potenciales contaminantes [347,348]. En este sentido, los participantes con un mayor consumo de UPFs tenían mayor ingesta de grasas saturadas y trans y menor ingesta de fibra [349]. Las diferencias en la calidad de la dieta entre consumidores de UPF alto y bajo también fueron evidentes al analizar los niveles urinarios de polifenoles. Así, aunque los niveles de polifenoles en plasma son similares entre consumidores de UPF alto y bajo probablemente debido a la rápida excreción urinaria de polifenoles [319], se observaron valores más altos en la orina de los consumidores de UPF bajo. La disminución en la ingesta de polifenoles con el alto consumo de UPFs sugiere una menor presencia de estos compuestos bioactivos en la dieta de los consumidores de UPFs al sustituir alimentos frescos como frutas y verduras por este tipo de alimento pobre en compuestos bioactivos [350].

Respecto al estado de oxidación, mientras que no se observaron diferencias en la ingesta de antioxidantes exógenos, sí hubo diferencias en los niveles de antioxidantes endógenos y componentes prooxidantes. En concreto, los mayores consumidores de UPF mostraron menor actividad de CAT y SOD, y mayores niveles de XO, lo que puede indicar un aumento en el estrés oxidativo debido a una mayor producción de ROS. La relación XO/SOD podría ser un biomarcador útil para evaluar el equilibrio entre ROS y mecanismos antioxidantes ya que están involucrados en la producción y eliminación de ROS, respectivamente, y su relación puede indicar el estado redox celular y el estrés oxidativo. Mientras que la relación SOD/CAT podría reflejar la capacidad de detoxificación de ROS debido a que SOD convierte el superóxido en  $H_2O_2$ , y CAT descompone este  $H_2O_2$  en  $H_2O$  y oxígeno. Por lo tanto, la relación entre estas dos enzimas puede proporcionar información sobre la eficacia del sistema antioxidante en la eliminación de peróxidos [123].

Los participantes con una mayor ingesta de UPFs mostraron una mayor producción de ROS en neutrófilos estimulados con Zym, aunque no con LPS. Zym y LPS son activadores microbianos que se unen a los TLR, receptores esenciales para la respuesta inmune innata. Cuando los neutrófilos se activan con LPS, interactúan con el TLR4, mientras que Zym se une a los TLR2/6 [351]. El aumento en la producción de ROS en los neutrófilos estimula la inflamación y puede alterar la función vascular, contribuyendo a enfermedades vasculares [352]. La diferencia observada en la respuesta a Zym sugiere que los consumidores de altas cantidades de UPF podrían tener un estado inmunológico más predispuesto a la inflamación, mediada por la vía TLR2/6. Esto podría estar relacionado con una mayor preactivación de las células inmunes, promoviendo un estado inflamatorio crónico [353]. Además, los SFA presentes en los UPFs pueden activar los TLR2 y TLR4, induciendo su dimerización y translocación en balsas lipídicas de la membrana plasmática, lo que puede fomentar una mayor respuesta inflamatoria. Por otro lado, los AGP, especialmente el ácido docosahexaenoico (DHA), tienden a inhibir esta activación [354]. Este mecanismo sugiere que una mayor ingesta de SFA, asociada con el alto consumo de UPF, podría contribuir a un estado de preactivación inmune y un aumento en la producción de ROS, exacerbando el estrés oxidativo y la inflamación. Aunque, hasta la fecha, no se ha establecido una relación entre la actividad de la MPO y

el consumo de UPFs, el presente estudio mostró una mayor actividad de esta enzima en los participantes con un mayor consumo de UPF. Por lo tanto, una alta ingesta de UPF, que podría desplazar la ingesta de alimentos saludables ricos en antioxidantes, podría estar relacionada con este aumento de la actividad MPO y puede ser una consecuencia del aumento del estado prooxidativo. En este sentido, el incremento en MPO podría ser consecuencia del estado de preactivación de neutrófilos asociados a una dieta de carácter más proinflamatorio o de la acción directa de componentes derivados del procesamiento de estos alimentos procesados que estimulan a estos neutrófilos.

El estudio mostró como los participantes con un mayor consumo de UPFs presentan niveles plasmáticos elevados de  $\text{TNF}\alpha$ , IL-6, IL-15 y leptina respecto al grupo de menor ingesta, lo que sugiere un mayor estado proinflamatorio. Este patrón inflamatorio se asocia con un riesgo duplicado de aterosclerosis coronaria subclínica [355]. La ingesta de UPFs está vinculada a dietas altas en calorías, azúcares y grasas saturadas, que elevan los niveles de IL-6 y  $\text{TNF}\alpha$ , asociados con disfunción endotelial [356–358]. Además, los altos niveles de leptina, relacionados con la resistencia a la insulina, disfunciones metabólicas y un estado proinflamatorio, también se observan en los participantes con una alta ingesta de UPF [359]. Los participantes con un alto consumo de UPFs mostraron también niveles elevados de IL-15, una citoquina asociada con diversas enfermedades cardiovasculares, como infarto de miocardio y aterosclerosis, la cual contribuye a la activación de células T y a la progresión de la enfermedad debido a sus propiedades proinflamatorias [183,360]. Sin embargo, no se encontraron diferencias en MCP-1 e IL-1 $\beta$ , corroborando hallazgos previos de niveles similares en consumidores altos y bajos de UPF [361].

### 1.3. EFECTOS DE UNA REDUCCIÓN DEL IMC DESPUÉS DE 6 AÑOS DE INTERVENCIÓN EN UNA POBLACIÓN CON SMET

Tras los estudios transversales, se evaluaron posteriormente los efectos a largo plazo de una intervención en el estilo de vida, basada en la MedDiet y la promoción de la actividad física, en pacientes con SMet dentro del proyecto PREDIMED-PLUS. Los dos grupos presentaron patrones de respuesta diferenciados: mientras unos lograron mantener e incluso mejorar su IMC, otros recuperaron parcial o completamente el peso

perdido a partir del tercer año. La prevención de la recuperación de peso es un desafío importante en el manejo de la obesidad, tal como han demostrado estudios previos [362,363]. De forma general, los participantes que redujeron su IMC también redujeron su WHtR, circunferencia de cadera y obesidad abdominal, alineándose con estudios que asocian la pérdida de peso con mejoras en los componentes del MetS [364,365]. Además, los resultados evidenciaron que aquellos que mantuvieron tras los seis años de intervención la reducción de su IMC lograron mejoras significativas en su perfil inflamatorio y oxidativo, así como en la circunferencia de cintura, cadera y otros indicadores de salud metabólica. En contraste, los participantes que no mantuvieron la reducción inicial del IMC presentaron un aumento en la presión arterial y niveles de monocitos, lo que sugiere un mayor riesgo cardiovascular.

La adherencia a la MedDiet fue clave para explicar la respuesta diferencial, ya que los participantes que lograron reducir su IMC mostraron una mayor adherencia a esta dieta y redujeron significativamente su ingesta calórica, lo que se asocia con mejores resultados a largo plazo en comparación con aquellos que solo siguieron la MedDiet sin reducción calórica [366,367]. Estos resultados enfatizan que cambios sostenidos en el comportamiento dietético, como una adherencia continua a una dieta equilibrada y control calórico, son cruciales para mejorar la composición corporal y los parámetros metabólicos a largo plazo. A pesar de que un estudio reciente no encontró diferencias significativas en la recuperación de peso relacionadas con la ingesta de carbohidratos, proteínas y fibra [368], nuestro estudio sugiere que la calidad y cantidad de carbohidratos consumidos y la mejora en la carga glucémica pueden tener un impacto significativo en el control del peso y la salud metabólica en pacientes con SMet a largo plazo [369].

Además de los cambios dietéticos, aquellos participantes que mejoraron su IMC también aumentaron su ingesta de ácidos grasos  $\omega$ -3, ácido fólico, fibra y vitamina C, y redujeron su ingesta de AGS, lo que podría contribuir a la mejora de la salud metabólica [317,370]. Estos participantes también aumentaron su ingesta de polifenoles, asociados con la reducción del riesgo de SMet [371] y la pérdida de peso en personas mayores [372]. En particular, aquellos que respondieron mejor a la intervención de 6 años ingirieron más flavonoides reduciendo así el riesgo de hipertensión y ECV. Los

flavonoides poseen efectos antioxidantes y antiinflamatorios, mejoran la función endotelial al aumentar la biodisponibilidad del óxido nítrico, lo que ejerce un potente efecto vasodilatador. Todo ello, en conjunto, puede mejorar la circulación y proteger el endotelio vascular, reduciendo la inflamación y el estrés oxidativo [373].

Se ha observado que los flavonoides, cuando se usan como suplementos durante 2 a 12 semanas, pueden mejorar varios parámetros metabólicos y reducir el riesgo de enfermedades asociadas con el SMet, aunque no afectan el peso corporal ni el IMC [374]. Sin embargo, nuestro estudio sugiere que una ingesta prolongada de flavonoides podría ser beneficiosa para la pérdida de peso, posiblemente porque su presencia abunda en alimentos ricos en fibra, saciantes y de baja carga energética. Además de los cambios dietéticos, los participantes que mejoraron su IMC también redujeron significativamente su tiempo sedentario y aumentaron su actividad física general, con una tendencia hacia actividades de intensidad ligera a moderadas, lo que coincide con la literatura sobre los beneficios del ejercicio en la reducción del IMC y la mejora de la salud metabólica [375–377].

Los participantes que redujeron su IMC mostraron una disminución en la producción de ROS en neutrófilos, la actividad plasmática de la MPO, y los niveles plasmáticos de MDA, mientras que los que aumentaron su IMC también aumentaron la actividad de CAT [378]. La inflamación provoca que los leucocitos produzcan y liberen al medio extracelular MPO, generando ROS cruciales para la defensa microbiana, aunque pueden acabar produciendo daño tisular si se libera en exceso [379]. Los niveles plasmáticos de MPO se han visto correlacionados inversamente con el peso, la circunferencia de la cintura, el IMC y la resistencia a la insulina [380]. Los niveles elevados de MDA pueden ser consecuencia de una actividad reducida de las enzimas antioxidantes, común en condiciones inflamatorias [329]. La mejora en los mecanismos antioxidantes tras la intervención nutricional probablemente contribuyó a la reducción de los niveles de MDA, posiblemente influenciada por la mayor presencia de polifenoles con propiedades antioxidantes, vinculados a una mejor adherencia a la MedDiet [381]. Además, muchos compuestos bioactivos son capaces de modular las vías de transducción de señales como la del Nrf2, fundamental para el mantenimiento redox celular a través de la estimulación de enzimas antioxidantes [382].

El estudio también reveló que una intervención prolongada con una MedDiet baja en calorías redujo significativamente la producción de ROS en neutrófilos estimulados, un hallazgo similar al observado en un estudio anterior de intervención de dos años. En dicho estudio, el grupo que siguió la intervención nutricional mostró una menor capacidad para producir ROS, posiblemente debido a mejores parámetros antropométricos y a un menor grado de activación de las células inmunitarias [383]. Esto es relevante, ya que la secreción de ROS en la sangre periférica, provocada por la acumulación de grasa en la obesidad, está implicada en la resistencia a la insulina, la disfunción de células  $\beta$  y ECV como la aterosclerosis y la hipertensión [384].

En cuanto a los biomarcadores inflamatorios, se observó que los que aumentaron su IMC experimentaron un aumento en MCP-1 y TNF $\alpha$ , indicativo de un mayor estado proinflamatorio, mientras que los que disminuyeron su IMC mostraron una disminución en IL-1 $\beta$  y MCP-1, lo que sugiere una reducción de la inflamación. IL-1 $\beta$ , asociado con la inflamación del tejido adiposo, empeora la señalización de la insulina y aumenta la lipólisis [385]. MCP-1, que promueve la infiltración de macrófagos y la resistencia a la insulina, también disminuyó con la pérdida de peso, mejorando los factores de riesgo cardiometabólico [386–388]. Aunque una intervención dietética puede reducir TNF $\alpha$ , el presente estudio mostró que el grupo que aumentó su IMC tuvieron un aumento en TNF $\alpha$ , mientras que el grupo que lo redujo no presentaron cambios significativos, lo que coincide con la tendencia de niveles elevados de TNF $\alpha$  en personas con mayor obesidad [150].

#### 1.4. PREDISPOSICIÓN DE LA POBLACIÓN CON SMET A LA ERC

Mediante el estudio LIKIDI -un estudio prospectivo de casos y controles anidados en personas mayores con sobrepeso/obesidad y SMet-, se evidenció que concentraciones plasmáticas más altas de marcadores proinflamatorios como IL-1 $\beta$ , IL-1ra, IL-6, TNF $\alpha$  y leptina al inicio del estudio se asociaron con un mayor riesgo de desarrollar ERC tras un año de seguimiento. También se observaron correlaciones significativas entre los biomarcadores inflamatorios y el marcador de estrés oxidativo MDA con UACR y eGFR (calculado con SCr y cyC). Estos resultados ponen en evidencia la implicación de procesos inflamatorios y oxidativos en la patogénesis de la ERC, que incluso son previos al propio desarrollo clínico de la disfunción renal.

Los sujetos que desarrollaron disfunción renal después de un año ya presentaban valores más bajos de eGFR al inicio del estudio, aunque se mantenían dentro de límites normales. Se calculó el eGFR usando creatinina sérica (eGFR-SCr), cistatina C (eGFR-cyC) y su combinación (eGFR-SCr-cyC), confirmando la superioridad de la ecuación CKD-EPI que incluye ambos marcadores para un diagnóstico más preciso [389].

El SMet es una patología caracterizada por un estado inflamatorio de bajo grado, que se manifiesta a través de alteraciones en citoquinas y adipocinas, y que puede desencadenar cascadas inflamatorias, afectando la función renal [58,152,390,391]. En este estudio, se observaron niveles más elevados de biomarcadores inflamatorios basales, como IL-1 $\beta$ , IL-1ra, IL-6, TNF $\alpha$  y leptina, en los casos comparados con los controles. No obstante, los marcadores de daño oxidativo, como el MDA y los grupos carbonilo, no mostraron diferencias significativas entre los grupos, lo que sugiere que no son suficientemente sensibles como marcadores tempranos de ERC.

El análisis bioquímico reveló que mayores niveles de albuminuria y peor función renal se asociaban con niveles más altos de citoquinas proinflamatorias y leptina, resultados alineados con los del estudio CRIC, el cual se centraba en la asociación entre la albuminuria, la función renal y el perfil de biomarcadores inflamatorios en pacientes con ERC y evidenció una relación significativa entre la progresión de dicha enfermedad y un estado inflamatorio elevado [392]. IL-1 $\beta$  e IL-1ra son las citoquinas que se correlacionaron más con los parámetros de función renal, seguida de la leptina, mientras que TNF $\alpha$  y el MDA únicamente mostraron correlaciones positivas con UACR. Se ha visto como la liberación de citoquinas como la IL-1 $\beta$  puede inducir inflamación y disfunción renal, mientras que el aumento simultáneo de IL-1ra refleja una respuesta antiinflamatoria [392–394]. Al igual que se asociaron a un mayor riesgo de ERC niveles elevados de IL-6 y TNF $\alpha$  [395–397]. La leptina mostró una asociación inversa con eGFR, sugiriendo que su aumento podría deberse a un aclaramiento renal reducido en la ERC, así como su posible contribución a la glomerulopatía relacionada con la obesidad [398]. El presente estudio destacó que en participantes que no presentaban ERC al inicio, el valor predictivo de los marcadores inflamatorios podría permitir una detección temprana de la enfermedad. Además, la creación de una puntuación compuesta a partir de los niveles de parámetros de inflamación y estrés oxidativo permitió una evaluación



más completa del riesgo de ERC independientemente de factores de riesgo tradicionales, como estilo de vida, diabetes y obesidad.

Los participantes que desarrollaron ERC tras un año de seguimiento presentaron un IMC basal más alto, lo que sugiere una asociación positiva entre sobrepeso/obesidad y ERC [399,400]. Aunque el SMet incrementa el riesgo de ERC independientemente del IMC, estos hallazgos apuntan a un efecto sinérgico entre ambos en la progresión de la ERC [59,401]. Los casos también mostraron niveles elevados de glucosa y HbA1c, con un 50,4% diagnosticados de DMT2, patología asociada al aumento del riesgo de ERC [402]. Además, la HbA1c alta se relaciona con la disminución de la TFG en el SMet, lo que enfatiza su papel predictivo en la disfunción renal [398,402,403].

## 2. POBLACIÓN CON MAFLD

---

Los resultados más destacados de este estudio son la mejoría de los parámetros antropométricos, bioquímicos, oxidativos e inflamatorios en pacientes con MAFLD diagnosticado por RMN tras 12 y 24 meses de intervención nutricional. Aunque los pacientes siguieron diferentes intervenciones nutricionales, los resultados fueron similares en los tres grupos. Por este motivo, y para profundizar en las posibles causas responsables de esta mejoría, se ha agrupado a los pacientes en función del grado de mejoría en la adherencia a la MedDiet o en el IFC entre el inicio del estudio y la intervención.

### 2.1. EFECTOS DE LA ADHERENCIA A LA MEDDIET DESPUÉS DE 12 Y 24 MESES DE INTERVENCIÓN EN UNA POBLACIÓN CON MAFLD.

En la presente tesis doctoral se han presentado dos estudios en los que se muestra cómo los participantes con MAFLD, que a los 12 y 24 meses se adhirieron más a la MedDiet, presentaron un mejor estado general de salud y en los marcadores de estrés oxidativo e inflamación en comparación con aquellos que lo hicieron en menor medida. Derivado de la promoción de un estilo de vida saludable, ambos grupos mostraron una mejoría en su condición física en comparación con el inicio del estudio, reflejada en un aumento de la capacidad aeróbica ( $VO_2$  máx) evaluada por el test de Chester. Sin

embargo, el grupo con mayor adherencia a la MedDiet mostró un incremento levemente superior respecto al grupo de menor adherencia.

Los efectos beneficiosos para la salud de la MedDiet se pueden atribuir a una combinación de factores como la baja densidad energética, una proporción equilibrada de ácidos grasos esenciales y saludables para el corazón, altas cantidades de fibra dietética y una variedad de compuestos bioactivos con propiedades antioxidantes y antiinflamatorias [404]. De hecho, muchos estudios han demostrado que los compuestos bioactivos dietéticos, como los polisacáridos, polifenoles, isoflavonas y alcaloides, son prometedores para mejorar la MAFLD y otros trastornos metabólicos, incluida la diabetes, el SMet y la menopausia [405,406]. Dado que la presente intervención se centra en promover la adherencia a la MedDiet, es plausible que los compuestos bioactivos presentes en ciertos alimentos consumidos por los participantes puedan haber contribuido a los efectos beneficiosos observados en la reducción del estrés oxidativo y otros biomarcadores relacionados con la MAFLD.

#### CAMBIOS EN EL ESTADO DE SALUD GENERAL

Los participantes con mayor adherencia a la MedDiet mostraron una reducción significativa del IFC después de 12 y 24 meses de intervención, mientras que los participantes que aumentaron su adherencia en menor medida, aunque también experimentaron una disminución del IFC, ésta no fue estadísticamente significativa. Además, se observó que hay una correlación inversa significativa entre la adherencia a la MedDiet y el porcentaje de IFC. De acuerdo con estudios previos, el IFC se ve reducido más en los participantes con alta adherencia a la MedDiet que en aquellos con baja adherencia [407,408]. El impacto de la MedDiet en MAFLD destaca el considerable potencial de este patrón dietético para mejorar los parámetros asociados con la gravedad de la patología [409]. Asimismo, la reducción del contenido de grasa hepática está relacionada con una disminución significativa de la lipogénesis de *novo* y un aumento de la  $\beta$ -oxidación, sin necesidad de una relación directa con la pérdida de peso o del IMC [410]. Igualmente, algunos estudios han demostrado una relación directa entre el entrenamiento físico y una reducción del IFC, ya que el ejercicio puede regular el metabolismo lipídico hepático, favoreciendo su movilización [411,412].

Al año, sólo los participantes con una adherencia a la MedDiet más alta consiguieron una pérdida de peso significativa y una reducción del IMC. Mientras que después de 2 años, todos los participantes mostraron reducción de peso, siendo mayor en aquellos con alta adherencia a la MedDiet. Estos resultados concuerdan con estudios previos que muestran que la MedDiet y el ejercicio favorecen la pérdida de peso [413,414]. Aunque la adherencia a la MedDiet mejora la MAFLD incluso sin una restricción calórica significativa, combinar la MedDiet con la restricción calórica resulta en una pérdida de peso más significativa. Lo que sugiere una buena combinación como estrategia eficaz para abordar la MAFLD [413,414].

Los resultados muestran mejoras significativas en la bioquímica general en ambos grupos, remarcando el grupo con una mayor adherencia a la MedDiet. En cuanto al perfil lipídico, se observaron reducciones en los niveles de triglicéridos, colesterol total y colesterol LDL, así como un aumento en el colesterol HDL. Esta mejoría fue más pronunciada en los sujetos con alta adherencia a la MedDiet, en línea con estudios previos que destacaron los beneficios de esta dieta sobre los perfiles lipídicos y otros biomarcadores de salud [415,416]. Los niveles de AST y ALT disminuyeron significativamente en ambos grupos, mientras que los niveles de GGT mostraron reducciones solo en los participantes con alta adherencia a la MedDiet. Esto sugiere una mejora notable en la función hepática y una reducción del daño hepático en estos sujetos reduciendo la liberación de estas enzimas al plasma [417,418]. Además, se observó una disminución significativa en los niveles de PCR en el grupo con mayor adherencia a la MedDiet, indicando una atenuación del estado inflamatorio, consistente con estudios previos [419]. Asimismo, los niveles de glucemia también se redujeron significativamente en los participantes con alta adherencia a la MedDiet, reforzando los efectos beneficiosos de esta dieta sobre la resistencia a la insulina y la mejora de los parámetros metabólicos [416].

En el análisis de parámetros hematológicos, se detectaron diferencias notables en las células eritrocitarias entre pacientes con alta adherencia a la MedDiet después de la intervención. Aunque no hay estudios previos que relacionen directamente la MedDiet con los recuentos de eritrocitos, una mayor adherencia a esta dieta se asoció con una disminución en los niveles de eritrocitos. Dado que niveles elevados de eritrocitos se han

asociado con un mayor riesgo de incidencia y progresión de la MAFLD, nuestros hallazgos sugieren que la MedDiet podría influir en estos niveles y, por ende, en la patogénesis de la MAFLD [420]. Se necesitan más investigaciones para esclarecer la relación entre la dieta mediterránea, los niveles de eritrocitos y los resultados de la MAFLD.

