

**EFFECTO DE UNA DIETA MEDITERRÁNEA
TRADICIONAL CON RESTRICCIÓN DE ENERGÍA,
ACTIVIDAD FÍSICA Y TRATAMIENTO CONDUCTUAL
SOBRE LA PREVENCIÓN DE ENFERMEDAD
CARDIOVASCULAR**

ESTUDIO PREDIMED-PLUS

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Enero 2014

Tabla de contenido

	Página
Enmiendas al protocolo después de Enero del 2014	3
 <u>PROTOCOL 2013</u>	
Resumen	5
Antecedentes y estado actual del tema	8
Hipótesis	13
Objetivos	15
Metodología	13
Plan de análisis estadístico	56
Fortalezas y limitaciones	59
Comites y gobernanza	61
Fuentes de financiación y cuestiones administrativas	62
Bibliografía	64
Anexo I (subestudios)	79
Anexo II (centros participantes)	80

ENMIENDAS AL PROTOCOLO DESPUÉS DE OCTUBRE DEL 2013

1. En enero de 2014, el Comité Directivo (*Steering Committee*), siguiendo el consejo del DSMB (*Data Safety and Monitoring Board*), decidió enmendar el Protocolo y eliminar el criterio de pérdida de peso de 1,5 kg propuesto durante el período de rodaje inicial (*run-in*). Dicho cambio solo afectó a los primeros 70 participantes que fueron elegibles y aleatorizados en 2 centros de vanguardia.
2. Septiembre-julio de 2014. Inicialmente, se decidió proporcionar gratuitamente 500 g por mes de frutos secos a cada participante durante la intervención con el fin de reforzar la adherencia a la dieta mediterránea en ambos brazos del ensayo. Sin embargo, debido a la falta de recursos económicos, solo los participantes incluidos en el estudio piloto reclutados en 2 centros de vanguardia hasta julio de 2014 recibieron gratuitamente 250 g de frutos secos (125 g de pistachos y 125 g de almendras por mes) junto con la recomendación de consumir una cantidad total mensual de 500g. Posteriormente, todos los participantes del ensayo reciben gratuitamente durante todo el seguimiento 125 g de almendras por mes de la cantidad total recomendada de 500 g.
3. El Instituto de Salud Carlos III (Madrid) a través del Fondo de Investigación Sanitaria nos ha concedidos cuatro proyectos de investigación coordinados para financiar el ensayo PREDIMED-PLUS para los períodos anuales de 2014-2016 y 2017-2019 (IP de los proyectos coordinados J. Salas-Salvado) y para los períodos anuales de 2015-2017 y 2018-2020 (IP de los proyectos coordinados J. Salas-Salvado J. Vidal).
4. Noviembre de 2014. Con el propósito de aumentar la posibilidad de cumplir el objetivo en número de participantes reclutados para diciembre de 2017, en noviembre de 2014, el *Steering Committee* aceptó la inclusión de tres centros de reclutamiento adicionales (ver a continuación).

21	Jesús Vioque López	vioque@umh.es	Universidad Miguel Hernández, Sant Joan d'Alacant, Alicante
22	Miguel Delgado Rodríguez	mdelgado@ujaen.es	Universidad de Jaén, Jaén
23	Vicente Martin	vicente.martin@unileon.es	Universidad de León, León

5. Diciembre de 2016. El Dr. Francisco Tinahones (Hospital de Málaga) fue incorporado como el séptimo miembro del *Steering Committee*.

6. Febrero de 2018. la Dra. Julia Wärnberg (jwarnberg@uma.es, Escuela de Ciencias de la Salud) reemplaza al Investigador Principal del centro de reclutamiento de la Universidad de Málaga (Medicina Preventiva, Escuela de Medicina), Prof. Enrique Gómez-Gracia, quien continuó en el ensayo como investigador principal de un nuevo grupo de apoyo (A8).

A8	Enrique Gómez-Gracia	egomezgracia@gmail.com	Preventive Medicine, Medical School, University of Malaga
-----------	----------------------	------------------------	---

RESUMEN

En el siglo XXI está creciendo **alarmantemente la epidemia de sobrepeso y obesidad**. En **España** la prevalencia de **obesidad abdominal en adultos supera el 35%**, y **más del 60%** de la población adulta presenta **sobrepeso u obesidad** (Gutiérrez-Fisac et al, 2012). El crecimiento de la obesidad mórbida es especialmente preocupante (Basterra-Gortari et al, 2011). Las consecuencias a medio-largo plazo sobre el **riesgo vascular** y otras causas de muerte y enfermedad pueden ser **catastróficas**.

Los mejores estudios observacionales han constatado que la mortalidad por cualquier causa se incrementa progresivamente en paralelo con un aumento de la adiposidad y que este riesgo es especialmente elevado para la **mortalidad cardiovascular** (Berrington de González et al, 2010). No obstante, un meta-análisis publicado a principios de 2013 (Flegal, 2013) creó considerable polémica al matizar muy a la baja las consecuencias del sobrepeso y la obesidad moderada. Es probable que las conclusiones del meta-análisis de Flegal puedan explicarse por diversos sesgos (definición peculiar de las categorías de sobrepeso, confusión por tabaco, causalidad inversa y exclusión de estudios relevantes) (Tobias y Hu, 2013), pero la controversia continua y probablemente continuará en las próximas décadas. Estas dudas sólo se resolverían con estudios de intervención aleatorizados (Hernán y Taubman, 2008). Por lo tanto, se necesita disponer de estudios experimentales que puedan demostrar si una **pérdida intencional de peso** conlleva una disminución en la mortalidad cardiovascular y una menor incidencia de enfermedad cardiovascular (ECV).

La finalidad del estudio PREDIMED-PLUS es valorar la efectividad y seguridad de un programa de intervención multifactorial que permita mitigar la excesiva mortalidad y morbilidad cardiovascular entre las personas con sobrepeso y obesidad. El objetivo es determinar el efecto sobre la morbi-mortalidad cardiovascular de una intervención intensiva de pérdida de peso basada en un patrón de dieta mediterránea tradicional hipocalórica, actividad física y terapia conductual versus consejos sobre dieta también tipo mediterráneo siguiendo los cuidados sanitarios habituales para la prevención cardiovascular. Nuestra hipótesis es que una intervención intensiva sobre el estilo de vida dirigida a la pérdida de peso y fundamentada en el patrón de dieta mediterránea tradicional es una aproximación sostenible a largo plazo para la pérdida de peso en adultos con sobrepeso y obesidad y que los cambios en estilos de vida alcanzados ejercerán un efecto beneficioso sobre la morbi-mortalidad cardiovascular (Estruch et al, 2013; Shai et al, 2008). La presente propuesta proporcionará eventualmente una

herramienta para luchar contra el exceso de morbilidad y mortalidad que conllevan el sobrepeso y la obesidad.

Objetivos

El estudio PREDIMED-PLUS evaluará el efecto en la prevención primaria cardiovascular de una intervención intensiva basada en una dieta Mediterránea de 17 puntos con restricción calórica y metas específicas de pérdida de peso, actividad física, e intervención conductual (grupo de intervención) frente a una intervención de baja intensidad (cuidados habituales) con una dieta mediterránea de 14 puntos (Schröder et al, 2011) sin consejos para aumentar la actividad física o reducir la ingesta de energía (grupo control). La dieta que se asignará al grupo control se ha mostrado previamente efectiva en el ensayo PREDIMED (Estruch et al 2013). El desenlace principal final “primary end-point” será un agregado de eventos clínicos cardiovasculares duros (infarto de miocardio, ictus o muerte cardiovascular) tal como se definió en el ensayo PREDIMED (Martinez-Gonzalez et al, 2012).

Los objetivos principales que se plantean son evaluar el efecto de una **intervención intensiva** sobre el estilo de vida basada en una **dieta mediterránea hipocalórica**, actividad física y terapia conductual sobre **eventos** cardiovasculares en comparación con un **grupo control** asignado a un consejo no intensivo sobre dieta sana (también de tipo mediterráneo), pero sin restricción calórica sobre:

1. La incidencia de **eventos cardiovasculares** (infarto de miocardio no mortal, ictus no mortal o muerte cardiovascular).
2. La **pérdida de peso** y mantenimiento de la pérdida de peso a largo plazo.

Como objetivos secundarios se plantea evaluar si una intervención intensiva sobre el estilo de vida dirigida a la pérdida de peso ejerce un impacto positivo sobre la reducción del perímetro abdominal y otras condiciones relacionadas con el sobrepeso y la obesidad: síndromes coronarios agudos con/sin revascularización coronaria, insuficiencia cardíaca, fibrilación auricular, enfermedad arterial periférica, trombosis venosa, diabetes mellitus tipo 2 y sus complicaciones, incidencia global de cáncer, tipos de cáncer específico en las principales localizaciones (mama, colo-rectal, próstata, pulmón, estómago), fracturas óseas, enfermedad de cálculos biliares, gota sintomática, enfermedades neurodegenerativas (demencia y enfermedad de

Parkinson), depresión unipolar y trastornos de conducta alimentaria. También se valorará el efecto de la intervención sobre marcadores intermedios: ingesta de nutrientes y patrón dietético global, presión arterial sistólica y diastólica, lípidos en sangre, glucemia basal en ayunas, función renal, ácido úrico, porcentaje de personas que requieren tratamiento farmacológico antihipertensivo, antidiabético o hipolipemiente, niveles de proteína-C reactiva, hemoglobina A1c, función hepática, alteraciones en el trazado electrocardiográfico, función cognitiva, calidad de vida, y síntomas psicopatológicos.

Metodología

Se está desarrollando un **ensayo de campo** aleatorizado y multicéntrico dirigido a la prevención primaria de enfermedad cardiovascular en adultos con sobrepeso u obesidad mediante una intervención intensiva basada en una dieta mediterránea hipocalórica, promoción de actividad física y terapia conductual comparada frente a un grupo control que recibe consejo de baja intensidad sobre dieta mediterránea para la prevención de morbilidad CV según el estudio PREDIMED. Además se hace hincapié sobre la importancia de asistir a las visitas médicas y se proporciona recomendaciones generales escritas de estilo de vida para el mantenimiento del síndrome metabólico. A este nuevo ensayo, cuyo diseño y planeamiento se detalla en la presente propuesta se le denominará ensayo **PREDIMED-PLUS**.

Para este nuevo ensayo multicéntrico, participan un total de 20 centros reclutadores que apuntan a reclutar un total de **6000 participantes**, **3000** asignados al grupo de intervención intensiva y **3000** al grupo control. El reclutamiento se lleva a cabo entre los años 2013 y 2017. La intervención se mantendrá al menos 6 años y el seguimiento medio previsto para los eventos clínicos cardiovasculares será de 8 años. Se espera que los resultados, entre los que se incluyen los cambios antropométricos y el impacto sobre los principales trastornos relacionados con la obesidad, tengan una alta aplicabilidad para la salud pública al mejorar el pronóstico de los adultos obesos o con sobrepeso y serán altamente eficientes al proporcionar una aproximación no farmacológica a la prevención de la principal causa de mortalidad, y de una de las principales causas globales de pérdida de años de vida ajustados por discapacidad (Lozano et al, 2012).

ANTECEDENTES Y ESTADO ACTUAL DEL TEMA

La **epidemia actual global de sobrepeso y obesidad** ha crecido y sigue creciendo a ritmo alarmante, afectando a más del 60% de la población adulta y representa una crisis global de salud pública. La **prevalencia global de obesidad** casi se ha **duplicado** entre 1980 y 2008 a nivel mundial (Finucane et al, 2011; Malik et al, 2013). En **España**, la prevalencia de **obesidad abdominal en adultos supera el 35%** y **más del 60%** de la población adulta presenta **sobrepeso u obesidad** (Gutiérrez-Fisac et al, 2012), con un crecimiento particularmente preocupante de la obesidad mórbida (Basterra-Gortari et al, 2011). Las consecuencias de la obesidad a medio-largo plazo sobre el riesgo de enfermedad y muerte cardiovascular son **devastadoras** y con capacidad para ambos, hacer **insostenible el sistema sanitario** y asfixiar cualquier posibilidad de crecimiento económico. Resulta urgente y prioritario dar respuestas y soluciones basadas en la mejor evidencia científica posible.

Con la edad parece que se atenúa la asociación entre obesidad y mortalidad. Si esto fuese así, sería dudosa la pertinencia de recomendar una pérdida de peso en población adulta. Sin embargo esta creencia se ha visto confrontada por estudios epidemiológicos observacionales que, una vez que controlan adecuadamente la confusión por cohorte generacional, apoyan todo lo contrario, es decir que a edades avanzadas se hace aún más fuerte la asociación obesidad-mortalidad (Masters, 2013).

Un meta-análisis de estudios observacionales publicado en el 2013 (Flegal, 2013) generó controversia al matizar muy a la baja las consecuencias del sobrepeso y la obesidad moderada. Es probable que las conclusiones de ese metaanálisis puedan deberse a sesgos (definición peculiar de las categorías de sobrepeso, confusión por tabaco, causalidad inversa y exclusión de estudios relevantes) tal como argumentan Tobias y Hu (2013). El debate se resolvería con buenos estudios de intervención aleatorizados (Hernán y Taubman, 2008). Pero probablemente esto seguirá siendo objeto de controversia en las próximas décadas hasta que no se disponga de estudios clínicos aleatorizados de intervención que superen las limitaciones y sesgos inherentes a los diseños observacionales, que son los que hasta ahora han valorado en sujetos inicialmente libres de enfermedad la asociación entre sobrepeso/obesidad y la incidencia de eventos clínicos *duros* o mortalidad. Los estudios observacionales con mejor control de sesgos han constatado que la mortalidad por cualquier causa crece progresivamente con un aumento de la adiposidad fuera del rango del peso normal - medido según el índice de masa corporal (IMC, definido como el peso en kg dividido entre el cuadrado de la altura en m)- y que este riesgo es especialmente elevado para

la **mortalidad cardiovascular** (Berrington de González et al, 2010). El aumento de peso corporal se ha asociado no sólo a mayor mortalidad, sino también a una mayor morbilidad por ECV (Ni Mhurchu et al, 2004; Song et al, 2004; Flint et al, 2010); un mayor riesgo de desarrollar ciertos tipos de cáncer, diabetes y depresión (Luppino et al, 2010), y una peor función cognitiva (Gunstad et al, 2010). Por tanto, son necesarios ensayos aleatorizados a gran escala con diseños robustos que puedan proporcionar evidencias del máximo nivel.

Los grupos de expertos creados por los Institutos Nacionales de Salud y la Organización Mundial de la Salud recomiendan que los adultos con sobrepeso con patología y los obesos pierdan el 10% de su peso inicial, y el tratamiento primario debería consistir en una intervención sobre el estilo de vida (*National Institute of Health*, 1998; Organización Mundial de la Salud, 1998). Por otro lado, según la Asociación Americana de Dietistas, dicha intervención para perder peso debe incluir una dieta hipocalórica, la práctica de actividad física y una terapia conductual. El único ensayo aleatorizado que ha estudiado el efecto a largo plazo de un programa de estilo de vida, dirigido a la reducción de peso en adultos obesos usando como desenlace los eventos clínicos de ECV y la mortalidad es el ensayo Look AHEAD (Ryan et al, 2003). Este ensayo, que incluyó a 5145 participantes (Rejeski et al, 2012) concluyó prematuramente en Octubre de 2012 por falta de eficacia (Look AHEAD Research Group, 2013). El ensayo *Look AHEAD* incluyó sólo a sujetos diabéticos y se basaba en el paradigma de *dieta baja en grasa* (<30% de la ingesta energética total, <10% de grasa saturada). Hasta cierto punto, esto lo opuesto a la dieta mediterránea utilizada en el ensayo PREDIMED (Zazpe et al, 2008; Martínez-González et al, 2012; Estruch et al, 2013), la cual es rica in grasas vegetales saludables tal como las procedentes del aceite de oliva virgen y frutos secos. En los últimos años, las sociedades científicas han recomendado dietas bajas en grasa (que aporten menos del 30% de la energía en forma de grasa). Éste ha sido el enfoque que se ha considerado más adecuado para promover la pérdida de peso y la salud en general. Se ha temido que la alta densidad energética y la alta palatabilidad de los alimentos ricos en grasas conlleven efectos potencialmente adversos sobre el peso corporal y la salud cardiovascular (*National Institute of Health*, 2000). Pero tanto la interrupción del ensayo *Look AHEAD* por su futilidad, como la ineficacia del ensayo *Women's Health Initiative Dietary Modification trial* (Look Ahead Research Group, 2013; Howard, 2006), como los resultados favorables de los estudios PREDIMED (Estruch et al, 2013) y DIRECT (Shai et al, 2008) constituyen poderosos argumentos en contra de aproximaciones basadas en dietas bajas en grasa.

Aunque las dietas que pautan carbohidratos complejos, disminución de grasa y restricción de energía para bajar de peso están generalmente aceptadas, no hay evidencia clara de que la grasa dietética se asocie a un mayor aumento de peso (Willett, 2001; Nordmann et al, 2006; Larsen et al, 2010; Hu et al, 2012; Bueno et al, 2013). Un paradigma dietético diferente al de una dieta baja en grasa y que puede ser más útil en la ejecución y desarrollo de programas dirigidos a lograr una pérdida mantenida de peso y mejorar las alteraciones metabólicas relacionadas con el sobrepeso/obesidad es la **dieta mediterránea tradicional**. Se trata de un patrón alimentario rico en grasas de fuentes vegetales naturales (aceite de oliva virgen y frutos secos), con un consumo abundante de alimentos de origen vegetal mínimamente elaborados (verduras, frutas, cereales integrales y legumbres), bajo consumo de carne (especialmente de carnes rojas o procesadas), consumo moderado de pescado y vino (normalmente consumido en las comidas) y frugalidad en las comidas. El alto contenido en grasa de la dieta mediterránea tradicional hace que sea más palatable y, por tanto, aceptable y fácilmente sostenible a largo plazo.

De hecho, la Guía de Alimentación para los Norteamericanos (*Dietary Guidelines for Americans*), en su edición de 2010 reconoce ya la Dieta Mediterránea tradicional, junto con la dieta DASH, como una dieta saludable para la prevención de ECV aunque en el momento de emitir tal recomendación aún no se disponía de ensayos clínicos aleatorizados de prevención primaria con eventos clínicos mayores como evento principal. Esto ha sido confirmado por los resultados del ensayo de prevención primaria cardiovascular PREDIMED, realizado en España entre 2003-2010 (Estruch et al, 2013).

Respecto a las propiedades de la dieta mediterránea tradicional para la pérdida de peso, en un meta-análisis de ensayos aleatorizados, la asignación a una dieta mediterránea en comparación con dietas control mostró un efecto pequeño, pero significativo, en la reducción del peso corporal (diferencia de medias: -1,75 kg, IC 95%: -2,86 a -0,64 kg). Este efecto se duplicó cuando la restricción de energía se aplicó a la dieta mediterránea (Esposito et al, 2011). En otro meta-análisis de estudios observacionales (Sofi et al, 2010), se observó que una mayor adherencia a la Dieta Mediterránea se asociaba a reducciones significativas en la mortalidad total, cardiovascular y por cáncer, incidencia de eventos cardiovasculares no mortales y riesgo de enfermedades neurodegenerativas. Una posterior actualización del meta-análisis de dieta mediterránea y ECV constató una reducción relativa del riesgo del 13% por cada dos puntos más de conformidad con una escala de 0 a 9 puntos de

adherencia a la dieta mediterránea tras identificar y tratar las fuentes de heterogeneidad (Martínez-Gonzalez y Bes-Rastrollo, 2014).

El ensayo aleatorizado **PREDIMED** (“**PRE**vencción con **Dieta MEDiterránea**”), el cual incluyó a 7.447 participantes seguidos durante una mediana de 5 años y fue el **mayor ensayo nutricional aleatorizado** jamás realizado **en Europa**. El ensayo PREDIMED demostró que una **dieta mediterránea alta en grasa** suplementada con aceite de oliva virgen o frutos secos implementada en un entorno de prevención cardiovascular primaria resultó en una **reducción de un 30% los eventos clínicos de ECV** después de una mediana de 4.8 años de intervención en comparación con la recomendación de seguir una dieta baja en grasa (Estruch et al, 2013). El ensayo **PREDIMED** ha sido un hito mundialmente reconocido y marcará un antes y un después en la **prevención de enfermedades crónicas**. El haber demostrado una reducción efectiva de los eventos graves cardiovasculares usando una **dieta mediterránea** con un diseño aleatorizado proporciona la mejor evidencia científica posible para prevenir la **enfermedad cardiovascular**, la **principal causa de muerte en el mundo**. Cabe destacar que las dietas utilizadas en el ensayo **PREDIMED** fueron *ad libitum*, no se promovió el incremento de la actividad física, y no se dieron consejos para perder peso.

Se ha postulado que la asociación entre la adherencia a la dieta mediterránea tradicional y el riesgo de ECV puede estar mediada por distintos mecanismos como la reducción en la inflamación de bajo grado (Chrysohoou et al, 2004; Esposito et al, 2004; Mena et al, 2009; Camargo et al, 2011; Urpi-Sarda et al, 2012; Meneses et al, 2012), mayores niveles de adiponectina (Detopoulou et al, 2010; Razquin et al, 2010), menor coagulabilidad (Chrysohoou et al, 2004; Pérez-Jiménez et al, 2006; Pérez-Jiménez et al, 2002), mejoría de la función endotelial (Esposito et al, 2004; Ruano et al, 2005; Fuentes et al, 2008), menor estrés oxidativo (Dai et al, 2008; Chrysohoou et al, 2011; Razquin et al, 2009), menor concentración de lipoproteínas aterogénicas (Jones et al, 2012), menores niveles de partículas de LDL oxidadas (Fito et al, 2007) y menor captación por los macrófagos de las LDL oxidadas (Moreno et al, 2008). Además, los dos alimentos suplementados en el ensayo PREDIMED – aceite de oliva virgen extra y frutos secos – también poseen propiedades biológicas beneficiosas. El aceite de oliva virgen extra presenta un perfil de ácidos grasos saludable y contiene numerosos compuestos fenólicos bioactivos (Pérez-Jiménez et al, 2006; Covas et al, 2009; López-Miranda et al, 2010). Los compuestos fenólicos del aceite de oliva poseen propiedades antiinflamatorias (Fito et al, 2008), impacto beneficioso sobre el perfil lipídico (Benkhalti et al, 2002; Covas et al, 2006), mejoran los marcadores de estrés

oxidativo (Covas et al, 2006), ejercen un efecto antiagregante plaquetario (de Roos et al, 2011; Fito et al, 2008) y estimulan la biogénesis mitocondrial (Zhu et al, 2010). Los frutos secos presentan también un perfil de ácidos grasos saludables basado en ácidos grasos mono- y poliinsaturados, y también contienen minerales, vitaminas y otros compuestos bioactivos antioxidantes, aminoácidos esenciales, fibra, y fitosteroles (Ros, 2009). El consumo de frutos secos se ha asociado a menores concentraciones de colesterol total, colesterol LDL y no-HDL y apolipoproteína B-100 (Li et al, 2009; Sabaté et al, 2010) y menor inflamación (Jiang et al, 2006). Los frutos secos también ejercen un efecto antioxidante, benefician el ritmo cardíaco y mejoran la función plaquetaria y endotelial (Ros, 2009; Defilippis et al, 2010). Todos estos mecanismos pueden explicar el efecto antiaterogénico de una dieta mediterránea rica en frutos secos y aceite de oliva virgen extra. De hecho en el ensayo PREDIMED se observó un fuerte efecto protector frente a la arteriopatía periférica (Ruiz-Canela et al, 2014). En un subestudio del ensayo PREDIMED también se observó que ambas dietas mediterráneas, enriquecidas con frutos secos o aceite de oliva, reducían en un 48% el riesgo de incidencia de diabetes tipo 2 (Salas-Salvadó et al, 2011). Al analizar esta asociación en todos los participantes del estudio se encontró también una protección significativa de la dieta mediterránea frente a la diabetes (Salas-Salvadó et al, 2014).