### CAMBIOS EN MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO

Como defensa primaria contra las ROS en los sistemas biológicos, las enzimas CAT, SOD y GPx actúan como potentes antioxidantes [421]. Esta defensa antioxidante se investigó en plasma, eritrocitos y PBMCs de pacientes con MALFD. En plasma, no se observaron cambios significativos en las actividades de CAT y SOD relacionadas con la adherencia a la MedDiet, lo cual podría deberse a una respuesta adaptativa agotada con el tiempo o a un aumento de antioxidantes no enzimáticos [422–424]. Sin embargo, en los eritrocitos, los participantes con una mayor adherencia a la MedDiet mostraron niveles más altos de las actividades enzimáticas de CAT, SOD, GPx y GRd, así como los niveles de GSH. Este aumento en los niveles antioxidantes en eritrocitos también se observaron en pacientes con MetS tras una intervención de 3 meses con MedDiet [425]. Además, la obesidad se ha relacionado con bajos niveles de antioxidantes en los eritrocitos [426,427]. La sobreproducción de ROS observada en pacientes con sobrepeso puede inhibir las actividades de las enzimas antioxidantes, como la SOD y la CAT, o agotar las moléculas antioxidantes, como el GSH [428]. Por otro lado, al promover una mayor adherencia a la MedDiet, la pérdida de peso y la mejora del IFC, los participantes podrían revertir la baja actividad antioxidante y recuperar sus niveles en eritrocitos. La discrepancia observada en los diferentes componentes sanguíneos podría explicarse por el hecho de que los eritrocitos están en constante exposición al O<sub>2</sub> junto a la incapacidad de sintetizar proteínas de novo, lo que los hace más susceptibles a la producción incrementada de ROS y requiere mecanismos de defensa antioxidante para mantener la integridad celular [429]. Además, se observaron correlaciones significativas entre la MedDiet y un aumento de las actividades de CAT, SOD y GRd en los eritrocitos, subrayando el potencial de la MedDiet para mejorar los mecanismos de defensa antioxidante y mitigar el estrés oxidativo en individuos con MAFLD. Los resultados de un análisis de regresión lineal mostraron que a medida que aumenta la adherencia a la MedDiet, hay un aumento correspondiente en la puntuación antioxidante. En PBMCs, se

registró un aumento en la expresión de CAT en el grupo con mayor adherencia a la MedDiet. Este incremento puede estar relacionado con la acción de los polifenoles u otros compuestos bioactivos presentes en la dieta, los cuales activan mecanismos de defensa antioxidante endógenos a través de la modulación de factores de transcripción, como el Nrf2 [430]. Nrf2 desempeña un papel clave en la regulación de diversas enzimas antioxidantes, incluyendo la CAT, lo que refuerza la capacidad del organismo para combatir el estrés oxidativo [431].

Aunque una mayor adherencia a la MedDiet se relaciona con una mayor ingestión de compuestos fenólicos, los niveles plasmáticos de estos compuestos no mostraron cambios significativos, probablemente debido a la rápida absorción y baja biodisponibilidad [319].

Se determinaron los niveles de MDA y oxLDL como marcadores de estrés oxidativo para evaluar cuánto daño oxidativo experimentaban los pacientes según su adherencia a la MedDiet. Un estudio sugirió que el AOVE, producto con un alto contenido de polifenoles y uno de los principales componentes de la MedDiet, puede contribuir a la reducción de los niveles de MDA y oxLDL, respaldando los efectos cardioprotectores de este patrón dietético [432]. Los niveles plasmáticos de MDA se redujeron en ambos grupos tras aumentar su adherencia a la MedDiet, mientras que en eritrocitos solo se redujeron en los participantes con mayor adherencia. Estos resultados destacan cómo los pacientes con MAFLD, después de una intervención basada en la MedDiet, redujeron eficazmente sus marcadores de estrés oxidativo en ambas muestras de sangre. Estos hallazgos están en línea con estudios previos que informaron que los participantes de peso normal que consumían una dieta de alta calidad experimentaron un aumento en la capacidad antioxidante total y una disminución en los niveles de MDA en eritrocitos [433], y que concentraciones de MDA fueron menores en el hígado y suero de pacientes con MAFLD temprana en comparación con MAFLD avanzada [434]. La disminución en los niveles de MDA es relevante ya que niveles altos de MDA se han relacionado con una mayor expresión de citoquinas proinflamatorias, y además estos pueden interactuar con proteínas y otros lípidos aumentando la predisposición a la fibrosis hepática [422]. Las moléculas de oxLDL se redujeron significativamente en el grupo de participantes con mayor adherencia a la MedDiet, siendo resultados similares a los observados

previamente en una cohorte de sujetos con SMet que siguieron una MedDiet tradicional durante 1 año respecto al grupo control [435]. Además, la MedDiet se asocia con mejoras en los factores de riesgo de ECV en mujeres con SMet y colesterol LDL alto, como lo demuestran las disminuciones de oxLDL, subfracciones de lipoproteínas aterogénicas y colesterol LDL [436].

#### CAMBIOS EN MARCADORES DEL ESTADO INFLAMATORIO

Los marcadores inflamatorios como XOD, IL-1 $\beta$ , IL-1ra, IL-6, TNF $\alpha$  y niveles de quemerina no mostraron cambios significativos entre los grupos a lo largo del tiempo. Sin embargo, se observó una reducción en los niveles de MPO, omentina y zonulina en ambos grupos. La disminución de MPO es consistente con estudios previos que muestran que una mejor adherencia a la MedDiet y un aumento en la actividad física mejoran el perfil inflamatorio [437][438].

La omentina, adipocina con funciones sensibilizadoras a la insulina y antiinflamatorias, también mostró una disminución en sus niveles, lo que podría estar relacionado con una reducción del IMC [439] y del estado proinflamatorio sistémico, comúnmente asociado con la acumulación excesiva de grasa visceral y las alteraciones metabólicas que acompañan al sobrepeso y la obesidad [440]. Por su parte, la zonulina, un marcador de permeabilidad intestinal, tiende a aumentar en obesidad y esteatosis [204], indicando una mayor permeabilidad intestinal y un estado inflamatorio asociado [441]. En el estudio, los niveles de zonulina disminuyeron, lo que sugiere una mejora en la salud intestinal y una reducción de la inflamación sistémica relacionada con la grasa hepática excesiva.

Entre los principales resultados diferenciales se encuentran los niveles de MCP-1, CK-18 y leptina, que disminuyeron solo en los participantes con una mayor adherencia a la MedDiet, mientras que los niveles de la RvD1 aumentaron. La reducción de MCP-1, una citoquina involucrada en la infiltración de macrófagos y en el mantenimiento de un estado proinflamatorio, es notable en pacientes con MAFLD y sigue aumentando con MASH [442]. Una alta adherencia a la MedDiet está relacionada con una mejora en los niveles circulantes de quimiocinas, incluida MCP-1, lo que sugiere un estado inflamatorio general mejorado [443]. La CK-18 se libera en la circulación cuando los hepatocitos sufren daño, y niveles elevados de esta proteína se correlacionan con un alto IFC en

pacientes con MALFD [153]. En el estudio, se observó una reducción en los niveles de CK-18 en ambos grupos, siendo esta disminución más marcada en el grupo que mostró una mayor adherencia a la MedDiet, mostrando como ésta se relaciona la reversión de la esteatosis y del daño hepático [444]. La leptina, una hormona relacionada con la regulación del apetito y el control del peso y aumentada en estados de severidad de esteatosis hepática [445,446], también disminuyó en aquellos con mayor reducción del IFC. Además, los niveles de RvD1 aumentaron, lo que sugiere un efecto protector positivo sobre la enfermedad hepática [206].

Finalmente, la endotoxemia, la cual se ha relacionado con la patogénesis de la MAFLD, al derivar de un aumento de la permeabilidad intestinal, y de la incidencia de sobrecrecimiento bacteriano en el intestino delgado [447,448], disminuyó más en los participantes con mayor adherencia a la MedDiet, lo que coincide con estudios que sugieren que un cambio en el estilo de vida podría reducir los niveles circulantes de endotoxinas [449,450]. La ingesta de fibra dietética, inversamente relacionada con el grado de esteatosis y los niveles de endotoxina bacteriana, podría ser un objetivo clave en el manejo de la EHGA [451].

## 2.2. EFECTOS DE UNA REDUCCIÓN DEL CONTENIDO DE GRASA INTRAHEPÁTICA EN UNA POBLACIÓN CON MAFLD.

En el estudio donde evaluamos una intervención nutricional basada en una MedDiet hipocalórica combinada con la promoción de la actividad física, diseñada para pacientes con MAFLD, observamos que los individuos que mejoraron su IFC mostraron un mejor estado general de salud marcadores de estrés oxidativo e inflamación, además de función renal.

La esteatosis hepática es un rasgo histológico distintivo y un posible factor patogénico en MAFLD [292]. Todos los participantes siguieron una de las intervenciones mencionadas en la presente tesis doctoral durante 2 años, pero no todos consiguieron reducir su IFC. Los que sí respondieron lograron una reducción significativa en los valores de IFC respecto a ellos mismos cuando iniciaron el estudio y con los participantes que no respondieron con la intervención. De hecho, aquellos que no respondieron mostraron incluso un pequeño aumento en el IFC sin que éste fuera significativo. Estos participantes

experimentaron un aumento del grado de fibrosis hepática, que determina el efecto del colágeno y por tanto la rigidez del tejido [452], después de 2 años. A pesar de que otros estudios muestran como participantes con MAFLD después de una intervención basada en MedDiet reducen la rigidez hepática [409], nuestros resultados no muestran estos cambios, y esta disparidad podría atribuirse a que nuestros participantes al inicio del estudio presentaban estadios de fibrosis F0-F1, mientras que los estudios previos involucraban a pacientes con valores iniciales más altos en el estadio de fibrosis F2 [453].

#### CAMBIOS EN EL ESTADO GENERAL DE SALUD

En cuanto al estado general de salud, todos los participantes lograron reducir significativamente su circunferencia de cintura, un marcador de grasa abdominal [454]. Sin embargo, solo aquellos que redujeron su IFC disminuyeron significativamente su IMC después de una intervención de estilo de vida de 2 años. La obesidad abdominal se asocia más con ECV que la obesidad general [455]. La reducción del tejido adiposo abdominal puede explicar la relación menos evidente entre IMC y ECV en personas mayores. Se ha descrito como la pérdida de más del 5% de peso corporal disminuye la severidad de MAFLD, y una pérdida superior al 10% conduce a mayores reducciones patológicas y es esencial para la resolución de la esteatohepatitis [456]. Los participantes que no redujeron su IFC mostraron una presión arterial diastólica ligeramente más alta, sugiriendo una posible relación entre la falta de respuesta y los resultados cardiovasculares adversos, siendo este resultado consistente con un estudio previo que demostró una relación entre un aumento del IFC y presión arterial diastólica más alta [153].

En términos de bioquímica general, solo aquellos participantes que mejoraron su IFC redujeron de forma significativa los niveles de colesterol total, ferritina, AST, ALT y GGT, y aumentaron los niveles de colesterol HDL, concordando con investigaciones previas [408]. Las intervenciones con dietas hipocalóricas y ejercicio demostraron reducir eficazmente el IFC, triglicéridos y colesterol total, mientras aumentaban el colesterol HDL [457].

El metabolismo del hierro es relevante ya que el hígado es el principal reservorio asociado con la ferritina. El exceso de hierro en el hígado puede contribuir al estrés oxidativo a través de la reacción de Fenton y dañar el ADN y las proteínas de las células



hepáticas [458]. La ferritina también puede activar directamente las células estrelladas hepáticas a través de la respuesta en cascada del NFκB, contribuyendo a la fibrosis hepática [459]. Los niveles séricos de ferritina son más altos en pacientes con MAFLD y se asocian con el riesgo de MAFLD en ambos géneros [460]. Reducir el IFC también disminuyó los niveles de ácido úrico, alineándose con estudios previos que informaron niveles más altos de ácido úrico en individuos con MAFLD [461].

La reducción del IFC también disminuyó el número de eritrocitos y eosinófilos después de la intervención de 2 años, consistente con estudios que relacionan números altos de eritrocitos con mayor riesgo de MAFLD [420], y los eosinófilos con reparación tisular y fibrosis hepática [462]. Se observó una disminución en el número de monocitos en ambos grupos, relacionado con una mayor adherencia a la MedDiet hipocalórica, sugiriendo un efecto beneficioso en la modulación del sistema inmunológico, independiente de los cambios en el IFC [353].

Una revisión sistemática y un meta-análisis destacaron que la MedDiet es favorable para individuos con MAFLD y obesidad, ya que se asocia con perfiles mejorados de enzimas hepáticas y una reducción del IFC, lo que contribuye a una mejor salud general del hígado [463]. Solo los individuos que respondieron con una mejora en el IFC mostraron un aumento significativo en su VO<sub>2</sub> máx después de dos años, lo que sugiere que la aptitud cardiorrespiratoria es un predictor robusto e independiente de la reducción de grasa hepática durante una intervención en el estilo de vida [464].

Sin embargo, a pesar de que tanto los respondedores actuales como los no respondedores a la mejora del IFC mostraron una mayor adherencia a la MedDiet y un menor consumo calórico, solo el grupo de respondedores demostró un aumento significativo en el VO<sub>2</sub> máximo. Algunos estudios han evidenciado una relación entre la actividad física y la calidad de la alimentación, indicando que esta combinación puede ser más efectiva en la reducción de la MAFLD que la dieta sola [465,466]. De hecho, algunos de ellos indicaron que la aptitud cardiorrespiratoria sirve como un predictor robusto e independiente de la reducción de grasa hepática durante una intervención de estilo de vida [464].

### CAMBIOS EN MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO

Nuestro estudio reveló que el aumento de la esteatosis hepática está asociado con niveles más elevados de marcadores de estrés oxidativo. Los participantes que no redujeron su IFC mostraron aumentadas las actividades de CAT y SOD en eritrocitos y niveles elevados de MDA, indicando un mayor estrés oxidativo. Por el contrario, los que sí redujeron su IFC mostraron una disminución en los niveles de MDA, sugiriendo una reducción del estrés oxidativo. Estos resultados coinciden con estudios previos que relacionan la gravedad de la esteatosis hepática con el estrés oxidativo [467] y la dieta mediterránea con menores niveles de MDA debido a sus efectos cardioprotectores [432,433,468].

### CAMBIOS EN MARCADORES DEL ESTADO INFLAMATORIO

El tejido adiposo se considera un órgano endocrino debido a la secreción de adipocinas y miocinas, que influyen en la inflamación relacionada con la obesidad y la MAFLD. La expansión del tejido adiposo asociada al sobrepeso aumenta la producción y liberación de citoquinas proinflamatorias como IL-6 y TNF $\alpha$  [469].

En nuestro estudio, solo los participantes que redujeron el IFC mostraron disminuciones en TNF $\alpha$ , asociadas con reducciones de peso y mejor regulación de la insulina [470]. La falta de cambios en IL-6 podría deberse a la inflamación subclínica en pacientes con MAFLD. Aunque TGF- $\beta$ 1 se ha correlacionado con la severidad de la MAFLD y la fibrosis hepática [471], no observamos diferencias significativas en los niveles de TGF- $\beta$ 1, probablemente porque los participantes no presentaban fibrosis al inicio del estudio y sus valores permanecieron en un rango no patológico.

Por otra parte, tras una intervención de 2 años, aunque todos los participantes lograron reducir los niveles de endotoxina, el grupo que había mejorado su IFC mostró una disminución aún mayor en estos niveles. Esto sugiere que, aunque no de manera directa, la endotoxina podría estar vinculada a una mejora en la IFC. Los resultados de Soppert *et al.* no encontraron una relación entre los niveles de endotoxina y los distintos estadios de la enfermedad, lo que concuerda con nuestros hallazgos, ya que todos los participantes siguen sufriendo la patología [205]. Por lo tanto, la reducción de endotoxina observada, que ocurre independientemente de la IFC, podría deberse a una mayor adherencia a la MedDiet y a un perfil microbiológico mejorado en todos los

participantes. Estos resultados están en línea con los de Baratta *et al.*, quienes encontraron que una menor adherencia a la MedDiet se asocia con niveles más altos de endotoxina plasmática [472].

### CAMBIOS EN LA MICROBIOTA

El intestino humano saludable posee una gran diversidad microbiana que puede verse alterada por factores ambientales y/o clínicos como la dieta, el estilo de vida y diversas enfermedades [473–475]. La patogenia de la MAFLD se relaciona comúnmente con disminuciones significativas en la diversidad microbiana, caracterizada por el predominio de especies asignadas a los géneros *Bacteroides*, *Prevotella*, *Ruminococcus*, *Parabacteroides*, *Sutterella*, *Succinivibrio*, *Alloprevotella* y taxones no cultivados asignados a los grupos *Muribaculaceae*, *Succinivibrionaceae* y *Rhodospirillales* [476–479], lo que se alinea con la composición microbiana de aquellos participantes de nuestro estudio con mayor IFC.

Nuestros hallazgos muestran que la adherencia a una MedDiet tiene efectos beneficiosos en la composición microbiana intestinal, lo que resulta en una mayor riqueza de especies (Chao-1) y diversidad (Shannon H'), principalmente debido a una disminución significativa en la abundancia de especies asociadas a la MAFLD. El impacto de la MedDiet en la diversidad intestinal se ve respaldado además por los hallazgos de que una mayor pérdida de IFC se asocia de forma independiente con una mayor ingesta de polifenoles, un menor consumo de carnes rojas y procesadas y una mejora de los biomarcadores lipídicos/adipocinas [480]. Además, los pacientes que redujeron con éxito su IFC después de dos años aumentaron la abundancia de *Eubacterium*, *Allistipes* y *Parasutterella* y géneros no cultivados dentro de los grupos *Clostridia* UCG-014, *Lachnospiraceae* UCG-004 y *Lachnospiraceae* UCG-008. Estos resultados concuerdan con estudios previos que informaron una abundancia relativa disminuida de *Eubacterium* en pacientes con MAFLD con respecto a los participantes obesos [86,481]. De manera similar, *Allistipes* estaba más enriquecido en individuos sanos que en pacientes con MAFLD y se correlacionó negativamente con los niveles séricos de glucosa, GGT y ALT [482]. Por otro lado, *Parasutterella* mostró una abundancia relativa reducida en pacientes con MAFLD en comparación con los participantes sanos [476].

A pesar de que no hay estudios directos que vinculen *Clostridia* UCG-014 con MAFLD, este grupo bacteriano se ha observado en niveles más altos en controles sanos en comparación con pacientes con osteoporosis [483], lesión hepática inducida por fármacos [483] y enfermedad hepática crónica relacionada con el virus de la hepatitis B [484]. Esto sugiere un posible papel protector de *Clostridia* UCG-014, y su aumento en nuestro estudio puede indicar una mejora en la microbiota intestinal de los pacientes con MAFLD después de las intervenciones en el estilo de vida. Curiosamente, nuestros resultados contrastan con hallazgos anteriores [485] que identificaron una mayor abundancia de *Lachnospiraceae* UCG-004 como asociada con un mayor riesgo de EHGNA. Esta discrepancia sugiere que el papel de *Lachnospiraceae* UCG-004 en la EHGNA puede ser más complejo de lo que se pensaba anteriormente y justifica una mayor investigación. Además, actualmente no hay información disponible que vincule a *Lachnospiraceae* UCG-008 con la EHGNA, lo que destaca un área para futuras investigaciones para explorar su posible papel en esta afección.

#### CAMBIOS EN LA FUNCIÓN RENAL

Además de abordar las mejoras en el hígado graso, es fundamental considerar la relación entre esta patología y otras condiciones como la ERC. En este estudio observamos que los individuos que mejoraron su IFC también mostraron mejoras en la función renal y en algunos marcadores generales de filtración renal. Estos hallazgos son consistentes con investigaciones previas que identificaron una asociación significativa entre altos niveles de triglicéridos intrahepáticos y un mayor riesgo de ERC [486]. En particular, aquellos participantes que no mejoraron su IFC después de 2 años presentaron niveles más altos de MDRD y CKD-EPI, mientras que los que lograron reducir su IFC mostraron niveles más bajos de estos marcadores. Estos datos respaldan lo que se ha encontrado en estudios anteriores que han vinculado la severidad de la MAFLD con la prevalencia de la ERC [90,93]. Además, los niveles de UACR se redujeron en los pacientes con mejora en el IFC, corroborando la asociación entre triglicéridos intrahepáticos y UACR [486]. Por otro lado, la reducción del IFC está asociado con una disminución en los valores de creatinina sérica. Estos hallazgos corroboran investigaciones previas en las que se indica que los individuos con MAFLD tienden a tener niveles más altos de creatinina sérica [487].

Asimismo, los participantes que lograron reducir su IFC experimentaron reducciones significativas en los niveles plasmáticos de IL-18 a los 2 años, siendo este cambio significativo también en comparación con el otro grupo. La IL-18, se ha sugerido como indicador de un proceso inflamatorio derivado de una lesión renal, específicamente a nivel tubular [488]. Por lo que la relación entre los niveles de IL-18 en plasma y la reversión de la MAFLD y la mejora de la función renal, sugiere el potencial de IL-18 como un valioso biomarcador asociado al daño renal.

La CysC es producida de manera uniforme por todas las células nucleadas y se filtra de manera eficiente en los riñones. Se reabsorbe y metaboliza predominantemente en el túbulo proximal y exhibe una excreción mínima y muy estable en la orina, siendo un marcador óptimo para evaluar el deterioro renal [489,490]. Nuestro estudio encontró que los pacientes que no mejoraron su IFC después de 2 años tenían niveles elevados de CysC/Cr, lo que podría indicar un mayor riesgo de ECV y ERC en pacientes con obesidad y SMet [491]. A pesar de que un estudio transversal mostró que la  $\alpha$ 1m urinaria es un biomarcador potencial para identificar fibrosis avanzada y daño renal temprano en MAFLD [492], nuestro estudio no encontró cambios significativos en  $\alpha$ 1m/Cr tras la intervención, posiblemente debido a tasas de filtración normales en nuestros sujetos. Finalmente, nuestro estudio también reveló un pequeño aumento en los niveles urinarios de NGAL/Cr a los 2 años; sin embargo, este aumento no alcanzó significancia estadística y el deterioro renal observado fue sutil en comparación con casos más graves de ERC documentados en la literatura [493].



# CONCLUSIONES/ CONCLUSIONS





## CONCLUSIONES

---

1. Los pacientes con SMet que muestran una mayor adherencia a la MedDiet presentan parámetros antropométricos menos alterados, un perfil bioquímico sanguíneo más favorable y un mejor estado oxidativo e inflamatorio en comparación con aquellos con baja adherencia a la MedDiet.
2. Los individuos con SMet que consumen altos niveles de alimentos ultraprocesados (UPF) presentan un perfil pro-oxidante y proinflamatorio más pronunciado, a pesar de que sus análisis bioquímicos sanguíneos generales no muestran diferencias significativas en comparación con aquellos que consumen menos UPF. Este hallazgo subraya el riesgo cardiovascular asociado con el consumo elevado de UPF, que podría contribuir al desarrollo de trastornos cardiovasculares, metabólicos e inflamatorios.
3. Aunque los marcadores bioquímicos generales no revelan diferencias entre consumidores de UPF, el análisis de los marcadores inflamatorios y oxidativos sugiere un mayor riesgo cardiovascular en quienes tienen un consumo alto de estos alimentos. Este riesgo podría ser un factor clave en el avance de diversas enfermedades crónicas, apoyando la necesidad de políticas de salud pública que promuevan la reducción del consumo de UPF.
4. Una intervención que combina una MedDiet baja en calorías y un aumento de la actividad física a largo plazo en pacientes con SMet resultó en mejoras significativas en los parámetros antropométricos y bioquímicos de los participantes que lograron reducir su IMC, incluyendo una disminución del estrés oxidativo y la inflamación, lo que contribuye a una mejor salud metabólica y a una reducción del riesgo cardiovascular.
5. En cambio, los participantes que, pese a seguir la misma intervención, no lograron reducir su IMC presentaron un incremento en la actividad antioxidante y en los marcadores proinflamatorios. Esto resalta la relevancia de la pérdida de peso como un factor clave para mejorar la salud metabólica y reducir el riesgo cardiovascular en individuos con SMet.

6. Los individuos con SMet que desarrollaron enfermedad renal crónica (ERC) tras un año de intervención nutricional ya presentaban un IMC más alto, niveles elevados de glucosa, HbA1c y triglicéridos, junto con una TFG reducida y un aumento del UACR, así como de los niveles de SCr y CyC al inicio del estudio, antes de que se les diagnosticara la ERC.
7. Los marcadores inflamatorios elevados pueden predecir tanto la aparición de ERC como la progresión de la enfermedad, lo que acentúa la importancia de monitorear la salud metabólica e inflamatoria para prevenir la ERC en poblaciones de riesgo.
8. Una intervención basada en una MedDiet mejoró diversas características de la MAFLD, incluyendo la reducción del IMC, el IFC, las enzimas hepáticas y el estado prooxidante e inflamatorio a nivel plasmático. Estos beneficios fueron más pronunciados en aquellos pacientes que se adhirieron más a la MedDiet recomendada.
9. Una mayor adherencia a la MedDiet se asocia significativamente con mejoras en los biomarcadores de estrés oxidativo en pacientes con MAFLD a nivel eritrocitario y de PBMCs. Los participantes con mayor adherencia también mostraron una mejora en marcadores relacionados con la reversión de la enfermedad, como una disminución de la resistencia a la insulina y de los niveles plasmáticos de CK-18 y oxLDL.
10. Un aumento en la adherencia a la MedDiet se correlaciona con una disminución de los biomarcadores prooxidantes y un incremento en la actividad antioxidante en eritrocitos, destacando el impacto terapéutico potencial de las modificaciones dietéticas en el manejo de la MAFLD.
11. Una reducción del IFC promovido por una intervención con MedDiet en pacientes con MAFLD conduce a una mejora de marcadores bioquímicos y cambios en la microbiota intestinal, incluyendo una mayor diversidad alfa y beta. Además, se produce una disminución de géneros potencialmente dañinos relacionados con la progresión de la MAFLD como *Bacteroides*, *Prevotella*, *Ruminococcus*, *Parabacteroides*, *Sutarella*, *Succinivibrio* y *Alloprevotella* y un aumento de los beneficiosos como *Eubacterium*, *Allistipes* y *Parasutarella*.

12. En pacientes con MAFLD, una intervención basada en una MedDiet baja en calorías redujo el IFC y mejoró parámetros de disfunción renal. Estos resultados respaldan la idea de que la MAFLD contribuye a la fisiopatología de la ERC, destacando la necesidad de una vigilancia cercana para la detección temprana de ERC en estos pacientes.



## CONCLUSIONS

---

1. Patients with MetS who show greater adherence to the MedDiet present less altered anthropometric parameters, a more favorable blood biochemical profile, and a better oxidative and inflammatory state compared to those with low adherence to the MedDiet.
2. Individuals with MetS who consume high levels of ultraprocessed foods (UPF) exhibit a more pronounced pro-oxidant and pro-inflammatory profile, despite their general blood biochemical analyses not showing significant differences compared to those who consume less UPF. This finding highlights the cardiovascular risk associated with high UPF consumption, which may contribute to the development of cardiovascular, metabolic, and inflammatory disorders.
3. Although general biochemical markers do not reveal differences between UPF consumers, the analysis of inflammatory and oxidative markers suggests a higher cardiovascular risk in those with high consumption of these foods. This risk could be a key factor in the progression of various chronic diseases, supporting the need for public health policies that promote reducing UPF consumption.
4. An intervention combining a low-calorie MedDiet and increased long-term physical activity in MetS patients resulted in significant improvements in the anthropometric and biochemical parameters of participants who managed to reduce their BMI, including a decrease in oxidative stress and inflammation, contributing to better metabolic health and a reduced cardiovascular risk.
5. In contrast, participants who, despite following the same intervention, did not manage to reduce their BMI, showed an increase in antioxidant activity and pro-inflammatory markers. This highlights the relevance of weight loss as a key factor for improving metabolic health and reducing cardiovascular risk in individuals with MetS.

6. Individuals with MetS who developed chronic kidney disease (CKD) after one year of nutritional intervention already had a higher BMI, elevated glucose, HbA1c, and triglyceride levels, along with a reduced GFR and increased UACR, as well as elevated SCr and CyC levels at the start of the study, before being diagnosed with CKD.
7. Elevated inflammatory markers may predict both the onset of CKD and the progression of the disease, emphasizing the importance of monitoring metabolic and inflammatory health to prevent CKD in at-risk populations.
8. An intervention based on a MedDiet improved various features of MAFLD, including reductions in BMI, IFC, liver enzymes, and the pro-oxidant and inflammatory state at the plasma level. These benefits were more pronounced in patients who adhered more closely to the recommended MedDiet.
9. Greater adherence to the MedDiet is significantly associated with improvements in oxidative stress biomarkers in MAFLD patients at the erythrocyte and PBMC levels. Participants with greater adherence also showed improvements in markers related to disease reversal, such as a decrease in insulin resistance and plasma levels of CK-18 and oxLDL.
10. An increase in adherence to the MedDiet correlates with a decrease in pro-oxidant biomarkers and an increase in antioxidant activity in erythrocytes, highlighting the potential therapeutic impact of dietary modifications in managing MAFLD.
11. A reduction in IFC promoted by a MedDiet intervention in MAFLD patients leads to improvements in biochemical markers and changes in gut microbiota, including greater alpha and beta diversity. Additionally, there is a decrease in potentially harmful genera related to MAFLD progression, such as *Bacteroides*, *Prevotella*, *Ruminococcus*, *Parabacteroides*, *Sutarella*, *Succinivibrio*, and *Alloprevotella*, and an increase in beneficial ones such as *Eubacterium*, *Allistipes*, and *Parasutterella*.
12. In MAFLD patients, a low-calorie MedDiet intervention reduced IFC and improved renal dysfunction parameters. These results support the idea that MAFLD contributes to the pathophysiology of CKD, highlighting the need for close monitoring for early detection of CKD in these patients.

# BIBLIOGRAFIA





## CITAS BIBLIOGRÁFICAS

---

1. Piché, M.-E.; Poirier, P.; Lemieux, I.; Després, J.-P. Overview of Epidemiology and Contribution of Obesity and Body Fat Distribution to Cardiovascular Disease: An Update. *Prog. Cardiovasc. Dis.* **2018**, *61*, 103–113.
2. World Health Organization Obesity and overweight Available online: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>.
3. Costa Moreira, O.; Alonso-Aubin, D.A.; Patrocinio de Oliveira, C.E.; Candia-Luján, R.; de Paz, J.A. Métodos de evaluación de la composición corporal: una revisión actualizada de descripción, aplicación, ventajas y desventajas. *Arch Med Deport.* **2015**, *32*, 387–394.
4. Suárez-Carmona, W.; Sánchez-Oliver, A.J. Índice de masa corporal: ventajas y desventajas de su uso en la obesidad. Relación con la fuerza y la actividad física. *Nutr. clínica en Med.* **2018**, *12*, 128–139.
5. Lecube, A.; Monereo, S.; Rubio, M.Á.; Martínez-de-Icaya, P.; Martí, A.; Salvador, J.; Masmiquel, L.; Goday, A.; Bellido, D.; Lurbe, E.; et al. Prevención, diagnóstico y tratamiento de la obesidad. Posicionamiento de la Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad de 2016. *Endocrinol. Diabetes y Nutr.* **2017**, *64*, 15–22.
6. Durrer Schutz, D.; Busetto, L.; Dicker, D.; Farpour-Lambert, N.; Pryke, R.; Toplak, H.; Widmer, D.; Yumuk, V.; Schutz, Y. European Practical and Patient-Centred Guidelines for Adult Obesity Management in Primary Care. *Obes. Facts* **2019**, *12*, 40–66.
7. Weir, C.; Jan, A. BMI Classification Percentile And Cut Off Points. [Updated 2023 Jun 26]. Available online: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK541070/>.
8. Berrington de Gonzalez, A.; Hartge, P.; Cerhan, J.R.; Flint, A.J.; Hannan, L.; MacInnis, R.J.; Moore, S.C.; Tobias, G.S.; Anton-Culver, H.; Freeman, L.B.; et al. Body-Mass Index and Mortality among 1.46 Million White Adults. *N. Engl. J. Med.* **2010**, *363*, 2211–2219.
9. Huxley, R.; Mendis, S.; Zheleznyakov, E.; Reddy, S.; Chan, J. Body mass index, waist circumference and waist:hip ratio as predictors of cardiovascular risk—a review of the literature. *Eur. J. Clin. Nutr.* **2010**, *64*, 16–22.
10. Smith, U. Abdominal obesity: a marker of ectopic fat accumulation. *J. Clin. Invest.* **2015**, *125*, 1790–1792.
11. Armstrong, A.; Jungbluth Rodriguez, K.; Sabag, A.; Mavros, Y.; Parker, H.M.; Keating, S.E.; Johnson, N.A. Effect of aerobic exercise on waist circumference in adults with overweight or obesity: A systematic review and meta-analysis. *Obes. Rev.* **2022**, *23*.
12. de Koning, L.; Merchant, A.T.; Pogue, J.; Anand, S.S. Waist circumference and waist-to-hip ratio as predictors of cardiovascular events: meta-regression analysis of prospective studies. *Eur. Heart J.* **2007**, *28*, 850–856.
13. Alberti, K.; Zimmet, P.; Shaw, J. The metabolic syndrome a new worldwide

- definition. *Lancet* **2005**, 366, 1059–1062.
14. World Health Organization Obesity, preventing and managing the global epidemic-report of a WHO consultation on obesity. *Geneva WHO* **1997**.
  15. Yoo, E.-G. Waist-to-height ratio as a screening tool for obesity and cardiometabolic risk. *Korean J. Pediatr.* **2016**, 59, 425.
  16. Hernández Rodríguez, J.; Moncada Espinal, O.M.; Domínguez, Y.A. Utilidad del índice cintura/cadera en la detección del riesgo cardiometabólico en individuos sobrepesos y obesos. *Rev. Cuba. Endocrinol.* **2018**, 29, 1–16.
  17. Sellayah, D.; Cagampang, F.R.; Cox, R.D. On the Evolutionary Origins of Obesity: A New Hypothesis. *Endocrinology* **2014**, 155, 1573–1588.
  18. Loos, R.J.F. Genetic determinants of common obesity and their value in prediction. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* **2012**, 26, 211–226.
  19. Government Office for Science Tackling Obesities: Future Choices - Project Report. In *Foresight*; 2007.
  20. Bray, G.A.; Kim, K.K.; Wilding, J.P.H. Obesity: a chronic relapsing progressive disease process. A position statement of the World Obesity Federation. *Obes. Rev.* **2017**, 18, 715–723.
  21. Konttinen, H. Emotional eating and obesity in adults: the role of depression, sleep and genes. *Proc. Nutr. Soc.* **2020**, 79, 283–289.
  22. Benzerouk, F.; Guénin, M.; Gierski, F.; Raucher-Chéné, D.; Barrière, S.; Bertin, E.; Kaladjian, A. Contributing roles of depression, anxiety, and impulsivity dimensions in eating behaviors styles in surgery candidates. *J. Eat. Disord.* **2021**, 9, 148.
  23. Tinahones, F.J. La importancia de la microbiota en la obesidad. *Rev. Española Endocrinol.* **2017**, 8, 16–20.
  24. Ng, M.; Fleming, T.; Robinson, M.; Thomson, B.; Graetz, N.; Margono, C.; Mullany, E.C.; Biryukov, S.; Abbafati, C.; Abera, S.F.; et al. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet* **2014**, 384, 766–781.
  25. Smith, K.B.; Smith, M.S. Obesity Statistics. *Prim. Care Clin. Off. Pract.* **2016**, 43, 121–135.
  26. Welsh, A.; Hammad, M.; Piña, I.L.; Kulinski, J. Obesity and cardiovascular health. *Eur. J. Prev. Cardiol.* **2024**, 31, 1026–1035.
  27. Wisevoter Obesity Rates by Country Available online: <https://wisevoter.com/country-rankings/obesity-rates-by-country/>.
  28. WHO Regional Office for Europe New WHO report: Europe can reverse its obesity “epidemic.”
  29. European Health Survey in Spain 2020 Obesity 2020. Spain and the EU Available online: [chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgiclfindmkaj/https://www.ine.es/en/infografi as/infografia\\_dia\\_obesidad\\_en.pdf](https://efaidnbmnnnibpcajpcgiclfindmkaj/https://www.ine.es/en/infografi as/infografia_dia_obesidad_en.pdf).

30. Apovian, C.; Aronne, L.; Barenbaum, S. Obesity-Related Comorbidities Available online: <https://www.healio.com/clinical-guidance/obesity/obesity-related-comorbidities> (accessed on Jun 21, 2024).
31. Apovian, C.M. Obesity: definition, comorbidities, causes, and burden. *Am. J. Manag. Care* **2016**, *22*, s176-85.
32. Peeters, A.; Barendregt, J.J.; Willekens, F.; Mackenbach, J.P.; Mamun, A. Al; Bonneux, L. Obesity in Adulthood and Its Consequences for Life Expectancy: A Life-Table Analysis. *Ann. Intern. Med.* **2003**, *138*, 24.
33. Murray, C.J.L.; Aravkin, A.Y.; Zheng, P.; Abbafati, C.; Abbas, K.M.; Abbasi-Kangevari, M.; Abd-Allah, F.; Abdelalim, A.; Abdollahi, M.; Abdollahpour, I.; et al. Global burden of 87 risk factors in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet* **2020**, *396*, 1223–1249.
34. Saklayen, M.G. The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome. *Curr. Hypertens. Rep.* **2018**, *20*, 12.
35. Reaven, G.M. Role of Insulin Resistance in Human Disease. *Diabetes* **1988**, *37*, 1595–1607.
36. Alberti, K.G.M.M.; Eckel, R.H.; Grundy, S.M.; Zimmet, P.Z.; Cleeman, J.I.; Donato, K.A.; Fruchart, J.-C.; James, W.P.T.; Loria, C.M.; Smith, S.C. Harmonizing the Metabolic Syndrome. *Circulation* **2009**, *120*, 1640–1645.
37. Alberti, K.G.M.M.; Zimmet, P.Z. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO Consultation. *Diabet. Med.* **1998**, *15*, 539–553.
38. Alberti, G.; Zimmet, P.; Shaw, J.; Grundy, S.M. The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome. Brussels: International Diabetes Federation. **2006**, *23*, 469–80.
39. O'Neill, S.; O'Driscoll, L. Metabolic syndrome: a closer look at the growing epidemic and its associated pathologies. *Obes. Rev.* **2015**, *16*, 1–12.
40. Virani, S.S.; Alonso, A.; Benjamin, E.J.; Bittencourt, M.S.; Callaway, C.W.; Carson, A.P.; Chamberlain, A.M.; Chang, A.R.; Cheng, S.; Delling, F.N.; et al. Heart Disease and Stroke Statistics—2020 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation* **2020**, *141*.
41. Wu, J.; Zhang, H.; Yang, L.; Shao, J.; Chen, D.; Cui, N.; Tang, L.; Fu, Y.; Xue, E.; Lai, C.; et al. Sedentary time and the risk of metabolic syndrome: A systematic review and dose–response meta-analysis. *Obes. Rev.* **2022**, *23*.
42. Bellia, A.; Giardina, E.; Lauro, D.; Tesauro, M.; Di Fede, G.; Cusumano, G.; Federici, M.; Rini, G.B.; Novelli, G.; Lauro, R.; et al. “The Linosa Study”: epidemiological and heritability data of the metabolic syndrome in a Caucasian genetic isolate. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* **2009**, *19*, 455–461.
43. Heijmans, B.T.; Tobi, E.W.; Stein, A.D.; Putter, H.; Blauw, G.J.; Susser, E.S.; Slagboom, P.E.; Lumey, L.H. Persistent epigenetic differences associated with

- prenatal exposure to famine in humans. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2008**, *105*, 17046–17049.
44. Gupta, A.; Gupta, V. Metabolic syndrome: what are the risks for humans? *Biosci. Trends* **2010**, *4*, 204–12.
  45. Ferrari, C.K.B. Epidemiology of metabolic syndrome: global scenario. In *Metabolic Syndrome*; Elsevier, 2024; pp. 59–71.
  46. Salas, R.; Bibiloni, M. del M.; Ramos, E.; Villarreal, J.Z.; Pons, A.; Tur, J.A.; Sureda, A. Metabolic Syndrome Prevalence among Northern Mexican Adult Population. *PLoS One* **2014**, *9*, e105581.
  47. Gami, A.S.; Witt, B.J.; Howard, D.E.; Erwin, P.J.; Gami, L.A.; Somers, V.K.; Montori, V.M. Metabolic Syndrome and Risk of Incident Cardiovascular Events and Death. *J. Am. Coll. Cardiol.* **2007**, *49*, 403–414.
  48. Beigh, S.H.; Jain, S. Prevalence of metabolic syndrome and gender differences. *Bioinformation* **2012**, *8*, 613–616.
  49. Fernández-Bergés, D.; Cabrera de León, A.; Sanz, H.; Elosua, R.; Guembe, M.J.; Alzamora, M.; Vega-Alonso, T.; Félix-Redondo, F.J.; Ortiz-Marrón, H.; Rigo, F.; et al. Síndrome metabólico en España: prevalencia y riesgo coronario asociado a la definición armonizada y a la propuesta por la OMS. Estudio DARIOS. *Rev. Española Cardiol.* **2012**, *65*, 241–248.
  50. World Health Organization Hipertensión Available online: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/hypertension>.
  51. World Health Organization Diabetes.
  52. The Emerging Risk Factors Collaboration Diabetes mellitus, fasting blood glucose concentration, and risk of vascular disease: a collaborative meta-analysis of 102 prospective studies. *Lancet* **2010**, *375*, 2215–2222.
  53. American Diabetes Association Professional Practice Committee 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2022. *Diabetes Care* **2022**, *45*, S17–S38.
  54. Nussbaumerova, B.; Rosolova, H. Obesity and Dyslipidemia. *Curr. Atheroscler. Rep.* **2023**, *25*, 947–955.
  55. Berberich, A.J.; Hegele, R.A. A Modern Approach to Dyslipidemia. *Endocr. Rev.* **2022**, *43*, 611–653.
  56. Pappan, N.; Awosika, A.; Rehman, A. In: *StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan. 2024*,.
  57. Webster, A.C.; Nagler, E. V.; Morton, R.L.; Masson, P. Chronic Kidney Disease. *Lancet* **2017**, *389*, 1238–1252.
  58. Lin, L.; Tan, W.; Pan, X.; Tian, E.; Wu, Z.; Yang, J. Metabolic Syndrome-Related Kidney Injury: A Review and Update. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. **2022**, *13*, 904001.
  59. Ndumele, C.E.; Rangaswami, J.; Chow, S.L.; Neeland, I.J.; Tuttle, K.R.; Khan, S.S.; Coresh, J.; Mathew, R.O.; Baker-Smith, C.M.; Carnethon, M.R.; et al.

- Cardiovascular-Kidney-Metabolic Health: A Presidential Advisory From the American Heart Association. *Circulation* **2023**, *148*, 1606–1635.
60. Kumar, P.A.; Chitra, P.S.; Reddy, G.B. Metabolic syndrome and associated chronic kidney diseases: Nutritional interventions. *Rev. Endocr. Metab. Disord.* **2013**, *14*, 273–286.
  61. Ludwig, J.; Viggiano, T.R.; McGill, D.B.; Oh, B.J. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clin. Proc.* **1980**, *55*, 434–8.
  62. Han, S.K.; Baik, S.K.; Kim, M.Y. Non-alcoholic fatty liver disease: Definition and subtypes. *Clin. Mol. Hepatol.* **2023**, *29*, S5–S16.
  63. Eslam, M.; Newsome, P.N.; Sarin, S.K.; Anstee, Q.M.; Targher, G.; Romero-Gomez, M.; Zelber-Sagi, S.; Wai-Sun Wong, V.; Dufour, J.-F.; Schattenberg, J.M.; et al. A new definition for metabolic dysfunction-associated fatty liver disease: An international expert consensus statement. *J. Hepatol.* **2020**, *73*, 202–209.
  64. World Gastroenterology Organisation Enfermedad del hígado graso no alcohólico y esteatohepatitis no alcohólica Available online: <https://www.worldgastroenterology.org/guidelines/naflid-nash/naflid-nash-spanish>.
  65. Piazzolla, V.A.; Mangia, A. Noninvasive Diagnosis of NAFLD and NASH. *Cells* **2020**, *9*, 1005.
  66. Kotronen, A.; Peltonen, M.; Hakkarainen, A.; Sevastianova, K.; Bergholm, R.; Johansson, L.M.; Lundbom, N.; Rissanen, A.; Ridderstråle, M.; Groop, L.; et al. Prediction of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and Liver Fat Using Metabolic and Genetic Factors. *Gastroenterology* **2009**, *137*, 865–872.
  67. Lee, J.-H.; Kim, D.; Kim, H.J.; Lee, C.-H.; Yang, J.I.; Kim, W.; Kim, Y.J.; Yoon, J.-H.; Cho, S.-H.; Sung, M.-W.; et al. Hepatic steatosis index: A simple screening tool reflecting nonalcoholic fatty liver disease. *Dig. Liver Dis.* **2010**, *42*, 503–508.
  68. Bedogni, G.; Bellentani, S.; Miglioli, L.; Masutti, F.; Passalacqua, M.; Castiglione, A.; Tiribelli, C. The Fatty Liver Index: a simple and accurate predictor of hepatic steatosis in the general population. *BMC Gastroenterol.* **2006**, *6*, 33.
  69. Khov, N. Bedside ultrasound in the diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease. *World J. Gastroenterol.* **2014**, *20*, 6821.
  70. Sanyal, A.J.; Friedman, S.L.; McCullough, A.J.; Dimick-Santos, L. Challenges and opportunities in drug and biomarker development for nonalcoholic steatohepatitis: Findings and recommendations from an American Association for the Study of Liver Diseases–U.S. Food and Drug Administration Joint Workshop. *Hepatology* **2015**, *61*, 1392–1405.
  71. Rong, L.; Zou, J.; Ran, W.; Qi, X.; Chen, Y.; Cui, H.; Guo, J. Advancements in the treatment of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. **2023**, *13*.
  72. FDA Approves First Treatment for Patients with Liver Scarring Due to Fatty Liver Disease. U.S. Food & Drug Administration Available online:

- <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-first-treatment-patients-liver-scarring-due-fatty-liver-disease>.
73. Huang, D.Q.; Singal, A.G.; Kono, Y.; Tan, D.J.H.; El-Serag, H.B.; Loomba, R. Changing global epidemiology of liver cancer from 2010 to 2019: NASH is the fastest growing cause of liver cancer. *Cell Metab.* **2022**, *34*, 969-977.e2.
  74. Wong, V.W.-S.S.; Ekstedt, M.; Wong, G.L.-H.H.; Hagström, H. Changing epidemiology, global trends and implications for outcomes of NAFLD. *J. Hepatol.* **2023**, *79*, 842–852.
  75. Lazarus, J. V.; Colombo, M.; Cortez-Pinto, H.; Huang, T.T.-K.; Miller, V.; Ninburg, M.; Schattenberg, J.M.; Seim, L.; Wong, V.W.S.; Zelber-Sagi, S. NAFLD — sounding the alarm on a silent epidemic. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* **2020**, *17*, 377–379.
  76. Younossi, Z.M.; Golabi, P.; Paik, J.M.; Henry, A.; Van Dongen, C.; Henry, L. The global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and nonalcoholic steatohepatitis (NASH): a systematic review. *Hepatology* **2023**, *77*, 1335–1347.
  77. Brea, A.; Puzo, J. Non-alcoholic fatty liver disease and cardiovascular risk. *Int. J. Cardiol.* **2013**, *167*, 1109–1117.
  78. Spanish association for the study of the liver (AEEH) *Enfermedad de hígado graso no alcohólico: un estudio integral*; Calleja, J.L., Turnes, J., Eds.; Fundación Gaspar Casal, 2021; ISBN 978-84-7360-776-6.
  79. Cholongitas, E. Epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease in Europe: a systematic review and meta-analysis. *Ann. Gastroenterol.* **2021**.
  80. Caballería, L.; Pera, G.; Auladell, M.A.; Torán, P.; Muñoz, L.; Miranda, D.; Alumà, A.; Casas, J.D.; Sánchez, C.; Gil, D.; et al. Prevalence and factors associated with the presence of nonalcoholic fatty liver disease in an adult population in Spain. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* **2010**, *22*, 24–32.
  81. Fan, Y.; Pedersen, O. Gut microbiota in human metabolic health and disease. *Nat. Rev. Microbiol.* **2021**, *19*, 55–71.
  82. Boursier, J.; Diehl, A.M. Implication of Gut Microbiota in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *PLOS Pathog.* **2015**, *11*, e1004559.
  83. Alghamdi, W.; Mosli, M.; Alqahtani, S.A. Gut microbiota in MAFLD: therapeutic and diagnostic implications. *Ther. Adv. Endocrinol. Metab.* **2024**, *15*.
  84. Martín-Mateos, R.; Albillos, A. The Role of the Gut-Liver Axis in Metabolic Dysfunction-Associated Fatty Liver Disease. *Front. Immunol.* **2021**, *12*.
  85. Sharpton, S.R.; Schnabl, B.; Knight, R.; Loomba, R. Current Concepts, Opportunities, and Challenges of Gut Microbiome-Based Personalized Medicine in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Cell Metab.* **2021**, *33*, 21–32.
  86. Aron-Wisnewsky, J.; Vigliotti, C.; Witjes, J.; Le, P.; Holleboom, A.G.; Verheij, J.; Nieuwdorp, M.; Clément, K. Gut microbiota and human NAFLD: disentangling microbial signatures from metabolic disorders. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* **2020**, *17*, 279–297.