Aunque el estudio PREDIMED no fue un estudio de pérdida de peso, la provisión gratuita de abundantes alimentos ricos en grasa de origen vegetal natural (aceite de oliva virgen extra y nueces) no condujo al aumento de peso. Actualmente, no se dispone de **evidencia experimental** suficiente que avale que la pérdida intencional de peso, mediante una dieta saludable y cambios favorables del estilo de vida, reduzca la mortalidad o la incidencia de ECV a largo plazo. Concretamente, el impacto de la pérdida de peso sobre el riesgo de ECV en el marco de un patrón de **dieta mediterránea** aún no ha sido testado utilizando un ensayo clínico aleatorizado de una envergadura suficiente (Malik y Hu, 2007). Ante la epidemia de obesidad, se propone la puesta en marcha de un nuevo ensayo, **PREDIMED-PLUS**, que vaya más allá de lo logrado con el ensayo **PREDIMED** y afronte además más específicamente el problema del sobrepeso y la obesidad. La estrategia que se propone tiene efectos positivos para la pérdida de peso (centrada en la pérdida de masa grasa), así como en el mantenimiento de la pérdida de peso a largo plazo (Shai et al, 2008; Beunza et al, 2010; Romaguera et al, 2010). Todavía más interesante es que esta investigación puede demostrar que un portafolio con una **intervención multifactorial** (patrón alimentario + reducción de peso + actividad física + intervención conductual) sobre el estilo de vida puede ser un medio muy efectivo para la reducción del riesgo

cardiovascular asociado al sobrepeso/obesidad que puede ir más allá de los beneficios de una dieta mediterránea sin restricción calórica. Se espera que nuestra contribución a través del ensayo **PREDIMED-PLUS** permita conocer las sinergias entre los efectos de una intervención intensiva sobre la pérdida de peso (con **restricción calórica**, actividad física y terapia conductual) y los efectos beneficiosos de una mayor adherencia a una dieta de alta calidad (es decir, la **dieta mediterránea**) en la incidencia de ECV.

Por otra parte, se van a recoger y almacenar muestras de sangre y orina al inicio y a lo largo del estudio. El posterior análisis de biomarcadores bioquímicos, moleculares en el marco de estudios genéticos y epigenéticos, de transcriptómica, metabolómica y proteómica permitirá ayudar a determinar los beneficios de la intervención así como los mecanismos subyacentes.

HIPÓTESIS

Una **intervención intensiva** sobre el estilo de vida fundamentada en una **dieta mediterránea tradicional** hipocalórica, aumento de la actividad física y soporte conductual proporciona un enfoque **sostenible** y una reducción de peso mantenida en adultos con sobrepeso u obesidad que cumplen criterios de síndrome metabólico, de tal modo que los cambios de estilo de vida conseguidos tendrán efectos beneficiosos a largo plazo sobre la incidencia de ECV.

En comparación con la mera educación sobre dieta mediterránea (grupo control) sin intervención alguna sobre la ingesta calórica o la actividad física, una intervención intensiva sobre el estilo de vida fundamentada en una **dieta mediterránea tradicional** hipocalórica, promoción de actividad física y soporte conductual (grupo de intervención) en personas con sobrepeso u obesidad y síndrome metabólico conseguirá:

1. Una reducción del riesgo de eventos cardiovasculares
2. Una superior reducción del peso corporal y mejor mantenimiento a largo plazo de la pérdida de peso.

OBJETIVOS

El objetivo a largo plazo es proporcionar un tratamiento efectivo para *reducir la excesiva **morbi-mortalidad cardiovascular** en adultos con sobrepeso u **obesidad***, independientemente de su condición de diabéticos al inicio del estudio. Para ello se pretende evaluar el efecto cardiovascular de una intervención **intensiva** de estilo de vida y pérdida de peso basada en la **dieta mediterránea tradicional**, pero incluyendo además promoción de ejercicio físico, reducción calórica y soporte conductual (grupo de intervención), en comparación con un programa no intensivo de educación con **dieta mediterránea tradicional para la prevención CV según los principios del ensayo PREDIMED 1, junto con** los cuidados habituales (“*usual care*”) de los profesionales de la Atención Primaria de salud (grupo control), insistiendo en la importancia de asistir a las visitas de los profesionales sanitarios correspondientes y dando recomendaciones generales sobre el manejo del síndrome metabólico.

Objetivos específicos principales

Evaluar el efecto de la intervención **intensiva** sobre el estilo de vida fundamentada en una **Dieta Mediterránea tradicional** con **restricción de energía, actividad física** y tratamiento **conductual**, con objetivos específicos de pérdida de peso sobre:

1. La incidencia de **ECV** (infarto de miocardio no mortal, ictus no mortal o muerte cardiovascular).
2. La **pérdida de peso y su mantenimiento a largo plazo**.

Objetivos específicos secundarios

Es muy probable que la presente intervención intensiva resulte en una reducción en: perímetro de la cintura, síndromes coronarios agudos, revascularización coronaria, mortalidad total, insuficiencia cardíaca, enfermedad arterial periférica, trombosis venosa, fibrilación auricular, diabetes tipo 2 y sus complicaciones, cáncer total, cáncer de las principales localizaciones (mama, próstata, colorectal, pulmón y estómago), enfermedad de cálculos biliares, gota sintomática, hiperuricemia, enfermedades neurodegenerativas (demencia y enfermedad de Parkinson), depresión unipolar, fracturas óseas y trastornos de conducta alimentaria.

Asimismo, se evaluará el efecto de la intervención sobre los resultados intermedios: la ingesta de nutrientes y el patrón alimentario global, la presión arterial sistólica y diastólica, las concentraciones séricas de lípidos, glucemia en ayunas, hemoglobina glicosilada y ácido úrico, función hepática y renal, niveles de proteína C reactiva, necesidad de medicación antihipertensiva, uso de fármacos antidiabéticos

orales e hipolipemiantes, alteraciones del ECG, función cognitiva, calidad de vida, y escalas psicopatológicas.

Por otra parte, se va a almacenar plasma, suero, células periféricas y muestras de orina, para poder evaluar otras hipótesis en el futuro, dependiendo de la disponibilidad de financiación adicional.

METODOLOGIA

1. Resumen

Se está llevando acabo un ensayo de grupos paralelos, multicéntrico, aleatorizado y de prevención primaria en **hombres de 55-75 años y mujeres de entre 60-75 años**, con un **IMC ≥ 27 y < 40 kg/m²**, que cumplen con al menos **3 criterios** de **síndrome metabólico**. Se considera aumentado el riesgo cardiovascular si el perímetro de la cintura es ≥ 80 cm en mujeres y ≥ 94 cm en población caucásica - se consideran los mismos valores para mujeres sudamericanas y en hombres sudamericanos se considera riesgo aumentado si el perímetro de cintura ≥ 90 cm - (Alberti et al, 2009). Los pacientes con diabetes tipo 2 no representarán más del 25% del total de participantes. Esto último, unido al uso de **dieta mediterránea tradicional**, diferenciará sustancialmente al PREDIMED-PLUS del ensayo Look AHEAD en EEUU (Ryan et al, 2003; Gregg et al, 2012; Look AHEAD Research Group, 2013), recientemente interrumpido por falta de eficacia. Los participantes son aleatorizados en una proporción 1:1 a un grupo control o a un grupo de intervención intensiva sobre el estilo de vida. La intervención se mantendrá durante **6 años**, con un seguimiento medio de **8 años para eventos clínicos**. El grupo **control** recibe la atención habitual por profesionales de atención primaria y todo el material escrito educativo así como las instrucciones para el seguimiento de la **dieta mediterránea** que ya se ha utilizado en el ensayo PREDIMED y ha demostrado beneficios en la prevención de morbi-mortalidad cardiovascular, además de recomendaciones generales sobre el estilo de vida para el manejo del síndrome metabólico. A los participantes del grupo control se les ofrece una sesión grupal cada 6 meses por parte del equipo de dietistas del estudio PREDIMED-PLUS, donde ellos reciben de forma gratuita aceite de oliva virgen (6 litros cada 6 meses) y frutos secos (3 kg cada 6 meses) si asisten a estas sesiones, con el objetivo de potenciar la dieta mediterránea y fidelizarlos al ensayo.

A los participantes del grupo de **intervención intensiva de estilo de vida** se les prescribe una **dieta mediterránea tradicional, pero en este caso, esta es hipocalórica**. La intervención dietética está asociada con un aumento de la actividad física y soporte conductual, con objetivos específicos de pérdida de peso, incluyendo

la auto-monitorización y un seguimiento frecuente durante todo el estudio. Estos participantes participan en entrevistas individuales y sesiones grupales de motivación a base de 3 contactos mensuales el primer año de intervención y 2 contactos mensuales a partir del primer año. Se les suministra gratuitamente aceite de oliva virgen extra (1 l/mes) y frutos secos (500 g/mes)*. El nivel de cumplimiento de la intervención es controlado periódicamente con el objeto de ir adaptando si se considerase necesario.

El objetivo específico de pérdida de peso de la intervención intensiva es conseguir una **reducción media de peso superior al 8%** y una reducción media de la circunferencia de la **cintura superior al 5%** en los primeros 6 meses y su mantenimiento por un período adicional de 7,5 años. El objetivo final es obtener una diferencia media absoluta entre grupos (grupo de intervención intensiva vs. el grupo control) en la pérdida de peso y reducción de la cintura, ambos > 5%.

El evento final primario incluye: a) infartos de miocardio no mortales, b) ictus no mortal y c) muerte cardiovascular. Otros objetivos primarios son la pérdida de peso (y su mantenimiento) y el cambio en la calidad de vida. El protocolo del ensayo será registrado en ClinicalTrials.gov (*National Institutes of Health*) y cumplirá con las guías CONSORT para informar de los resultados (Moher et al, 2001).

2. Investigadores del estudio

El ensayo debe incluir 6000 participantes, la mitad de ellos asignados al grupo de intervención intensiva y la otra mitad al grupo control. El reclutamiento de participantes comenzó en 2013 y finalizará en 2017. Los 2 centros de reclutamiento de vanguardia fueron Navarra-Epidemiología (comenzando el reclutamiento en septiembre de 2013 y la aleatorización en octubre de 2013) y Reus (comenzando el reclutamiento en noviembre de 2013 y la aleatorización en enero de 2014).) La capacitación de dietistas para los otros centros de reclutamiento se llevó a cabo en diciembre de 2013. Se puede asumir que alcanzaremos nuestros objetivos de reclutamiento con 20 centros reclutadores que incluyan cada uno 300 participantes de media.

**La decisión de administrar 500 g al mes de frutos secos se basa en diferentes estudios epidemiológicos y clínicos. En el estudio SUN (Seguimiento Universidad de Navarra) demostró que aquellos individuos que consumían frutos secos dos o más veces por semana (400 g/mes) presentaron un riesgo significativamente inferior de ganancia de peso y de síndrome metabólico que aquellos que raramente o nunca consumían frutos secos (Fernández-Montero et al, 2012, Bes-Rastrollo et al, 2007). Por otro lado, una dieta tipo Mediterráneo moderada en grasa conteniendo 25 g/día de cacahuetes o frutos secos (750 g/mes) se asoció a una mejor adherencia a la intervención y a una mayor pérdida de peso que una dieta baja en grasa (McManus et al, 2001). También se apoya en las asociaciones observadas entre consumo de frutos secos y mortalidad en el estudio PREDIMED (en cuanto a consumo basal) (Guasch-Ferre et al, 2013) y en las cohortes norteamericanas de las enfermeras y profesionales sanitarios (Bao et al, 2013).*

Para la puesta en marcha de este ensayo se ha reunido a un destacado equipo de investigadores con experiencia en intervenciones sobre dieta y estilo de vida y con una fructífera y documentada trayectoria de investigación colaborativa en nutrición, evaluación de la actividad física, medicina interna, cardiología, endocrinología, atención primaria de salud, epidemiología y ciencias básicas.

La experiencia previa de los 11 nodos reclutadores del PREDIMED es uno de los activos más valiosos con los que se cuenta para iniciar el PREDIMED-PLUS. La incorporación de otros centros (algunos de ellos también del CIBEROBN) que no han participado en el PREDIMED y se sumarán a esta iniciativa garantizará el buen desarrollo del estudio PREDIMED-PLUS, ya que son grupos con alta solvencia científica y gran experiencia en ensayos clínicos de intervención nutricional. Esto incrementará la factibilidad del ensayo propuesto.

Asimismo, se diseñarán subproyectos ligados al ensayo principal, de modo que todos los grupos participantes puedan desarrollar las actividades específicas de investigación nutricional que les son propios. Ello ayudará a aumentar el interés por el proyecto y a obtener un mayor rendimiento.

3. Estudios preliminares: el ensayo PREDIMED

Se presenta un resumen de la metodología y los hallazgos clave del ensayo **PREDIMED** (Estruch et al, 2006; Zazpe et al, 2008; Martínez-González et al, 2012; Estruch et al, 2013), Este estudio se realizó en el marco del CIBEROBN y de la Red PREDIMED (RD06/0045). Se trata de un ensayo multicéntrico, de grupos paralelos, aleatorizado con tres grupos de intervención (ver www.predimed.es). En el año 2006 se publicaron los resultados de un estudio piloto en el que se valoraron los efectos a 3 meses de las tres intervenciones sobre factores de riesgo cardiovascular clásicos y emergentes en los primeros 772 participantes (Estruch et al; 2006). Su diseño y métodos han sido objeto de una publicación específica (Martínez-González et al, 2012). Los participantes fueron hombres de entre 55-80 años y mujeres de 60-80 años sin ECV en al inicio del estudio y con alto riesgo cardiovascular, por presentar una diabetes tipo2 o al menos tres de los siguientes seis factores de riesgo cardiovascular: tabaquismo, hipertensión arterial, colesterol-LDL elevado, colesterol-HDL bajo, sobrepeso/obesidad o historia familiar de enfermedad coronaria precoz.

Los candidatos elegidos fueron reclutados en centros de salud (Atención Primaria). Entre los que fueron invitados, el 89% aceptó participar y firmó el correspondiente consentimiento informado. El tamaño de la muestra final del ensayo fue de 7447 participantes. El protocolo fue aprobado por el comité de ética de

investigación de todos los centros del estudio y fue registrado en el Registro de ensayos clínicos de Londres (ISRCTN35739639).

Los participantes fueron asignados al azar en una proporción 1:1:1 a cada uno de los tres grupos de intervención de que constaba el ensayo: 1) **Dieta mediterránea** sin restricción energética suplementada con **aceite de oliva virgen extra**; 2) **Dieta mediterránea** sin restricción energética suplementada con **frutos secos**; 3) Grupo **control** (consejo para seguir una dieta baja en grasa) sin restricción energética.

Al inicio del estudio y trimestralmente, los dietistas realizaban sesiones individuales y grupales por separado para cada uno de los grupos de intervención y con menos de 20 participantes por grupo (Zazpe et al, 2008). En cada sesión se recogía un cuestionario con 14 puntos (Martínez-González et al, 2004; Schroeder et al, 2011) para evaluar la adherencia a la dieta mediterránea o un cuestionario de 9 puntos para evaluar la adherencia a la dieta control. De esta manera, las dietas podrían personalizarse y los cambios dietéticos apropiados podrían negociarse individualmente con cada participante.

Asimismo, los participantes en los dos grupos de **dieta mediterránea** recibieron **aceite de oliva virgen extra** (1 litro/semana, para el participante y la familia) o **frutos secos** (30 g/día: 15 g de nueces, 7,5 g de avellanas y 7,5 g de almendras, para el participante) de forma gratuita de acuerdo con el grupo asignado al azar, mientras que los participantes asignados al azar al grupo control recibieron artículos o incentivos no alimentarios durante todo el estudio. A lo largo de toda la intervención, en ningún momento se pautó una restricción de energía ni se promocionó la actividad física.

La información sobre los eventos primarios finales (muerte cardiovascular, ictus no mortal o infarto agudo de miocardio no mortal) se obtuvo a través del contacto continuo con los participantes, de los médicos de atención primaria de salud, de las revisiones anuales que se hacían *ad hoc* de las historias clínicas de todos los participantes por un equipo médico en cada nodo, y de una consulta anual del Índice Nacional de Defunciones.

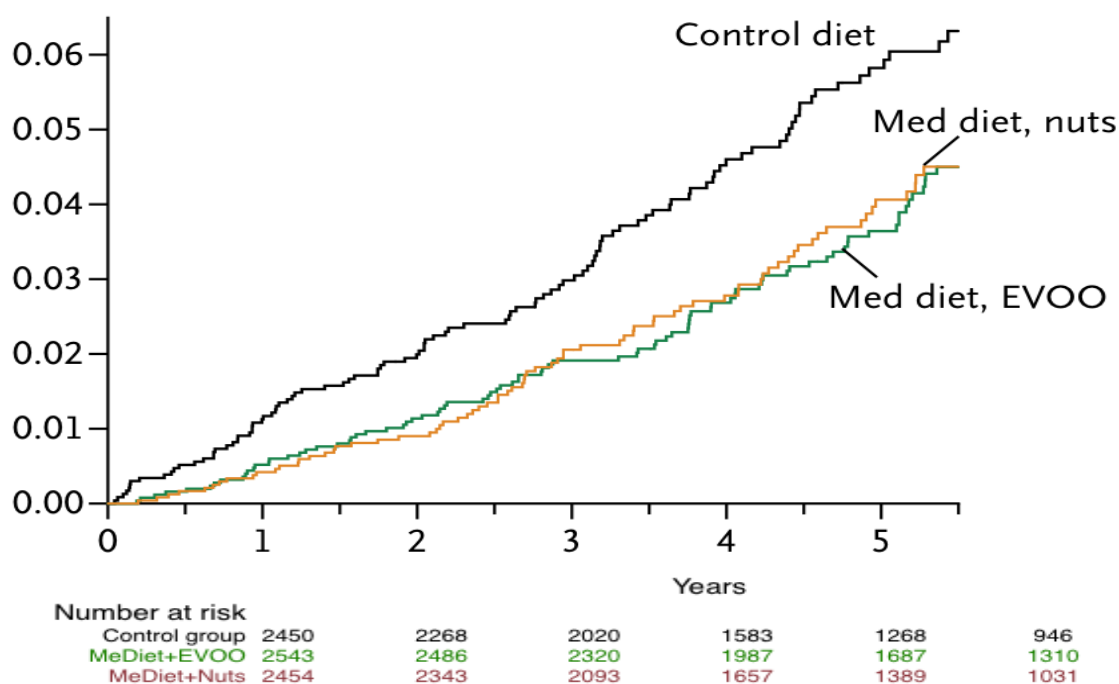
Los datos fueron analizados según los principios del análisis por intención de tratar. Los participantes fueron seguidos durante una mediana de 4,8 años.

Durante el estudio, los participantes de los grupos a los que se les aconsejó seguir la dieta mediterránea aumentaron la adhesión a este patrón alimentario, reflejado en un aumento medio de 2 puntos en el cuestionario de adherencia de 14 puntos a lo largo de la duración del estudio. En este sentido, hay que destacar que los participantes de los grupos de dieta mediterránea tuvieron una mayor puntuación media que los participantes del grupo control en todos los ítems, excepto en el de carnes rojas y/o

elaboradas y en el de bebidas gaseosas azucaradas, ya que su consumo se desaconsejaba en los tres grupos de intervención.

Tras una mediana de seguimiento de 4,8 años, 288 participantes tuvieron algún evento cardiovascular mayor. Las *hazard ratios* ajustadas fueron de 0,70 (intervalo de confianza (IC) al 95% 0,54 a 0,92) para el grupo de Dieta Mediterránea suplementada con aceite de oliva virgen extra y 0,72 (IC al 95%, 0,54 a 0,96) para el grupo de Dieta Mediterránea suplementada con frutos secos (ver Figura 1) en comparación con el grupo control.

FIGURA 1. Incidencia acumulada de eventos cardiovasculares mayores (muerte cardiovascular, infarto de miocardio no mortal, ictus no mortal) según grupo de aleatorización (n=7.447).



4. Ensayo propuesto (PREDIMED-PLUS) y criterios de elección

El nuevo ensayo que aquí se propone y describe incluye una población de adultos de entre 55-75 años (60-75 para las mujeres) con un IMC ≥ 27 y < 40 kg/m² que reúnan por lo menos 3 de los criterios para el síndrome metabólico (Alberti et al, 2009). Se exige la presencia de estos criterios, teniendo en cuenta evidencias recientes del papel beneficioso de la dieta mediterránea sobre el síndrome metabólico (Kastorini et al, 2011; Salas-Salvadó et al, 2008), la resistencia a la insulina y la diabetes (Salas-Salvadó, 2014), especialmente cuando se acompaña de promoción de actividad física

de resistencia (Fernández et al, 2012). Se intentará que el 50% de la población de estudio este compuesta de mujeres y las personas diabéticas no representen más del 25% de la muestra final. Los individuos que participaron en el primer estudio PREDIMED no son candidatos al nuevo estudio PREDIMED-PLUS.

4.1. Criterios de exclusión:

- Incapacidad o falta de voluntad para dar consentimiento informado por escrito o comunicarse con el personal del estudio o analfabetismo.
- Institucionalización del participante (que habite en residencias o centros de larga estancia).
- Historia documentada de ECV previa, incluyendo la angina de pecho, infarto de miocardio, procedimientos de revascularización coronaria, accidente cerebrovascular (ya sea isquémico o hemorrágico, incluidos los ataques isquémicos transitorios), enfermedad arterial periférica sintomática que haya requerido cirugía o que fuera diagnosticada con técnicas de imagen vascular, las arritmias ventriculares; fibrilación auricular no controlada, insuficiencia cardíaca congestiva (Clase III o IV de la *New York Heart Association*), miocardiopatía hipertrófica, e historia de aneurisma aórtico $\geq 5,5$ cm de diámetro o cirugía de aneurisma de aorta.
- Cáncer activo o antecedentes de tumores malignos en los últimos 5 años (con excepción del cáncer de piel no melanoma).
- Imposibilidad de seguir la dieta recomendada (por razones religiosas, problemas de deglución, etc.) o incapacidad para realizar actividad física.
- Baja probabilidad predicha de cambiar los hábitos alimentarios de acuerdo a los estadios de Prochaska y DiClemente del modelo de estadios de cambio (Nigg et al, 1999).
- La incapacidad 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.)
- Haber sido incluido en otro programa de consejos para pérdida de peso (> 5 kg) durante los 6 meses previos a la visita de selección.
- Historia de haber seguido una dieta de muy bajo valor calórico durante los 6 meses antes del inicio del estudio.
- Antecedentes de procedimientos quirúrgicos para bajar de peso o intención de someterse a cirugía bariátrica en los próximos 12 meses.
- Historia de resección del intestino delgado o grueso.
- Historia de enfermedad inflamatoria intestinal.

- Obesidad de origen endocrino conocido (con la excepción de hipotiroidismo tratado).
- Alergia a alimentos o componentes de la dieta mediterránea.
- Inmunodeficiencia o estado VIH positivo.
- Cirrosis o insuficiencia hepática.
- Trastornos psiquiátricos graves: esquizofrenia, trastorno bipolar, trastornos de la conducta alimentaria, depresión con hospitalización en los últimos 6 meses.
- Toda condición severa de comorbilidad con menos de 24 meses de esperanza de vida.
- Consumo problemático de alcohol o síndrome de dependencia alcohólica (o ingesta total diaria de alcohol > 50 g) o abuso de drogas en los últimos 6 meses.
- Historia del trasplante de órgano vital.
- Tratamiento concomitante con fármacos inmunosupresores o agentes citotóxicos.
- Tratamiento actual con corticosteroides sistémicos.
- Uso actual de medicación para la pérdida de peso.
- Participación simultánea en otro ensayo clínico aleatorizado.
- Los pacientes con una infección aguda o inflamación (por ejemplo, neumonía) se les permitirá participar en el estudio 3 meses después de su recuperación.
- Cualquier otra condición que pueda interferir con la realización del protocolo del estudio.

5. Reclutamiento y estrategia de retención

Los participantes son reclutados por los médicos de familia de los Centros de Salud de atención primaria asociados a los nodos de reclutamiento. La misión de los médicos de atención primaria es garantizar una alta tasa de reclutamiento y una exhaustividad lo más cercana al 100% en la revisión de las historias clínicas y recogida de información clínica sobre eventos durante el seguimiento. Teniendo en cuenta que los médicos involucrados son los responsables de la atención médica de los participantes, no existe ningún conflicto potencial ético de confidencialidad en la etapa de identificación de los participantes candidatos ni en las consultas de historias clínicas. Los datos demográficos de los participantes, así como los criterios de elegibilidad, son obtenidos de los registros de los centros de salud, que están en su totalidad informatizados. Esta tarea se hace en una etapa de evaluación previa a la selección antes de que el potencial participante sea contactado. A los candidatos se les entrevista brevemente por teléfono para ser informados sobre el estudio y se les invita a asistir a una visita en los centros de atención primaria.

En esta primera visita o *visita de selección 1* se explica a los candidatos al estudio el propósito y características del mismo y, en caso de aceptar participar, se les pide que firmen el consentimiento informado. De acuerdo con nuestra experiencia con el ensayo PREDIMED, más del 95% de los candidatos elegidos y que fueron localizados de esta forma estuvieron de acuerdo en participar en el estudio (Martínez-González et al, 2012; Estruch et al, 2013). Además, en el ensayo PREDIMED, que también incluyó una intervención de estilo de vida a largo plazo (mediana de seguimiento 4.8 años), la tasa de retención global fue superior al 90% (Estruch et al, 2013).

6. Consentimiento informado/Comité de Ética

Las juntas de revisión institucional de todos los centros de reclutamiento aprobaron el protocolo de estudio. Como ya se ha explicado y se detalla más adelante, todos los participantes firman los formularios de consentimiento por escrito.

7. Puesta en marcha del estudio

El calendario previsto es el siguiente:

- Entre agosto de 2013 y enero de 2014, fueron contratados el personal dietista-nutricionista y de enfermería, y capacitados para entregar el protocolo del ensayo.
- Entre agosto de 2013 y mayo 2014, los potenciales candidatos elegibles comenzaron a ser llamados, entrevistados e invitados a participar en el ensayo.
- A continuación, se llevaron a cabo las primeras visitas de evaluación e intervención con participantes seleccionados y aleatorizados al azar.
- El período de contratación finalizará en diciembre de 2016.

7.1. El objetivo de la etapa inicial del ensayo (llamadas telefónicas y entrevistas) es evaluar la disposición de cada candidato para participar en el estudio, su posible cumplimiento con la intervención prevista y su disponibilidad a perder peso. Además, los posibles participantes se evalúan exhaustivamente para garantizar que se cumplan los criterios de elegibilidad, y evaluar su probabilidad de:

- a) asistir a las sesiones programadas,
- b) completar las herramientas de evaluación del protocolo, autocontrol y registro de datos de estilo de vida y hábitos alimentarios, y lo que es más importante,
- c) su disposición y actitud para cambiar sus hábitos alimentarios de acuerdo con el modelo de las etapas del cambio (Nigg et al, 1999), tal como se hizo en el PREDIMED.

7.2. El período de rodaje (*run-in*) o evaluación previa a la aleatorización dura 4 semanas. Comprende una visita inicial de selección, una llamada telefónica de refuerzo a las 2 semanas y otra visita de evaluación al final

7.2.1. La visita de selección¹ (45-60 min), incluye:

- a) La administración de un cuestionario de inclusión o exclusión. Sólo si el participante es elegible se pasa al punto 2.
- b) Explicación del estudio, entrega de la **hoja de información del estudio** para el paciente y cumplimentación de los **consentimientos informados** (imprescindibles para su inclusión en el estudio). Los candidatos elegibles deben firmar dos formularios de consentimiento informado: uno para la participación y análisis de las variables generales y otro para la recolección de muestra de ADN para análisis genéticos. Se explica detalladamente todos los procedimientos y el compromiso de tiempo previsto. A los candidatos también se les informa que, si no cumplen los criterios de elegibilidad serán excluidos del estudio. El formulario de consentimiento informado incluye una declaración que permite a los investigadores revisar las historias clínicas del participante, tanto en los centros de atención primaria como en los hospitales de referencia a lo largo de todo el tiempo que dure el ensayo, a fin de determinar y adjudicar la ocurrencia de cualquier evento.
- c) Registrar un trazado de ECG, así como las determinaciones protocolizadas y estandarizadas de altura, peso, cintura y presión arterial.
- d) Proporcionar a los participantes material escrito sobre recomendaciones generales acerca del manejo del síndrome metabólico en forma de díptico.
- e) Proporcionar un cuaderno de registro de alimentos prospectivo de 3 días (2 días hábiles y 1 día de fin de semana), un cuestionario de actividad física en el tiempo libre y un registro autocontrol en el que los participantes registran su peso, circunferencia de la cintura y circunferencia de la cadera (los participantes reciben una cinta métrica). Los/las dietistas dan instrucciones de cuándo y cómo cumplimentar el registro de alimentos y el cuestionario de actividad física, y cómo registrar sus medidas de peso, circunferencia de la cintura y cadera (1 vez/semana durante el periodo de ejecución del ensayo).
- f) Proporcionar a los participantes los cuestionarios clínico-psicopatológicos (Depresión de Beck BDI-II, escala multidimensional de locus de control sobre el peso, y criterios diagnósticos TCA) y de calidad de vida (SF-36) para que los contesten en sus domicilios (ver más abajo).

g) Se les pide a los participantes que devuelvan todos los cuestionarios anteriormente mencionados bien cumplimentados en la siguiente visita (visita de selección 3).

7.2.2. Visita de selección 2. Después de dos semanas, los participantes reciben una llamada telefónica para evaluar su cambio de peso y recordar la próxima visita, insistiéndoles en que lleven el registro de alimentos completo, el cuestionario de actividad física, el registro de autocontrol y los cuestionarios clínico-psicopatológicos y de calidad de vida.

7.2.3. Visita de selección 3. Esta visita de evaluación al finalizar el periodo de rodaje (*run-in*) de 4 semanas (30 minutos) incluye:

- a) Recolección por el dietista el registro de alimentos, el cuestionario de actividad física, el registro de autocontrol de peso, circunferencia de la cintura y cadera, y los cuestionarios clínico-psicopatológicos y de calidad de vida.
- b) Medición del peso y las circunferencias de la cintura y cadera del participante por el dietista.
- c) Administración y cumplimentación de un cuestionario semicuantitativo de frecuencia de consumo de alimentos de 137 ítems y 5 tests cognitivo-neuropsicológicos, que, a diferencia de los clínico-psicopatológicos, deben completarse en presencia de la persona. Estos 5 tests son: Mini-mental, fluencia verbal y fonológica, series inversas de dígitos, *trail making test* y test del reloj (ver más abajo).
- d) Explicación a los participantes de que se les informará por teléfono si han sido seleccionados para participar en el ensayo.
- e) Explicación de ayuno nocturno para la extracción de sangre y recogida de la primera orina de la mañana *in situ*, y de la evaluación basal inmediata tras la aleatorización, si el candidato es seleccionado para el estudio.

Sólo los candidatos que cumplen los siguientes cuatro criterios son seleccionados y asignados aleatoriamente a uno de los dos grupos de intervención:

- 1) Asistencia completa a las dos sesiones anteriores en las horas programadas y respuesta a la llamada telefónica.
- 2) Correcta cumplimentación de los cuestionarios clínico-psicopatológicos y de calidad de vida que debía cumplimentar en su domicilio: Depresión de Beck BDI-II, escala multidimensional de locus de control sobre el peso, criterios diagnósticos TCA y cuestionario de salud SF-36.

- 3) Correcta cumplimentación del registro de alimentos y el cuestionario de actividad física.
- 4) Registro apropiado de al menos tres medidas de autocontrol de peso y otras tres de perímetro de la cintura.
- 5) Pérdida >1.5 kg de peso corporal durante el periodo de rodaje (*run-in*).

El tiempo entre que se completa la fase de *run-in* y la entrada a la intervención varió entre una semana y un mes.

Excepcionalmente, en función de la disponibilidad del candidato de venir a la visita de Run-in S3 y siempre que los candidatos cumplan con los cuatro criterios previamente mencionados, los candidatos podrán ser aleatorizados a uno de los dos grupos de intervención tras completar la visita de selección S2, siendo en tal caso esta visita presencial.

8. Evaluación inicial, visitas de seguimiento y evaluaciones

La tabla 1 muestra las principales medidas y actividades de toma de datos por visita (Ver a continuación).

TABLA 1. Recogida de datos en las visitas del PREDIMED PLUS.

	EVALUACIÓN PREVIA			INICIO	6M	AÑO1	AÑO2	AÑO 3	AÑO 4	AÑO 5	AÑO 6	AÑO 7	AÑO 8
	S1	S2	S3										
1. CUESTIONARIO DE ELEGIBILIDAD	X												
2. REGISTRO DE ALIMENTOS (3 DIAS)	e		c										
3. MEDICIONES ANTROPOMÉTRICAS*	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
4. CUESTIONARIO GENERAL				X									
5. 137-item FFQ			X		X	X	X	X	X	X	X	X	X
6. CUESTIONARIO DIETA MEDITERRANEA (17/14-items)**				X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
7. CUESTIONARIOS DE ACTIVIDAD FÍSICA‡	e†		c†	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
8. TEST DE LA SILLA (Evaluación actividad física)				X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
9. ACELEROMETRÍA			e	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
10. CUESTIONARIO DE SEGUIMIENTO					X	X	X	X	X	X	X	X	X
11. ELECTROCARDIOGRAMA	X				X	X	X	X	X	X	X	X	X
12. MEDICIONES DE TENSIÓN ARTERIAL	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
13. RECOGIDA DE MUESTRA DE SANGRE				X	X	X		X		X		X	X
14. RECOGIDA DE ORINA MATUTINA				X	X	X		X		X		X	X
15. RECOGIDA DE UÑAS				X		X		X		X		X	X
16. PRUEBAS COGNITIVO-NEUROPSICOLÓGICAS‡			X				X		X		X		X
17. CUESTIONARIOS CLÍNICO-PSICOPATOLÓGICOS€	e		X			X	X	X	X	X	X	X	X
18. CUESTIONARIOS DE CALIDAD DE VIDA≈	e		X			X		X		X		X	

S: Visita de selección; FFQ: Cuestionario validado semicuantitativo de frecuencia de consumo de alimentos; M: mes; e: Entrega; r: Recogida.

*Las mediciones antropométricas incluirán: peso, talla, circunferencia de la cintura y circunferencia de la cadera.

‡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.

**Se trata de cuestionarios breves de adhesión a Dieta Mediterránea. En el grupo control se utilizará el mismo cuestionario que se usó en PREDIMED (Schroeder et al, 2011) y que tiene 14 ítems. En el grupo de intervención intensiva se utilizará el cuestionario de Dieta Mediterránea hipocalórica (ver más abajo) que tiene 17 ítems.

‡Mini-Mental State Examination, test del reloj, fluencia verbal semántica y fonológica (animales + P), dígitos (batería WAIS-III) directos e inversos y test del trazo.

€Depresión de Beck BDI-II, escala multidimensional de locus de control sobre el peso y criterios diagnósticos TCA. ≈Cuestionario de salud SF-36.

Elegibilidad: La elegibilidad para la inclusión en el ensayo se avalúa al comienzo del estudio. Los participantes seleccionados deben cumplir con los criterios de elegibilidad. La ausencia de criterios de exclusión también será verificada.

Mediciones antropométricas: El peso y la cintura se registrarán en cada visita con los participantes en ropa ligera y sin zapatos o accesorios, con una balanza electrónica de alta calidad que será calibrada semanalmente con una unidad de masa conocida. La altura se mide a la entrada del estudio con un tallímetro. La circunferencia de cintura se mide en el punto medio entre la última costilla y la cresta ilíaca. El perímetro de la cadera se mide en la parte más ancha en la visita de selección 1, visita basal y de forma anual.

Información general: La información sobre el historial médico, antecedentes familiares y uso de medicamentos se recoge en la visita basal a través del cuestionario general, siguiendo el mismo protocolo de ensayo PREDIMED.

Valoración de hábitos alimentarios e ingesta dietética: Previamente se ha validado el cuestionario semicuantitativo de frecuencia de consumo de alimentos con 137 ítems que se utiliza tanto en visita de selección 3 como en cada visita anual de seguimiento para evaluar la dieta de los participantes (Fernández-Ballart et al, 2010). Además, la escala de 17 ítems de dieta mediterránea hipocalórica (ver más abajo) es cumplimentada en cada visita en el grupo de intervención intensiva. Esta puntuación de 17 ítems, que contiene algunas modificaciones respecto a una herramienta previamente validada (Schröder et al, 2011), se utiliza para evaluar el cumplimiento de la intervención y como un elemento clave para orientar las entrevistas de motivación individuales durante el seguimiento. En cambio, en el grupo control se utiliza la misma escala de 14 ítems que se usó en el PREDIMED (Schröder et al, 2011).

Actividad física: A excepción de la visita de selección 1 donde a los participantes se les proporciona un cuestionario largo de actividad física en el tiempo libre de Minnesota, al inicio, a los 6 meses y durante las visitas de seguimiento los participantes cumplimentan una versión reducida de un cuestionario previamente validado para actividad física (Elosua et al, 1994; Elosua et al, 2000) en su versión reducida. En tales visitas, (al inicio, a los 6 meses y durante las visitas de seguimiento), a los participantes se les realiza el test de la silla (30 segundos) para evaluar la forma física y los cuestionarios PAR-Q (*Physical Activity Readiness Questionnaire*), RAPA (RAPA1 y RAPA2) (*Rapid Assessment of Physical Activity*) y el de preguntas de sedentarismo del NHS (*Nurses' Health Study*). Además, cada participante aleatorizado al grupo de intervención intensiva recibe un podómetro (Yamax SW200 Digi-Walker Pedometer) para el auto-control de los pasos caminados cada día. Se utilizan acelerómetros

GENEActiv para cuantificar la actividad física en una submuestra de participantes (20% de los sujetos del grupo control y 50% de los sujetos del grupo de intervención intensiva) al inicio, a los 6 meses, al año y anualmente. *En base a la valoración según la clasificación del estado y actividad física, se realizan una recomendación progresiva de actividad física aeróbica y fuerza, y se fomentaran actividades de equilibrio y flexibilidad al finalizar la actividad física.*

Auto-control y monitorización de la información durante el seguimiento: En las visitas de seguimiento, se interrogan a los participantes sobre posibles eventos clínicos que pudieran haber sucedido entre visitas. La información sobre la prescripción de medicamentos que cada participante ha recibido se actualiza en cada visita.

Evaluación de efectos adversos: a los 6 meses y anualmente se cumplimenta un cuestionario específico sobre posibles efectos adversos ocurridos atribuibles a la intervención o la pérdida de peso.

Electrocardiograma: Los electrocardiogramas se realizarán en los Centros de Salud en el momento de entrada al estudio (visita de selección¹), a los seis meses y en todas las visitas anuales posteriores, se escanearán y almacenarán y se registran en la base de datos específicamente diseñada para este propósito. El personal de enfermería de cada centro reclutador es responsable de recoger los ECGs, escanearlos, informatizar su contenido y mantener el registro y la base de datos.

Recogida de sangre en ayunas: Las muestras de sangre en ayunas se recogen en las visitas de inicio (basal), 6 meses, al año, a los 3, 5 y 7 años, y en la visita final de seguimiento. Los análisis convencionales [perfil lipídico (colesterol total, colesterol-HDL, colesterol-LDL, triglicéridos), glucemia plasmática en ayunas, hemograma, ionograma, calcio, ácido úrico, urea, creatinina, albúmina, proteína C reactiva, velocidad de sedimentación globular, hemoglobina A1c y la función hepática (bilirrubina, fosfatasas alcalinas y transaminasas)] se recogen al inicio del estudio (basal) y en las visitas de seguimiento según protocolo. El personal de enfermería de cada centro reclutador es responsable de la recogida de muestras, su procesamiento, envío, almacenamiento y conservación, así como de mantener el registro y la base de datos de muestras recogidas y analíticas realizadas. El personal de enfermería también es responsable de informatizar y mantener la base de datos con los resultados de todas las determinaciones analíticas.

Recogida de orina de la mañana: Una muestra de orina de la mañana se recoge in situ en las visitas de inicio (basal), 6 meses, al año, a los 3, 5 y 7 años, y en la visita final de seguimiento. Los análisis convencionales (albúmina en orina y creatinina en orina) se llevan a cabo al inicio y en las visitas de seguimiento según protocolo. El personal

de enfermería es responsable de la recogida de estas muestras, su procesamiento, envío a los nodos respectivos, conservación, registro y mantenimiento.

Recogida muestras de uñas: Una muestra de uñas se recoge in situ en las visitas de inicio (basal), al año, a los 3, 5 y 7 años, y en la visita final de seguimiento. Se pide a los participantes que traigan las uñas de los dedos de ambos pies sin cortar. Con ayuda de un cortaúñas se procede a cortarlas y se depositan en una bolsa con cierre zip-lock etiquetada convenientemente con las etiquetas provistas para ello.

Valoración neuropsicológica y de calidad de vida:

Esta valoración incluye 3 apartados:

- A) Función cognitiva
- B) Calidad de vida
- C) Psicopatología.

Al inicio del estudio y cada dos años (a los 2, 4, 6 y 8 años de seguimiento, es decir en años pares), se le administra a los participantes una batería de 6 tests de función cognitiva (ver más abajo, apartado A). El primero (Mini-Mental State Examination (MMSE)) es un test de cribado cognitivo, los otros 5 tests exploran diversas áreas de función cognitiva. El objetivo es detectar cambios en el rendimiento cognitivo. Estas pruebas cognitivas se irán alternando con las de calidad de vida (ver apartado B), de modo que en años pares se recojan los 6 tests de función cognitiva y en años impares se recoja el único test de calidad de vida (ver más abajo, apartado B). Este distanciamiento de 2 años entre tests cognitivos secuenciales reducirá el sesgo debido a un efecto de “aprendizaje”.

La escala única de calidad (Short-Form 36, o SF-36, ver debajo apartado B) se recoge de todos los participantes basalmente y luego en años impares (tras 1, 3, 5, y 7 años de seguimiento). Mientras que los cuestionarios psicopatológicos (ver más abajo, apartado C) se recogen basalmente y con carácter anual.

Todos los instrumentos incluidos en la batería cognitiva (A), de calidad de vida (B) y psicopatológicos (C) han sido normalizados en población española para el rango de edad de la muestra de estudio. La batería completa cognitiva de calidad de vida y psicopatológica se compone, por tanto, de las siguientes pruebas:

A) Seis tests cognitivo-neuropsicológicos (16 minutos, presencial):

- 1) MMSE (Folstein et al., 1975);
- 2) Fluencia verbal semántica mediante “animales en 1 minuto” (Ramier y Hécaen, 1970, 1977; Benton et al., 1994);

- 3) Fluencia verbal fonológica mediante “palabras en 1 minuto que empiezan por la letra P” (Benton et al., 1994);
- 4) Memoria de trabajo verbal y visual series inversas de Dígitos de la batería WAIS-III (Wechsler, 1997):
- 5) Trail Making Test (Reitan, 1973);
- 6) Test del reloj (Clock drawing test o CDT).

Los datos normativos en población española para estas pruebas han sido publicados por Peña-Casanova et al., (2009a, 2009b). Estos seis tests del apartado A) se recogen solo basalmente (run-in period) y en años pares de seguimiento (2, 4, 6 y 8). Estos seis tests, con una duración de 16 minutos aproximadamente, son administrados por el personal del ensayo PREDIMED PLUS en la tercera visita de selección y en las visitas de seguimiento cada dos años que correspondan a los años pares (años 2, 4, 6 y 8 de seguimiento).

B) Un solo test de calidad de vida:

Se valorará con el cuestionario de salud SF-36 (versión de 36 ítems) (Alonso et al., 1995, 1998; Ware y Gandek 1998); que se utiliza basalmente (run-in period) y cada dos años (años 1, 3, 5 y 7 es decir, en años impares) para alternarlo con los tests cognitivos.

C) Tres cuestionarios clínico-psicopatológicos (con una duración de 20-25 minutos, que se completan en casa):

- 1) Inventario de Depresión de Beck (BDI-II) (Beck, Steer y Brown, 1996; Sanz, Navarro y Vázquez, 2003);
- 2) Escala multidimensional de Locus de Control sobre el peso (Wallston, Wallston, & DeVellis, 1978);
- 3) Screening para descartar TCA comórbido según criterios diagnósticos (DSM-IV-TR; APA, 2000).

Se prevé recoger estos 10 cuestionarios (apartados A, B y C) en la totalidad del estudio PREDIMED-PLUS, es decir de cada uno de los participantes.

Los cuatro cuestionarios de los apartados B) y C) se entregan al participante en la visita de selección 1 y podrán ser cumplimentados por los participantes en sus casas o en otro momento ajeno a la visita de estudio, pero se debe exigir que el participante se comprometa a entregarlos o remitirlos después a los centros reclutadores en un plazo

máximo de 15 días. El mismo procedimiento se repete en las visitas de seguimiento cuando corresponda recogerlos. El personal de enfermería de cada nodo reclutador es responsable de recoger, enviar, y mantener toda la información sobre pruebas cognitivas.