87. Jung, S.; Bae, H.; Song, W.-S.; Jang, C. Dietary Fructose and Fructose-Induced Pathologies. *Annu. Rev. Nutr.* **2022**, *42*, 45–66.
88. Finck, B.N. Targeting Metabolism, Insulin Resistance, and Diabetes to Treat Nonalcoholic Steatohepatitis. *Diabetes* **2018**, *67*, 2485–2493.
89. Targher, G.; Byrne, C.D. Non-alcoholic fatty liver disease: an emerging driving force in chronic kidney disease. *Nat. Rev. Nephrol.* **2017**, *13*, 297–310.
90. Cao, Y.; Deng, Y.; Wang, J.; Zhao, H.; Zhang, J.; Xie, W. The association between NAFLD and risk of chronic kidney disease: a cross-sectional study. *Ther. Adv. Chronic Dis.* **2021**, *12*, 204062232110486.
91. Liu, H.-W.; Liu, J.-S.; Kuo, K.-L. Association of nonalcoholic fatty liver and chronic kidney disease: An analysis of 37,825 cases from health checkup center in Taiwan. *Tzu Chi Med. J.* **2020**, *32*, 65.
92. Mantovani, A.; Lombardi, R.; Cattazzo, F.; Zusi, C.; Cappelli, D.; Dalbeni, A. MAFLD and CKD: An Updated Narrative Review. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 7007.
93. Mantovani, A.; Zaza, G.; Byrne, C.D.; Lonardo, A.; Zoppini, G.; Bonora, E.; Targher, G. Nonalcoholic fatty liver disease increases risk of incident chronic kidney disease: A systematic review and meta-analysis. *Metabolism* **2018**, *79*, 64–76.
94. Mantovani, A.; Petracca, G.; Beatrice, G.; Csermely, A.; Lonardo, A.; Schattenberg, J.M.; Tilg, H.; Byrne, C.D.; Targher, G. Non-alcoholic fatty liver disease and risk of incident chronic kidney disease: an updated meta-analysis. *Gut* **2022**, *71*, 156–162.
95. Stevens, P.E. Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease: Synopsis of the Kidney Disease: Improving Global Outcomes 2012 Clinical Practice Guideline. *Ann. Intern. Med.* **2013**, *158*, 825.
96. Stefansson, V.T.N.; Schei, J.; Jenssen, T.G.; Melsom, T.; Eriksen, B.O. Central obesity associates with renal hyperfiltration in the non-diabetic general population: a cross-sectional study. *BMC Nephrol.* **2016**, *17*, 172.
97. Sasson, A.N. Renal hyperfiltration related to diabetes mellitus and obesity in human disease. *World J. Diabetes* **2012**, *3*, 1.
98. Ruggenenti, P.; Porrini, E.L.; Gaspari, F.; Motterlini, N.; Cannata, A.; Carrara, F.; Cella, C.; Ferrari, S.; Stucchi, N.; Parvanova, A.; et al. Glomerular Hyperfiltration and Renal Disease Progression in Type 2 Diabetes. *Diabetes Care* **2012**, *35*, 2061–2068.
99. Ruggenenti, P.; Abbate, M.; Ruggiero, B.; Rota, S.; Trillini, M.; Aparicio, C.; Parvanova, A.; Petrov Iliev, I.; Pisanu, G.; Perna, A.; et al. Renal and Systemic Effects of Calorie Restriction in Patients With Type 2 Diabetes With Abdominal Obesity: A Randomized Controlled Trial. *Diabetes* **2017**, *66*, 75–86.
100. Ogobuiro, I.; Tuma, F. Physiology, Renal. *StatPearls. Treasure Island, Florida. StatPearls Publ.* **2024**.
101. Bhargava, P.; Schnellmann, R.G. Mitochondrial energetics in the kidney. *Nat. Rev. Nephrol.* **2017**, *13*, 629–646.

102. Sureshbabu, A.; Ryter, S.W.; Choi, M.E. Oxidative stress and autophagy: Crucial modulators of kidney injury. *Redox Biol.* **2015**, *4*, 208–214.
103. Hashmi, M.F.; Benjamin, O.; Lappin, S.L. End-Stage Renal Disease. *StatPearls Treasure Isl. StatPearls Publ.* **2023**.
104. Lees, J.S.; Welsh, C.E.; Celis-Morales, C.A.; Mackay, D.; Lewsey, J.; Gray, S.R.; Lyall, D.M.; Cleland, J.G.; Gill, J.M.R.; Jhund, P.S.; et al. Glomerular filtration rate by differing measures, albuminuria and prediction of cardiovascular disease, mortality and end-stage kidney disease. *Nat. Med.* **2019**, *25*, 1753–1760.
105. International Society of Nephrology New global kidney health report sheds light on current capacity around the world to deliver kidney care Available online: <https://www.theisn.org/blog/2023/03/30/new-global-kidney-health-report-sheds-light-on-current-capacity-around-the-world-to-deliver-kidney-care/> (accessed on Mar 20, 2024).
106. Xie, K.; Bao, L.; Jiang, X.; Ye, Z.; Bing, J.; Dong, Y.; Gao, D.; Ji, X.; Jiang, T.; Li, J.; et al. The association of metabolic syndrome components and chronic kidney disease in patients with hypertension. *Lipids Health Dis.* **2019**, *18*.
107. Bikbov, B.; Purcell, C.A.; Levey, A.S.; Smith, M.; Abdoli, A.; Abebe, M.; Adebayo, O.M.; Afarideh, M.; Agarwal, S.K.; Agudelo-Botero, M.; et al. Global, regional, and national burden of chronic kidney disease, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet* **2020**, *395*, 709–733.
108. Wu, M.; Shu, Y.; Wang, L.; Song, L.; Chen, S.; Liu, Y.; Bi, J.; Li, D.; Yang, Y.; Hu, Y.; et al. Metabolic syndrome severity score and the progression of CKD. *Eur. J. Clin. Invest.* **2022**, *52*.
109. Lerman, L.O.; Lerman, A. The metabolic syndrome and early kidney disease: another link in the chain? *Rev. Esp. Cardiol.* **2011**, *64*, 358–360.
110. Wang, H.; Naghavi, M.; Allen, C.; Barber, R.M.; Bhutta, Z.A.; Carter, A.; Casey, D.C.; Charlson, F.J.; Chen, A.Z.; Coates, M.M.; et al. Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet* **2016**, *388*, 1459–1544.
111. Foreman, K.J.; Marquez, N.; Dolgert, A.; Fukutaki, K.; Fullman, N.; McGaughey, M.; Pletcher, M.A.; Smith, A.E.; Tang, K.; Yuan, C.-W.; et al. Forecasting life expectancy, years of life lost, and all-cause and cause-specific mortality for 250 causes of death: reference and alternative scenarios for 2016–40 for 195 countries and territories. *Lancet* **2018**, *392*, 2052–2090.
112. Sociedad Española de Nefrología *La Enfermedad Renal Crónica en España*; 2022;
113. Ku, E.; Lee, B.J.; Wei, J.; Weir, M.R. Hypertension in CKD: Core Curriculum 2019. *Am. J. Kidney Dis.* **2019**, *74*, 120–131.
114. Georgianos, P.I.; Agarwal, R. Hypertension in Chronic Kidney Disease (CKD): Diagnosis, Classification, and Therapeutic Targets. *Am. J. Hypertens.* **2021**, *34*, 318–326.
115. Verdalles, Ú.; Goicoechea, M.; Garcia de Vinuesa, S.; Quiroga, B.; Galan, I.; Verde,



- E.; Perez de Jose, A.; Luño, J. Prevalencia y características de los pacientes con hipertensión arterial resistente y enfermedad renal crónica. *Nefrología* **2016**, *36*, 523–529.
116. Horowitz, B.; Miskulin, D.; Zager, P. Epidemiology of Hypertension in CKD. *Adv. Chronic Kidney Dis.* **2015**, *22*, 88–95.
  117. Thomas, M.C.; Brownlee, M.; Susztak, K.; Sharma, K.; Jandeleit-Dahm, K.A.M.; Zoungas, S.; Rossing, P.; Groop, P.-H.; Cooper, M.E. Diabetic kidney disease. *Nat. Rev. Dis. Prim.* **2015**, *1*, 15018.
  118. Birben, E.; Sahiner, U.M.; Sackesen, C.; Erzurum, S.; Kalayci, O. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *World Allergy Organ. J.* **2012**, *5*, 9–19.
  119. Valko, M.; Rhodes, C.J.; Moncol, J.; Izakovic, M.; Mazur, M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem. Biol. Interact.* **2006**, *160*, 1–40.
  120. Liguori, I.; Russo, G.; Curcio, F.; Bulli, G.; Aran, L.; Della-Morte, D.; Gargiulo, G.; Testa, G.; Cacciatore, F.; Bonaduce, D.; et al. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin. Interv. Aging* **2018**, *Volume 13*, 757–772.
  121. Koopman, W.J.H.; Nijtmans, L.G.J.; Dieteren, C.E.J.; Roestenberg, P.; Valsecchi, F.; Smeitink, J.A.M.; Willems, P.H.G.M. Mammalian Mitochondrial Complex I: Biogenesis, Regulation, and Reactive Oxygen Species Generation. *Antioxid. Redox Signal.* **2010**, *12*, 1431–1470.
  122. Avello, M.; Suwalsky, M. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea (Concepción)* **2006**.
  123. Wassmann, S.; Wassmann, K.; Nickenig, G. Modulation of Oxidant and Antioxidant Enzyme Expression and Function in Vascular Cells. *Hypertension* **2004**, *44*, 381–386.
  124. Salvador, A.; Sousa, J.; Pinto, R.E. Hydroperoxyl, superoxide and pH gradients in the mitochondrial matrix: a theoretical assessment. *Free Radic. Biol. Med.* **2001**, *31*, 1208–1215.
  125. Carvajal-Carvajal, C. Reactive oxygen species: training, function and oxidative stress. *Med. leg. Costa Rica* **2019**, *36*, 91–100.
  126. ALESSIO, H.M.; HAGERMAN, A.E.; FULKERSON, B.K.; AMBROSE, J.; RICE, R.E.; WILEY, R.L. Generation of reactive oxygen species after exhaustive aerobic and isometric exercise. *Med. Sci. Sport. Exerc.* **2000**, 1576–1581.
  127. Dröge, W. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiol. Rev.* **2002**, *82*, 47–95.
  128. Ayala, A.; Muñoz, M.F.; Argüelles, S. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2014**, *2014*, 1–31.
  129. Dalle-Donne, I.; Aldini, G.; Carini, M.; Colombo, R.; Rossi, R.; Milzani, A. Protein carbonylation, cellular dysfunction, and disease progression. *J. Cell. Mol. Med.* **2006**, *10*, 389–406.

130. Wickens, A.P. Ageing and the free radical theory. *Respir. Physiol.* **2001**, *128*, 379–391.
131. Shigenaga, M.K.; Ames, B.N. Assays for 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine: A biomarker of in vivo oxidative DNA damage. *Free Radic. Biol. Med.* **1991**, *10*, 211–216.
132. Larsen, E.L.; Weimann, A.; Poulsen, H.E. Interventions targeted at oxidatively generated modifications of nucleic acids focused on urine and plasma markers. *Free Radic. Biol. Med.* **2019**, *145*, 256–283.
133. Kjær, L.K.; Cejvanovic, V.; Henriksen, T.; Petersen, K.M.; Hansen, T.; Pedersen, O.; Christensen, C.K.; Torp-Pedersen, C.; Gerds, T.A.; Brandslund, I.; et al. Cardiovascular and All-Cause Mortality Risk Associated With Urinary Excretion of 8-oxoGuo, a Biomarker for RNA Oxidation, in Patients With Type 2 Diabetes: A Prospective Cohort Study. *Diabetes Care* **2017**, *40*, 1771–1778.
134. Henriksen, T.; Hillestrøm, P.R.; Poulsen, H.E.; Weimann, A. Automated method for the direct analysis of 8-oxo-guanosine and 8-oxo-2'-deoxyguanosine in human urine using ultraperformance liquid chromatography and tandem mass spectrometry. *Free Radic. Biol. Med.* **2009**, *47*, 629–635.
135. Lennicke, C.; Cochemé, H.M. Redox metabolism: ROS as specific molecular regulators of cell signaling and function. *Mol. Cell* **2021**, *81*, 3691–3707.
136. Zelko, I.N.; Mariani, T.J.; Folz, R.J. Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radic. Biol. Med.* **2002**, *33*, 337–349.
137. Goyal, M.M.; Basak, A. Human catalase: looking for complete identity. *Protein Cell* **2010**, *1*, 888–897.
138. SIES, H. Oxidative Stress: Introductory Remarks. In *Oxidative Stress*; Elsevier, 1985; pp. 1–8.
139. Halliwell, B.; Gutteridge, J.M.C. *Free Radicals in Biology and Medicine*; 5th ed.; 2013; ISBN 9780198717485.
140. Ji, L.L. Antioxidants and Oxidative Stress in Exercise. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **1999**, *222*, 283–292.
141. Brigelius-Flohé, R. Glutathione peroxidases and redox-regulated transcription factors. *Biol. Chem.* **2006**, *387*.
142. Meister, A.; Anderson, M.E. GLUTATHIONE. *Annu. Rev. Biochem.* **1983**, *52*, 711–760.
143. Averill-Bates, D.A. The antioxidant glutathione. *Vitam. Horm.* **2023**, *121*, 109–141.
144. Lu, J.; Holmgren, A. The thioredoxin antioxidant system. *Free Radic. Biol. Med.* **2014**, *66*, 75–87.
145. Olivares, L.D.; Cabrera, G.B.; Martínez, M.T.S. Importancia de los antioxidantes dietarios en la disminución del estrés oxidativo. *Investig. Cienc.* **2010**, *18*, 10–15.
146. Alpsy, L.; Yalvac, M.E. Key Roles of Vitamins A, C, and E in Aflatoxin B1-Induced Oxidative Stress. In *Vitamins and hormones*; 2011; pp. 287–305.

147. Singh, A.; Yau, Y.F.; Leung, K.S.; El-Nezami, H.; Lee, J.C.-Y. Interaction of Polyphenols as Antioxidant and Anti-Inflammatory Compounds in Brain–Liver–Gut Axis. *Antioxidants* **2020**, *9*, 669.
148. Pérez-Torres, I.; Castrejón-Téllez, V.; Soto, M.E.; Rubio-Ruiz, M.E.; Manzano-Pech, L.; Guarner-Lans, V. Oxidative Stress, Plant Natural Antioxidants, and Obesity. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 1786.
149. Manna, P.; Jain, S.K. Obesity, Oxidative Stress, Adipose Tissue Dysfunction, and the Associated Health Risks: Causes and Therapeutic Strategies. *Metab. Syndr. Relat. Disord.* **2015**, *13*, 423–444.
150. Monserrat-Mesquida, M.; Quetglas-Llabrés, M.; Bouzas, C.; Capó, X.; Mateos, D.; Ugarriza, L.; Tur, J.A.; Sureda, A. Peripheral blood mononuclear cells oxidative stress and plasma inflammatory biomarkers in adults with normal weight, overweight and obesity. *Antioxidants* **2021**, *10*, 813.
151. Bekkouche, L.; Bouchenak, M.; Malaisse, W.; Yahia, D. The Mediterranean Diet Adoption Improves Metabolic, Oxidative, and Inflammatory Abnormalities in Algerian Metabolic Syndrome Patients. *Horm. Metab. Res.* **2014**, *46*, 274–282.
152. Monserrat-Mesquida, M.; Quetglas-Llabrés, M.; Capó, X.; Bouzas, C.; Mateos, D.; Pons, A.; Tur, J.A.; Sureda, A. Metabolic Syndrome Is Associated with Oxidative Stress and Proinflammatory State. *Antioxidants* **2020**, *9*, 236.
153. Monserrat-Mesquida, M.; Quetglas-Llabrés, M.; Abbate, M.; Montemayor, S.; Mascaró, C.M.; Casares, M.; Tejada, S.; Abete, I.; Zulet, M.A.; Tur, J.A.; et al. Oxidative stress and pro-inflammatory status in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Antioxidants* **2020**, *9*, 1–16.
154. Daenen, K.; Andries, A.; Mekahli, D.; Van Schepdael, A.; Jouret, F.; Bammens, B. Oxidative stress in chronic kidney disease. *Pediatr. Nephrol.* **2019**, *34*, 975–991.
155. Kumar, V.A.; Abbas, A.K.; Aster, J.C. *Robbins y Cotran. Patología Estructural Y Funcional; Elsevier*; 9th ed.; 2015; ISBN 9788490228784.
156. Medzhitov, R. Origin and physiological roles of inflammation. *Nature* **2008**, *454*, 428–435.
157. Geering, B.; Stoeckle, C.; Conus, S.; Simon, H.-U. Living and dying for inflammation: neutrophils, eosinophils, basophils. *Trends Immunol.* **2013**, *34*, 398–409.
158. Bordés González, R.; Martínez Beltrán, M.; García Olivares, E.; Guisado Barrilao, R. EL PROCESO INFLAMATORIO Available online: chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://ruidera.uclm.es/server/api/core/bitstreams/59f94018-746c-47f7-a682-652b9d460e3b/content.
159. Gallin, J.I.; Goldstein, I.M.; Snyderman, R. Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates. *Med. Biol.* **1992**.
160. Shah, P.M.; Dietch, Z.C.; Sawyer, R.G. COMPONENTES DEL SISTEMA INMUNITARIO. In *Sabiston. Tratado de cirugía: Fundamentos biológicos de la práctica quirúrgica moderna*; 2017.
161. Nathan, C. Neutrophils and immunity: challenges and opportunities. *Nat. Rev.*

- Immunol.* **2006**, *6*, 173–182.
162. Granger, D.N.; Senchenkova, E. Inflammation and the Microcirculation. *Colloq. Ser. Integr. Syst. Physiol. From Mol. to Funct.* **2010**, *2*, 1–87.
  163. Lowry, S.F. The Evolution of an Inflammatory Response. *Surg. Infect. (Larchmt)*. **2009**, *10*, 419–425.
  164. Chatzigeorgiou, A.; Karalis, K.P.; Bornstein, S.R.; Chavakis, T. Lymphocytes in obesity-related adipose tissue inflammation. *Diabetologia* **2012**, *55*, 2583–2592.
  165. Minihane, A.M.; Vinoy, S.; Russell, W.R.; Baka, A.; Roche, H.M.; Tuohy, K.M.; Teeling, J.L.; Blaak, E.E.; Fenech, M.; Vauzour, D.; et al. Low-grade inflammation, diet composition and health: current research evidence and its translation. *Br. J. Nutr.* **2015**, *114*, 999–1012.
  166. Sugimoto, M.A.; Sousa, L.P.; Pinho, V.; Perretti, M.; Teixeira, M.M. Resolution of Inflammation: What Controls Its Onset? *Front. Immunol.* **2016**, *7*.
  167. Murano, I.; Barbatelli, G.; Parisani, V.; Latini, C.; Muzzonigro, G.; Castellucci, M.; Cinti, S. Dead adipocytes, detected as crown-like structures, are prevalent in visceral fat depots of genetically obese mice. *J. Lipid Res.* **2008**, *49*, 1562–1568.
  168. WOLIN, M.S. Reactive Oxygen Species and Vascular Signal Transduction Mechanisms. *Microcirculation* **1996**, *3*, 1–17.
  169. Rahman, I.; MacNee, W. Oxidative stress and regulation of glutathione in lung inflammation. *Eur. Respir. J.* **2000**, *16*, 534.
  170. Serhan, C.N.; Levy, B.D. Resolvins in inflammation: emergence of the pro-resolving superfamily of mediators. *J. Clin. Invest.* **2018**, *128*, 2657–2669.
  171. Headland, S.E.; Norling, L. V. The resolution of inflammation: Principles and challenges. *Semin. Immunol.* **2015**, *27*, 149–160.
  172. Serhan, C.N.; Savill, J. Resolution of inflammation: the beginning programs the end. *Nat. Immunol.* **2005**, *6*, 1191–1197.
  173. Reville, K.; Crean, J.K.; Vivers, S.; Dransfield, I.; Godson, C. Lipoxin A4 Redistributes Myosin IIA and Cdc42 in Macrophages: Implications for Phagocytosis of Apoptotic Leukocytes. *J. Immunol.* **2006**, *176*, 1878–1888.
  174. Feghali, C.; Wright, T. Cytokines in acute and chronic inflammation. *Front. Biosci.* **1997**, *2*, A171.
  175. Akash, M.S.H.; Rehman, K.; Liaqat, A. Tumor Necrosis Factor-Alpha: Role in Development of Insulin Resistance and Pathogenesis of Type 2 Diabetes Mellitus. *J. Cell. Biochem.* **2018**, *119*, 105–110.
  176. Rose-John, S. Interleukin-6 Family Cytokines. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **2018**, *10*, a028415.
  177. McElvaney, O.J.; Curley, G.F.; Rose-John, S.; McElvaney, N.G. Interleukin-6: obstacles to targeting a complex cytokine in critical illness. *Lancet Respir. Med.* **2021**, *9*, 643–654.
  178. Pedersen, B.K.; Febbraio, M.A. Muscle as an Endocrine Organ: Focus on Muscle-

- Derived Interleukin-6. *Physiol. Rev.* **2008**, *88*, 1379–1406.
179. Petersen, A.M.W.; Pedersen, B.K. The anti-inflammatory effect of exercise. *J. Appl. Physiol.* **2005**, *98*, 1154–1162.
  180. Gabay, C.; Lamacchia, C.; Palmer, G. IL-1 pathways in inflammation and human diseases. *Nat. Rev. Rheumatol.* **2010**, *6*, 232–241.
  181. Yazdi, A.S.; Ghoreschi, K. The Interleukin-1 Family. In; 2016; pp. 21–29.
  182. Yasuda, K.; Nakanishi, K.; Tsutsui, H. Interleukin-18 in Health and Disease. *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, *20*, 649.
  183. Wuttge, D.M.; Eriksson, P.; Sirsjö, A.; Hansson, G.K.; Stemme, S. Expression of Interleukin-15 in Mouse and Human Atherosclerotic Lesions. *Am. J. Pathol.* **2001**, *159*, 417.
  184. Patidar, M.; Yadav, N.; Dalai, S.K. Interleukin 15: A key cytokine for immunotherapy. *Cytokine Growth Factor Rev.* **2016**, *31*, 49–59.
  185. Burke, J.D.; Young, H.A. IFN- $\gamma$ : A cytokine at the right time, is in the right place. *Semin. Immunol.* **2019**, *43*, 101280.
  186. Sporn, M.B.; Roberts, A.B.; Wakefield, L.M.; Assoian, R.K. Transforming Growth Factor- $\beta$ : Biological Function and Chemical Structure. *Science (80-. ).* **1986**, *233*, 532–534.
  187. Morikawa, M.; Derynck, R.; Miyazono, K. TGF- $\beta$  and the TGF- $\beta$  Family: Context-Dependent Roles in Cell and Tissue Physiology. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **2016**, *8*, a021873.
  188. Singh, S.; Anshita, D.; Ravichandiran, V. MCP-1: Function, regulation, and involvement in disease. *Int. Immunopharmacol.* **2021**, *101*, 107598.
  189. Polyzos, S.A.; Anastasilakis, A.D.; Efstathiadou, Z.A.; Makras, P.; Perakakis, N.; Kountouras, J.; Mantzoros, C.S. Irisin in metabolic diseases. *Endocrine* **2018**, *59*, 260–274.
  190. Choi, E.S.; Kim, M.K.; Song, M.K.; Kim, J.M.; Kim, E.S.; Chung, W.J.; Park, K.S.; Cho, K.B.; Hwang, J.S.; Jang, B.K. Association between Serum Irisin Levels and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Health Screen Examinees. *PLoS One* **2014**, *9*, e110680.
  191. Richard, C.; Royer, M.M.; Couture, P.; Cianflone, K.; Rezvani, R.; Desroches, S.; Lamarche, B. Effect of the Mediterranean diet on plasma adipokine concentrations in men with metabolic syndrome. *Metabolism.* **2013**, *62*, 1803–1810.
  192. Kaser, S.; Kaser, A.; Sandhofer, A.; Ebenbichler, C.F.; Tilg, H.; Patsch, J.R. Resistin messenger-RNA expression is increased by proinflammatory cytokines in vitro. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2003**, *309*, 286–290.
  193. Klok, M.D.; Jakobsdottir, S.; Drent, M.L. The role of leptin and ghrelin in the regulation of food intake and body weight in humans: A review. *Obes. Rev.* **2007**, *8*, 21–34.
  194. Zhang, Y.; Chua, S. Leptin Function and Regulation. In *Comprehensive Physiology*;

Wiley, 2017; pp. 351–369.

195. Shibata, R.; Ouchi, N.; Takahashi, R.; Terakura, Y.; Ohashi, K.; Ikeda, N.; Higuchi, A.; Terasaki, H.; Kihara, S.; Murohara, T. Omentin as a novel biomarker of metabolic risk factors. *Diabetol. Metab. Syndr.* **2012**, *4*, 1–4.
196. Hussein, A.A.; Ahmed, N.A.; Sakr, H.I.; Atia, T.; Ahmed, O.M. Omentin roles in physiology and pathophysiology: an up-to-date comprehensive review. *Arch. Physiol. Biochem.* **2023**, 1–14.
197. Su, X.; Cheng, Y.; Zhang, G.; Wang, B. Chemerin in inflammatory diseases. *Clin. Chim. Acta* **2021**, *517*, 41–47.
198. Yue, G.; An, Q.; Xu, X.; Jin, Z.; Ding, J.; Hu, Y.; Du, Q.; Xu, J.; Xie, R. The role of Chemerin in human diseases. *Cytokine* **2023**, *162*, 156089.
199. Marakala, V. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in kidney injury – A systematic review. *Clin. Chim. Acta* **2022**, *536*, 135–141.
200. Wang, B.; Yang, R.-N.; Zhu, Y.-R.; Xing, J.-C.; Lou, X.-W.; He, Y.-J.; Ding, Q.-L.; Zhang, M.-Y.; Qiu, H. Involvement of xanthine oxidase and paraoxonase 1 in the process of oxidative stress in nonalcoholic fatty liver disease. *Mol. Med. Rep.* **2017**, *15*, 387–395.
201. Musso, G.; Gambino, R.; Cassader, M.; Pagano, G. Meta-analysis: Natural history of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and diagnostic accuracy of non-invasive tests for liver disease severity. *Ann. Med.* **2011**, *43*, 617–649.
202. Fasano, A. Zonulin and Its Regulation of Intestinal Barrier Function: The Biological Door to Inflammation, Autoimmunity, and Cancer. *Physiol. Rev.* **2011**, *91*, 151–175.
203. Hendy, O.M.; Elsabaawy, M.M.; Aref, M.M.; Khalaf, F.M.; Oda, A.M.A.; El Shazly, H.M. Evaluation of circulating zonulin as a potential marker in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *APMIS* **2017**, *125*, 607–613.
204. Moreno-Navarrete, J.M.; Sabater, M.; Ortega, F.; Ricart, W.; Fernández-Real, J.M. Circulating zonulin, a marker of intestinal permeability, is increased in association with obesity-associated insulin resistance. *PLoS One* **2012**, *7*.
205. Soppert, J.; Brandt, E.F.; Heussen, N.M.; Barzakova, E.; Blank, L.M.; Kuepfer, L.; Hornef, M.W.; Trebicka, J.; Jankowski, J.; Berres, M.-L.; et al. Blood Endotoxin Levels as Biomarker of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* **2023**, *21*, 2746–2758.
206. Yang, M.; Song, X.-Q.; Han, M.; Liu, H. The role of Resolvin D1 in liver diseases. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* **2022**, *160*, 106634.
207. Aratani, Y. Myeloperoxidase: Its role for host defense, inflammation, and neutrophil function. *Arch. Biochem. Biophys.* **2018**, *640*, 47–52.
208. Rensen, S.S.; Bieghs, V.; Xanthoulea, S.; Arfianti, E.; Bakker, J.A.; Shiri-Sverdlov, R.; Hofker, M.H.; Greve, J.W.; Buurman, W.A. Neutrophil-Derived Myeloperoxidase Aggravates Non-Alcoholic Steatohepatitis in Low-Density Lipoprotein Receptor-Deficient Mice. *PLoS One* **2012**, *7*, e52411.

209. Rensen, S.S.; Slaats, Y.; Nijhuis, J.; Jans, A.; Bieghs, V.; Driessen, A.; Malle, E.; Greve, J.W.; Buurman, W.A. Increased Hepatic Myeloperoxidase Activity in Obese Subjects with Nonalcoholic Steatohepatitis. *Am. J. Pathol.* **2009**, *175*, 1473–1482.
210. Sproston, N.R.; Ashworth, J.J. Role of C-Reactive Protein at Sites of Inflammation and Infection. *Front. Immunol.* **2018**, *9*.
211. Kawai, T.; Autieri, M. V.; Scalia, R. Adipose tissue inflammation and metabolic dysfunction in obesity. *Am. J. Physiol. Physiol.* **2021**, *320*, C375–C391.
212. Torre, P.; Motta, B.M.; Sciorio, R.; Masarone, M.; Persico, M. Inflammation and Fibrogenesis in MAFLD: Role of the Hepatic Immune System. *Front. Med.* **2021**, *8*.
213. Sato, Y.; Yanagita, M. Immune cells and inflammation in AKI to CKD progression. *Am. J. Physiol. Physiol.* **2018**, *315*, F1501–F1512.
214. Suksatan, W.; Moradi, S.; Naeini, F.; Bagheri, R.; Mohammadi, H.; Talebi, S.; Mehrabani, S.; Ali Hojjati Kermani, M.; Suzuki, K. Ultra-processed food consumption and adult mortality risk: A systematic review and dose–response meta-analysis of 207,291 participants. *Nutrients* **2021**, *14*, 174.
215. Kearney, J. Food consumption trends and drivers. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* **2010**, *365*, 2793–2807.
216. Beslay, M.; Srour, B.; Méjean, C.; Allès, B.; Fiolet, T.; Debras, C.; Chazelas, E.; Deschasaux, M.; Wendeu-Foyet, M.G.; Hercberg, S.; et al. Ultra-processed food intake in association with BMI change and risk of overweight and obesity: A prospective analysis of the French NutriNet-Santé cohort. *PLoS Med.* **2020**, *17*, e1003256.
217. Monteiro, C.A.; Cannon, G.; Levy, R.B.; Moubarac, J.C.; Louzada, M.L.C.; Rauber, F.; Khandpur, N.; Cediel, G.; Neri, D.; Martinez-Steele, E.; et al. Ultra-processed foods: what they are and how to identify them. *Public Health Nutr.* **2019**, *22*, 936–941.
218. DeSalvo, K.B.; Olson, R.; Casavale, K.O. Dietary Guidelines for Americans. *JAMA* **2016**, *315*, 457–458.
219. Monteiro, C.A., Cannon, G., Lawrence, M., Costa Louzada, M.L. and Pereira Machado, P. Ultra-processed foods, diet quality, and health using the NOVA classification system. *Food Agric. Organ. United Nations* 2019, 1–44.
220. Mertens, E.; Colizzi, C.; Peñalvo, J.L. Ultra-processed food consumption in adults across Europe. *Eur. J. Nutr.* **2022**, *61*, 1521–1539.
221. Fardet, A. Minimally processed foods are more satiating and less hyperglycemic than ultra-processed foods: a preliminary study with 98 ready-to-eat foods. *Food Funct.* **2016**, *7*, 2338–2346.
222. Poti, J.M.; Braga, B.; Qin, B. Ultra-processed Food Intake and Obesity: What Really Matters for Health-Processing or Nutrient Content? *Curr. Obes. Rep.* **2017**, *6*, 420–431.
223. Elizabeth, L.; Machado, P.; Zinöcker, M.; Baker, P.; Lawrence, M. Ultra-Processed Foods and Health Outcomes: A Narrative Review. *Nutrients* **2020**, *12*, 1955.

224. Levy, R.B.; Rauber, F.; Chang, K.; Louzada, M.L. da C.; Monteiro, C.A.; Millett, C.; Vamos, E.P. Ultra-processed food consumption and type 2 diabetes incidence: A prospective cohort study. *Clin. Nutr.* **2021**, *40*, 3608–3614.
225. Donat-Vargas, C.; Sandoval-Insausti, H.; Rey-García, J.; Moreno-Franco, B.; Åkesson, A.; Banegas, J.R.; Rodríguez-Artalejo, F.; Guallar-Castillon, P. High Consumption of Ultra-Processed Food is Associated with Incident Dyslipidemia: A Prospective Study of Older Adults. *J. Nutr.* **2021**, *151*, 2390–2398.
226. Konieczna, J.; Fiol, M.; Colom, A.; Martínez-González, M.Á.; Salas-Salvadó, J.; Corella, D.; Soria-Flórido, M.T.; Martínez, J.A.; Alonso-Gómez, Á.M.; Wärnberg, J.; et al. Does Consumption of Ultra-Processed Foods Matter for Liver Health? Prospective Analysis among Older Adults with Metabolic Syndrome. *Nutrients* **2022**, *14*, 4142.
227. Martínez Leo, E.E.; Peñafiel, A.M.; Hernández Escalante, V.M.; Cabrera Araujo, Z.M. Ultra-processed diet, systemic oxidative stress, and breach of immunologic tolerance. *Nutrition* **2021**, *91–92*, 111419.
228. Song, Z.; Song, R.; Liu, Y.; Wu, Z.; Zhang, X. Effects of ultra-processed foods on the microbiota-gut-brain axis: The bread-and-butter issue. *Food Res. Int.* **2023**, *167*, 112730.
229. Finicelli, M.; Squillaro, T.; Cristo, F. Di; Salle, A. Di; Melone, M.A.B.; Galderisi, U.; Peluso, G. Metabolic syndrome, Mediterranean diet, and polyphenols: Evidence and perspectives. *J. Cell. Physiol.* **2019**, *234*, 5807–5826.
230. Anania, C.; Massimo Perla, F.; Olivero, F.; Pacifico, L.; Chiesa, C. Mediterranean diet and nonalcoholic fatty liver disease. *World J. Gastroenterol.* **2018**, *24*, 2083–2094.
231. Abenavoli, L.; Scarpellini, E.; Pellicano, R.; Fagoonee, S.; Larussa, T.; Luzzza, F. Mediterranean diet and probiotics supplementation to treat non-alcoholic fatty liver disease. *Minerva Med.* **2020**, *111*, 526–528.
232. Torres, M.C.P.; Aghemo, A.; Lleo, A.; Bodini, G.; Furnari, M.; Marabotto, E.; Miele, L.; Giannini, E.G. Mediterranean Diet and NAFLD: What We Know and Questions That Still Need to Be Answered. *Nutrients* **2019**, *11*, 2971.
233. Tosti, V.; Bertozzi, B.; Fontana, L. Health Benefits of the Mediterranean Diet: Metabolic and Molecular Mechanisms. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* **2018**, *73*, 318–326.
234. Romero-Gómez, M.; Zelber-Sagi, S.; Trenell, M. Treatment of NAFLD with diet, physical activity and exercise. *J. Hepatol.* **2017**, *67*, 829–846.
235. Abenavoli, L.; Boccuto, L.; Federico, A.; Dallio, M.; Loguercio, C.; Di Renzo, L.; De Lorenzo, A. Diet and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: The Mediterranean Way. **2019**, *16*.
236. Salas-Salvadó, J.; Guasch-Ferré, M.; Lee, C.H.; Estruch, R.; Clish, C.B.; Ros, E. Protective Effects of the Mediterranean Diet on Type 2 Diabetes and Metabolic Syndrome. *J. Nutr.* **2015**, *146*, 920S-927S.
237. Di Daniele, N.D.; Noce, A.; Vidiri, M.F.; Moriconi, E.; Marrone, G.; Annicchiarico-



- Petruzzelli, M.; D'Urso, G.; Tesauro, M.; Rovella, V.; De Lorenzo, A.D. Impact of Mediterranean diet on metabolic syndrome, cancer and longevity. *Oncotarget* **2017**, *8*, 8947–8979.
238. Widmer, R.J.; Flammer, A.J.; Lerman, L.O.; Lerman, A. "The Mediterranean Diet, its Components, and Cardiovascular Disease." *Am. J. Med.* **2015**, *128*, 229–238.
239. Saura-Calixto, F.; Goñi, I. Definition of the Mediterranean diet based on bioactive compounds. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2009**, *49*, 145–152.
240. Gantenbein, K. V.; Kanaka-Gantenbein, C. Mediterranean Diet as an Antioxidant: The Impact on Metabolic Health and Overall Wellbeing. *Nutrients* **2021**, *13*, 1951.
241. Mensah, K.; Maire, A.; Oppert, J.-M.; Dugas, J.; Charreire, H.; Weber, C.; Simon, C.; Nazare, J.-A. Assessment of sedentary behaviors and transport-related activities by questionnaire: a validation study. *BMC Public Health* **2016**, *16*, 753.
242. Waters, C.N.; Ling, E.P.; Chu, A.H.Y.; Ng, S.H.X.; Chia, A.; Lim, Y.W.; Müller-Riemenschneider, F. Assessing and understanding sedentary behaviour in office-based working adults: a mixed-method approach. *BMC Public Health* **2016**, *16*, 360.
243. Tremblay, M.S.; Aubert, S.; Barnes, J.D.; Saunders, T.J.; Carson, V.; Latimer-Cheung, A.E.; Chastin, S.F.M.; Altenburg, T.M.; Chinapaw, M.J.M. Sedentary Behavior Research Network (SBRN) – Terminology Consensus Project process and outcome. *Int. J. Behav. Nutr. Phys. Act.* **2017**, *14*, 75.
244. Wu, J.; Fu, Y.; Chen, D.; Zhang, H.; Xue, E.; Shao, J.; Tang, L.; Zhao, B.; Lai, C.; Ye, Z. Sedentary behavior patterns and the risk of non-communicable diseases and all-cause mortality: A systematic review and meta-analysis. *Int. J. Nurs. Stud.* **2023**, *146*, 104563.
245. You, Y.; Chen, Y.; Fang, W.; Li, X.; Wang, R.; Liu, J.; Ma, X. The association between sedentary behavior, exercise, and sleep disturbance: A mediation analysis of inflammatory biomarkers. *Front. Immunol.* **2023**, *13*.
246. World Health Organization Physical activity.
247. Eckstrom, E.; Neukam, S.; Kalin, L.; Wright, J. Physical Activity and Healthy Aging. *Clin. Geriatr. Med.* **2020**, *36*, 671–683.
248. Ikenaga, M.; Yamada, Y.; Kose, Y.; Morimura, K.; Higaki, Y.; Kiyonaga, A.; Tanaka, H. Effects of a 12-week, short-interval, intermittent, low-intensity, slow-jogging program on skeletal muscle, fat infiltration, and fitness in older adults: randomized controlled trial. *Eur. J. Appl. Physiol.* **2017**, *117*, 7–15.
249. Samitz, G.; Egger, M.; Zwahlen, M. Domains of physical activity and all-cause mortality: systematic review and dose–response meta-analysis of cohort studies. *Int. J. Epidemiol.* **2011**, *40*, 1382–1400.
250. Kelley, G.A.; Kelley, K.S.; Tran, Z.V. Resistance Training and Bone Mineral Density in Women. *Am. J. Phys. Med. Rehabil.* **2001**, *80*, 65–77.
251. Kodama, S. Cardiorespiratory Fitness as a Quantitative Predictor of All-Cause Mortality and Cardiovascular Events in Healthy Men and Women. *JAMA* **2009**, *301*, 2024.

252. Hernández Ruiz de Eguilaz, M.; Batlle, M.A.; Martínez de Morentin, B.; San-Cristóbal, R.; Pérez-Díez, S.; Navas-Carretero, S.; Martínez, J.A. Alimentary and lifestyle changes as a strategy in the prevention of metabolic syndrome and diabetes mellitus type 2: milestones and perspectives. *An. Sist. Sanit. Navar.* **2016**, *39*, 269–289.
253. Castro-Barquero, S.; Ruiz-León, A.M.; Sierra-Pérez, M.; Estruch, R.; Casas, R. Dietary Strategies for Metabolic Syndrome: A Comprehensive Review. *Nutrients* **2020**, *12*.
254. Zaman, R.; Hankir, A.; Jemni, M. LIFESTYLE FACTORS AND MENTAL HEALTH. **2019**, *31*, 217–220.
255. Sampasa-Kanyinga, H.; Colman, I.; Goldfield, G.S.; Janssen, I.; Wang, J.; Podinic, I.; Tremblay, M.S.; Saunders, T.J.; Sampson, M.; Chaput, J.-P. Combinations of physical activity, sedentary time, and sleep duration and their associations with depressive symptoms and other mental health problems in children and adolescents: a systematic review. *Int. J. Behav. Nutr. Phys. Act.* **2020**, *17*, 72.
256. Avila, C.; Holloway, A.C.; Hahn, M.K.; Morrison, K.M.; Restivo, M.; Anglin, R.; Taylor, V.H. An Overview of Links Between Obesity and Mental Health. *Curr. Obes. Rep.* **2015**, *4*, 303–310.
257. Melamed, O.C.; Selby, P.; Taylor, V.H. Mental Health and Obesity During the COVID-19 Pandemic. *Curr. Obes. Rep.* **2022**, *11*, 23–31.
258. Di Liegro, C.M.; Schiera, G.; Proia, P.; Di Liegro, I. Physical Activity and Brain Health. *Genes (Basel)*. **2019**, *10*, 720.
259. Schultz, W.M.; Kelli, H.M.; Lisko, J.C.; Varghese, T.; Shen, J.; Sandesara, P.; Quyyumi, A.A.; Taylor, H.A.; Gulati, M.; Harold, J.G.; et al. Socioeconomic Status and Cardiovascular Outcomes. *Circulation* **2018**, *137*, 2166–2178.
260. Formagini, T.; Brooks, J.V.; Roberts, A.; Bullard, K.M.; Zhang, Y.; Saelee, R.; O'Brien, M.J. Prediabetes prevalence and awareness by race, ethnicity, and educational attainment among U.S. adults. *Front. Public Heal.* **2023**, *11*.
261. Patel, S.R.; Hu, F.B. Short Sleep Duration and Weight Gain: A Systematic Review. *Obesity* **2008**, *16*, 643–653.
262. St-Onge, M.-P.; Grandner, M.A.; Brown, D.; Conroy, M.B.; Jean-Louis, G.; Coons, M.; Bhatt, D.L. Sleep Duration and Quality: Impact on Lifestyle Behaviors and Cardiometabolic Health: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation* **2016**, *134*.
263. Gangwisch, J.E.; Heymsfield, S.B.; Boden-Albala, B.; Buijs, R.M.; Kreier, F.; Pickering, T.G.; Rundle, A.G.; Zammit, G.K.; Malaspina, D. Sleep Duration as a Risk Factor for Diabetes Incidence in a Large US Sample. *Sleep* **2007**, *30*, 1667–1673.
264. Adamo, D.; Ruoppo, E.; Leuci, S.; Aria, M.; Amato, M.; Mignogna, M.D. Sleep disturbances, anxiety and depression in patients with oral lichen planus: a case–control study. *J. Eur. Acad. Dermatology Venereol.* **2015**, *29*, 291–297.
265. Guasch-Ferré, M.; Salas-Salvadó, J.; Ros, E.; Estruch, R.; Corella, D.; Fitó, M.; Martínez-González, M.A.; Arós, F.; Gómez-Gracia, E.; Fiol, M.; et al. The