Para facilitar que los datos gráficos (dibujos de dos pentágonos del MMSE, de un reloj en el CDT, o el trazo del Trail Making test) queden custodiados y puedan ser supervisados y releídos después por un experto. La recogida de los cuestionarios del grupo A, B y C, se hace siempre en formato papel, aprovechando los formularios de lectura óptica para MMSE, el test del reloj y el SF-36 preparados a tal efecto. Una vez completados, el MMSE, el test del reloj y el SF-36 son enviados por correo al nodo de Navarra (quedándose antes con una fotocopia de seguridad en el nodo reclutador), para que sean informatizados mediante un lector óptico, con un ahorro de tiempo y materialmente exento de errores, ya que para eso se han preparado los formularios con este formato de lectura automatizada.

9. Definición y adjudicación de los eventos clínicos finales

Los eventos clínicos serán verificados por un **Comité Clínico de Adjudicación de Eventos**, liderado por el Dr. Fernando Arós del grupo de Vitoria (miembros: M. Aldamiz, A. Alonso, J. Berjón, L. Forga, J. Gállego, M. A. García Layana, A. Larrauri, J. Portu, J. Timiraus, y M. Serrano-Martínez). La determinación del evento clínico se basa en la información recogida de las historias clínicas de los participantes que son revisadas anualmente ad-hoc por los médicos que participan en el ensayo PREDIMED-PLUS. Tanto los médicos que revisarán las historias como los miembros del Comité Clínico están enmascarados a la asignación del participante al grupo de intervención. La información que se envía al Comité Clínico carece de datos personales de los participantes y los informes son identificados con el número de identificación de los participantes en el estudio.

9.1. Resultados primarios o eventos principales finales

1. Infarto de miocardio no mortal, ictus no mortal y mortalidad cardiovascular.

1.a. Infarto de miocardio no mortal (IAM) se definirá de acuerdo con la tercera definición universal de IAM del grupo de trabajo conjunto ESC / ACCF / AHA / WHF (Thygesen et al., 2012) como evidencia de necrosis miocárdica en un contexto clínico coherente con isquemia miocárdica aguda.

Cualquiera de los criterios siguientes cumple el diagnóstico de IM:

- Detección de un aumento o descenso de los valores de biomarcadores cardíacos [(preferiblemente troponina cardíaca (cTn)] con al menos un valor por encima del percentil 99 del LRS (límite superior de referencia), y
- con al menos uno de los siguientes:
 - (i) Síntomas de isquemia.
 - (ii) Nuevos o presuntos nuevos cambios significativos del segmento ST- onda T, o nuevo bloqueo de rama izquierda del haz (BRIHH).
 - (iii) Aparición de ondas Q patológicas en el ECG.
 - (iv) Pruebas por imagen de nueva pérdida de miocardio viable o nuevas anomalías regionales en el movimiento de la pared.
 - (v) Identificación de un trombo intracoronario en la angiografía o la autopsia.

Infarto de miocardio previo:

Cualquiera de los siguientes criterios es suficientes para el diagnóstico de IAM previo:

- Onda Q patológica con o sin síntomas, en ausencia de causas no isquémicas.
- Pruebas de imagen de una región de pérdida de miocardio viable que es delgada y no se contrae, en ausencia de una causa no isquémica.
- Hallazgos patológicos de un IAM anterior.

1.b. Ictus (Accidente cerebrovascular agudo) se define como un déficit neurológico agudo de duración superior a 24 horas causado por una interrupción focal del flujo sanguíneo en una arteria que irriga al cerebro (trombosis o embolia cerebral) o por una hemorragia cerebral.

Ictus isquémico (Sacco RL, et al. 2013) Episodio de disfunción neurológica cerebral, retiniana o de médula espinal, manifestado por signos clínicos, focales o globales, habitualmente de duración superior a 24 horas, causado por un infarto por la interrupción focal del flujo sanguíneo en una arteria que irriga estos territorios.

El Infarto del sistema nervioso central (SNC) es la muerte de células del cerebro, médula espinal o retina atribuible a isquemia, basado en:

1. Lesiones anatomopatológicas, en estudios de neuroimagen u otras evidencias objetivas de daño isquémico focal en el cerebro, médula espinal o retina, en un territorio con distribución vascular definida; o
2. Evidencia clínica de daño isquémico focal en el cerebro, médula espinal o retina, basado en síntomas clínicos persistentes durante ≥ 24 horas o

mortales, tras excluir otras etiologías como hipoglucemia o las convulsiones.

Los Infartos Isquémicos Silentes, son infartos del SNC documentados en los estudios de neuroimagen o anatomopatológicos, que han cursado de modo asintomático. No se consideran end-point primario en este estudio.

Ictus hemorrágico. Ictus por hemorragia intracerebral se define como rápida aparición de signos clínicos de disfunción neurológica atribuible a una hemorragia Intracerebral. Ésta se define como una colección focal de sangre dentro del parénquima cerebral o del sistema ventricular que no ha sido ocasionada por un traumatismo. Ictus causado por hemorragia subaracnoidea se define como una rápida aparición de signos clínicos de disfunción neurológica y/o cefalea causado por sangrado dentro del espacio subaracnoideo (el espacio entre las membranas Aracnoides y Piamadre del SNC), que no ha sido ocasionada por un traumatismo.

Los Infartos Hemorrágicos Silentes, son colecciones focales o productos de sangre crónicos dentro del parénquima cerebral, espacio subaracnoideo o sistema ventricular documentados en los estudios de neuroimagen o anatomopatológicos, que no han sido causados por traumatismo y que han cursado de modo asintomático. No se consideran end-point primario en este estudio.

1.c. Mortalidad Cardiovascular: Incluye la muerte súbita y la muerte cardiovascular no súbita (Buxton AE, et al. 2006).

Muerte súbita es debida al cese de la actividad cardiaca con colapso hemodinámico provocado por ejemplo por taquicardia ventricular sostenida/fibrilación ventricular.

Puede ser:

- Presenciada en paciente estable previamente. Puede ocurrir con o sin síntomas o signos previos (la muerte sucede en los primeros 60 min) o puede ocurrir inmediatamente después de la aparición súbita de disnea, mareo o palpitaciones.
- No presenciada. Paciente encontrado muerto y que en el momento del último contacto se encontraba en su situación habitual sin molestias evidentes. Esta definición incluye a los pacientes que fallecen durante el

sueño.

Muerte cardíaca no súbita: Incluye pacientes que fallecen por edema pulmonar agudo severo, insuficiencia cardíaca progresiva, shock cardiogénico, o después de un procedimiento quirúrgico cardíaco reciente.

Muerte vascular no cardíaca: Incluye aquellas muertes provocadas por eventos tromboembólicos, ACV, aneurisma disecante y arteriopatía periférica.

2. El cambio de peso. Las enfermeras del estudio registran el peso al inicio del estudio y en cada visita de seguimiento. La medición se realiza de manera protocolizada y uniforme, con el participante vestido con ropa ligera y sin zapatos ni accesorios.

9.2. Resultados secundarios

1. Mortalidad total. Este *end-point* incluye todas las causas de muerte tanto las de causa cardiovascular (ver apartado anterior) como las provocadas por traumatismo, insuficiencia renal, neoplasia, sepsis, suicidio, y muertes de causa no indeterminada. Todos los fallecimientos se confirmarán mediante revisión del Informe del Instituto Nacional de Defunciones.
2. Los cambios en la circunferencia de la cintura. Las enfermeras del estudio miden la circunferencia de la cintura al inicio del estudio y en cada visita de seguimiento. La medición se realiza de manera protocolizada y uniforme, seleccionando la circunferencia en el punto medio entre la cresta ilíaca y la última costilla.
3. Síndrome coronario agudo sin elevación del segmento ST (angina inestable). El diagnóstico de angina inestable se realizará siguiendo la definición de las Guías de la ESC para el manejo de los síndromes coronarios agudos en pacientes que no presentan elevación persistente del segmento ST (Hamm et al. al, 2011); Requiere la presencia de al menos una de las siguientes características clínicas:
 - a) Dolor anginoso en reposo prolongado (>20 min).
 - b) Angina de comienzo reciente (Class II or III of the Classification of the Canadian Cardiovascular Society).
 - c) Angina progresiva por desestabilización reciente de una angina previa con al menos grado III de la clasificación canadiense y/o episodios en reposo.

4. Revascularización coronaria (percutánea o quirúrgica): (Hamm et al, 2011). Las dos indicaciones fundamentales para la revascularización percutánea o quirúrgica son:
 - 1) Pacientes con angina inestable o síndrome coronario agudo sin elevación del ST.
 - 2) Los pacientes que se considera probable de dicha cirugía en función de la localización y la severidad del dolor en el pecho, el número de vasos afectados y la presencia de disfunción ventricular izquierda.

5. Insuficiencia cardíaca (IC): La insuficiencia cardíaca aguda o crónica es un síndrome en el que los pacientes presentan síntomas y signos provocados por alteración de la estructura o función cardíacas (McMurray JJ, et al. 2012; Yancy CW, et al. 2013). Las manifestaciones clínicas principales de la IC son disnea y cansancio, que pueden limitar la tolerancia al ejercicio y la retención hídrica, que puede provocar congestión pulmonar y/o congestión esplánica y/o edemas maleolares.
 - 5.a. El diagnóstico de IC con fracción de eyección reducida requiere tres condiciones: 1) Síntomas típicos de IC; 2) Signos típicos de IC, y 3) Fracción de eyección reducida (<40%).
 - 5.b. El diagnóstico de IC con fracción de eyección preservada requiere cuatro condiciones: 1) Síntomas típicos de IC; 2) Signos típicos de IC; 3) Fracción de eyección normal o ligeramente reducida y el ventrículo izquierdo no dilatado. 4) Afectación estructural cardíaca (Hipertrofia V. Izdo / dilatación de A. Izda) y/o disfunción diastólica.
 - 5.c. Un evento de IC puede conllevar visitas al Servicio de Urgencias u hospitalización. Para que pueda ser considerado como un episodio de IC se deben cumplir TODOS las condiciones siguientes:
 - El paciente presenta empeoramiento de la IC o aparición nuevos síntomas, que incluye al menos de UNO de los siguientes (disnea, disminución de la capacidad funcional, fatiga u otro síntoma de fallo anterógrado o retrógrado).
 - El paciente presenta evidencia objetiva de empeoramiento o aparición de IC, que consta de al menos DOS hallazgos del examen físico o UN hallazgo del examen físico y al menos UN criterio de laboratorio, que incluyen: hallazgos del examen físico que se consideran debidos a IC, incluye empeoramiento o aparición de edema periférico, aumento de la distensión abdominal o ascitis (en ausencia de enfermedad hepática primaria), crepitantes/crepitaciones en la auscultación pulmonar, ingurgitación yugular, 3º tono y aumento de peso clínicamente significativo o rápido que se cree relacionado con la retención de

líquidos.

- Evidencia de laboratorio de empeoramiento o aparición de IC, si se obtiene en las primeras 24h, que incluye: concentraciones aumentadas de péptido natriurético tipo B (BNP)/NT-proBNP, o evidencia cardiológica de congestión pulmonar, o datos ecocardiográficos de congestión, o disminución del gasto cardíaco.
- El paciente inicia o intensificación el tratamiento específico para la IC (diuréticos, inotrópicos, vasodilatadores, procedimientos mecánicos).

6. Enfermedad arterial periférica. La adjudicación del evento se realizará de acuerdo con los criterios de la TASC II y la guías de la Sociedad Europea de Cardiología (Norgren et al., 2007; Tendera M, et al., 2011). Se considerará como evento confirmado cuando un voluntario presenta claudicación intermitente, entre 60-69 años y un factor de riesgo cardiovascular, o con edad ≥ 70 años y un índice tobillo-brazo ≤ 0.90 , o una ecografía Doppler anormal, o afectación significativa objetivada en angiografía por resonancia magnética/TAC, o por angiografía convencional.

7. Tromboembolismo venoso (TEV): Todos los TEV deben satisfacer los criterios de diagnóstico estándar para la trombosis venosa o el (Trombo) Embolismo Pulmonar (EP) en la población general (ver a continuación 1-3). El diagnóstico debe confirmarse mediante técnicas objetivas de imagen (por ejemplo, la ecografía, la flebografía, la angiografía por tomografía computarizada (angioTAC) pulmonar, RNM, etc.) y no debe basarse solo en la sospecha clínica.

Criterios de diagnóstico estándar para TEV en los estudios clínicos (Carrier M et al, 2012):

1. Trombosis Venosa Profunda (TVP), definida como la pérdida de la compresibilidad venosa o defecto de llenado intraluminal de segmentos venosos profundos de las extremidades inferiores/superiores detectado mediante ecografía por compresión venosa o flebografía respectivamente.
 - La presencia de trombo de extremidad inferior distal (distal a la vena poplítea) califica para TEV primario final sólo si es sintomático.
 - Todos los trombos proximales califican como un resultado primario final (primary end-point) si se identifican por técnica de imagen (ecográfica o radiológica) sean o no sintomáticos.
2. Embolia Pulmonar (EP) se define como:
 - Arteriografía pulmonar de contraste:

- Defectos de llenado intraluminales constatados en dos proyecciones.
- Corte repentino del contraste de uno o varios vasos de más de 2,5 mm de diámetro.
- Gammagrama pulmonar de Ventilación/Perfusión (V/Q):
 - Una gammagrafía pulmonar de V/Q de alta probabilidad de EP en pacientes con no baja probabilidad clínica de EP.
- Angiografía pulmonar por tomografía computada:
 - Defecto de llenado en un vaso subsegmentario o más proximal.

3. EP fatal se define como:

- Muerte sin otra explicación aparte de la EP y/o la confirmación mediante la autopsia o confirmación radiológica.

Consideraciones importantes:

a) La tromboflebitis venosa superficial no debe ser descrita como un TEV.

b) Se recomienda informar del TEV según su localización:

- Extremidades inferiores
- Extremidades superiores
- Embolia pulmonar
- Otros sitios: (venas del sector esplácnico, venas cerebrales, etc.)

c) Descripción de la extensión del TVE es altamente conveniente (por ejemplo, distal a la vena poplítea vs. TVP proximal; subsegmentarios vs. EP más central).

d) El TEV asociado a catéter venoso central (por ejemplo, trombosis venosa profunda de las extremidades superiores) se debe informar por separado.

e) Un TEV incidental debe diferenciarse de cualquier otro evento sintomáticos.

8. Fibrilación Auricular (FA). La fibrilación auricular se define (Camm AJ, et al. 2010; Fuster V, et al. 2011) como la arritmia cardíaca con las siguientes características:

- 1) El ECG de superficie muestra intervalos RR' irregulares sin ningún patrón.
- 2) No se observan ondas P bien definidas en el ECG. Algunas ondas auriculares aparentemente regulares se pueden ver en algunas derivaciones del ECG, especialmente en V1.
- 3) La longitud del ciclo auricular (cuando se ve), es decir, el intervalo entre dos ondas auriculares, es habitualmente variable y <200 msec (>300 lat/min).

9. Diabetes tipo 2: El diagnóstico de nuevos casos de diabetes se establece siguiendo las recomendaciones de la American Diabetes Association dándose alguna de las siguientes circunstancias:

1. HbA1c $\geq$ 6,5%. La prueba debe realizarse en un laboratorio que use un método

certificado (NGSP) y estandarizado para el ensayo DCCT; o

2. Glucemia en ayunas ≥ 126 mg/dl (7.0 mmol/L). El ayuno se define como la no ingesta calórica por lo menos durante 8 horas, o
3. Glucemia 2 horas postprandial ≥ 200 mg/dl (11.1 mmol/L) durante la prueba de tolerancia a la glucosa. La prueba debe realizarse como indica la OMS, con una carga de glucosa que contenga el equivalente a 75 g de glucosa anhidra disuelta en agua; o
4. En un paciente con síntomas clásicos de hiperglicemia y una glucemia al azar 200mg/dl (11.1 mmol/L).

En ausencia de hiperglucemia inequívoca (punto anterior), los resultados deben ser confirmados mediante pruebas repetidas (American Diabetes Association, 2011).

10. Complicaciones de Diabetes tipo 2. Se evaluarán anualmente la presencia o no de complicaciones microvasculares de la diabetes en todos los participantes:

1. Nefropatía diabética. La enfermedad renal en la diabetes se define sobre la base de la alteración del filtrado glomerular (FGR) y/o en la presencia de albuminuria persistente (la excreción normal de albúmina se define como < 30 mg/24h). El FGR se calcula mediante la fórmula *Modification Diet Renal Disease* (MDRD), que mide la progresión de la afectación renal. La albuminuria se determinará por el cociente albúmina/creatinina (valor normal < 30 mg albúmina/g creatinina) en una muestra de orina matutina. Dada la variabilidad de la eliminación urinaria de albúmina, se requiere que al menos 2 de 3 muestras recogidas en 3–6 meses sean anormales antes de diagnosticar la presencia de albuminuria o su progresión. La presencia de uno de los dos criterios señalados indica la presencia de nefropatía diabética, y en estos pacientes se valorará anualmente la progresión de la afectación (American Diabetes Association, 2011).

Los estadios de la insuficiencia renal crónica son:

1. Daño renal* con FGR normal o aumentado: ≥ 90 mL/min/1.73 m²
2. Daño renal* con FGR ligeramente disminuido: 60–89 mL/min/1.73 m²
3. FGR moderadamente disminuido: 30–59 mL/min/1.73 m²
4. FGR severamente disminuido: 15–29 mL/min/1.73 m²
5. Fallo renal: FGR < 15 mL/min/1.73 m² área de superficie corporal o diálisis
2. Retinopatía diabética. Diagnosticada en estudio oftalmológico y/o tratada mediante fotocoagulación con láser (American Diabetes Association, 2011).

3. Polineuropatía diabética. Diagnóstico basado en síntomas, exploración neurológica y resultados de estudios electrofisiológicos de nervios periféricos (American Diabetes Association, 2011).

*Daño renal se define como la presencia de alteraciones objetivas en biopsia, orina, sangre o técnicas de imagen.

11. Cáncer: Se consideran todos los cánceres excepto los cánceres de piel no-melanoma. Los nuevos casos de cáncer se codificarán de acuerdo a la Clasificación Internacional de la OMS (International Agency for Research in Cancer, WHO, 2014).

12. Enfermedad/demencia de Alzheimer. Los nuevos casos de se determinan de acuerdo con las recomendaciones del National Institute on Aging and the Alzheimer's Association workgroup (McKhann et al., 2011) o si el diagnóstico de demencia lo realiza un neurólogo.

13. Otras demencias. Los nuevos casos de se determinan según los criterios de McKhann et al. 2011 (ver abajo), o si el diagnóstico de demencia lo realiza un neurólogo. El diagnóstico de demencia se realiza ante la aparición de síntomas cognitivos o de comportamiento (neuropsiquiátricos) que:

- a) Interfieren con las habilidades necesarias para realizar el trabajo habitual o las actividades cotidianas.
- b) Representan un declinar respecto a los niveles previos de funcionalidad o rendimiento
- c) No son explicados por delirio o trastorno psiquiátrico grave.
- d) El deterioro Cognitivo es detectado y diagnosticado a través de la combinación de (1) historia clínica obtenida del paciente y de un informador fiable, y (2) una evaluación cognitiva objetiva (examen del estado mental o test neuropsicológicos).
- e) El deterioro cognitivo o del comportamiento, afecta como mínimo a 2 de los siguientes dominios:
 - Deterioro en la capacidad de adquirir o recordar nueva información (repetitivos, olvidos).
 - Deterioro en el juicio y manejo de situaciones complejas (por ejemplo finanzas).
 - Pérdida de habilidades visuespaciales (por ejemplo reconocer caras).

- Pérdida de funciones del lenguaje (hablar, leer, escribir).
 - Cambios en la personalidad y comportamiento (fluctuaciones del ánimo, agitación, cese de actividades sociales).
14. Enfermedad de Parkinson. Los nuevos casos de se determinan de acuerdo con los criterios diagnósticos descritos por Hughes (Hughes AJ, et al., 1992) o si el diagnóstico lo realiza un neurólogo.
 15. Depresión unipolar. El diagnóstico se realizará según los criterios del DSM-V (American Psychiatric Association, 2013). En estos, se aceptan como trastornos depresivos: depresión mayor, depresión persistente, y otros trastornos depresivos (DSM-V). Se acepta el diagnóstico de depresión realizado por médicos de atención primaria o psiquiatras en pacientes tratados con antidepresivos durante más de 6 meses. En estos casos, se acepta también el diagnóstico de depresión de acuerdo con el CIE 10 (International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems, 10th version). Para aquellos facultativos que no utilicen CIE 10 ni DSM-V, se recomienda la inclusión de una respuesta afirmativa a las dos preguntas especificadas en las guías clínicas NICE (<https://www.nice.org.uk>).
 16. Fractura osteoporótica. Fractura de baja energía se define como la fractura producida por una caída del mismo nivel. Las fracturas se identifican a partir de radiografías o informes obtenidos a partir de al menos dos servicios radiológicos. Las fracturas traumáticas severas, fracturas potencialmente patológicas (por ejemplo de cáncer o enfermedad de Paget), o fracturas de cabeza, dedos, y dedos de los pies no se incluirán (Bliuc D, et al. 2009).
 17. Enfermedad de cálculo biliar (Colelitiasis). La enfermedad de cálculo biliar se diagnosticará de acuerdo con los hallazgos obtenidos de las exploraciones con imagen incluyendo ecografía abdominal, TAC o RMN. El diagnóstico de colescistectomía requerirá el informe quirúrgico.
 18. Gota sintomática. Los nuevos casos de se determinan de acuerdo con los criterios del American College of Rheumatology. Se trata de un trastorno que muestra un espectro de hallazgos clínicos y patológicos. Normalmente la enfermedad se presenta inicialmente como una artritis que es aguda y puntual, pero que puede ser recurrente en algunos pacientes. La gota también puede manifestarse como

una artritis crónica de una o varias articulaciones. Este cuadro clínico se basa en un exceso de ácido úrico, que se expresa en parte por una hiperuricemia, que se define como una cifra de ácido úrico en suero mayor de 7,0 mg/dl (Khanna D, et al. 2012).

19. Accidente isquémico transitorio (AIT). El diagnóstico de AIT deberá hacerse de acuerdo con la Declaración científica de la American Heart Association / American Stroke Association Stroke Council (Easton JD et al. 2009). El AIT es un episodio transitorio y focal de disfunción neurológica causado por isquemia cerebral, retiniana o de la médula espinal, sin evidencia de infarto agudo en las técnicas de neuroimagen, preferentemente resonancia magnética cerebral.

20. Cataratas. Definida por un informe médico de cirugía de cataratas.

21. Cirugía para la obesidad. Definida por un informe médico de cirugía bariátrica.

9.3. Marcadores intermedios

Los cambios en la ingesta de nutrientes y el patrón alimentario serán determinados a partir de los 17 ítems de puntuación de adherencia a una dieta mediterránea hipocalórica (grupo de intervención intensiva) o de 14 ítems (grupo control) y por cambios en los alimentos e ingesta de nutrientes derivados del cuestionario de frecuencia de alimentos (137 ítems) durante el seguimiento.

Los cambios en la presión arterial sistólica y diastólica, las concentraciones séricas de lípidos, glucosa en ayunas, pruebas de función renal, ácido úrico, hemoglobina A1c, proteína C reactiva y las pruebas de función hepática serán evaluadas anualmente durante el período de intervención. También se evaluarán anualmente la proporción de participantes en cada grupo que requieran medicación antihipertensiva o antidiabética, o hipolipemiantes, los resultados del ECG, la función cognitiva, la calidad de vida y las puntuaciones en las escalas psicológicas y neuropsicológicas.

10. Procedimiento de aleatorización (asignación al azar)

Entre una y 4 semanas de la visita de selección 3, cada centro asignará los participantes elegidos al azar para el grupo correspondiente (grupo de intervención intensiva o control, de atención habitual, “usual care” (grupo control) mediante el uso de una secuencia numérica aleatoria generada por ordenador y asignada centralmente

(disponible en www.predimedplus.com). El centro de coordinación es el responsable del procedimiento de aleatorización de los participantes, y éstos son asignados al grupo de intervención de forma estratificada por centro, sexo y grupo de edad (<65, 65-70, >70). Se permite la inclusión en el mismo grupo de matrimonios o parejas, que se deberán aleatorizar conjuntamente. Los centros reclutadores someten mediante un sistema basado en Internet la identificación del participante. El sistema informático automáticamente asigna al participante o la pareja de participantes al grupo de intervención sin que exista la posibilidad de que pueda cambiarse el grupo de intervención desde aquel momento. En los casos específicos de parejas en las que el cónyuge fue reclutado en diferente momento, el último cónyuge que ingrese al estudio es asignado (no al azar) al mismo brazo de estudio que su compañero para asegurar, un alto cumplimiento de la intervención y evitar contaminación, y conflictos potenciales entre parejas del mismo hogar.

11. Protocolo de intervención

Todos los participantes seguirán recibiendo asistencia sanitaria habitual durante el periodo que dure el estudio por parte de los profesionales de Atención Primaria y su médico de cabecera habitual. En ningún caso, esta asistencia la llevarán a cabo ni los investigadores del estudio ni el personal contratado a cargo del estudio.

11.1. Etapas del estudio en el brazo del ensayo asignado a intervención intensiva con Dieta Mediterránea hipocalórica (grupo de intervención)

Seis primeros meses:

Además de la visita inicial, los participantes asignados aleatoriamente al programa de intervención intensiva participarán en seis sesiones individuales (I) y en 6 reuniones de grupo (G) durante los primeros 6 meses (ver debajo):

Mes 1		Mes 2		Mes 3		Mes 4		Mes 5		Mes 6	
G	I	G	I	G	I	G	I	G	I	G	I

Los participantes también recibirán un tercer contacto mensual mediante una **llamada telefónica** de un dietista con el objetivo de reforzar los objetivos del estudio y resolver posibles dudas.

Durante estos seis primeros meses, se anima **a los participantes en el grupo de intervención** a alcanzar una reducción del 10% de su peso inicial y una reducción de entre el 5 y el 10% de su circunferencia de la cintura inicial. Los objetivos del ensayo durante los primeros seis meses son obtener una pérdida **media** de peso superior al 8% del peso inicial y una reducción media superior al 5% de la circunferencia de la cintura inicial. Se sabe que el éxito de la pérdida de peso inicial es un predictor reconocido de la pérdida de peso a largo plazo. Por ello, se hará entrega a cada participante de unos registros para que controlen y registren su peso y su cintura y aprendan a auto-monitorizarse correctamente.

Durante este período, se les anima a reemplazar una comida al día por alimentos debajo aporte calórico, y para ello se les ofrecerán alternativas amplias y agradables, en consonancia con la tradición culinaria de la Dieta Mediterránea (ver más abajo).

Por último, en el supuesto de que el participante no haya alcanzado los objetivos previstos en la última visita individual de esta etapa (sexto mes), se mantendrá una **entrevista motivacional** con la dietista para intentar averiguar por qué el paciente no haya alcanzado la pérdida de peso deseada (ver más abajo) y tratar de reconducir la situación y proporcionar medidas de rescate.

Meses 7 - 12:

Los participantes asistirán a una sesión individual (I) y 1 reunión de grupo (G) cada mes durante los meses 7 a 12 del ensayo.

AÑO 1	Mes 7		Mes 8		Mes 9		Mes 10		Mes 11		Mes 12	
Meses 7-12	G	I	G	I	G	I	G	I	G	I	G	I

Además, durante este periodo también tendrán un tercer contacto personal mediante una **llamada telefónica** mensual de la dietista para recibir refuerzo de los objetivos y resolver posibles dudas.

La visita de seguimiento del primer año (ver más abajo) coincidirá con la última visita individual de esta etapa.

Años 2 - 6:

Después del primer año y durante todos los demás años que dure el ensayo (años 2-6), los participantes asistirán a una sesión individual (I) cada 3 meses, una reunión de grupo (G) al mes y dos llamadas telefónicas (T) cada 3 meses según el esquema.

Meses 13-72	Mes 13		Mes 14		Mes 15		Mes 16		Mes 17		Mes 18		Mes 19		Mes 20		Mes 21		Mes 22		Mes 23		Mes 24	
	G	T	G	T	G	I	G	T	G	T	G	I	G	T	G	T	G	I	G	T	G	T	G	I

Los meses 25-36 seguirán el mismo procedimiento que los meses 13-24, y este procedimiento se repetirá durante los años sucesivos. Las visitas anuales de seguimiento (ver más abajo) coincidirán con la última visita individual de cada año (mes 24 en el esquema). A lo largo de todo el estudio, las visitas perdidas serán reprogramadas.

11.2. Programa de cada visita individual y cada sesión grupal en el brazo del ensayo asignado a intervención intensiva con Dieta Mediterránea hipocalórica (grupo de intervención)

A) Visitas individuales

Todas las visitas individuales incluyen:

- El cuestionario de 17 ítems de la adhesión a una Dieta Mediterránea hipocalórica.
- La medida por la dietista del peso y circunferencia de la cintura.
- Una entrevista motivacional individual con la dietista de acuerdo con los cambios observados en el peso y con la puntuación en el cuestionario de 17 ítems de adhesión a una dieta mediterránea hipocalórica (ver más abajo).
- El fomento del autocontrol y auto-monitorización de los participantes. A los participantes se facilitarán hojas especialmente preparadas de recogida de datos para el auto-registro y el auto-control de peso y cintura elaborados de acuerdo con el simulador de peso corporal del Instituto Nacional de Diabetes y Enfermedades Digestivas y del Riñón (Hall et al, 2011; *National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases*, 2012). Este simulador será proporcionado a los participantes durante la primera visita individual de intervención, dónde la dietista les explicará su manejo.
- Recomendaciones personalizadas para aumentar la actividad física.

B) Sesiones de grupo

En estas sesiones se proporciona a los participantes recetas de cocina, listas de la compra y menús, así como descripciones de alimentos paradigmáticos de la dieta mediterránea y consejos sobre la modificación del estilo de vida. Las dietistas del estudio PREDIMED-PLUS son las encargadas de todas las sesiones en grupo, con un

máximo de 20 participantes por sesión. Las sesiones de grupo incluyen los siguientes aspectos:

- i) Una charla introductoria para revisar el **cuestionario de 17 ítems** de adherencia a una **dieta mediterránea hipocalórica** (ver más abajo).
- ii) Una exposición de 15 minutos de los principales aspectos de la **dieta mediterránea** con apoyo de material audiovisual preparado por el Centro de Coordinación.
- iii) La aclaración de posibles dudas sobre cualquier aspecto de la intervención.
- iv) Entrega del siguiente material escrito:
 - Descripción de 4-5 alimentos bajos en calorías y típicos de la dieta mediterránea propios de cada temporada.
 - Lista semanal de la compra de acuerdo con la estación del año.
 - Plan semanal de comidas (con menús detallados) adaptado a la lista de la compra.
 - Recetas de cocina para los menús sugeridos.
- v) Suministro de aceite de oliva virgen (1 litro por mes) y frutos secos (500 g por mes) para cada participante.
- vi) La sesión finaliza agradeciendo al participante su asistencia, y recordándole la fecha de la próxima visita.

11.3. Programa de cada visita individual y cada sesión grupal en el **grupo control**

Los participantes del grupo **control** reciben la atención habitual por parte del personal sanitario de los Centros de Salud y se insiste en la importancia de asistir a las visitas médicas habituales. Los participantes reciben toda la información por escrito para seguir la **dieta mediterránea** que ya se ha utilizado en el ensayo PREDIMED, y también recomendaciones generales sobre el estilo de vida para el manejo del síndrome metabólico en forma de trípticos. Al inicio del estudio se mantendrá una sesión grupal y una visita individual donde las/los dietistas les proporcionarán todo el material escrito que se ha utilizado en el PREDIMED (listas de la compra, recetas de cocina, menús, descripción de alimentos mediterráneos). Las/los dietistas no darán instrucciones para perder peso a los participantes del grupo control, sino que esta tarea queda a cargo de sus médicos de familia o especialistas (cuidados habituales). Se les ofrece además una sesión grupal cada 6 meses. En la visita inicial y luego en las sesiones grupales semestrales se les proporciona de forma gratuita aceite de oliva virgen (6 litros cada 6 meses) y frutos secos (3 kg cada seis meses). Estas entregas se condicionarán a que asistan a estas sesiones, con el objetivo de fidelizarlos en el

ensayo. Las sesiones grupales semestrales del grupo control consisten en explicaciones sobre cómo seguir la **dieta mediterránea** para la prevención cardiovascular, sin impartir consejos ni establecer objetivos sobre restricción de calorías de la dieta, pérdida de peso o actividad física.

11.4. Intervención dietética y de estilo de vida

La intervención dietética y sobre el estilo de vida será coordinada por el **Comité de Intervención** liderado por Jordi Salas-Salvadó y compuesto por 4 coordinadores (Jordi Salas, Montse Fitó, Ramon Estruch y Miguel Ángel Martínez-González), 3 de los cuales corresponden a los responsables de las tres comisiones de intervención: Dieta (responsable: Jordi Salas; vocales: Nancy Babio, Emilio Ros y Ana Sánchez-Tainta), Ejercicio Físico (responsable: Montse Fitó, Vocales: Helmut Schröder, Ascensión Marcos, Miguel A. Martínez-González, Dolores Corella, Julia Warnberg), Tratamiento psico-conductual (responsable: Ramon Estruch; vocales: Fernando Fernández-Aranda, Cristina Botella y Jordi Salas-Salvadó). Este Comité será el responsable de diseñar la intervención sobre el estilo de vida en el grupo de intervención intensivo y velar por su correcta ejecución. Miguel Ruiz-Canela, Miguel A. Martínez-González y Jordi Salas-Salvadó se responsabilizarán de los aspectos éticos.

Recomendaciones sobre dieta

Muchos aspectos de la calidad de la dieta pueden afectar el peso corporal y el riesgo de padecer enfermedades relacionadas con la obesidad, en mayor medida que la cantidad relativa de macronutrientes (Mozaffarian et al, 2011; Ludwig, 2012). En las recomendaciones dadas a los participantes, dos grupos de alimentos (A y B) son claramente diferenciados:

- A) Patrones de alimentación tradicionales basados en alimentos enteros o mínimamente elaborados, como ocurre con la **dieta mediterránea**, que incorpora muchos alimentos cardioprotectores y pocos perjudiciales. El consumo de aceite de oliva virgen, frutos secos (en especial nueces), frutas y verduras, ensaladas, cereales integrales, alimentos ricos en fibra, y yogures bajos en grasa se ha relacionado en repetidas ocasiones con pérdida de peso o menor ganancia de peso (Martínez-González y Bes-Rastrollo, 2011; Mozaffarian et al, 2011).
- B) Por el contrario, las bebidas azucaradas, comida rápida, productos refinados (pan blanco, especialmente en España), arroz blanco, la pasta (excepto las pastas de grano integral), patatas fritas, patatas cocidas, grasas trans (presentes principalmente en muchos tipos, no en todos, de bollería industrial en España),

dulces, tortas, pasteles, azúcar, platos precocinados, embutidos o fiambres de carnes procesadas, y patés se han asociado de manera consistente con el aumento de peso (Schulze et al, 2006; Mozaffarian et al, 2011).

Por lo tanto, el objetivo principal del programa de intervención intensiva (grupo de intervención) se centra en la calidad global de la dieta con el fin de evitar los alimentos del grupo B) y remplazarlos por alimentos del grupo A).

Además, se provee una reducción de aproximadamente 600 kcal en la ingesta diaria de energía (aproximadamente el 30% de las necesidades energéticas estimadas), basándose en la estimación de las necesidades energéticas según la ecuación del *Institute of Medicine* y teniendo en cuenta el metabolismo basal de cada participante y su grado de actividad física. Esta restricción de energía en el patrón mediterráneo se hace disminuyendo el consumo de carnes y embutidos, azúcares y pan blanco, zumos de fruta envasados y bebidas azucaradas y otros alimentos del grupo B, del siguiente modo:

RESTRICCIÓN DE ENERGÍA EN LA DIETA MEDITERRÁNEA HIPOCALÓRICA	
NUTRIENTE	INGESTA RECOMENDADA
Calorías ¹	Aproximadamente 600 kcal/día (sobre un 30 %) de reducción de su ingesta habitual
Grasa total ²	35-40 % de las calorías
Ácidos grasos saturados ³	8 - 10 % del total de energía
Ácidos grasos monoinsaturados	> 20 % del total de energía
Ácidos grasos poliinsaturados	> 10 % del total de energía
Colesterol ³	< 300 mg/d
Proteínas ⁴	Aproximadamente un 20 % del total de energía
Carbohidratos ⁵	40-45 % del total de calorías (de bajo índice glucémico)
Cloruro sódico	< 100 mmol /día (aproximadamente 2.4 g de sodio o 6 g de cloruro sódico)
Calcio ⁶	1000 - 1500 mg
Fibra dietética ⁵	30-35 g

1. Una reducción de calorías de entre 500 y 1.000 kcal/día ayuda a los participantes a lograr una pérdida de peso de 0,5 a 1 kg por semana.

El alcohol aporta calorías innecesarias y desplaza el consumo de alimentos con mayor densidad nutricional. Además, el consumo de alcohol no sólo aumenta el número de calorías en una dieta, sino que también se ha asociado con obesidad en estudios epidemiológicos y experimentales. Por ello, aunque en el cuestionario de 17 puntos de adherencia a la dieta mediterránea uno de los ítems se refiere al consumo de vino, el impacto de las calorías del alcohol en la ingesta global de

calorías de una persona es evaluado y controlado adecuadamente, y en todo caso se evitarán bebidas alcohólicas distintas del vino.

2. El consumo de alcohol permitido es de uno a dos vasos de vino/día para mujeres y de dos a tres vasos de vino/día para los hombres. Se desaconseja el consumo de alcohol de otras fuentes distintas del vino y se da preferencia al vino tinto y que éste sea consumido durante las comidas.
3. La restricción de la ingesta de grasas debe ser a partir de alimentos de origen animal. El aceite de oliva y los frutos secos deben ser las fuentes preferidas de grasa.
4. Las proteínas deben ser derivadas preferentemente de fuentes vegetales y secundariamente de fuentes magras de origen animal (pescado o ave).
5. El aporte de hidratos de carbono es preferentemente en forma de alimentos sólidos, mínimamente elaborados y ricos en fibra con bajo índice glucémico como las verduras, frutas y cereales integrales, todos ellos buenas fuentes de vitaminas, minerales y fibra. Una dieta rica en fibra soluble, como el salvado de avena, las legumbres, y la mayoría de las frutas y verduras pueden ser eficaces en la reducción de la colesterolemia y la resistencia a la insulina. Una dieta alta en todos los tipos de fibra también puede ayudar en el control del peso mediante la promoción de la saciedad y también ayudará a mantener niveles reducidos de consumo total de calorías.
6. Durante la pérdida de peso, se debe prestar atención a mantener una ingesta adecuada de vitaminas y minerales. El mantenimiento de la ingesta de calcio recomendada de 1.000 a 1.500 mg/día es especialmente importante para las mujeres que pueden estar en riesgo de osteoporosis.

Los participantes en el grupo de intervención reciben asesoramiento para ayudarlos a aumentar progresivamente su cumplimiento de los siguientes 17 objetivos (el **cuestionario de 17 ítems de adhesión a una dieta mediterránea hipocalórica** en el grupo intensivo). Se otorga **un punto por cada objetivo** que se cumpla:

1. Uso culinario exclusivo de aceite de oliva virgen (exclusivamente de la variedad extra virgen) para cocinar, aderezar ensaladas y para untar.
2. Consumo de frutas ≥ 3 piezas por día.
3. Consumo de verduras y hortalizas ≥ 2 raciones/día (por lo menos una de ellas en forma de ensalada).
4. Reducción del consumo de pan blanco a ≤ 1 ración / día (1 ración = 75 g).
5. Consumo de cereales y pasta integrales ≥ 5 veces por semana.

6. Consumir ≤ 1 ración (una ración = 100-150 g) de carne roja, hamburguesas o productos cárnicos (jamón, salchichas, etc.) por semana.
7. Consumir < 1 porción de mantequilla o de nata a la semana (1 ración = 12 g).
8. Consumir < 1 bebida azucarada o zumo de fruta con azúcar añadido por semana.
9. Consumir ≥ 3 raciones/semana de legumbres (1 ración = 150 g).
10. Consumir ≥ 3 raciones/semana de pescado o mariscos (1 ración: 100-150 g de pescado, o 4-5 unidades o 200 g de marisco).
11. Consumir < 3 unidades/semana dulces, postres dulces, tales como pasteles, galletas, bizcochos o natillas.
12. Consumir ≥ 3 raciones/semana de frutos secos (cacahuets incluidos) a la semana (1 ración = 30 g).
13. Consumir pollo, pavo o carne de conejo en lugar de ternera, cerdo, hamburguesas o salchichas.
14. Usar sofrito ≥ 2 veces/semana (salsa hecha con tomate y cebolla, puerros o ajo, a fuego lento, con aceite de oliva).
15. No añadir azúcar a las bebidas (café, té), sino que se sustituirá por edulcorantes no calóricos artificiales.
16. Reducir el consumo de pasta o arroz a menos de tres raciones por semana (a no ser que se trate de productos integrales).
17. Beber los hombres entre 2-3 vasos (200 ml) de vino al día, y las mujeres entre 1-2 vasos de vino al día. Este punto solo se promocionará entre los participantes que fueron consumidores de alcohol al inicio del estudio. Los abstemios nunca serán invitados a comenzar a consumir vino o cualquier otra bebida alcohólica.

Por otro lado, la herramienta de instrumentación de la intervención que se utiliza para el grupo control es el cuestionario del PREDIMED de 14 ítems de adhesión a la Dieta Mediterránea (Schroeder et al, 2011) sin restricción calórica. No obstante, es preciso insistir en que en el grupo control se recoge también el cuestionario de 17 ítems para efectos/fines comparativos.

Recomendaciones sobre ejercicio físico: A los participantes se les anima y se les evalúa para que aumenten gradualmente su nivel de actividad física hasta alcanzar por lo menos 45 minutos al día (6 días por semana) después de 6 meses primeros de intervención. El programa de actividad física incluye actividades aeróbicas, como caminar a paso ligero (principalmente), o cualquier otra actividad equivalente de intensidad moderada, y también incluye otras actividades de entrenamiento de

resistencia (Fernández et al, 2012). Las/los dietistas adaptan las recomendaciones a las preferencias personales y animan a los participantes a realizar intercambios entre actividades que representen la misma cantidad de METS.

Soporte psico-conductual: Los participantes reciben instrucciones sobre estrategias y se les proporciona las herramientas necesarias para la resolución de problemas referentes a ingesta de alimentos con exceso de calorías y actividades sedentarias. Se estimula al participante que aprenda a tomar conciencia de la pérdida de control de la ingesta ante determinadas situaciones de estrés o ansiedad y trabaje el autocontrol ante las mismas.

Recomendaciones sobre tabaco: El equipo de dietistas de PREDIMED-PLUS no realizan recomendación alguna sobre el uso de tabaco; esta tarea es responsabilidad de los profesionales de los centros de salud según las prácticas habituales de los cuidados de atención primaria.

Entrevistas individuales motivacionales: La entrevista personal con el/la dietista en cada una de las visitas individuales se adaptan a las condiciones, situación clínica, preferencias y creencias de los participantes, introduciendo los cambios dietéticos pertinentes dirigidos a lograr la dieta aconsejada en cada caso así como los cambios oportunos de su estilo de vida. Los objetivos son fijados de manera consensuada a través de un pacto entre ambas partes, la dietista y el participante, en relación a lo que el participante perciba que es una meta alcanzable y factible. El objetivo principal está en cambiar el patrón de dieta, no sólo la ingesta de ciertos macronutrientes. La atención puede variar entre cambiar el tamaño de las raciones, la frecuencia de consumo o los métodos culinarios de preparación.

Los logros alcanzados en los meses anteriores, aunque pudiesen parecer de menor importancia, son siempre considerados como un indispensable punto de apoyo para proporcionar una mejora de la autoestima y auto-recompensa. Se tiene especial cuidado para evitar que los participantes reciban asesoramiento dietético contradictorio por parte de los profesionales de la salud ajenos al ensayo PREDIMED-PLUS.

Cada participante del grupo de intervención, tal y como se ha descrito, recibe información oral y escrita sobre los alimentos y hábitos de cocina propios de la **dieta mediterránea hipocalórica**. Asimismo, tal y como se ha comentado en la sección sobre acciones individuales, en cada visita se les entregan cuadernos de auto-registro y automonitorización del cambio de peso y de la circunferencia de la cintura.

Los participantes del grupo de intervención que hayan tenido una pérdida de peso limitada e inferior a lo previsto durante la participación activa de la fase de pérdida de peso o no hayan mantenido la pérdida de peso conseguida reciben un refuerzo especial y una serie de alternativas de rescate para la consecución de la pérdida de peso y su mantenimiento. De nuevo, el compromiso se establece entre el/la dietista y el participante.

El papel de los/las dietistas: Los/las dietistas del PREDIMED-PLUS son directamente responsables de la intervención dietética. Estos, son específicamente entrenados capacitados y preparados para poder realizar con solvencia el protocolo de intervención del PREDIMED-PLUS. Todos los procedimientos de intervención se llevan a cabo en conformidad con el manual de operaciones del estudio PREDIMED-PLUS. Asimismo, a lo largo del estudio, se llevarán a cabo reuniones anuales, en las que los/las dietistas pueden discutir los problemas detectados y buscar posibles soluciones. Cualquier problema que pueda surgir en el desarrollo del estudio, será discutido y estudiado por las dietistas y los coordinadores del estudio, facilitándose así una retroalimentación continua.

12. Procedimientos de formación y de calibración

Se ha elaborado un manual general de operaciones del estudio así como material de formación para el personal, con el fin de garantizar la estandarización de todos los procedimientos en todos los centros de reclutamiento. Antes de la implementación del protocolo, el personal del estudio asistió a un curso de capacitación de 3 días en el Centro de Coordinación. Este incluyó discusiones en grupos teóricas y prácticas con expertos en intervenciones sobre estilo de vida para transmitir los objetivos del estudio, para desarrollar todos los aspectos específicos de la ejecución de la intervención, y para ser formados en el proceso de recogida de consentimiento informado, realización de mediciones antropométricas, medición de presiones arteriales, recopilación de datos mediante cuestionarios de lectura óptica o sistemas *online* y la recogida de muestras biológicas y su procesamiento. En estos cursos se revisaron las habilidades de cada una de las personas contratadas mediante entrevistas personales. El equipo de investigación hizo hincapié en la importancia de crear una confianza y empatía con los participantes, prestando especial atención a sus necesidades individuales para alentar a los participantes en la motivación y asegurar una alta retención. El personal del estudio guarda una copia del manual de operaciones que detalla todos los puntos en los que se basará el entrenamiento.