- PREDIMED trial, Mediterranean diet and health outcomes: How strong is the evidence? *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* **2017**, *27*, 624–632.
266. Estruch, R.; Ros, E.; Salas-Salvadó, J.; Covas, M.-I.; Corella, D.; Arós, F.; Gómez-Gracia, E.; Ruiz-Gutiérrez, V.; Fiol, M.; Lapetra, J.; et al. Primary Prevention of Cardiovascular Disease with a Mediterranean Diet Supplemented with Extra-Virgin Olive Oil or Nuts. *N. Engl. J. Med.* **2018**, *378*.
267. Estruch, R.; Ros, E.; Salas-Salvadó, J.; Covas, M.-I.; Corella, D.; Arós, F.; Gómez-Gracia, E.; Ruiz-Gutiérrez, V.; Fiol, M.; Lapetra, J.; et al. Retraction and Republication: Primary Prevention of Cardiovascular Disease with a Mediterranean Diet. *N Engl J Med* 2013;368:1279-90. *N. Engl. J. Med.* **2018**, *378*, 2441–2442.
268. Martínez-González, M.A.; Buil-Cosiales, P.; Corella, D.; Bulló, M.; Fitó, M.; Vioque, J.; Romaguera, D.; Martínez, J.A.; Wärnberg, J.; López-Miranda, J.; et al. Cohort Profile: Design and methods of the PREDIMED-Plus randomized trial. *Int. J. Epidemiol.* **2019**, *48*, 387-388o.
269. Alberti, K.G.M.M.; Eckel, R.H.; Grundy, S.M.; Zimmet, P.Z.; Cleeman, J.I.; Donato, K.A.; Fruchart, J.-C.; James, W.P.T.; Loria, C.M.; Jr, S.C.S.; et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International. *Circulation* **2009**, *120*, 1640–1645.
270. Nigg, C.R.; Burbank, P.M.; Padula, C.; Dufresne, R.; Rossi, J.S.; Velicer, W.F.; Laforge, R.G.; Prochaska, J.O. Stages of Change Across Ten Health Risk Behaviors for Older Adults. *Gerontologist* **1999**, *39*, 473–482.
271. Institute of Medicine *Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids*; National Academies Press: Washington, D.C., 2005; ISBN 978-0-309-08525-0.
272. Fernández-Ballart, J.D.; Piñol, J.L.; Zazpe, I.; Corella, D.; Carrasco, P.; Toledo, E.; Perez-Bauer, M.; Martínez-González, M.Á.; Salas-Salvadó, J.; Martn-Moreno, J.M. Relative validity of a semi-quantitative food-frequency questionnaire in an elderly Mediterranean population of Spain. *Br. J. Nutr.* **2010**, *103*, 1808–1816.
273. Moreiras, O.; Carbajal, A.; Cabrera, L.; Cuadrado, C. Tablas De Composicion De Alimentos (Ciencia Y Tecnica). Guía de prácticas. 19a edición. *Pirámide* **2018**, 37–46.
274. Bouzas, C.; Bibiloni, M. del M.; Julibert, A.; Ruiz-Canela, M.; Salas-Salvadó, J.; Corella, D.; Zomeño, M.D.; Romaguera, D.; Vioque, J.; Alonso-Gómez, Á.M.; et al. Adherence to the Mediterranean Lifestyle and Desired Body Weight Loss in a Mediterranean Adult Population with Overweight: A PREDIMED-Plus Study. *Nutrients* **2020**, *12*.
275. Elosua, R.; Garcia, M.; Aguilar, A.; Molina, L.; Covas, M.I.; Marrugat, J. Validation of the Minnesota Leisure Time Physical Activity Questionnaire In Spanish Women. Investigators of the MARATDON Group. *Med. Sci. Sports Exerc.* **2000**, *32*, 1431–1437.

276. Elosua, R.; Marrugat, J.; Molina, L.; Pons, S.; Pujol, E. Validation of the Minnesota Leisure Time Physical Activity Questionnaire in Spanish men. The MARATHOM Investigators. *Am. J. Epidemiol.* **1994**, *139*, 1197–1209.
277. Jones, C.J.; Rikli, R.E.; Beam, W.C. A 30-s Chair-Stand Test as a Measure of Lower Body Strength in Community-Residing Older Adults. *Res. Q. Exerc. Sport* **1999**, *70*, 113–119.
278. Adams, R. Revised Physical Activity Readiness Questionnaire. *Can. Fam. Physician* **1999**, *45*, 992, 995, 1004–5.
279. Topolski, T.D.; LoGerfo, J.; Patrick, D.L.; Williams, B.; Walwick, J.; Patrick, M.B. The Rapid Assessment of Physical Activity (RAPA) among older adults. *Prev. Chronic Dis.* **2006**, *3*, A118.
280. Martínez-González, M.A.; López-Fontana, C.; Varo, J.J.; Sánchez-Villegas, A.; Martínez, J.A. 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 Nutr.* **2005**, *8*, 920–927.
281. Beck, A.T.; Steer, R.A.; Carbin, M.G. Psychometric properties of the Beck Depression Inventory: Twenty-five years of evaluation. *Clin. Psychol. Rev.* **1988**, *8*, 77–100.
282. Saghaei, M.; Saghaei, S. Implementation of an open-source customizable minimization program for allocation of patients to parallel groups in clinical trials. *J. Biomed. Sci. Eng.* **2011**, *04*, 734–739.
283. Chalasani, N.; Younossi, Z.; Lavine, J.E.; Charlton, M.; Cusi, K.; Rinella, M.; Harrison, S.A.; Brunt, E.M.; Sanyal, A.J. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology* **2018**, *67*, 328–357.
284. U.S. Department of Health and Human Services and U.S. Department of Agriculture. 2015 – 2020 Dietary Guidelines for Americans. 8th Edition. December 2015. Available at <https://health.gov/our-work/food-nutrition/previous-dietary-guidelines/2015>.
285. de la Iglesia, R.; Lopez-Legarrea, P.; Celada, P.; Sánchez-Muniz, F.; Martínez, J.; Zulet, M. Beneficial Effects of the RESMENA Dietary Pattern on Oxidative Stress in Patients Suffering from Metabolic Syndrome with Hyperglycemia Are Associated to Dietary TAC and Fruit Consumption. *Int. J. Mol. Sci.* **2013**, *14*, 6903–6919.
286. Pitsavos, C.; Panagiotakos, D.B.; Tzima, N.; Chrysohoou, C.; Economou, M.; Zampelas, A.; Stefanadis, C. Adherence to the Mediterranean diet is associated with total antioxidant capacity in healthy adults: the ATTICA study. *Am. J. Clin. Nutr.* **2005**, *82*, 694–699.
287. Zulet, M.A.; Bondia-Pons, I.; Abete, I.; de la Iglesia, R.; López-Legarrea, P.; Forga, L.; Navas-Carretero, S.; Martínez, J.A. The reduction of the metabolic syndrome in Navarra-Spain (RESMENA-S) study: a multidisciplinary strategy based on chrononutrition and nutritional education, together with dietetic and psychological control. *Nutr. Hosp.* **2011**, *26*, 16–26.

288. Kleiner, D.E.; Brunt, E.M.; Van Natta, M.; Behling, C.; Contos, M.J.; Cummings, O.W.; Ferrell, L.D.; Liu, Y.-C.; Torbenson, M.S.; Unalp-Arida, A.; et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* **2005**, *41*, 1313–1321.
289. Castéra, L.; Foucher, J.; Bernard, P.-H.; Carvalho, F.; Allaix, D.; Merrouche, W.; Couzigou, P.; de Lédinghen, V. Pitfalls of liver stiffness measurement: A 5-year prospective study of 13,369 examinations. *Hepatology* **2010**, NA-NA.
290. The French METAVIR Cooperative Study Group. Intraobserver and interobserver variations in liver biopsy interpretation in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* **1994**, *20*, 15–20.
291. Sharma, P.; Altbach, M.; Galons, J.P.; Kalb, B.; Martin, D.R. Measurement of liver fat fraction and iron with MRI and MR spectroscopy techniques. *Diagnostic Interv. Radiol.* **2013**.
292. Tang, A.; Tan, J.; Sun, M.; Hamilton, G.; Bydder, M.; Wolfson, T.; Gamst, A.C.; Middleton, M.; Brunt, E.M.; Loomba, R.; et al. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: MR Imaging of Liver Proton Density Fat Fraction to Assess Hepatic Steatosis. *Radiology* **2013**, *267*, 422.
293. Richardson, M.T.; Leon, A.S.; Jacobs, D.R.; Ainsworth, B.E.; Serfass, R. Comprehensive evaluation of the Minnesota leisure time physical activity questionnaire. *J. Clin. Epidemiol.* **1994**, *47*, 271–281.
294. Suni, J.; Husu, P.; Rinne, M. Fitness for Health: The ALPHA-FIT Test Battery for Adults Aged 18–69.
295. Bennett, H.; Parfitt, G.; Davison, K.; Eston, R. Validity of Submaximal Step Tests to Estimate Maximal Oxygen Uptake in Healthy Adults. *Sport. Med.* **2016**, *46*, 737–750.
296. Aebi, H. Catalase in Vitro. *Methods Enzymol.* **1984**, *105*, 121–126.
297. McCord, J.M.; Fridovich, I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *J. Biol. Chem.* **1969**, *244*, 6049–6055.
298. Capeillère-Blandin, C. Oxidation of guaiacol by myeloperoxidase: a two-electron-oxidized guaiacol transient species as a mediator of NADPH oxidation. *Biochem. J.* **1998**, *336*, 395–404.
299. Flohé, L.; Gunzler, W.A. Assays of Glutathione Peroxidase. *Methods Enzymol.* **1984**, *105*, 114–120.
300. Goldberg, D.M.; Spooner, R.J. Glutathione Reductase. *Methods Enzym. Anal. 3rd Ed. Verlag Chemie, Weinheim* **1983**, 258–265.
301. Tietze, F. Enzymic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: Applications to mammalian blood and other tissues. *Anal. Biochem.* **1969**, *27*, 502–522.
302. Rasmussen, S.T.; Andersen, J.T.; Nielsen, T.K.; Cejvanovic, V.; Petersen, K.M.; Henriksen, T.; Weimann, A.; Lykkesfeldt, J.; Poulsen, H.E. Simvastatin and oxidative stress in humans: A randomized, double-blinded, placebo-controlled clinical trial. *Redox Biol.* **2016**, *9*, 32–38.

303. Caporaso, J.G.; Lauber, C.L.; Walters, W.A.; Berg-Lyons, D.; Lozupone, C.A.; Turnbaugh, P.J.; Fierer, N.; Knight, R. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2011**, *108*, 4516–4522.
304. Bolyen, E.; Rideout, J.R.; Dillon, M.R.; Bokulich, N.A.; Abnet, C.C.; Al-Ghalith, G.A.; Alexander, H.; Alm, E.J.; Arumugam, M.; Asnicar, F.; et al. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nat. Biotechnol.* **2019**, *37*, 852–857.
305. Callahan, B.J.; McMurdie, P.J.; Rosen, M.J.; Han, A.W.; Johnson, A.J.A.; Holmes, S.P. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nat. Methods* **2016**, *13*, 581–583.
306. Pruesse, E.; Peplies, J.; Glöckner, F.O. SINA: Accurate high-throughput multiple sequence alignment of ribosomal RNA genes. *Bioinformatics* **2012**, *28*, 1823–1829.
307. Ludwig, W. ARB: a software environment for sequence data. *Nucleic Acids Res.* **2004**, *32*, 1363–1371.
308. Quast, C.; Pruesse, E.; Yilmaz, P.; Gerken, J.; Schweer, T.; Yarza, P.; Peplies, J.; Glöckner, F.O. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Res.* **2013**, *41*, D590–D596.
309. Mora-Ruiz, M. del R.; Font-Verdera, F.; Díaz-Gil, C.; Urdiain, M.; Rodríguez-Valdecantos, G.; González, B.; Orfila, A.; Rosselló-Móra, R. Moderate halophilic bacteria colonizing the phylloplane of halophytes of the subfamily Salicornioideae (Amaranthaceae). *Syst. Appl. Microbiol.* **2015**, *38*, 406–416.
310. Mora-Ruiz, M. del R.; Font-Verdera, F.; Orfila, A.; Rita, J.; Rosselló-Móra, R. Endophytic microbial diversity of the halophyte *Arthrocnemum macrostachyum* across plant compartments. *FEMS Microbiol. Ecol.* **2016**, *92*, fiw145.
311. Mora-Ruiz, M. de R.; Cifuentes, A.; Font-Verdera, F.; Pérez-Fernández, C.; Farias, M.E.; González, B.; Orfila, A.; Rosselló-Móra, R. Biogeographical patterns of bacterial and archaeal communities from distant hypersaline environments. *Syst. Appl. Microbiol.* **2018**, *41*, 139–150.
312. Viver, T.; Orellana, L.H.; Hatt, J.K.; Urdiain, M.; Díaz, S.; Richter, M.; Antón, J.; Avian, M.; Amann, R.; Konstantinidis, K.T.; et al. The low diverse gastric microbiome of the jellyfish *Cotylorhiza tuberculata* is dominated by four novel taxa. *Environ. Microbiol.* **2017**, *19*, 3039–3058.
313. Font-Verdera, F.; Liébana, R.; Aldeguer-Riquelme, B.; Gangloff, V.; Santos, F.; Viver, T.; Rosselló-Móra, R. Inverted microbial community stratification and spatial–temporal stability in hypersaline anaerobic sediments from the S’Avall solar salterns. *Syst. Appl. Microbiol.* **2021**, *44*, 126231.
314. França, L.; Lopéz-Lopéz, A.; Rosselló-Móra, R.; da Costa, M.S. Microbial diversity and dynamics of a groundwater and a still bottled natural mineral water. *Environ. Microbiol.* **2015**, *17*, 577–593.
315. Oksanen, J.; Blanchet, F.G.; Kindt, R.; Legendre, P.; Minchin, P.R.; O’hara, R.B.

- Package 'vegan.' *Community Ecol. Packag* 2013, 2, 1–295.
316. Segata, N.; Haake, S.; Mannon, P.; Lemon, K.P.; Waldron, L.; Gevers, D.; Huttenhower, C.; Izard, J. Composition of the adult digestive tract bacterial microbiome based on seven mouth surfaces, tonsils, throat and stool samples. *Genome Biol.* **2012**, *13*, R42.
  317. Velázquez-López, L.; Santiago-Díaz, G.; Nava-Hernández, J.; Muñoz-Torres, A. V.; Medina-Bravo, P.; Torres-Tamayo, M. Mediterranean-style diet reduces metabolic syndrome components in obese children and adolescents with obesity. *BMC Pediatr.* **2014**, *14*, 175.
  318. Bakaloudi, D.R.; Chrysoula, L.; Kotzakioulafi, E.; Theodoridis, X.; Chourdakis, M. Impact of the Level of Adherence to Mediterranean Diet on the Parameters of Metabolic Syndrome: A Systematic Review and Meta-Analysis of Observational Studies. *Nutrients* **2021**, *13*.
  319. Fraga, C.G.; Celep, G.S.; Galleano, M. Biochemical actions of plant phenolics compounds: thermodynamic and kinetic aspects. *Plant phenolics Hum. Heal. Biochem. Nutr. Pharmacol.* **2009**, *3*, 91–106.
  320. Medina-Remón, A.; Casas, R.; Tresserra-Rimbau, A.; Ros, E.; Martínez-González, M.A.; Fitó, M.; Corella, D.; Salas-Salvadó, J.; Lamuela-Raventos, R.M.; Estruch, R. Polyphenol intake from a Mediterranean diet decreases inflammatory biomarkers related to atherosclerosis: a substudy of the PREDIMED trial. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **2017**, *83*, 114–128.
  321. Guo, X.; Tresserra-Rimbau, A.; Estruch, R.; Martínez-González, M.A.; Medina-Remón, A.; Castañer, O.; Corella, D.; Salas-Salvadó, J.; Lamuela-Raventós, R.M. Effects of Polyphenol, Measured by a Biomarker of Total Polyphenols in Urine, on Cardiovascular Risk Factors after a Long-Term Follow-Up in the PREDIMED Study. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2016**, *2016*.
  322. Krogholm, K.S.; Haraldsdóttir, J.; Knuthsen, P.; Rasmussen, S.E. Urinary total flavonoid excretion but not 4-pyridoxic acid or potassium can be used as a biomarker for the intake of fruits and vegetables. *J. Nutr.* **2004**, *134*, 445–451.
  323. Mennen, L.I.; Sapinho, D.; Ito, H.; Bertrais, S.; Galan, P.; Hercberg, S.; Scalbert, A. Urinary flavonoids and phenolic acids as biomarkers of intake for polyphenol-rich foods. *Br. J. Nutr.* **2006**, *96*, 191–198.
  324. Nair, A.R.; Mariappan, N.; Stull, A.J.; Francis, J. Blueberry supplementation attenuates oxidative stress within monocytes and modulates immune cell levels in adults with metabolic syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Food Funct.* **2017**, *8*, 4118–4128.
  325. Luisi, M.L.E.; Lucarini, L.; Biffi, B.; Rafanelli, E.; Pietramellara, G.; Durante, M.; Vidali, S.; Provensi, G.; Madiari, S.; Gheri, C.F.; et al. Effect of Mediterranean diet enriched in high quality extra virgin olive oil on oxidative stress, inflammation and gut microbiota in obese and normal weight adult subjects. *Front. Pharmacol.* **2019**, *10*.
  326. Feoli, A.M.P.; Macagnan, F.E.; Piovesan, C.H.; Bodanese, L.C.; Siqueira, I.R. Xanthine oxidase activity is associated with risk factors for cardiovascular disease

- and inflammatory and oxidative status markers in metabolic syndrome: effects of a single exercise session. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2014**, 2014.
327. Sureda, A.; Bibiloni, M. del M.; Martorell, M.; Buil-Cosiales, P.; Marti, A.; Pons, A.; Tur, J.A.; Martinez-Gonzalez, M.Á. Mediterranean diets supplemented with virgin olive oil and nuts enhance plasmatic antioxidant capabilities and decrease xanthine oxidase activity in people with metabolic syndrome: The PREDIMED study. **2016**, *60*, 2654–2664.
  328. Bekkouche, L.; Bouchenak, M.; Malaisse, W.J.; Yahia, D.A. The mediterranean diet adoption improves metabolic, oxidative, and inflammatory abnormalities in algerian metabolic syndrome patients. *Horm. Metab. Res.* **2014**, *46*, 274–282.
  329. Chen, S.-J.J.; Yen, C.-H.H.; Huang, Y.-C.C.; Lee, B.-J.J.; Hsia, S.; Lin, P.-T.T. Relationships between Inflammation, Adiponectin, and Oxidative Stress in Metabolic Syndrome. *PLoS One* **2012**, *7*, e45693.
  330. Tur, J.A. Antioxidants in the Mediterranean Diet. *Rev. esp. nutr. comunitaria* **2004**, *10*, 198–207.
  331. Urpi-Sarda, M.; Casas, R.; Sacanella, E.; Corella, D.; Andrés-Lacueva, C.; Llorach, R.; Garrabou, G.; Cardellach, F.; Sala-Vila, A.; Ros, E.; et al. The 3-year effect of the mediterranean diet intervention on inflammatory biomarkers related to cardiovascular disease. *Biomedicines* **2021**, *9*.
  332. Urpi-Sarda, M.; Casas, R.; Chiva-Blanch, G.; Romero-Mamani, E.S.; Valderas-Martínez, P.; Salas-Salvadó, J.; Covas, M.I.; Toledo, E.; Andres-Lacueva, C.; Llorach, R.; et al. The mediterranean diet pattern and its main components are associated with lower plasma concentrations of tumor necrosis factor receptor 60 in patients at high risk for cardiovascular disease. *J. Nutr.* **2012**, *142*, 1019–1025.
  333. Esposito, K.; Marfella, R.; Ciotola, M.; Di Palo, C.; Giugliano, F.; Giugliano, G.; D’Armiento, M.; D’Andrea, F.; Giugliano, D. Effect of a Mediterranean-Style Diet on Endothelial Dysfunction and Markers of Vascular Inflammation in the Metabolic Syndrome: A Randomized Trial. *JAMA* **2004**, *292*, 1440–1446.
  334. Sureda, A.; del Mar Bibiloni, M.; Julibert, A.; Bouzas, C.; Argelich, E.; Llompart, I.; Pons, A.; Tur, J.A. Adherence to the Mediterranean Diet and Inflammatory Markers. *Nutrients* **2018**, *10*, 62.
  335. Giugliano, D.; Ceriello, A.; Esposito, K. The Effects of Diet on Inflammation. Emphasis on the Metabolic Syndrome. *J. Am. Coll. Cardiol.* **2006**, *48*, 677–685.
  336. Montefusco, L.; D’Addio, F.; Loretelli, C.; Ben Nasr, M.; Garziano, M.; Rossi, A.; Pastore, I.; Plebani, L.; Lunati, M.E.; Bolla, A.M.; et al. Anti-inflammatory effects of diet and caloric restriction in metabolic syndrome. *J. Endocrinol. Invest.* **2021**, *44*, 2407–2415.
  337. Kojima, M.; Hosoda, H.; Date, Y.; Nakazato, M.; Matsuo, H.; Kangawa, K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* **1999**, *402*, 656–660.
  338. Gahete, M.D.; Luque, R.M.; Yubero-Serrano, E.M.; Cruz-Teno, C.; Ibañez-Costa, A.; Delgado-Lista, J.; Gracia-Navarro, F.; Perez-Jimenez, F.; Castaño, J.P.; Lopez-



- Miranda, J. Dietary fat alters the expression of cortistatin and ghrelin systems in the PBMCs of elderly subjects: Putative implications in the postprandial inflammatory response. *Mol. Nutr. Food Res.* **2014**, *58*, 1897–1906.
339. Garaulet, M.; Pérez De Heredia, F.; Garaulet, M. Behavioural therapy in the treatment of obesity (II): role of the Mediterranean diet. *Nutr Hosp* **2010**, *25*, 9–17.
340. Bédard, A.; Tchernof, A.; Lamarche, B.; Corneau, L.; Dodin, S.; Lemieux, S. Effects of the traditional Mediterranean diet on adiponectin and leptin concentrations in men and premenopausal women: do sex differences exist? *Eur. J. Clin. Nutr.* **2014**, *68*, 561–566.
341. Tzima, N.; Pitsavos, C.; Panagiotakos, D.B.; Skoumas, J.; Zampelas, A.; Chrysohoou, C.; Stefanadis, C. Mediterranean diet and insulin sensitivity, lipid profile and blood pressure levels, in overweight and obese people; the Attica study. *Lipids Health Dis.* **2007**, *6*.
342. Agnoli, C.; Sieri, S.; Ricceri, F.; Giraudo, M.T.; Masala, G.; Assedi, M.; Panico, S.; Mattiello, A.; Tumino, R.; Giurdanella, M.C.; et al. Adherence to a Mediterranean diet and long-term changes in weight and waist circumference in the EPIC-Italy cohort. *Nutr. Diabetes* **2018**, *8*.
343. Talens, P.; Cámara, M.; Daschner, Á.; López, E.; Marín, S.; Martínez, J.A.; Morales, F.J. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre el impacto del consumo de alimentos “ultra-procesados” en la salud de los consumidores. *Rev. del Com. Científico la AESAN* **2020**, 49–76.
344. Díaz, M.C.; Glaves, A. Relación entre consumo de alimentos procesados, ultraprocesados y riesgo de cáncer: una revisión sistemática. *Rev. Chil. Nutr.* **2020**, *47*, 808–821.
345. Dinu, M.; Asensi, M.T.; Pagliai, G.; Lotti, S.; Martini, D.; Colombini, B.; Sofi, F. Consumption of Ultra-Processed Foods Is Inversely Associated with Adherence to the Mediterranean Diet: A Cross-Sectional Study. *Nutrients* **2022**, *14*, 2073.
346. Da Silva, A.; Felício, M.B.; Caldas, A.P.S.; Miranda Hermsdorff, H.H.; Bersch-Ferreira, Â.C.; Torreglosa, C.R.; Shivappa, N.; Hébert, J.R.; Weber, B.; Bressan, J. Pro-inflammatory diet is associated with a high number of cardiovascular events and ultra-processed foods consumption in patients in secondary care. *Public Health Nutr.* **2021**, *24*, 3331.
347. Contreras-Rodriguez, O.; Solanas, M.; Escorihuela, R.M. Dissecting ultra-processed foods and drinks: Do they have a potential to impact the brain? *Rev. Endocr. Metab. Disord.* **2022**, *23*, 697–717.
348. Juul, F.; Vaidean, G.; Parekh, N. Ultra-processed Foods and Cardiovascular Diseases: Potential Mechanisms of Action. *Adv. Nutr.* **2021**, *12*, 1673–1680.
349. Menezes, C.A.; Magalhães, L.B.; da Silva, J.T.; da Silva Lago, R.M.R.; Gomes, A.N.; Ladeia, A.M.T.; Vianna, N.A.; Oliveira, R.R. Ultra-Processed Food Consumption Is Related to Higher Trans Fatty Acids, Sugar Intake, and Micronutrient-Impaired Status in Schoolchildren of Bahia, Brazil. *Nutrients* **2023**, *15*, 381.