Además, todo el personal responsable de la intervención asistirá a reuniones anuales y estará en continuo contacto con los investigadores principales para lograr una ejecución estandarizada del protocolo del estudio. Todas las balanzas y otros instrumentos de medida utilizados en el estudio son periódicamente calibrados de acuerdo al protocolo del estudio.

13. Retención y cumplimiento de las estrategias y de supervisión

El reclutamiento de los participantes y las tasas de **cumplimiento de las estrategias de intervención** son cruciales para el éxito de un ensayo de este tipo. Por este motivo, se planificó un periodo de rodaje o evaluación previa (*run-in*) anterior **a la aleatorización**: sólo aquellos participantes que cumplen con **todos** los requisitos del protocolo durante el periodo de rodaje se incluyen en el ensayo. El tiempo entre la finalización del *run-in* y el inicio de la intervención es como mínimo una semana y como máximo un mes.

Además, los investigadores del estudio han adquirido una valiosa experiencia en la gestión de ensayos a largo plazo con el PREDIMED, al mismo tiempo que este estudio les ha permitido desarrollar estrategias para involucrar a los participantes en el cumplimiento del protocolo y para su **fidelización y retención a largo plazo**. Se entiende que este aspecto es especialmente sensible entre los participantes del grupo control. Esta es la razón por la cual en cada sesión de grupo, a todos los participantes, tanto a los del grupo de intervención intensiva como a los del grupo control, se les proporciona gratuitamente aceite de oliva virgen y frutos secos. La experiencia del PREDIMED demuestra que estos regalos, especialmente el de aceite de oliva virgen, contribuyen en gran manera a la fidelización del participante. Otras estrategias de retención incluyen la retroalimentación a profesionales de atención primaria según los resultados durante el seguimiento, así como otras medidas no coercitivas de incentivos materiales en ambos grupos. Además, en el grupo de intervención intensiva, donde se prevé una pérdida significativa de peso, se va a mantener un contacto continuo con los participantes e intervenciones flexibles y medidas de rescate, de acuerdo con las necesidades de los participantes. Además, las técnicas de autocontrol, auto-recompensa y auto-monitorización también reforzarán a los participantes para que cumplan el protocolo de la intervención. Finalmente, el hecho de adaptar la intervención a las necesidades de los participantes facilitará su buen cumplimiento.

14. Muestras biológicas y procedimientos de laboratorio

El personal de enfermería contratado en cada nodo será el responsable de la obtención de muestras biológicas y la organización del procesamiento y almacenamiento en congeladores a -80°C de estas muestras. Las extracciones de sangre se llevan a cabo en los centros de reclutamiento de la misma manera que se llevan a cabo en la asistencia sanitaria habitual. Además, se extraen 38,5 ml de sangre y se recogen en los siguientes tubos: dos tubos de 10 ml de K2E EDTA, un tubo de 4.5 ml citrato, dos tubos de 10 ml de gel, separador de suero. El suero, el plasma citrato y las muestras de plasma EDTA se distribuyen en alícuotas de 250 μl y 500 μl , y se almacenan a -80°C para futuros análisis en los centros de reclutamiento. Las determinaciones bioquímicas se llevan a cabo enmascaradamente respecto al grupo de intervención y en el mismo lote de muestras consecutivas de cada participante. Cada centro de reclutamiento dispone de un ultracongelador con capacidad suficiente para almacenar estas muestras hasta su envío definitivo. Todas las muestras biológicas son procesadas en cada centro de reclutamiento, a más tardar una hora después de la extracción. Durante el transporte desde los centros de atención primaria hasta el laboratorio, se almacenan en una nevera portátil (4°C). Los análisis de orina se llevan a cabo en los centros de reclutamiento de la misma manera que se llevan a cabo en la atención médica habitual siguiendo el protocolo específico de recogida de muestras biológicas para PREDIMED-PLUS.

15. Control de calidad

La base de datos general del ensayo PREDIMED-PLUS es gestionada y conservada por el grupo del instituto IMIM (CIBEROBN). Los cuestionarios de frecuencia de consumo de alimentos, la base de datos de alimentación así como los cuestionarios, MMSE, test del reloj y de calidad de vida (SF-36), y clínico-psicopatológicos que se completan en el domicilio se procesan y gestionan en la Universidad de Navarra. Los datos en relación a la medición de actividad física mediante acelerómetros son procesados por el nodo de Málaga con la colaboración de CSIC/UAM. Dichos datos procesados se envían trimestralmente al IMIM para ser incorporados a la Base de Datos General. Los datos de la detección de eventos, recogida de información durante la intervención y visitas de seguimiento se introducen en formularios específicos, preferentemente por sistemas *online*, en los centros de reclutamiento y se envían como muy tarde mensualmente al administrador de datos en el IMIM. Este envía mensualmente los informes de las entradas incompletas o inadecuadas al centro coordinador y a los centros reclutadores para la clarificación y

resolución de dudas. Desde el IMIM también se envían informes mensuales a los diferentes centros de reclutamiento con la suma de cada nodo. El *steering committee* se ha establecido para garantizar la calidad del proyecto y corregir los defectos o desvíos que puedan detectarse. Este comité está formado por Jordi Salas-Salvadó (coordinador del estudio PREDIMED-PLUS), Miguel Ángel Martínez-González, Ramon Estruch, Montserrat Fitó, Emilio Ros y Dolores Corella. En cada reunión anual de PREDIMED-PLUS, el IMIM llevará a cabo una sesión del estado del manejo de datos. Se enviará un resumen anual al centro coordinador que lo distribuirá a todos los grupos.

Para reducir los gastos de entrada de datos y velocidad de procesamiento, los cuestionarios y formularios de datos serán procesados por lectura óptica o mediante formularios de transferencia de datos *online*. Los formularios de datos se introducen por duplicado y se realizan comprobaciones de datos faltantes. De todos los formularios enviados a otro centro de reclutamiento se debe hacer una fotocopia y almacenar en el centro que lo recogió. Después de la entrada de datos, se realizarán controles de forma transversal y se verificarán posibles inconsistencias en los datos. Con el fin de detectar problemas no resueltos se realizarán periódicamente auditorías a los centros reclutadores. Se redactarán informes que resuman los posibles problemas en la base de datos y que ayuden a proporcionar un método adicional que asegure la calidad y exactitud de los datos. Para reducir al mínimo las posibilidades de error, se ha desarrollado un manual de operaciones detallado.

Además se llevarán a cabo reuniones anuales de capacitación para el personal. El rendimiento de cada centro de reclutamiento será evaluado por el administrador de datos y una Comisión de auditoría. Se implementarán nuevos procedimientos o correcciones apropiadas en caso de que se observen deficiencias. Hasta el final del estudio, todos los centro de estudio se enmascararán a los datos de los resultados del ensayo, excepto para las dos personas encargadas de realizar los análisis estadísticos, que siempre realizarán las tareas en duplicado, con dos unidades de análisis estadístico, uno en Navarra (Miguel Ángel Martínez-González) y otra en el IMIM en Barcelona (Joan Vila). Debido a la naturaleza de la intervención, sin embargo, los/las dietistas en cada centro necesitan conocer la asignación de cada participante. Los médicos que realizan en cada centro el informe anual *ad-hoc* en la revisión de historias clínicas de los participantes estarán enmascarados a la asignación del grupo de intervención, al igual que el **Comité Clínico de Adjudicación de Eventos**. Los miembros del *Steering Committee* que asistirán a las reuniones con el *Data and Safety Monitoring Board* también permanecerán totalmente enmascarados a los resultados de

los análisis intermedios durante el progreso del ensayo. Solo conocerán el número total de eventos observados, sin diferenciar en qué grupo se han producido.

PLAN DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todos los análisis se llevarán a cabo siguiendo el principio de intención a tratar. Miguel Ángel Martínez-González será el estadístico senior responsable del plan de análisis estadístico. Todos los principales análisis de datos se realizarán bajo su supervisión. El análisis estadístico para los principales objetivos del estudio también se realizará por duplicado por el centro en IMIM, Barcelona (estadístico responsable en IMIM: Joan Vila).

1. Análisis del efecto de la intervención

Para determinar el efecto de la intervención sobre la incidencia de eventos cardiovasculares, se usarán modelos de regresión de Cox al tratarse de datos que tienen en cuenta el tiempo transcurrido hasta el evento. Para los cambios de peso y de perímetro de la cintura se usarán modelos mixtos de análisis de la varianza y ecuaciones de estimación generalizada (*generalized estimating equations, GEE*). En estos modelos se incluirán las siguientes covariables de ajuste:

- 1) Todos los factores que estén relacionados con el evento según la literatura científica,
- 2) Los factores que se aproximen a la significación estadística en el análisis univariado.

En estos modelos, se comprobará siempre que se cumplen i) el supuesto de proporcionalidad de los *hazards*, ii) la linealidad de las variables continuas, utilizando en su caso métodos de suavización con *splines*, y iii) la influencia de observaciones extremas en la estimación de parámetros, evaluada por el cálculo de los valores de delta-betas. La aplicación de otros enfoques dependerá de los resultados obtenidos anteriormente (es decir, transformaciones normalizadoras de la distribución, análisis estratificados, etc.). Los participantes se agruparán por los Centros reclutadores. Debido a esto, se puede esperar que exista cierta estructura de correlación entre ellos. Por lo tanto, el centro será incluido como una variable de estratificación, incluyendo estimaciones de fragilidad, en los modelos de regresión de Cox. La bondad del ajuste de los modelos se llevará a cabo por el test modificado de Hosmer-Lemeshow para los estudios de supervivencia. Se utilizarán estimadores de varianza robustos que tienen

en cuenta el efecto de agrupación de los miembros de un mismo hogar (el segundo miembro no se aleatoriza por razones de viabilidad) para tener en cuenta la correlación intra- clúster. Se llevarán a cabo análisis de sensibilidad después de excluir a los segundos miembros (no aleatorizados) del mismo hogar. Además de la estratificación por centro, todos los modelos de Cox también estarán estratificados por sexo y nivel educativo.

2. Análisis intermedios y reglas de detención del ensayo

Los datos del estudio PREDIMED-PLUS se analizarán a los 3 años de seguimiento medio (análisis intermedio), a los 5 años y al final del ensayo. El adecuado seguimiento de un ensayo debe incluir al menos un análisis intermedio, no sólo por los aspectos metodológicos, sino sobre todo por razones éticas (Schulz y Grimes, 2005). Sin embargo, para preservar un error alfa global de 0,05, el análisis intermedio tiene que ser penalizado. Se utilizarán los límites propuestos por O'Brien y Fleming (O'Brien y Fleming, 1979). Según este método, los límites son más estrictos en los estados iniciales de la investigación que en los finales. Por lo tanto, la aplicación de esta regla lleva a al siguiente valor de p para detener el ensayo:

Primer análisis intermedio (seguimiento mediano: 3 años), valor límite de p: 0.0005.

Segundo análisis (seguimiento mediano: 5 años), valor p: 0.014.

Análisis final (seguimiento mediano: 8 años), valor p: 0.045

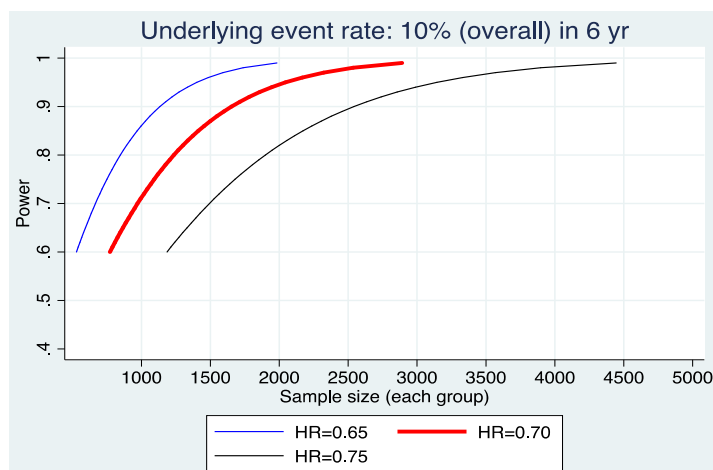
El valor p de significación estadística no debe ser considerado como una imposición obligatoria de detener el ensayo. Representa más bien una guía para la seguridad de los datos y el Comité Asesor Externo (*Data and Safety Monitoring Board*) deberá emitir un juicio en el que también tendrá en cuenta el tamaño del efecto, el tiempo de seguimiento en cada centro de reclutamiento, la heterogeneidad en el efecto entre los centros de reclutamiento, y la evidencia de otros ensayos en curso y de estudios observacionales, entre otros factores. Todo esto debe tenerse en cuenta para decidir si continuar o interrumpir el ensayo tras cada análisis intermedio. Entre las razones para la interrupción del ensayo se encuentran: 1) pruebas suficientemente convincentes del efecto beneficioso de la intervención (el ensayo se suspendería solo si el efecto de la intervención fuese de gran magnitud), 2) pruebas suficientemente convincentes de efectos nocivos de la intervención, 3) que los resultados sugieran que es altamente improbable que se pueda para probar la hipótesis propuesta, debido, por ejemplo, a un muy pequeño tamaño del efecto de la intervención que afecte dramáticamente a la potencia estadística del ensayo.

3. Estimaciones de tamaño de la muestra

Se va a abordar el efecto de la intervención intensiva dirigida a la pérdida de peso con **dieta mediterránea** hipocalórica sobre los dos resultados primarios que se describen a continuación, asumiendo un error alfa de dos colas de 0,05.

1. Efecto de la intervención en la **incidencia de enfermedad cardiovascular** (infarto de miocardio no mortal, ictus no mortal y muerte cardiovascular): La incidencia acumulada proyectada tras la inclusión como evento primario de todos los infartos agudos de miocardio no mortales, también de microinfartos con test de troponina altamente sensible positivo, después de 6 años será al menos de un 10% en el grupo control, teniendo en cuenta los resultados observados en el ensayo PREDIMED después de 4,8 años en el que no se incluyó la troponina ultrasensible. El riesgo relativo (*hazard ratio*, HR) para el resultado primario combinado “*primary end-point*” se puede suponer que será 0,70 (Estruch et al, 2013). Probablemente será aún más bajo (mayor efecto protector) teniendo en cuenta que en el ensayo PREDIMED no se llevó a cabo restricción alguna de energía y no se estimuló el aumentar la actividad física ni perder peso. Por lo tanto, bajo estos supuestos, incluso si las tasas de abandono alcanzasen hasta un 20%, el tamaño de la muestra necesario será de 2.400 participantes por grupo (ver Figura 3), aunque para ser conservadores, el objetivo propuesto es reclutar a 6.000 participantes, y asignar 3.000 a cada grupo. El reclutamiento se realizará en 20 centros, y cada centro asumirá el objetivo de reclutar, educar y seguir aproximadamente a 300 participantes, 150 en el grupo de asistencia médica habitual y 150 en el grupo de intervención intensiva.

FIGURA 3. Estimación del tamaño de muestra necesario por grupo de aleatorización en el ensayo PREDIMED-PLUS.



2. Efecto de la intervención sobre el **cambio de peso**: De acuerdo con estudios previos, se puede esperar un cambio en el peso mínimo en el grupo control y una pérdida de peso entre 3-4,5 kg en el grupo de intervención intensiva, con una desviación estándar de 8 kg (Shai et al, 2008; Sacks et al, 2009; Wing, 2010). Si se asume incluso un efecto pequeño de la intervención en el cambio de peso, el tamaño de la muestra de acuerdo con un cambio de peso de 1 kg en el grupo control, un cambio de peso de 3 kg en la intervención intensiva y asumiendo una desviación estándar de 8 kg, lograría una potencia estadística de 0,80, con sólo un tamaño muestral de 337 en cada grupo. Dado que la cifra de participantes que se van a reclutar está muy por encima de este requerimiento, la potencia estadística para hacer frente a este objetivo está ampliamente garantizada.

FORTALEZAS Y LIMITACIONES

1. Fortalezas

A. Este estudio proporciona un abordaje multidisciplinar del grave problema de la epidemia de obesidad y sobrepeso. Nuestra población diana son adultos obesos o con sobrepeso, que representan una fracción cada vez mayor de la población general. La intervención en estas personas, basada en un cambio profundo de estilo de vida (un portafolio multifactorial que incluye la mejoría del patrón alimentario, la pérdida de peso, una intervención conductual y un aumento de la actividad física) puede erigirse como un modelo novedoso y especialmente útil para reducir la carga de la obesidad y las enfermedades asociadas, contribuyendo así al sostenibilidad del sistema de salud. El ensayo claramente aborda los objetivos prioritarios del sistema público de salud, ya que aborda tanto la principal epidemia de nuestros días (sobrepeso/obesidad) como la principal causa de muerte en el mundo (enfermedad cardiovascular).

B. El proyecto es muy innovador, ya que presenta un nuevo paradigma en cuanto a las recomendaciones nutricionales destinadas a lograr la pérdida de peso, es decir, un patrón tradicional de dieta que se caracteriza por un moderado a alto contenido de grasa dietética. Creemos que este nuevo enfoque contribuirá al mejor cumplimiento de la intervención y a superar el desafío principal, no superado hasta ahora, de cualquier intervención dietética destinada a combatir el sobrepeso y la obesidad: el mantenimiento de la pérdida de peso a largo plazo (Shai et al, 2008; Beunza et al, 2010; Romaguera et al, 2010).

C. El enfoque de la intervención está estructurado y el estudio está debidamente planteado para determinar el efecto de la intervención sobre los principales resultados clínicos y cuenta con una alta capacidad de transferencia y traslación al realizarse en

el seno de la Atención Primaria de Salud e integrar aspectos epidemiológicos, clínicos y básicos en la investigación propuesta.

D. El equipo de investigación incluye investigadores con una experiencia muy valiosa en la realización de ensayos de estilo de vida (por ejemplo, de intervención como PREDIMED). Como estos investigadores provienen de una amplia gama de campos, su trabajo será complementario y las posibilidades de éxito del ensayo se verán incrementadas. Todas estas razones, junto con el éxito y los logros del ensayo PREDIMED, dan fe de la viabilidad de esta propuesta de prueba.

E. Desde una perspectiva estratégica, esta es una propuesta oportuna dado que brinda continuidad al proyecto colaborativo en el que han participado la mayoría de los centros CIBEROBN, es decir, PREDIMED.

2. Limitaciones

A. Nuestro estudio reclutará a participantes de entre 55 a 75 años. Esto puede impedir la generalización a grupos de edad más jóvenes.

B. El abandono de los voluntarios en un ensayo clínico a gran escala siempre es un factor limitante a tener en cuenta. Sin embargo los investigadores pretenden asegurar el cumplimiento en ambos grupos mediante: a) provisión gratuita de alimentos (aceite de oliva y frutos secos); b) el establecimiento de relaciones personal con cada uno de los voluntarios a través de las sesiones individuales y grupales establecidas; c) la administración al inicio del estudio de un test de Prochaska y DiClemente de baja probabilidad predicha de cambiar los hábitos alimentarios, siendo una baja probabilidad criterio de exclusión y d) el establecimiento al inicio del estudio de un período de *run-in* de un mes de duración, para identificar y seleccionar sólo aquellos individuos con menor riesgo de abandono de la intervención y con más garantías de cumplimiento del protocolo (ver Punto 5 y 13).

C. La homogeneidad de las intervenciones es compleja dada la naturaleza de la intervención basada en tres enfoques: dieta, ejercicio físico y conducta. Por ello se ha desarrollado un protocolo detallado de la ejecución de la intervención y un Comité para cada uno de los tres enfoques de la intervención. También realizamos una sesión de capacitación del personal al inicio del estudio y llevaremos a cabo sesiones de seguimientos anuales a lo largo de todo el desarrollo del proyecto.

COMITÉS Y GOBERNANZA

El **Comité Ejecutivo** de PREDIMED-PLUS incluye a los investigadores principales de todos los Centros participantes (Anexo I). Este Comité servirá de guía científica y

estratégica para la toma de decisiones y será responsable de diseñar, implementar y publicar el protocolo del estudio y garantizar la calidad de su ejecución y gestión. Determinará sus propias directrices y aprobará los criterios y directrices de las demás comisiones dentro del estudio. El Comité Ejecutivo se reunirá periódicamente (al menos dos veces al año) para discutir e informar sobre los avances del estudio.

El **Steering Committee** formado por Jordi Salas Salvadó (Coordinador de PREDIMED-PLUS), Miguel Ángel Martínez-González (Investigador Principal European Research Council-Advanced Research Grant), Ramón Estruch, Montserrat Fitó, Emilio Ros y Dolores Corella, es responsable de garantizar la calidad del proyecto y corregir cualquier defecto o desvío que pueda detectarse.

Comité Científico Asesor Externo (Data Safety and Monitoring Board)

Para garantizar la seguridad de los participantes y el buen funcionamiento del ensayo se ha formado el Comité Científico Asesor Externo de Monitorización (**Data Safety and Monitoring Board, DSMB**). Este comité está formado por: Presidente, Meir J Stampfer (Harvard School of Public Health); otros miembros, Joan Sabaté (Loma Linda University), Arne Astrup (Copenhagen University), Francisco Fernandez-Avilés (Universidad Complutense de Madrid) y Xavier Pi-Sunyer (Columbia University). El Comité se reunirá para supervisar la aplicación del protocolo, y para monitorizar el progreso del ensayo, al menos una vez al año. Este comité examinará la competencia y cumplimiento de los objetivos de cada nodo participante y decidirá si debe excluirse algún nodo de continuar en el ensayo por falta de cumplimiento de los objetivos fijados.

Además, el *Steering Committee* enviará periódicamente informes por correo a los miembros de este Comité (DSMB) con los análisis estadísticos pertinentes que ayuden a determinar la continuación del ensayo PREDIMED-PLUS. El DSMB podrá solicitar cualquier análisis estadístico durante el curso del estudio, ya sea de modo enmascarado o no. El DSMB puede, en cualquier momento durante el estudio, recomendar la detención del ensayo si se diera el caso de una tasa de incidencia inaceptable de efectos adversos o en función de las diferencias significativas en la mortalidad entre los grupos de intervención. La decisión final será tomada por el Comité Ejecutivo del ensayo PREDIMED-PLUS.

FUENTES DE FINANCIACIÓN Y CUESTIONES ADMINISTRATIVAS

Este estudio fue financiado por la agencia oficial del Gobierno de España de financiación de proyectos de investigación biomédica, el Instituto de Salud Carlos III

(ISCIII) a través del Fondo de Investigación para la Salud (FIS) (concesión de un proyecto FIS de investigación colaborativo coordinado a Jordi Salas-Salvadó, IP del proyecto coordinado) y el Centro de Investigación Biomédica en Red-Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición (CIBEROBN), que es co- financiado por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional, y por el Consejo Europeo de Investigación –ERC- (Advanced Research Grant 2013-2018; 340918) (ayuda concedida a Miguel Ángel Martínez-Gonzalez).