350. Coletro, H.N.; Bressan, J.; Diniz, A.P.; Hermsdorff, H.H.M.; Pimenta, A.M.; Meireles, A.L.; Mendonça, R. de D.; Carraro, J.C.C. Habitual polyphenol intake of foods according to NOVA classification: implications of ultra-processed foods intake (CUME study). *Int J Food Sci Nutr* **2023**, *3*, 1–12.
351. Anandan, A.; Vrieling, A. Structure and function of lipid A-modifying enzymes. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2020**, *1459*, 19–37.
352. Stocker, R.; Jr, J.F.K. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. *Physiol. Rev.* **2004**, *84*, 1381–1478.
353. Millar, S.R.; Navarro, P.; Harrington, J.M.; Shivappa, N.; Hébert, J.R.; Perry, I.J.; Phillips, C.M. Dietary score associations with markers of chronic low-grade inflammation: a cross-sectional comparative analysis of a middle- to older-aged population. *Eur. J. Nutr.* **2022**, *61*, 3377–3390.
354. Hwang, D.H.; Kim, J.-A.; Lee, J.Y. Mechanisms for the activation of Toll-like receptor 2/4 by saturated fatty acids and inhibition by docosahexaenoic acid. *Eur. J. Pharmacol.* **2016**, *785*, 24–35.
355. Montero-Salazar, H.; Donat-Vargas, C.; Moreno-Franco, B.; Sandoval-Insausti, H.; Civeira, F.; Laclaustra, M.; Guallar-Castillón, P. High consumption of ultra-processed food may double the risk of subclinical coronary atherosclerosis: the Aragon Workers' Health Study (AWHS). *BMC Med.* **2020**, *18*, 235.
356. Silva Dos Santos, F.; Costa Mintem, G.; De Oliveira, I.O.; Horta, B.L.; Ramos, E.; Lopes, C.; Gigante, D.P. Consumption of ultra-processed foods and IL-6 in two cohorts from high- and middle-income countries. *Br. J. Nutr.* **2023**, *129*, 1552–1562.
357. Lopez-Garcia, E.; Schulze, M.B.; Fung, T.T.; Meigs, J.B.; Rifai, N.; Manson, J.A.E.; Hu, F.B. Major dietary patterns are related to plasma concentrations of markers of inflammation and endothelial dysfunction. *Am. J. Clin. Nutr.* **2004**, *80*, 1029–1035.
358. Galland, L. Diet and inflammation. *Nutr. Clin. Pract.* **2010**, *25*, 634–640.
359. Fernandes, A.E.; Rosa, P.W.L.; Melo, M.E.; Martins, R.C.R.; Santin, F.G.O.; Moura, A.M.S.H.; Coelho, G.S.M.A.; Sabino, E.C.; Cercato, C.; Mancini, M.C. Differences in the gut microbiota of women according to ultra-processed food consumption. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* **2023**, *33*, 84–89.
360. Guo, L.; Liu, M. fei; Huang, J. niu; Li, J. min; Jiang, J.; Wang, J. an Role of interleukin-15 in cardiovascular diseases. *J. Cell. Mol. Med.* **2020**, *24*, 7094.
361. Bahrampour, N.; Shiraseb, F.; Noori, S.; Clark, C.C.T.; Mirzaei, K. Is there any putative mediatory role of inflammatory markers on the association between ultra-processed foods and resting metabolic rate? *Front. Nutr.* **2022**, *9*, 932225.
362. Kompaniyets, L.; Freedman, D.S.; Belay, B.; Pierce, S.L.; Kraus, E.M.; Blanck, H.M.; Goodman, A.B. Probability of 5% or Greater Weight Loss or BMI Reduction to Healthy Weight Among Adults With Overweight or Obesity. *JAMA Netw. Open* **2023**, *6*, e2327358.
363. Hall, K.D.; Kahan, S. Maintenance of Lost Weight and Long-Term Management of

- Obesity. *Med. Clin. North Am.* **2018**, *102*, 183–197.
364. Rothberg, A.E.; McEwen, L.N.; Kraftson, A.T.; Ajluni, N.; Fowler, C.E.; Nay, C.K.; Miller, N.M.; Burant, C.F.; Herman, W.H. Impact of weight loss on waist circumference and the components of the metabolic syndrome. *BMJ Open Diabetes Res. Care* **2017**, *5*, e000341.
365. Zhang, X.; Wang, Y.; Li, Y.; Gui, J.; Mei, Y.; Yang, X.; Liu, H.; Guo, L.; Li, J.; Lei, Y.; et al. Four-years change of BMI and waist circumference are associated with metabolic syndrome in middle-aged and elderly Chinese. *Sci. Rep.* **2024**, *14*, 10220.
366. Tussing-Humphreys, L.; Lamar, M.; McLeod, A.; Schiffer, L.; Blumstein, L.; Dakers, R.; Karstens, A.; Hemphill, N.O.N.; Strahan, D.; Siegel, L.; et al. Effect of Mediterranean diet and Mediterranean diet plus calorie restriction on cognition, lifestyle, and cardiometabolic health: A randomized clinical trial. *Prev. Med. Reports* **2022**, *29*, 101955.
367. Lotfi, K.; Saneei, P.; Hajhashemy, Z.; Esmailzadeh, A. Adherence to the Mediterranean Diet, Five-Year Weight Change, and Risk of Overweight and Obesity: A Systematic Review and Dose–Response Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies. *Adv. Nutr.* **2022**, *13*, 152–166.
368. van Baak, M.A. Dietary carbohydrates and weight loss maintenance. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* **2021**, *24*, 354–358.
369. Hardy, D.S.; Garvin, J.T.; Xu, H. Carbohydrate quality, glycemic index, glycemic load and cardiometabolic risks in the US, Europe and Asia: A dose–response meta-analysis. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* **2020**, *30*, 853–871.
370. Wong, S.K.; Chin, K.-Y.; Ima-Nirwana, S. Vitamin C: A Review on its Role in the Management of Metabolic Syndrome. *Int. J. Med. Sci.* **2020**, *17*, 1625–1638.
371. Ramaiah, P.; Baljon, K.J.; Hjaz, A.; Qasim, M.T.; Salih Al-ani, O.A.; Imad, S.; Hussien, B.M.; Alsalamy, A.; Garousi, N. Dietary polyphenols and the risk of metabolic syndrome: a systematic review and meta-analysis. *BMC Endocr. Disord.* **2024**, *24*, 26.
372. Guo, X.; Tresserra-Rimbau, A.; Estruch, R.; Martínez-González, M.; Medina-Remón, A.; Fitó, M.; Corella, D.; Salas-Salvadó, J.; Portillo, M.; Moreno, J.; et al. Polyphenol Levels Are Inversely Correlated with Body Weight and Obesity in an Elderly Population after 5 Years of Follow Up (The Randomised PREDIMED Study). *Nutrients* **2017**, *9*, 452.
373. Wan, Y.; Ma, D.; Shang, Q.; Xu, H. Association between dietary flavonoid intake and hypertension among U.S. adults. *Front. Immunol.* **2024**, *15*.
374. Gouveia, H.J.C.B.; Urquiza-Martínez, M. V.; Manhães-de-Castro, R.; Costa-de-Santana, B.J.R.; Villarreal, J.P.; Mercado-Camargo, R.; Torner, L.; de Souza Aquino, J.; Toscano, A.E.; Guzmán-Quevedo, O. Effects of the Treatment with Flavonoids on Metabolic Syndrome Components in Humans: A Systematic Review Focusing on Mechanisms of Action. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 8344.
375. Esposito, K.; Kastorini, C.-M.; Panagiotakos, D.B.; Giugliano, D. Mediterranean

- Diet and Weight Loss: Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Metab. Syndr. Relat. Disord.* **2011**, *9*, 1–12.
376. Franz, M.J.; Boucher, J.L.; Rutten-Ramos, S.; VanWormer, J.J. Lifestyle Weight-Loss Intervention Outcomes in Overweight and Obese Adults with Type 2 Diabetes: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Clinical Trials. *J. Acad. Nutr. Diet.* **2015**, *115*, 1447–1463.
377. Myers, J.; Kokkinos, P.; Nyelin, E. Physical Activity, Cardiorespiratory Fitness, and the Metabolic Syndrome. *Nutrients* **2019**, *11*, 1652.
378. Adenan, D.M.; Jaafar, Z.; Jayapalan, J.J.; Abdul Aziz, A. Plasma antioxidants and oxidative stress status in obese women: correlation with cardiopulmonary response. *PeerJ* **2020**, *8*, e9230.
379. Klebanoff, S.J. Myeloperoxidase: friend and foe. *J. Leukoc. Biol.* **2005**, *77*, 598–625.
380. Tumova, E.; Sun, W.; Jones, P.H.; Vrablik, M.; Ballantyne, C.M.; Hoogeveen, R.C. The Impact of Rapid Weight Loss on Oxidative Stress Markers and the Expression of the Metabolic Syndrome in Obese Individuals. *J. Obes.* **2013**, *2013*, 1–10.
381. Crujeiras, A.B.; Parra, D.; Abete, I.; Martínez, J.A. A hypocaloric diet enriched in legumes specifically mitigates lipid peroxidation in obese subjects. *Free Radic. Res.* **2007**, *41*, 498–506.
382. Thiruvengadam, M.; Venkidasamy, B.; Subramanian, U.; Samynathan, R.; Ali Shariati, M.; Rebezov, M.; Girish, S.; Thangavel, S.; Dhanapal, A.R.; Fedoseeva, N.; et al. Bioactive Compounds in Oxidative Stress-Mediated Diseases: Targeting the NRF2/ARE Signaling Pathway and Epigenetic Regulation. *Antioxidants* **2021**, *10*, 1859.
383. Monserrat-Mesquida, M.; Quetglas-Llabrés, M.; Bouzas, C.; García, S.; Mateos, D.; Gómez, C.; Gámez, J.M.; Poulsen, H.E.; Tur, J.A.; Sureda, A. Effects of 2-Year Nutritional and Lifestyle Intervention on Oxidative and Inflammatory Statuses in Individuals of 55 Years of Age and over at High Cardiovascular Risk. *Antioxidants* **2022**, *11*, 1326.
384. Furukawa, S.; Fujita, T.; Shimabukuro, M.; Iwaki, M.; Yamada, Y.; Nakajima, Y.; Nakayama, O.; Makishima, M.; Matsuda, M.; Shimomura, I. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J. Clin. Invest.* **2004**, *114*, 1752–1761.
385. Moschen, A.R.; Molnar, C.; Enrich, B.; Geiger, S.; Ebenbichler, C.F.; Tilg, H. Adipose and Liver Expression of Interleukin (IL)-1 Family Members in Morbid Obesity and Effects of Weight Loss. *Mol. Med.* **2011**, *17*, 840–845.
386. Kanda, H.; Tateya, S.; Tamori, Y.; Kotani, K.; Hiasa, K.I.; Kitazawa, R.; Kitazawa, S.; Miyachi, H.; Maeda, S.; Egashira, K.; et al. MCP-1 contributes to macrophage infiltration into adipose tissue, insulin resistance, and hepatic steatosis in obesity. *J. Clin. Invest.* **2006**, *116*, 1494–1505.
387. Fu, C.-P.; Sheu, W.H.-H.; Lee, I.-T.; Lee, W.-J.; Wang, J.-S.; Liang, K.-W.; Lee, W.-L.; Lin, S.-Y. Weight loss reduces serum monocyte chemoattractant protein-1

- concentrations in association with improvements in renal injury in obese men with metabolic syndrome. *Clin. Chem. Lab. Med.* **2015**, *53*.
388. Jung, S.H.; Park, H.S.; Kim, K.-S.; Choi, W.H.; Ahn, C.W.; Kim, B.T.; Kim, S.M.; Lee, S.Y.; Ahn, S.M.; Kim, Y.K.; et al. Effect of weight loss on some serum cytokines in human obesity: increase in IL-10 after weight loss. *J. Nutr. Biochem.* **2008**, *19*, 371–375.
389. Khalid, U. Bin; Haroon, Z.H.; Aamir, M.; Ain, Q.U.; Mansoor, K.; Jaffar, S.R. Comparison of Estimated Glomerular Filtration Rate with Both Serum Creatinine and Cystatin C (eGFRcr-cys) versus Single Analyte (eGFRcr or eGFRcys) Using CKD-EPI and MDRD Equations in Tertiary Care Hospital Settings. *J. Coll. Physicians Surg. Pakistan* **2020**, *30*, 701–706.
390. López-Jaramillo, P.; Gómez-Arbeláez, D.; López-López, J.; López-López, C.; Martínez-Ortega, J.; Gómez-Rodríguez, A.; Triana-Cubillos, S. The role of leptin/adiponectin ratio in metabolic syndrome and diabetes. *Horm. Mol. Biol. Clin. Investig.* **2014**, *18*, 37–45.
391. Jialal, I. Chemerin levels in metabolic syndrome: a promising biomarker. *Arch. Physiol. Biochem.* **2023**, *129*, 1009–1011.
392. Gupta, J.; Mitra, N.; Kanetsky, P.A.; Devaney, J.; Wing, M.R.; Reilly, M.; Shah, V.O.; Balakrishnan, V.S.; Guzman, N.J.; Girndt, M.; et al. Association between Albuminuria, Kidney Function, and Inflammatory Biomarker Profile in CKD in CRIC. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* **2012**, *7*, 1938–1946.
393. Islamuddin, M.; Qin, X. Renal macrophages and NLRP3 inflammasomes in kidney diseases and therapeutics. *Cell Death Discov.* **2024**, *10*, 229.
394. Balakrishnan, V.S.; Schmid, C.H.; Jaber, B.L.; Natov, S.N.; King, A.J.; Pereira, B.J.G. Interleukin-1 Receptor Antagonist Synthesis by Peripheral Blood Mononuclear Cells. *J. Am. Soc. Nephrol.* **2000**, *11*, 2114–2121.
395. Batal, I.; De Serres, S.A.; Mfarrej, B.G.; Grafals, M.; Pinkus, G.S.; Kalra, A.; Weins, A.; Bijol, V.; Rennke, H.G.; Guleria, I.; et al. Glomerular Inflammation Correlates With Endothelial Injury and With IL-6 and IL-1 $\beta$  Secretion in the Peripheral Blood. *Transplantation* **2014**, *97*, 1034–1042.
396. Shankar, A.; Sun, L.; Klein, B.E.K.; Lee, K.E.; Muntner, P.; Nieto Javier, F.; Tsai, M.Y.; Cruickshanks, K.J.; Schubert, C.R.; Brazy, P.C.; et al. Markers of inflammation predict the long-term risk of developing chronic kidney disease: a population-based cohort study. *Kidney Int.* **2011**, *80*, 1231–1238.
397. Amdur, R.L.; Feldman, H.I.; Gupta, J.; Yang, W.; Kanetsky, P.; Shlipak, M.; Rahman, M.; Lash, J.P.; Townsend, R.R.; Ojo, A.; et al. Inflammation and Progression of CKD: The CRIC Study. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* **2016**, *11*, 1546–1556.
398. Rizk, J.G.; Hsiung, J.-T.; Arif, Y.; Hashemi, L.; Sumida, K.; Kovesdy, C.P.; Kalantar-Zadeh, K.; Streja, E. Triglycerides and Renal Outcomes According to Albuminuria and in Consideration of Other Metabolic Syndrome Components in Diabetic US Veterans. *Am. J. Nephrol.* **2023**, *54*, 14–24.
399. Moeinzadeh, F.; Rouhani, M.H.; Seirafian, S.; Vahdat, S.; Mortazavi, M.; Clark,

- C.C.T.; Shahdadian, F. Metabolic health status and renal disorders: a cross-sectional study. *Sci. Rep.* **2023**, *13*, 20794.
400. Chen, H.-Y.; Lu, F.-H.; Chang, C.-J.; Wang, R.-S.; Yang, Y.-C.; Chang, Y.-F.; Wu, J.-S. Metabolic abnormalities, but not obesity per se, associated with chronic kidney disease in a Taiwanese population. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* **2020**, *30*, 418–425.
401. Shen, Y.; Cai, R.; Sun, J.; Dong, X.; Huang, R.; Tian, S.; Wang, S. Diabetes mellitus as a risk factor for incident chronic kidney disease and end-stage renal disease in women compared with men: a systematic review and meta-analysis. *Endocrine* **2017**, *55*, 66–76.
402. Kawamoto, R.; Akase, T.; Ninomiya, D.; Kumagi, T.; Kikuchi, A. Metabolic syndrome is a predictor of decreased renal function among community-dwelling middle-aged and elderly Japanese. *Int. Urol. Nephrol.* **2019**, *51*, 2285–2294.
403. Navaneethan, S.D.; Schold, J.D.; Kirwan, J.P.; Arrigain, S.; Jolly, S.E.; Poggio, E.D.; Beddhu, S.; Nally, J. V. Metabolic Syndrome, ESRD, and Death in CKD. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* **2013**, *8*, 945–952.
404. Guasch-Ferré, M.; Willett, W.C. The Mediterranean diet and health: a comprehensive overview. *J. Intern. Med.* **2021**, *290*, 549–566.
405. Marini, H.R. Mediterranean Diet and Soy Isoflavones for Integrated Management of the Menopausal Metabolic Syndrome. *Nutrients* **2022**, *14*, 1550.
406. Salvoza, N.; Giraudi, P.J.; Tiribelli, C.; Rosso, N. Natural Compounds for Counteracting Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD): Advantages and Limitations of the Suggested Candidates. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 2764.
407. Montemayor, S.; Mascaró, C.M.; Ugarriza, L.; Casares, M.; Llompарт, I.; Abete, I.; Zulet, M.Á.; Martínez, J.A.; Tur, J.A.; Bouzas, C. Adherence to Mediterranean Diet and NAFLD in Patients with Metabolic Syndrome: The FLIPAN Study. *Nutrients* **2022**, *14*.
408. Monserrat-Mesquida, M.; Quetglas-Llabrés, M.; Bouzas, C.; Montemayor, S.; Mascaró, C.M.; Casares, M.; Llompарт, I.; Gámez, J.M.; Tejada, S.; Martínez, J.A.; et al. A Greater Improvement of Intrahepatic Fat Contents after 6 Months of Lifestyle Intervention Is Related to a Better Oxidative Stress and Inflammatory Status in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Antioxidants* **2022**, *Vol. 11*, Page 1266 **2022**, *11*, 1266.
409. Del Bo', C.; Perna, S.; Allehdan, S.; Rafique, A.; Saad, S.; AlGhareeb, F.; Rondanelli, M.; Tayyem, R.F.; Marino, M.; Martini, D.; et al. Does the Mediterranean Diet Have Any Effect on Lipid Profile, Central Obesity and Liver Enzymes in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) Subjects? A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Control Trials. *Nutrients* **2023**, *15*, 2250.
410. Kubiliene, L.; Laugaliene, V.; Pavilonis, A.; Maruska, A.; Majiene, D.; Barcauskaite, K.; Kubilius, R.; Kasparaviciene, G.; Savickas, A. Alternative preparation of propolis extracts: comparison of their composition and biological activities. *BMC Complement. Altern. Med.* **2015**, *15*.