Sitio web del estudio

<http://www.predimedplus.com>

Nombre y dirección del contacto

Jordi Salas-Salvadó, MD, PhD. Unidad de Nutrición Humana, Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud, Universidad Rovira i Virgili, C/ San Lorenç , 21, 43201 Reus, Tarragona (España). Tel.: 977759312; Fax: 977759322. E-mail: jordi.salas@urv.cat.

Prof. Miguel A. Martínez-González, MD, PhD, PH, Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública, Facultad de Medicina–Clínica Universidad de Navarra, Irunlarrea 1, 31008 Pamplona, España. Tel.: 636 355 333. E-mail: mamartinez@unav.es

Registro PREDIMED-PLUS

El ensayo PREDIMED-PLUS se registró en el International Standard Randomized Controlled Trial (ISRCT; <http://www.isrctn.com/ISRCTN89898870>) con número 89898870 y fecha de registro, 24 de julio 2014.

BIBLIOGRAFÍA

American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes-2011. Diabetes Care 2011;37 Suppl 1:S11-61.

Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. Circulation 2009;120:1640-5.

Alonso J, Prieto L, Anto JM. [The Spanish version of the SF-36 Health Survey (the SF-36 health questionnaire): an instrument for measuring clinical results]. Med Clin (Barc) 1995;104:771-6.

Alonso J, Regidor E, Barrio G, Prieto L, Rodriguez C, de la Fuente L. [Population reference values of the Spanish version of the Health Questionnaire SF-36]. Med Clin (Barc) 1998;111:410-6.

American Dietetic Association. Adult Weight Management Evidence-Based Nutrition Practice Guideline. Ver [http://www.adaevidencelibrary.com/topic.cfm?cat=2798 &auth=1](http://www.adaevidencelibrary.com/topic.cfm?cat=2798&auth=1), consulted 12/4/2012.

American Psychiatry Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition (DSM-5) Arlington, VA, American Psychiatric Association, 2013.

Bao Y, Han J, Hu FB, et al. Association of nut consumption with total and cause-specific mortality. N Engl J Med 2013;369:2001-11.

Basterra-Gortari FJ, Beunza JJ, Bes-Rastrollo M, Toledo E, García-López M, Martínez-González MA. [Increasing trend in the prevalence of morbid obesity in Spain: from 1.8 to 6.1 per thousand in 14 years]. Rev Esp Cardiol 2011;64:424-6.

Benton AL, Hamsher, K, Sivan AB. Multilingual Aphasia Examination (3rd ed.). San Antonio, Texas: Psychological Corporation; 1994.

Berrington de Gonzalez A, Hartge P, Cerhan JR, et al. Body-mass index and mortality among 1.46 million white adults. N Engl J Med 2010;363:2211-9.

Bes-Rastrollo M, Sabaté J, Gómez-Gracia E, Alonso A, Martínez JA, Martínez-González MA. Nut consumption and weight gain in a Mediterranean cohort: The SUN study. *Obesity* (Silver Spring) 2007;15:107-16.

Beunza JJ, Toledo E, Hu FB, et al. Adherence to the Mediterranean diet, long-term weight change, and incident overweight or obesity: the Seguimiento Universidad de Navarra (SUN) cohort. *Am J Clin Nutr* 2010;92:1484-93.

Benkhalti F, Prost J, Paz E, Perez-Jimenez F, El Modafar C & El Boustani E. Effects of feeding virgin olive oil or their polyphenols on lipid of rat liver. *Nutrition Research* 2002; 22:1067-1075.

Beck A T, Steer R A, y Brown GK. BDI-II. Beck Depression Inventory-Second Edition Manual. San Antonio, TX: The Psychological Corporation, 1996.

Bueno NB, de Melo IS, de Oliveira SL, da Rocha Ataide T. Very-low-carbohydrate ketogenic diet v. low-fat diet for long-term weight loss: a meta-analysis of randomised controlled trials. *Br J Nutr* 2013;110:1178-87.

Buxton AE, Calkins H, Callans DJ, et al. ACC/AHA/HRS 2006 key data elements and definitions for electrophysiological studies and procedures: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Data Standards (ACC/AHA/HRS Writing Committee to Develop Data Standards on Electrophysiology). *Circulation* 2006;114:2534-70.

Bliuc D, Nguyen ND, Milch VE, Nguyen TV, Eisman JA, Center JR. Mortality risk associated with low-trauma osteoporotic fracture and subsequent fracture in men and women. *JAMA* 2009;301:513-21.

Bray F, Znaor A, Cueva P, et al. Planning and Developing Population-Based Cancer Registration in Low- and Middle-Income Settings. IARC Technical Publication No. 43. International Agency for Research on Cancer. WHO, Geneva 2014.

Camargo A, Delgado-Lista J, Garcia-Rios A, et al. Expression of proinflammatory, proatherogenic genes is reduced by the Mediterranean diet in elderly people. *Br J Nutr* 2012;108:500-8.

Camm AJ, Kirchhof P, Lip GY, et al. ESC Committee for Practice Guidelines. Guidelines for the management of atrial fibrillation: the Task Force for the Management of Atrial Fibrillation of the European Society of Cardiology (ESC). European Heart Rhythm Association; European

Association for Cardio-Thoracic Surgery, Europace. 2010;10:1360-420.

Carrier M, Khorana AA, Zwicker JI, Lyman GH, Le Gal G, Lee AY; subcommittee on Haemostasis and Malignancy for the SSC of the ISTH. Venous thromboembolism in cancer clinical trials: recommendation for standardized reporting and analysis. *J Thromb Haemost* 2012;10:2599-601.

Chrysohoou C, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Das UN, Stefanadis C. Adherence to the Mediterranean diet attenuates inflammation and coagulation process in healthy adults: The ATTICA Study. *J Am Coll Cardiol* 2004;44:152-8.

Chrysohoou C, Skoumas J, Pitsavos C, et al. Long-term adherence to the Mediterranean diet reduces the prevalence of hyperuricaemia in elderly individuals, without known cardiovascular disease: the Ikaria study. *Maturitas* 2011;70:58-64.

Covas MI, Konstantinidou V, Fito M. Olive oil and cardiovascular health. *J Cardiovasc Pharmacol* 2009;54:477-482.

Covas MI, Nyyssonen K, Poulsen HE, et al. The effect of polyphenols in olive oil on heart disease risk factors: a randomized trial. *Ann Intern Med* 2006;145: 333-41.

Dai J, Jones DP, Goldberg J, et al. Association between adherence to the Mediterranean diet and oxidative stress. *Am J Clin Nutr* 2008;88:1364-70.

de Roos B, Zhang X, Rodriguez Gutierrez G, et al. Anti-platelet effects of olive oil extract: in vitro functional and proteomic studies. *Eur J Nutr* 2011;50: 553-62.

Defilippis AP, Blaha MJ, Jacobson TA. Omega-3 Fatty acids for cardiovascular disease prevention. *Curr Treat Options Cardiovasc Med* 2010;12:365-80.

Detopoulou P, Panagiotakos DB, Chrysohoou C, et al. Dietary antioxidant capacity and concentration of adiponectin in apparently healthy adults: the ATTICA study. *Eur J Clin Nutr* 2010; 64:161-8.

DSM-IV-TR; APA, 2000. American Psychiatric Association. (2000). Diagnostic and statistical manual of mental disorders (4th ed., text rev.). Washington, DC.

Easton JD, Saver JL, Albers GW, et al. Definition and evaluation of transient ischemic attack: a scientific statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association Stroke Council; Council on Cardiovascular Surgery and Anesthesia; Council

on Cardiovascular Radiology and Intervention; Council on Cardiovascular Nursing; and the Interdisciplinary Council on Peripheral Vascular Disease. The American Academy of Neurology affirms the value of this statement as an educational tool for neurologists. *Stroke* 2009;40:2276-93.

Elosua R, Garcia M, Aguilar A, Molina L, Covas MI, Marrugat J. Validation of the Minnesota Leisure Time Physical Activity Questionnaire In Spanish Women. Investigators of the MARATDON Group. *Med Sci Sports Exerc* 2000;32:1431-7.

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- 209.

Esposito K, Marfella R, Ciotola M, et al. Effect of a Mediterranean-style diet on endothelial dysfunction and markers of vascular inflammation in the metabolic syndrome: a randomized trial. *JAMA* 2004;292:1440-6.

Esposito K, Kastorini CM, Panagiotakos DB, Giugliano D. Mediterranean diet and weight loss: metaanalysis of randomized controlled trials. *Metab Syndr Relat Disord* 2011;9:1-12.

Estruch R, Martínez-González MA, Corella D, et al. Effects of a Mediterranean-style diet on cardiovascular risk factors. A randomized trial. *Ann Intern Med* 2006;145:1-11.

Estruch R, Ros E, Salas-Salvado J, et al. Primary prevention of cardiovascular disease with Mediterranean diets: the PREDIMED trial. 2013;368:1279-90.

European Stroke Organisation (ESO) Executive Committee and ESO Writing Committee. Guidelines for management of ischaemic stroke and transient ischaemic attack 2008. *Cerebrovasc Dis* 2008;25:457-507.

Fernández JM, Rosado-Álvarez D, Da Silva Grigoletto ME, et al. Moderate-to-high-intensity training and a hypocaloric Mediterranean diet enhance endothelial progenitor cells and fitness in subjects with the metabolic syndrome. *Clin Sci (Lond)* 2012;123:361-73.

Fernández-Ballart JD, Piñol JL, Zazpe I, et al. Relative validity of a semi-quantitative food-frequency questionnaire in an elderly Mediterranean population of Spain. *Br J Nutr* 2010;103:1808-16.

Fernández-Montero A, Bes-Rastrollo M, Beunza JJ, et al. Nut consumption and incidence of metabolic syndrome after 6-year follow-up: the SUN (Seguimiento Universidad de Navarra, University of Navarra Follow-up) cohort. *Public Health Nutr* 2012 Oct 23:1-9.

Finucane MM, Stevens GA, Cowan MJ, et al. National, regional, and global trends in body-mass index since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 960 country-years and 9.1 million participants. *Lancet* 2011;377:557-67.

First MB, Spitzer RL, Gibbon M, Williams J. Structured Clinical Interview for DSM-IV-TR Axis I Disorders, Research Version, Non-patient Edition (SCID-I/P). New York: Biometrics Research, New York State Psychiatric Institute. 2002.

Fuster V, et al. "ACC/AHA/ESC 2006 guidelines for the management of patients with atrial fibrillation executive summary: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and the European Society of Cardiology Committee for Practice Guidelines(Writing Committee to Revise the 2001 Guidelines for the Management of Patients with Atrial Fibrillation)." *Eur Heart J* 2006; 27:1979-2030.

Fito M, Cladellas M, de la Torre R, et al. Anti-inflammatory effect of virgin olive oil in stable coronary disease patients: a randomized, crossover, controlled trial. *Eur J Clin Nutr* 2008;62:570-4.

Fito M, Fitó M, Guxens M, et al. Effect of a traditional Mediterranean diet on lipoprotein oxidation: a randomized controlled trial. *Arch Intern Med* 2007;167:1195-1203.

Flegal KM, Kit BK, Orpana H, Graubard BI. Association of all-cause mortality with overweight and obesity using standard body mass index categories: a systematic review and meta-analysis. *JAMA* 2013;309:71-82.

Flint AJ, Hu FB, Glynn RJ, et al. Excess weight and the risk of incident coronary heart disease among men and women. *Obesity (Silver Spring)* 2010;18:377-83.

Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. Mini-mental state: A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 1975;12:189-98.

Fuentes F, López-Miranda J, Pérez-Martínez P, et al. Chronic effects of a high-fat diet enriched with virgin olive oil and a low-fat diet enriched with alpha-linolenic acid on postprandial endothelial function in healthy men. *Br J Nutr* 2008;100:159-65.

Gregg EW, Chen H, Wagenknecht LE, et al. Association of an intensive lifestyle intervention with remission of type 2 diabetes. JAMA 2012;308:2489-96.

Guasch-Ferré M, Bulló M, Martínez-González MÁ, et al. Frequency of nut consumption and mortality risk in the PREDIMED nutrition intervention trial. BMC Med 2013;11:164.

Gunstad J, Lhotsky A, Wendell CR, Ferrucci L, Zonderman AB. Longitudinal examination of obesity and cognitive function: results from the Baltimore longitudinal study of aging. Neuroepidemiology 2010;34:222-9.

Gutiérrez-Fisac JL, Guallar-Castillón P, León-Muñoz LM, et al. Prevalence of general and abdominal obesity in the adult population of Spain, 2008-2010: the ENRICA study. Obes Rev 2012;13:388-92.

Haaf P, Drexler B, Reichlin T, et al. High Sensitivity Cardiac Troponin in the Distinction of Acute Myocardial Infarction from Acute Cardiac Non-Coronary Artery Disease, Circulation 2012;126:31-40.

Hall KD, Sacks G, Chandramohan D, et al. Quantification of the effect of energy imbalance on bodyweight. Lancet 2011;378:826-37.

Henríquez Sánchez P, Ruano C, de Irala J, Ruiz-Canela M, Martínez-González MA, Sánchez-Villegas A. Adherence to the Mediterranean diet and quality of life in the SUN Project. Eur J Clin Nutr 2012;66:360-8.

Hernán MA, Taubman SL. Does obesity shorten life? The importance of well-defined interventions to answer causal questions. Int J Obes (Lond) 2008;32 Suppl 3:S8-14.

Howard BV, Van Horn L, Hsia J, et al. Low-fat dietary pattern and risk of cardiovascular disease: the Women's Health Initiative Randomized Controlled Dietary Modification Trial. JAMA 2006;295:655-66.

Hu T, Mills KT, Yao L, et al. Effects of low-carbohydrate diets versus low-fat diets on metabolic risk factors: a meta-analysis of randomized controlled clinical trials. Am J Epidemiol 2012;176 Suppl 7:S44-54.

Hamm CW, Bassand JP, et al. ESC Committee for Practice Guidelines. ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation The Task Force for the management of acute coronary syndromes (ACS) in

patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2011;32:2999–3054.

Hughes AJ, Daniel SE, Kilford L, Lees AJ. Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson's disease: a clinic-pathological study of 100 cases. *J Neurol Neurosurg Psych* 1992;5:181-184.

Jiang R, Jacobs DR Jr, Mayer-Davis E, et al. Nut and seed consumption and inflammatory markers in the multi-ethnic study of atherosclerosis. *Am J Epidemiol* 2006;163:222-31.

Jones JL, Fernandez ML, McIntosh MS, et al. A Mediterranean-style low-glycemic-load diet improves variables of metabolic syndrome in women, and addition of a phytochemical-rich medical food enhances benefits on lipoprotein metabolism. *J Clin Lipidol* 2011;5:188-96.

Kastorini CM, Milionis HJ, Esposito K, Giugliano D, Goudevenos JA, Panagiotakos DB. The effect of Mediterranean diet on metabolic syndrome and its components: a meta-analysis of 50 studies and 534,906 individuals. *J Am Coll Cardiol* 2011; 57:1299-313.

Khanna D, Fitzgerald JD, et al. 2012 American College of Rheumatology guidelines for management of gout. Part 1: systematic nonpharmacologic and pharmacologic therapeutic approaches to hyperuricemia. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2012;64:1431-1446.

Larsen TM, Dalskov SM, van Baak M, et al. Diets with high or low protein content and glycemic index for weight-loss maintenance. *N Engl J Med* 2010;363:2102-13.

Li TY, Brennan AM, Wedick NM, Mantzoros C, Rifai N, Hu FB. Regular consumption of nuts is associated with a lower risk of cardiovascular disease in women with type 2 diabetes. *J Nutr* 2009;139:1333-8.

Look AHEAD Research Group. Cardiovascular effects of intensive lifestyle intervention in type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2013;369:145-54.

López-Miranda J, Pérez-Jiménez F, Ros E, et al. Olive oil and health: Summary of the II International Conference on Olive Oil and Health consensus report, Jaén and Córdoba (Spain) 2008. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2010;20:284-94.

Lozano R, Naghavi M, Foreman K, et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet* 2012;380:2095-128.

Ludwig DS. Weight loss strategies for adolescents: a 14-year-old struggling to lose weight. JAMA 2012;307:498-508.

Luppino FS, de Wit LM, Bouvy PF, et al. Overweight, obesity, and depression: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. Arch Gen Psychiatry 2010;67:220-9.

Malik VS, Hu FB. Popular weight-loss diets: from evidence to practice. Nat Clin Pract Cardiovasc Med 2007;4:34-41.

Malik VS, Willett WC, Hu FB. Global obesity: trends, risk factors and policy implications. Nat Rev Endocrinol 2013;9:13-27.

Martínez-González MÁ, Bes-Rastrollo M. Nut consumption, weight gain and obesity: Epidemiological evidence. Nutr Metab Cardiovasc Dis 2011;21(Suppl 1): S40-45.

Martinez-Gonzalez MA, Bes-Rastrollo M. Dietary patterns, Mediterranean diet, and cardiovascular disease. Curr Opin Lipidol 2014;25:20-6.

Martínez-González MÁ, Corella D, Salas-Salvadó J, et al. Cohort profile: design and methods of the PREDIMED study. Int J Epidemiol 2012;41:377-85.

Martínez-González MÁ, Fernández-Jarne E, Serrano-Martínez M, Wright M, Gomez-Gracia E. Development of a short dietary intake questionnaire for the quantitative estimation of adherence to a cardioprotective Mediterranean diet. Eur J Clin Nutr 2004;58:1550-2.

Masters RK, Powers DA, Link BG. Obesity and US Mortality Risk Over the Adult Life Course. Am J Epidemiol 2013;177:431-42.

McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, et al. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. Alzheimers Dement 2011;7:263-9.

McMurray JJ, Adamopoulos S, Anker SD, Auricchio A, Böhm M, Dickstein K, et Al; ESC Committee for Practice Guidelines. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012. The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. Eur Heart J 2012;33:1787–1847.

McManus K, Antinoro L, Sacks F. A randomized controlled trial of a moderate-fat, low-energy diet compared with a low fat, low-energy diet for weight loss in overweight adults. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001;25:1503-11.

Mena MP, Sacanella E, Vazquez-Agell M, et al. Inhibition of circulating immune cell activation: a molecular antiinflammatory effect of the Mediterranean diet. *Am J Clin Nutr* 2009;89:248-56.

Meneses ME, Camargo A, Perez-Martinez P, et al. Postprandial inflammatory response in adipose tissue of patients with metabolic syndrome after the intake of different dietary models. *Mol Nutr Food Res* 2011;55:1759-70.

Moher D, Schulz KF, Altman DG. The CONSORT statement: revised recommendations for improving the quality of reports of parallel-group randomised trials. *Lancet* 2001;357:1191-4.

Moreno JA, López-Miranda J, Pérez-Martínez P, et al. A monounsaturated fatty acid-rich diet reduces macrophage uptake of plasma oxidised low-density lipoprotein in healthy young men. *Br J Nutr* 2008;100:569-75.

Mozaffarian D, Hao T, Rimm EB, Willett WC, Hu FB. Changes in diet and lifestyle and long-term weight gain in women and men. *N Engl J Med* 2011;364:2392-404.

National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. Body weight simulator. See: <http://bwsimulator.niddk.nih.gov/>, consulted 05/01/2012.

National Institute of Health. ClinicalTrials.gov. A service of the U.S. National Institutes of Health. See: <http://clinicaltrials.gov/ct2/home>, consulted 05/01/2012.

National Institute of Health. Clinical Guidelines on the Identification, Evaluation, and Treatment of Overweight and Obesity in Adults--The Evidence Report. National Institutes of Health. *Obes Res* 1998;2(6Suppl):51S-209S.

National Institute of Health, National Heart Lung and Blood Institute and North American Association for the Study of Obesity. The practical guide: Identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults. 2000.

Ni Mhurchu C, Rodgers A, Pan WH, Gu DF, Woodward M. Body mass index and cardiovascular disease in the Asia-Pacific Region: an overview of 33 cohorts involving 310 000 participants. *Int J Epidemiol* 2004;33:751-8.

Nigg CR, Burbank PM, Padula C, et al. Stages of change across ten health risk behaviors for older adults. *Gerontologist* 1999;39: 473-82.

Nordmann AJ, Nordmann A, Briel M, Keller U, Yancy WS Jr, Brehm BJ, Bucher HC. Effects of low-carbohydrate vs low-fat diets on weight loss and cardiovascular risk factors: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Intern Med* 2006;166:285-93.

Norgren L, Hiatt WR, Dormandy JA, Nehler MR, Harris KA, Fowkes FG. Inter-Society Consensus for the Management of Peripheral Arterial Disease (TASC II). *J Vasc Surg* 2007;45 Suppl S:S5-67.

O'Brien PC, Fleming TR. A multiple testing procedure for clinical trials. *Biometrics* 1979;35:549-56.

Pedrero-Perez EJ, Ruiz-Sanchez de Leon JM, Lozoya-Delgado P, Llanero-Luque M, Rojo-Mota G, Puerta-García C. Evaluación de los síntomas prefrontales: propiedades psicométricas y datos normativos del cuestionario disejecutivo (DEX) en una muestra de población española. *Rev Neurol* 2011; 52: 394-404.

Peña-Casanova J, Quiñones-Ubeda S, Gramunt-Fombuena N, et al. Spanish Multicenter Normative Studies (NEURONORMA Project): norms for verbal fluency tests. *Arch Clin Neuropsychol* 2009a;24:395-411.

Peña-Casanova J, Quiñones-Ubeda S, Quintana-Aparicio M, et al. Spanish Multicenter Normative Studies (NEURONORMA Project): norms for verbal span, visuospatial span, letter and number sequencing, trail making test, and symbol digit modalities test. *Arch Clin Neuropsychol* 2009b;24:321-41.

Pérez-Jiménez F, Lista JD, Pérez-Martínez P, et al. Olive oil and haemostasis: a review on its healthy effects. *Public Health Nutr* 2006;9:1083-8.

Ramier AM, Hécaen H. Role Respectif des atteintes frontales et de la latéralisation lésionnelle dans les déficits de la fluence verbale. *Rev Neurol (Paris)* 1970;123:17-22.

Ramier AM, Hécaen H. Les déficits au test de "fluence verbale" chez les sujets guachers avec lesions hemispheriques unilaterales. *Rev Neurol (Paris)* 1977;133: 571-4.

Razquin C, Martinez JA, Martinez-Gonzalez MA, Mitjavila MT, Estruch R, Marti A. A 3 years follow-up of a Mediterranean diet rich in virgin olive oil is associated with high plasma antioxidant capacity and reduced body weight gain. *Eur J Clin Nutr* 2009;63:1387-93.

Razquin C, Martínez JA, Martínez-González MA, Salas-Salvadó J, Estruch R, Martí A. A 3-year Mediterranean-style dietary intervention may modulate the association between adiponectin gene variants and body weight change. *Eur J Nutr* 2010;49:311-9.

Reitan RM. Trail Making Test: Manual for administration and scoring. Tucson: Reitan Neuropsychology Laboratory; 1992.

Rejeski WJ, Ip EH, Bertoni AG, et al. Lifestyle Change and Mobility in Obese Adults with Type 2 Diabetes. *N Engl J Med* 2012;366:1209-17.

Romaguera D, Norat T, Vergnaud AC, et al. Mediterranean dietary patterns and prospective weight change in participants of the EPIC-PANACEA project. *Am J Clin Nutr* 2010;92:912-21.