411. Shojaee-Moradie, F.; Cuthbertson, D.J.; Barrett, M.; Jackson, N.C.; Herring, R.; Thomas, E.L.; Bell, J.; Kemp, G.J.; Wright, J.; Umpleby, A.M. Exercise Training Reduces Liver Fat and Increases Rates of VLDL Clearance But Not VLDL Production in NAFLD. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2016**, *101*, 4219–4228.
412. Jeppesen, J.; Kiens, B. Regulation and limitations to fatty acid oxidation during exercise. *J. Physiol.* **2012**, *590*, 1059–1068.
413. Haigh, L.; Kirk, C.; El Gendy, K.; Gallacher, J.; Errington, L.; Mathers, J.C.; Anstee, Q.M. The effectiveness and acceptability of Mediterranean diet and calorie restriction in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): A systematic review and meta-analysis. *Clin. Nutr.* **2022**, *41*, 1913–1931.
414. Salas-Salvadó, J.; Díaz-López, A.; Ruiz-Canela, M.; Basora, J.; Fitó, M.; Corella, D.; Serra-Majem, L.; Wärnberg, J.; Romaguera, D.; Estruch, R.; et al. Effect of a lifestyle intervention program with energy-restricted Mediterranean diet and exercise on weight loss and cardiovascular risk factors: One-year results of the PREDIMED-Plus trial. *Diabetes Care* **2019**, *42*, 777–788.
415. Peñalvo, J.L.; Oliva, B.; Sotos-Prieto, M.; Uzhova, I.; Moreno-Franco, B.; León-Latre, M.; Ordovás, J.M. Greater Adherence to a Mediterranean Dietary Pattern Is Associated With Improved Plasma Lipid Profile: the Aragon Health Workers Study Cohort. *Rev. Española Cardiol. (English Ed.)* **2015**, *68*, 290–297.
416. Asbaghi, O.; Choghakhori, R.; Ashtary-Larky, D.; Abbasnezhad, A. Effects of the Mediterranean diet on cardiovascular risk factors in non-alcoholic fatty liver disease patients: A systematic review and meta-analysis. *Clin. Nutr. ESPEN* **2020**, *37*, 148–156.
417. Biolato, M.; Manca, F.; Marrone, G.; Cefalo, C.; Racco, S.; Miggiano, G.A.; Valenza, V.; Gasbarrini, A.; Miele, L.; Grieco, A. Intestinal permeability after Mediterranean diet and low-fat diet in non-alcoholic fatty liver disease. *World J. Gastroenterol.* **2019**, *25*, 509–520.
418. Gelli, C.; Tarocchi, M.; Abenavoli, L.; Di Renzo, L.; Galli, A.; De Lorenzo, A. Effect of a counseling-supported treatment with the Mediterranean diet and physical activity on the severity of the non-alcoholic fatty liver disease. *World J. Gastroenterol.* **2017**, *23*, 3150–3162.
419. Neale, E.P.; Batterham, M.J.; Tapsell, L.C. Consumption of a healthy dietary pattern results in significant reductions in C-reactive protein levels in adults: a meta-analysis. *Nutr. Res.* **2016**, *36*, 391–401.
420. Zhong, F.; Guan, L.; Lin, H.; Zhao, M.; Qin, Y.; Li, Q.; Yuan, Z.; Yang, G.; Gao, L.; Zhao, J. Red Blood Cell Count: An Unrecognized Risk Factor for Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. **2021**, *12*, 1.
421. Ighodaro, O.M.; Akinloye, O.A. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria J. Med.* **2018**, *54*, 287–293.
422. Świdarska, M.; Maciejczyk, M.; Zalewska, A.; Pogorzelska, J.; Flisiak, R.; Chabowski, A. Oxidative stress biomarkers in the serum and plasma of patients

- with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). Can plasma AGE be a marker of NAFLD? Oxidative stress biomarkers in NAFLD patients. *Free Radic. Res.* **2019**, *53*, 841–850.
423. Sumida, Y.; Niki, E.; Naito, Y.; Yoshikawa, T. Involvement of free radicals and oxidative stress in NAFLD/NASH. *Free Radic. Res.* **2013**, *47*, 869–880.
424. Simões, I.C.M.; Amorim, R.; Teixeira, J.; Karkucinska-wieckowska, A.; Carvalho, A.; Pereira, S.P.; Simões, R.F.; Szymanska, S.; Dąbrowski, M.; Janikiewicz, J.; et al. The Alterations of Mitochondrial Function during NAFLD Progression-An Independent Effect of Mitochondrial ROS Production. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*.
425. Bekkouche, L.; Bouchenak, M.; Malaisse, W.J.; Yahia, D.A. The Mediterranean diet adoption improves metabolic, oxidative, and inflammatory abnormalities in Algerian metabolic syndrome patients. *Horm. Metab. Res.* **2014**, *46*, 274–82.
426. Olusi, S. Obesity is an independent risk factor for plasma lipid peroxidation and depletion of erythrocyte cytoprotective enzymes in humans. *Int. J. Obes.* **2002**, *26*, 1159–1164.
427. Ozata, M.; Mergen, M.; Oktenli, C.; Aydin, A.; Yavuz Sanisoglu, S.; Bolu, E.; Yilmaz, M.I.; Sayal, A.; Isimer, A.; Ozdemir, I.C. Increased oxidative stress and hypozincemia in male obesity. *Clin. Biochem.* **2002**, *35*, 627–631.
428. Kurutas, E.B. The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state. *Nutr. J.* **2015**, *15*, 71.
429. Obeagu, E.I.; Igwe, M.C.; Obeagu, G.U. Oxidative stress's impact on red blood cells: Unveiling implications for health and disease. *Medicine (Baltimore)*. **2024**, *103*, E37360.
430. Martínez-Huélamo, M.; Rodríguez-Morató, J.; Boronat, A.; De la Torre, R. Modulation of Nrf2 by Olive Oil and Wine Polyphenols and Neuroprotection. *Antioxidants* **2017**, *6*, 73.
431. Yu, C.; Xiao, J.-H. The Keap1-Nrf2 System: A Mediator between Oxidative Stress and Aging. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2021**, *2021*.
432. George, E.S.; Marshall, S.; Mayr, H.L.; Trakman, G.L.; Tatu-Babet, O.A.; Lassemillante, A.-C.M.; Bramley, A.; Reddy, A.J.; Forsyth, A.; Tierney, A.C.; et al. The effect of high-polyphenol extra virgin olive oil on cardiovascular risk factors: A systematic review and meta-analysis. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2019**, *59*, 2772–2795.
433. Azzini, E.; Polito, A.; Fumagalli, A.; Intorre, F.; Venneria, E.; Durazzo, A.; Zaccaria, M.; Ciarapica, D.; Foddai, M.S.; Mauro, B.; et al. Mediterranean Diet Effect: an Italian picture. *Nutr. J.* **2011**, *10*, 125.
434. Köroğlu, E.; Canbakan, B.; Atay, K.; Hatemi, I.; Tuncer, M.; Dobrucali, A.; Sonsuz, A.; Gültepe, I.; Şentürk, H. Role of oxidative stress and insulin resistance in disease severity of non-alcoholic fatty liver disease. *Turk. J. Gastroenterol.* **2016**, *27*, 361–366.
435. Hernáez, Á.; Castañer, O.; Goday, A.; Ros, E.; Pintó, X.; Estruch, R.; Salas-Salvadó, J.; Corella, D.; Arós, F.; Serra-Majem, L.; et al. The Mediterranean Diet decreases



- LDL atherogenicity in high cardiovascular risk individuals: a randomized controlled trial. *Mol. Nutr. Food Res.* **2017**, *61*, 1601015.
436. Barona, J.; Jones, J.J.; Kopec, R.E.; Comperatore, M.; Andersen, C.; Schwartz, S.J.; Lerman, R.H.; Fernandez, M.L. A Mediterranean-style low-glycemic-load diet increases plasma carotenoids and decreases LDL oxidation in women with metabolic syndrome. *J. Nutr. Biochem.* **2012**, *23*, 609–615.
437. Monserrat-Mesquida, M.; Quetglas-Llabrés, M.; Bouzas, C.; Montemayor, S.; Mascaró, C.M.; Casares, M.; Llompарт, I.; Ugarriza, L.; Martínez, J.A.; Tur, J.A.; et al. Increased Adherence to the Mediterranean Diet after Lifestyle Intervention Improves Oxidative and Inflammatory Status in Patients with Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Antioxidants* **2022**, *11*, 1440.
438. Many, G.; Hurtado, M.E.; Tanner, C.; Houmard, J.; Gordish-Dressman, H.; Park, J.J.; Uwaifo, G.; Kraus, W.; Hagberg, J.; Hoffman, E. Moderate-intensity aerobic training program improves insulin sensitivity and inflammatory markers in a pilot study of morbidly obese minority teens. *Pediatr. Exerc. Sci.* **2013**, *25*, 12–26.
439. Arab, A.; Moosavian, S.P.; Hadi, A.; Karimi, E.; Nasirian, M. The association between serum omentin level and bodyweight: A systematic review and meta-analysis of observational studies. *Clin. Nutr. ESPEN* **2020**, *39*, 22–29.
440. Yilmaz, Y.; Yonal, O.; Kurt, R.; Alahdab, Y.O.; Eren, F.; Ozdogan, O.; Celikel, C.A.; Imeriyuz, N.; Kalayci, C.; Avsar, E. Serum levels of omentin, chemerin and adipsin in patients with biopsy-proven nonalcoholic fatty liver disease. *Scand. J. Gastroenterol.* **2011**, *46*, 91–97.
441. Miele, L.; Marrone, G.; Lauritano, C.; Cefalo, C.; Gasbarrini, A.; Day, C.; Grieco, A. Gut-liver Axis and Microbiota in NAFLD: Insight Pathophysiology for Novel Therapeutic Target. *Curr. Pharm. Des.* **2013**, *19*, 5314–5324.
442. Haukeland, J.W.; Damås, J.K.; Konopski, Z.; Løberg, E.M.; Haaland, T.; Goverud, I.; Torjesen, P.A.; Birkeland, K.; Bjørro, K.; Aukrust, P. Systemic inflammation in nonalcoholic fatty liver disease is characterized by elevated levels of CCL2. *J. Hepatol.* **2006**, *44*, 1167–1174.
443. Casas, R.; Urpi-Sardà, M.; Sacanella, E.; Arranz, S.; Corella, D.; Castañer, O.; Lamuela-Raventós, R.M.; Salas-Salvadó, J.; Lapetra, J.; Portillo, M.P.; et al. Anti-Inflammatory Effects of the Mediterranean Diet in the Early and Late Stages of Atheroma Plaque Development. *Mediators Inflamm.* **2017**, 2017.
444. Safarian, M.; Mohammadpour, S.; Shafiee, M.; Ganji, A.; Soleimani, A.; Nematy, M.; Bahari, A. Effect of diet-induced weight loss on cytokeratin-18 levels in overweight and obese patients with liver fibrosis. *Diabetes Metab. Syndr. Clin. Res. Rev.* **2019**, *13*, 989–994.
445. Chen, G.; Petrescu, M.; Irina Vlaicu, S.; Ciomărnean, L.; Vasile Milaciu, M.; Florea, M.; Cristian Vesa, T.; Popa, M. Chronic Inflammation-A Link between Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) and Dysfunctional Adipose Tissue. *Medicina (Kaunas)*. **2022**, *58*, 641.
446. Hadizadeh, F.; Faghihimani, E.; Adibi, P. Nonalcoholic fatty liver disease: Diagnostic biomarkers. *World J. Gastrointest. Pathophysiol.* **2017**, *8*, 11.

447. Miele, L.; Valenza, V.; La Torre, G.; Montalto, M.; Cammarota, G.; Ricci, R.; Mascianà, R.; Forgione, A.; Gabrieli, M.L.; Perotti, G.; et al. Increased intestinal permeability and tight junction alterations in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* **2009**, *49*, 1877–1887.
448. Thuy, S.; Ladurner, R.; Volynets, V.; Wagner, S.; Strahl, S.; Königsrainer, A.; Maier, K.-P.; Bischoff, S.C.; Bergheim, I. Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Humans Is Associated with Increased Plasma Endotoxin and Plasminogen Activator Inhibitor 1 Concentrations and with Fructose Intake. *J. Nutr.* **2008**, *138*, 1452–1455.
449. Calabrese, F.; Disciglio, V.; Franco, I.; Sorino, P.; Bonfiglio, C.; Bianco, A.; Campanella, A.; Lippolis, T.; Pesole, P.; Polignano, M.; et al. A Low Glycemic Index Mediterranean Diet Combined with Aerobic Physical Activity Rearranges the Gut Microbiota Signature in NAFLD Patients. *Nutrients* **2022**, *14*, 1773.
450. Mohammad, S.; Thiemermann, C. Role of Metabolic Endotoxemia in Systemic Inflammation and Potential Interventions. *Front. Immunol.* **2021**, *11*.
451. Nier, A.; Huber, Y.; Labenz, C.; Michel, M.; Bergheim, I.; Schattenberg, J. Adipokines and Endotoxemia Correlate with Hepatic Steatosis in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD). *Nutrients* **2020**, *12*, 699.
452. Standish, R.A. An appraisal of the histopathological assessment of liver fibrosis. *Gut* **2006**, *55*, 569–578.
453. G., F.; L., M.; R., L.; A., D.S.; C., T.; C., F. Non-Invasive Staging of Liver Fibrosis in Patients with Chronic Viral Hepatitis: Performance of a Shear Wave Measurement Method. Poster No.: B-1248. Available online: <https://epos.myesr.org/poster/esr/ecr2017/B-1248> (accessed on May 3, 2024).
454. Fogarasi, A.; Gonzalez, K.; Dalamaga, M.; Magkos, F. The Impact of the Rate of Weight Loss on Body Composition and Metabolism. *Curr. Obes. Rep.* **2022**, *11*, 33–44.
455. Yoo, J.E.; Han, K.; Jung, J.; Hur, Y.; Kim, Y.H.; Kim, E.S.; Son, J.W.; Rhee, E.; Lee, W.; Nam, G.E. Body mass index, waist circumference and cardiovascular diseases in transitional ages (40 and 66 years). *J. Cachexia. Sarcopenia Muscle* **2023**, *14*, 369–381.
456. Vilar-Gomez, E.; Martinez-Perez, Y.; Calzadilla-Bertot, L.; Torres-Gonzalez, A.; Gra-Oramas, B.; Gonzalez-Fabian, L.; Friedman, S.L.; Diago, M.; Romero-Gomez, M. Weight Loss Through Lifestyle Modification Significantly Reduces Features of Nonalcoholic Steatohepatitis. *Gastroenterology* **2015**, *149*, 367-378.e5.
457. Nah, E.-H.; Choi, Y.J.; Cho, S.; Park, H.; Kim, S.; Kwon, E.; Cho, H.-I. Changes in nonalcoholic fatty liver disease and M2BPGi due to lifestyle intervention in primary healthcare. *PLoS One* **2024**, *19*, e0298151.
458. Gensluekner, S.; Wernly, B.; Datz, C.; Aigner, E. Iron, Oxidative Stress, and Metabolic Dysfunction—Associated Steatotic Liver Disease. *Antioxidants* **2024**, *13*, 208.
459. Lombardi, R.; Pisano, G.; Fargion, S. Role of Serum Uric Acid and Ferritin in the Development and Progression of NAFLD. *Int. J. Mol. Sci.* **2016**, *17*, 548.

460. Yan, J.; Guan, T.; Guo, M.; Liu, J. Serum Ferritin and Non-alcoholic Fatty Liver Disease: A Meta-analysis and Systematic Review. *Turkish J. Gastroenterol.* **2023**, *34*, 952–960.
461. Arefhosseini, S.; Pouretedal, Z.; Tutunchi, H.; Ebrahimi-Mameghani, M. Serum copper, ceruloplasmin, and their relations to metabolic factors in nonalcoholic fatty liver disease: a cross-sectional study. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* **2022**, *34*, 443–448.
462. Hart, K.M.; Fabre, T.; Scieurba, J.C.; Gieseck, R.L.; Borthwick, L.A.; Vannella, K.M.; Acciani, T.H.; de Queiroz Prado, R.; Thompson, R.W.; White, S.; et al. Type 2 immunity is protective in metabolic disease but exacerbates NAFLD collaboratively with TGF- $\beta$ . *Sci. Transl. Med.* **2017**, *9*.
463. Dobbie, L.J.; Burgess, J.; Hamid, A.; Nevitt, S.J.; Hydes, T.J.; Alam, U.; Cuthbertson, D.J. Effect of a Low-Calorie Dietary Intervention on Liver Health and Body Weight in Adults with Metabolic-Dysfunction Associated Steatotic Liver Disease (MASLD) and Overweight/Obesity: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients* **2024**, *16*, 1030.
464. Kantartzis, K.; Thamer, C.; Peter, A.; Machann, J.; Schick, F.; Schraml, C.; Konigsrainer, A.; Konigsrainer, I.; Krober, S.; Niess, A.; et al. High cardiorespiratory fitness is an independent predictor of the reduction in liver fat during a lifestyle intervention in non-alcoholic fatty liver disease. *Gut* **2009**, *58*, 1281–1288.
465. Mascaró, C.M.; Bouzas, C.; Montemayor, S.; Casares, M.; Llompart, I.; Ugarriza, L.; Borràs, P.-A.; Martínez, J.A.; Tur, J.A. Effect of a Six-Month Lifestyle Intervention on the Physical Activity and Fitness Status of Adults with NAFLD and Metabolic Syndrome. *Nutrients* **2022**, *14*, 1813.
466. Hashida, R.; Kawaguchi, T.; Bekki, M.; Omoto, M.; Matsuse, H.; Nago, T.; Takano, Y.; Ueno, T.; Koga, H.; George, J.; et al. Aerobic vs. resistance exercise in non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review. *J. Hepatol.* **2017**, *66*, 142–152.
467. Asghari, S.; Hamed-Shahraki, S.; Amirkhizi, F. Systemic redox imbalance in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Eur. J. Clin. Invest.* **2020**, *50*.
468. Quetglas-Llabrés, M.M.; Monserrat-Mesquida, M.; Bouzas, C.; García, S.; Argelich, E.; Casares, M.; Ugarriza, L.; Llompart, I.; Tur, J.A.; Sureda, A. Impact of Adherence to the Mediterranean Diet on Antioxidant Status and Metabolic Parameters in NAFLD Patients: A 24-Month Lifestyle Intervention Study. *Antioxidants* **2024**, *13*, 480.
469. Kalafateli, M. Adipokines levels are associated with the severity of liver disease in patients with alcoholic cirrhosis. *World J. Gastroenterol.* **2015**, *21*, 3020.
470. Erdem, N.B.; Kahramanoğlu Aksoy, E.; Dikmen, D.; Uçar Baş, K.; Ağaçdiken, A.; İlhan Egin, M.; Göktaş, Z. Effects of low fat diet on inflammatory parameters in individuals with obesity/overweight and non-alcoholic fatty liver disease: A cross-sectional study. *Medicine (Baltimore)*. **2024**, *103*, e37716.
471. Ahmed, H.; Umar, M.I.; Imran, S.; Javaid, F.; Syed, S.K.; Riaz, R.; Hassan, W. TGF- $\beta$ 1 signaling can worsen NAFLD with liver fibrosis backdrop. *Exp. Mol. Pathol.* **2022**, *124*, 104733.

472. Baratta, F.; Pastori, D.; Bartimoccia, S.; Cammisotto, V.; Cocomello, N.; Colantoni, A.; Nocella, C.; Carnevale, R.; Ferro, D.; Angelico, F.; et al. Poor Adherence to Mediterranean Diet and Serum Lipopolysaccharide Are Associated with Oxidative Stress in Patients with Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Nutrients* **2020**, *12*, 1732.
473. Honda, K.; Littman, D.R. The Microbiome in Infectious Disease and Inflammation. *Annu. Rev. Immunol.* **2012**, *30*, 759–795.
474. Sekirov, I.; Russell, S.L.; Antunes, L.C.M.; Finlay, B.B. Gut Microbiota in Health and Disease. *Physiol. Rev.* **2010**, *90*, 859–904.
475. Turnbaugh, P.J.; Ley, R.E.; Mahowald, M.A.; Magrini, V.; Mardis, E.R.; Gordon, J.I. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* **2006**, *444*, 1027–1031.
476. Rodriguez-Diaz, C.; Taminiou, B.; García-García, A.; Cueto, A.; Robles-Díaz, M.; Ortega-Alonso, A.; Martín-Reyes, F.; Daube, G.; Sanabria-Cabrera, J.; Jimenez-Perez, M.; et al. Microbiota diversity in nonalcoholic fatty liver disease and in drug-induced liver injury. *Pharmacol. Res.* **2022**, *182*, 106348.
477. Boursier, J.; Mueller, O.; Barret, M.; Machado, M.; Fizanne, L.; Araujo-Perez, F.; Guy, C.D.; Seed, P.C.; Rawls, J.F.; David, L.A.; et al. The severity of nonalcoholic fatty liver disease is associated with gut dysbiosis and shift in the metabolic function of the gut microbiota. *Hepatology* **2016**, *63*, 764–775.
478. Yang, L.; Dai, Y.; He, H.; Liu, Z.; Liao, S.; Zhang, Y.; Liao, G.; An, Z. Integrative analysis of gut microbiota and fecal metabolites in metabolic associated fatty liver disease patients. *Front. Microbiol.* **2022**, *13*.
479. Li, F.; Ye, J.; Shao, C.; Zhong, B. Compositional alterations of gut microbiota in nonalcoholic fatty liver disease patients: a systematic review and Meta-analysis. *Lipids Health Dis.* **2021**, *20*, 22.
480. Yaskolka Meir, A.; Rinott, E.; Tsaban, G.; Zelicha, H.; Kaplan, A.; Rosen, P.; Shelef, I.; Youngster, I.; Shalev, A.; Blüher, M.; et al. Effect of green-Mediterranean diet on intrahepatic fat: the DIRECT PLUS randomised controlled trial. *Gut* **2021**, *70*, 2085–2095.
481. Jin, L.; Xu, M.-Z. Characterization of gut dominant microbiota in obese patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* **2023**, *13*.
482. Yang, C.; Xu, J.; Xu, X.; Xu, W.; Tong, B.; Wang, S.; Ji, R.; Tan, Y.; Zhu, Y. Characteristics of gut microbiota in patients with metabolic associated fatty liver disease. *Sci. Rep.* **2023**, *13*, 9988.
483. Ji, J.; Gu, Z.; Li, N.; Dong, X.; Wang, X.; Yao, Q.; Zhang, Z.; Zhang, L.; Cao, L. Gut microbiota alterations in postmenopausal women with osteoporosis and osteopenia from Shanghai, China. *PeerJ* **2024**, *12*, e17416.
484. Yan, F.; Zhang, Q.; Shi, K.; Zhang, Y.; Zhu, B.; Bi, Y.; Wang, X. Gut microbiota dysbiosis with hepatitis B virus liver disease and association with immune response. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* **2023**, *13*.
485. Zhai, Q.; Wu, H.; Zheng, S.; Zhong, T.; Du, C.; Yuan, J.; Peng, J.; Cai, C.; Li, J.

- Association between gut microbiota and NAFLD/NASH: a bidirectional two-sample Mendelian randomization study. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* **2023**, *13*.
486. Pan, L.-L.; Zhang, H.-J.; Huang, Z.-F.; Sun, Q.; Chen, Z.; Li, Z.-B.; Yang, S.-Y.; Li, X.-Y.; Li, X.-J. Intrahepatic triglyceride content is independently associated with chronic kidney disease in obese adults: A cross-sectional study. *Metabolism* **2015**, *64*, 1077–1085.
487. Choi, J.; Joe, H.; Oh, J.-E.; Cho, Y.-J.; Shin, H.-S.; Heo, N.H. The correlation between NAFLD and serum uric acid to serum creatinine ratio. *PLoS One* **2023**, *18*, e0288666.
488. McLeod, D.J.; Sebastião, Y. V.; Ching, C.B.; Greenberg, J.H.; Furth, S.L.; Becknell, B. Longitudinal kidney injury biomarker trajectories in children with obstructive uropathy. *Pediatr. Nephrol.* **2020**, *35*, 1907–1914.
489. Benoit, S.W.; Ciccia, E.A.; Devarajan, P. Cystatin C as a biomarker of chronic kidney disease: latest developments. *Expert Rev. Mol. Diagn.* **2020**, *20*, 1019–1026.
490. Chen, X.; Liang, Y.; Tang, N.; Li, C.; Zhang, Y.; Xu, F.; Shi, G.; Zhang, M. Ultrasensitive sensing urinary cystatin C via an interface-engineered graphene extended-gate field-effect transistor for non-invasive diagnosis of chronic kidney disease. *Biosens. Bioelectron.* **2024**, *249*, 116016.
491. Satoh-Asahara, N.; Suganami, T.; Majima, T.; Kotani, K.; Kato, Y.; Araki, R.; Koyama, K.; Okajima, T.; Tanabe, M.; Oishi, M.; et al. Urinary Cystatin C as a Potential Risk Marker for Cardiovascular Disease and Chronic Kidney Disease in Patients with Obesity and Metabolic Syndrome. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* **2011**, *6*, 265–273.
492. Zhang, J.; Zhang, X.; Zhao, Y.; Lv, G. Association Between Urinary Alpha1-Microglobulin Levels and Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Cross-Sectional Study. *Ann. Nutr. Metab.* **2018**, *72*, 30–36.
493. Bolignano, D.; Lacquaniti, A.; Coppolino, G.; Donato, V.; Campo, S.; Fazio, M.R.; Nicocia, G.; Buemi, M. Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL) and Progression of Chronic Kidney Disease. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* **2009**, *4*, 337–344.



*Every ending is a good beginning*