Ros E. Nuts and novel biomarkers of cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* 2009; 89:1649S-56S.

Ruano J, Lopez-Miranda J, Fuentes F, et al. Phenolic content of virgin olive oil improves ischemic reactive hyperemia in hypercholesterolemic patients. *J Am Coll Cardiol* 2005; 46:1864-8.

Ruiz-Canela M, Estruch R, Corella D, Salas-Salvadó J, Martínez-González MA. Association of Mediterranean diet with peripheral artery disease: the PREDIMED randomized trial. *JAMA* 2014;311:415-7.

Ryan DH, Espeland MA, Foster GD, et al. Look AHEAD (Action for Health in Diabetes): design and methods for a clinical trial of weight loss for the prevention of cardiovascular disease in type 2 diabetes. *Control Clin Trials* 2003;24:610-28.

Sabaté J, Oda K, Ros E. Nut consumption and blood lipid levels: a pooled analysis of 25 intervention trials. *Arch Intern Med* 2010;170:821-7.

Sacco RL, Kasner SE, Broderick JP, et al. An Updated Definition of Stroke for the 21st Century: A Statement for Healthcare Professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke* 2013;44:2064-2089.

Sacks FM, Bray GA, Carey VJ, et al. Comparison of weight-loss diets with different compositions of fat, protein, and carbohydrates. *N Engl J Med* 2009;360:859-73

Salas-Salvadó J, Fernández-Ballart J, Ros E, et al. Effect of a Mediterranean diet supplemented with nuts on metabolic syndrome status: one-year results of the PREDIMED randomized trial. *Arch Intern Med* 2008;168:2449-58.

Salas-Salvadó J, Bulló M, Babio N, et al. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with the Mediterranean diet: results of the PREDIMED-Reus nutrition intervention randomized trial. *Diabetes Care* 2011;34:14-9.

Salas-Salvadó J, Bulló M, Estruch R, et al. Prevention of diabetes with Mediterranean diets: a subgroup analysis of a randomized trial. *Ann Intern Med* 2014;160:1-10.

Sanchez-Villegas A, Ara I, Dierssen T, de la Fuente C, Ruano C, Martínez-González MA. Physical activity during leisure time and quality of life in a Spanish cohort: SUN (Seguimiento Universidad de Navarra) project. *Br J Sports Med* 2012;46:443-8.

Sanz, Navarro y Vázquez, Adaptación española para el Inventario de Depresión de Beck-II (BDI-II). 1. Propiedades psicométricas en estudiantes universitarios. *Análisis y modificación de conducta* 2003;29: 239-288.

Schröder H, Fitó M, Estruch R, et al. A short screener is valid for assessing Mediterranean diet adherence among older Spanish men and women. *J Nutr* 2011;141:1140-5.

Schulz KF, Grimes DA. Multiplicity in randomised trials II: subgroup and interim analyses. *Lancet* 2005;365:1657-61.

Schulze MB, Fung TT, Manson JE, Willett WC, Hu FB. Dietary patterns and changes in body weight in women. *Obesity (Silver Spring)* 2006;14:1444-53.

Shai I, Schwarzfuchs D, Henkin Y, et al. Weight loss with a low-carbohydrate, Mediterranean, or low-fat diet. *N Engl J Med* 2008;359:229-41.

Smith, A. Symbol Digit Modalities Test. Manual. Los Angeles: Western Psychological Services; 1973.

Sofi F, Abbate R, Gensini GF, Casini A. Accruing evidence on benefits of adherence to the Mediterranean diet on health: an updated systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr* 2010;92:1189-96.

Song YM, Sung J, Davey Smith G, Ebrahim S. Body mass index and ischemic and hemorrhagic stroke: a prospective study in Korean men. *Stroke* 2004;35:831-6.

Tendera M, Aboyans V, Bartelink ML, et al. ESC Guidelines on the diagnosis and treatment of peripheral artery diseases. Eur Heart J 2011;32: 2851–2906.

Tobias DK, Hu FB. Does being overweight really reduce mortality? Obesity (Silver Spring) 2013;21:1746-9.

Thygesen K, Alpert JS, Jaffe L, et al. Third universal definition of myocardial infarction. Eur Heart J 2012;33:2551–2567.

Urpi-Sarda M, Casas R, Chiva-Blanch G, et al. Virgin olive oil and nuts as key foods of the Mediterranean diet effects on inflammatory biomarkers related to atherosclerosis. Pharmacol Res 2012; 65:577-83.

Wallston KA, Stein MJ, Smith CA. Form C of the MHLC scales: a condition-specific measure of locus of control. J Pers Assess 1994;63:534-53.

Wallston, Wallston, & DeVellis, 1978, Health Education Monographs, 6, 160-170.

Ware JE, Gandek B, Gandek B Jr. Overview of the SF-36 Health Survey and the International Quality of Life Assessment (IQOLA) Project. J Clin Epidemiol 1998;51:903-12.

Wechsler, D. Wechsler Adult Intelligence Scale-III. San Antonio, Texas: Psychological Corporation; 1997a.

Wechsler, D. Wechsler Memory Scale. San Antonio, Texas: Psychological Corporation; 1997b.
Wechsler, D. WAIS III. Escala de inteligencia de Wechsler para adultos-III. Manual técnico. Madrid: TEA Ediciones; 1999.

Wechsler D. Escala de memoria Wechsler.-III. Manual técnico: TEA Ediciones. S. A; 2004.

Willett WC. Dietary fat plays a major role in obesity: no. Obes 2002;Rev 3:59-68.

Willett WC. Eat, drink, and be healthy: the Harvard Medical School guide to healthy eating. New York: Free Press, 2001

Wilson BA, Alderman N, Burgess PW, Emslie H, Evans JJ. Behavioural assessment of the dysexecutive syndrome. Bury St. Edmunds, UK: Thames Valley Test; 1996.

Wing RR. Long-term effects of a lifestyle intervention on weight and cardiovascular risk factors in individuals with type 2 diabetes mellitus: four-year results of the Look AHEAD trial. Arch Intern Med 2010;170:1566-75.

World Health Organization. Obesity: Preventing and managing the global epidemic. Geneva: World Health Organization, 1998. World Health Organization. International Classification of Diseases for Oncology, 3rd Edition (ICD-O-3).

<http://www.who.int/classifications/icd/adaptations/oncology/en/index.html>, consulted 24/04/2012.

Yesavage JA. Geriatric Depression Scale. Psychopharmacol Bull 1988;24:709-11.

Yancy CW, Jessup M, Bozkurt B, et al. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. J Am Coll Cardiol 2013; 62: e147- e239.

Zazpe I, Sanchez-Tainta A, Estruch R, et al. A large randomized individual and group intervention conducted by registered dietitians increased adherence to Mediterranean-type diets: the PREDIMED study. J Am Diet Assoc 2008;108:1134-44

Zhu L, Liu Z, Feng Z, et al. Hydroxytyrosol protects against oxidative damage by simultaneous activation of mitochondrial biogenesis and phase II detoxifying enzyme systems in retinal pigment epithelial cells. J Nutr Biochem 2010;21:1089-98.

ANEXO 1. SUBESTUDIOS

1. Composición Corporal:

El uso de DEXA o tomografía computarizada para medir la composición corporal se realizará en algunos centros de reclutamiento en los que se dispone del equipo y la tecnología necesaria. El análisis de la composición corporal mediante DEXA se realizará mediante equipo Lunar (General Electrics) en los siguientes centros: Universidad Rovira i Virgili, la Universidad de las Illes Balears, el Hospital Clínico de Barcelona y los Departamentos de Medicina Preventiva y Nutrición en Navarra.

2. Otros subestudios:

De acuerdo con la financiación conseguida se realizaran subestudios para evaluar interacciones gen-ambiente, estudios epigenéticos como la metilación del ADN, modificación de las histonas, y las alteraciones de microARN, la composición y la funcionalidad de la microbiota intestinal por pirosecuenciación, y el efecto de la intervención sobre la metabolómica, la transcriptómica y la proteómica.

ANEXO 2. CENTROS PARTICIPANTES

Centros reclutadores

ID	PI	Email address	Center
01	Enrique Gómez-Gracia	egomezgracia@gmail.com	Universidad de Málaga, Málaga
02	José Lapetra	jlapetra@ono.com	Distrito Sanitario de Atención Primaria de Sevilla, Sevilla
03	J. Alfredo Martínez	jalfmtz@unav.es	Universidad de Navarra - Nutrition, Pamplona
04	María Adoración Romaguera; Miquel Fiol	mariaadoracion.romaguera@ssib.es; miquelfiol@yahoo.es	Hospital Son Espases, Palma
05	Ramon Estruch	restruch@clinic.ub.es	Hospital Clínic-Medicina Interna, Barcelona
06	Montserrat Fitó	mfito@imim.es	Institut Hospital del Mar d'Investigacions Mèdiques, Barcelona
07	Jordi Salas-Salvadó	jordi.salas@urv.cat	Universitat Rovira i Virgili, Reus
08	Aurora Bueno	abueno@ugr.es	Universidad de Granada, Granada
09	Clotilde Vázquez	cvazquezma@gmail.com	Hospital Ramón y Cajal, Madrid
10	Miguel Ángel Martínez-González	mamartinez@unav.es	Universidad de Navarra - Epidemiology, Pamplona
11	Fernando Aròs	aborau@htxa.osakidetza.net	Hospital Universitario Araba, Vitoria
12	Dolores Corella	dolores.corella@uv.es	Universidad de Valencia, Valencia
13	Lluis Serra-Majem	lserra@dcc.ulpgc.es	Universidad de las Palmas de Gran Canaria, Las Palmas
14	Xavier Pintó	xpinto@csb.scs.es	Hospital de Bellvitge, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona
15	José López Miranda	jlopezmir@gmail.com	Universidad de Córdoba, Córdoba
16	José María Ordovás	Jose.Ordovas@tufts.edu	IMDEA, Madrid
17	Pilar Matía Martín	pilar.matia@gmail.com	Hospital Clínic, Madrid
18	Francisco Tinahones	fjtinahones@hotmail.com	Hospital de Málaga, Málaga
19	Josep Tur	pep.tur@uib.es	Universitat de les Illes Balears, Palma
20	Josep Vidal	JOVIDAL@clinic.ub.es	Hospital Clínic – Endocrinología, Barcelona

Grupos de apoyo

ID	PI	Email address	Center
A1	Emilio Ros	eros@clinic.ub.es	Hospital Clínic, Barcelona
A2	Rosa M. Lamuela-Raventós	lamuela@ub.edu	Universitat de Barcelona
A3	Guillermo Sáez	guillermo.Saez@uv.es	Universitat de Valencia
A4	María del Puy Portillo	mariapuy.portillo@ehu.es	Universidad del País Vasco
A5	Ascensión Marcos	amarcos@ictan.csic.es	CSIC, Madrid
A6	Cristina Botella	botella@uji.es	Universitat Jaume I de Castellón
A7	Fernando Fernández-Aranda	ffernandez@bellvitgehospital.cat	Hospital Universitari de Bellvitge

**EFFECTO DE UNA DIETA MEDITERRÁNEA
TRADICIONAL CON RESTRICCIÓN DE ENERGÍA,
ACTIVIDAD FÍSICA Y TRATAMIENTO CONDUCTUAL
SOBRE LA PREVENCIÓN DE ENFERMEDAD
CARDIOVASCULAR**

ESTUDIO PREDIMED-PLUS

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Abril 2018

**EN ESTA VERSIÓN DE PROTOCOLO ESTÁN INCLUIDAS LAS ENMIENDAS
HECHAS A PARTIR DE 2014 HASTA ABRIL 2018**

RESUMEN

En el siglo XXI está creciendo **alarmantemente la epidemia de sobrepeso y obesidad**. En **España** la prevalencia de **obesidad abdominal en adultos supera el 35%**, y **más del 60%** de la población adulta presenta **sobrepeso u obesidad** (Gutiérrez-Fisac et al, 2012). El crecimiento de la obesidad mórbida es especialmente preocupante (Basterra-Gortari et al, 2011). Las consecuencias a medio-largo plazo sobre el **riesgo vascular** y otras causas de muerte y enfermedad pueden ser **catastróficas**.

Los mejores estudios observacionales han constatado que la mortalidad por cualquier causa se incrementa progresivamente en paralelo con un aumento de la adiposidad y que este riesgo es especialmente elevado para la **mortalidad cardiovascular** (Berrington de González et al, 2010; GBD 2015 Obesity Collaborators). No obstante, un meta-análisis publicado a principios de 2013 (Flegal, 2013) creó considerable polémica al matizar muy a la baja las consecuencias del sobrepeso y la obesidad moderada. Es probable que las conclusiones del meta-análisis de Flegal puedan explicarse por diversos sesgos (definición peculiar de las categorías de sobrepeso, confusión por tabaco, causalidad inversa y exclusión de estudios relevantes) (Tobias y Hu, 2013), pero la controversia continua y probablemente continuará en las próximas décadas. Estas dudas sólo se resolverían con estudios de intervención aleatorizados (Hernán y Taubman, 2008). Por lo tanto, se necesita disponer de estudios experimentales que puedan demostrar si una **pérdida intencional de peso** conlleva una disminución en la mortalidad cardiovascular y una menor incidencia de enfermedad cardiovascular (ECV).

La finalidad del estudio PREDIMED-PLUS es valorar la efectividad y seguridad de un programa de intervención multifactorial que permita mitigar la excesiva mortalidad y morbilidad cardiovascular entre las personas con sobrepeso y obesidad. El objetivo es determinar el efecto sobre la morbi-mortalidad cardiovascular de una intervención intensiva de pérdida de peso basada en un patrón de dieta mediterránea tradicional hipocalórica, actividad física y soporte conductual versus consejos sobre dieta también tipo mediterráneo siguiendo los cuidados sanitarios habituales para la prevención cardiovascular. Nuestra hipótesis es que una intervención intensiva sobre el estilo de vida dirigida a la pérdida de peso y fundamentada en el patrón de dieta mediterránea tradicional es una aproximación sostenible a largo plazo para la pérdida de peso en adultos con sobrepeso y obesidad y que los cambios en estilos de vida alcanzados

ejercerán un efecto beneficioso sobre la morbi-mortalidad cardiovascular (Estruch et al, 2013; Shai et al, 2008). La presente propuesta proporcionará eventualmente una herramienta para luchar contra el exceso de morbilidad y mortalidad que conllevan el sobrepeso y la obesidad.

Objetivos

El estudio PREDIMED-PLUS evalúa el efecto en la prevención primaria cardiovascular de una intervención intensiva basada en una dieta Mediterránea de 17 puntos con restricción calórica y metas específicas de pérdida de peso, actividad física, e intervención conductual (grupo de intervención) frente a una intervención de baja intensidad (cuidados habituales) con una dieta mediterránea de 14 puntos (Schröder et al, 2011) sin consejos para aumentar la actividad física o reducir la ingesta de energía (grupo control). La dieta asignada al grupo control se ha mostrado previamente efectiva en el ensayo PREDIMED (Estruch et al 2013). El desenlace principal final “primary end-point” es un agregado de eventos clínicos cardiovasculares duros (infarto de miocardio, ictus o muerte cardiovascular) tal como se definió en el ensayo PREDIMED (Martinez-Gonzalez et al, 2012).

Los objetivos principales que se plantean son evaluar el efecto de una **intervención intensiva** sobre el estilo de vida basada en una **dieta mediterránea hipocalórica**, actividad física y terapia conductual sobre **eventos** cardiovasculares en comparación con un **grupo control** asignado a un consejo no intensivo sobre dieta sana (también de tipo mediterráneo), pero sin restricción calórica sobre:

1. La incidencia de **eventos cardiovasculares** (infarto de miocardio no mortal, ictus no mortal o muerte cardiovascular).
2. La **pérdida de peso** y mantenimiento de la pérdida de peso a largo plazo.

Como objetivos secundarios se plantea evaluar si una intervención intensiva sobre el estilo de vida dirigida a la pérdida de peso ejerce un impacto positivo sobre la reducción del perímetro abdominal y otras condiciones relacionadas con el sobrepeso y la obesidad: síndromes coronarios agudos con/sin revascularización coronaria, insuficiencia cardíaca, fibrilación auricular, enfermedad arterial periférica, trombosis venosa, diabetes mellitus tipo 2 y sus complicaciones, incidencia global de cáncer, tipos de cáncer específico en las principales localizaciones (mama, colo-rectal,

próstata, pulmón, estómago), fracturas óseas, enfermedad de cálculos biliares, gota sintomática, enfermedades neurodegenerativas (demencia y enfermedad de Parkinson), depresión unipolar y trastornos de conducta alimentaria. También se valorará el efecto de la intervención sobre marcadores intermedios: ingesta de nutrientes y patrón dietético global, presión arterial sistólica y diastólica, lípidos en sangre, glucemia basal en ayunas, función renal, ácido úrico, porcentaje de personas que requieren tratamiento farmacológico antihipertensivo, antidiabético o hipolipemiante, niveles de proteína-C reactiva, hemoglobina A1c, función hepática, alteraciones en el trazado electrocardiográfico, función cognitiva, calidad de vida, y síntomas psicopatológicos.

Metodología

Se está desarrollando un **ensayo de campo** aleatorizado y multicéntrico dirigido a la prevención primaria de enfermedad cardiovascular en adultos con sobrepeso u obesidad mediante una intervención intensiva basada en una dieta mediterránea hipocalórica, promoción de actividad física y terapia conductual comparada frente a un grupo control que recibe consejo de baja intensidad sobre dieta mediterránea para la prevención de morbilidad CV según el estudio PREDIMED. Además se hace hincapié sobre la importancia de asistir a las visitas médicas y se proporciona recomendaciones generales escritas de estilo de vida para el mantenimiento del síndrome metabólico. A este nuevo ensayo, cuyo diseño y planeamiento se detalla en la presente propuesta se le denomina ensayo **PREDIMED-PLUS**.

En este nuevo ensayo multicéntrico, participan un total de 23 centros reclutadores incluyendo un total de **6,874 participantes reclutados, 3,406** asignados al grupo de intervención intensiva y **3,468** al grupo control. El reclutamiento de los participantes inició en septiembre de 2013 y finalizó en diciembre de 2016. La intervención se mantendrá al menos 6 años y el seguimiento medio previsto para los eventos clínicos cardiovasculares será de 8 años. Se espera que los resultados, entre los que se incluyen los cambios antropométricos y el impacto sobre los principales trastornos relacionados con la obesidad, tengan una alta aplicabilidad para la salud pública al mejorar el pronóstico de los adultos obesos o con sobrepeso y serán altamente eficientes al proporcionar una aproximación no farmacológica a la prevención de la principal causa de mortalidad, y de una de las principales causas globales de pérdida de años de vida ajustados por discapacidad (Lozano et al, 2012).

ANTECEDENTES Y ESTADO ACTUAL DEL TEMA

La **epidemia actual global de sobrepeso y obesidad** ha crecido y sigue creciendo a ritmo alarmante, afectando a más del 60% de la población adulta y representa una crisis global de salud pública. La **prevalencia global de obesidad** casi se ha **duplicado** entre 1980 y 2008 a nivel mundial (Finucane et al, 2011; Malik et al, 2013; GBD 2015 Obesity Collaborators, 2017; González-Muniesa et al, 2017). En **España**, la prevalencia de **obesidad abdominal en adultos supera el 35% y más del 60%** de la población adulta presenta **sobrepeso u obesidad** (Gutiérrez-Fisac et al, 2012), con un crecimiento particularmente preocupante de la obesidad mórbida (Basterra-Gortari et al, 2011). Las consecuencias de la obesidad a medio-largo plazo sobre el riesgo de enfermedad y muerte cardiovascular son **devastadoras** y con capacidad para ambos, hacer **insostenible el sistema sanitario** y asfixiar cualquier posibilidad de crecimiento económico. Resulta urgente y prioritario dar respuestas y soluciones basadas en la mejor evidencia científica posible.

Con la edad parece que se atenúa la asociación entre obesidad y mortalidad. Si esto fuese así, sería dudosa la pertinencia de recomendar una pérdida de peso en población adulta. Sin embargo esta creencia se ha visto confrontada por estudios epidemiológicos observacionales que, una vez que controlan adecuadamente la confusión por cohorte generacional, apoyan todo lo contrario, es decir que a edades avanzadas se hace aún más fuerte la asociación obesidad-mortalidad (Masters, 2013).

Un meta-análisis de estudios observacionales publicado en el 2013 (Flegal, 2013) generó controversia al matizar muy a la baja las consecuencias del sobrepeso y la obesidad moderada. Es probable que las conclusiones de ese metaanálisis puedan deberse a sesgos (definición peculiar de las categorías de sobrepeso, confusión por tabaco, causalidad inversa y exclusión de estudios relevantes) tal como argumentan Tobias y Hu (2013). El debate se resolvería con buenos estudios de intervención aleatorizados (Hernán y Taubman, 2008). Pero probablemente esto seguirá siendo objeto de controversia en las próximas décadas hasta que no se disponga de estudios clínicos aleatorizados de intervención que superen las limitaciones y sesgos inherentes a los diseños observacionales, que son los que hasta ahora han valorado en sujetos inicialmente libres de enfermedad la asociación entre sobrepeso/obesidad y la incidencia de eventos clínicos *duros* o mortalidad. Los estudios observacionales con mejor control de sesgos han constatado que la mortalidad por cualquier causa crece progresivamente con un aumento de la adiposidad fuera del rango del peso normal - medido según el índice de masa corporal (IMC, definido como el peso en kg dividido entre el cuadrado de la altura en m)- y que este riesgo es especialmente elevado para

la **mortalidad cardiovascular** (Berrington de González et al, 2010; GBD 2015 Obesity Collaborators). El aumento de peso corporal se ha asociado no sólo a mayor mortalidad, sino también a una mayor morbilidad por ECV (Ni Mhurchu et al, 2004; Song et al, 2004; Flint et al, 2010); un mayor riesgo de desarrollar ciertos tipos de cáncer (Lauby-Secretan B, et al 2016), diabetes y depresión (Luppino et al, 2010), y una peor función cognitiva (Gunstad et al, 2010). Por tanto, son necesarios ensayos aleatorizados a gran escala con diseños robustos que puedan proporcionar evidencias del máximo nivel.

Los grupos de expertos creados por los Institutos Nacionales de Salud y la Organización Mundial de la Salud recomiendan que los adultos con sobrepeso con patología y los obesos pierdan el 10% de su peso inicial, y el tratamiento primario debería consistir en una intervención sobre el estilo de vida (*National Institute of Health*, 1998; Organización Mundial de la Salud, 1998). Por otro lado, según la Asociación Americana de Dietistas, dicha intervención para perder peso debe incluir una dieta hipocalórica, la práctica de actividad física y una terapia conductual. El único ensayo aleatorizado que ha estudiado el efecto a largo plazo de un programa de estilo de vida, dirigido a la reducción de peso en adultos obesos usando como desenlace los eventos clínicos de ECV y la mortalidad es el ensayo Look AHEAD (Ryan et al, 2003). Este ensayo, que incluyó a 5145 participantes (Rejeski et al, 2012) concluyó prematuramente en Octubre de 2012 por falta de eficacia (Look AHEAD Research Group, 2013). El ensayo *Look AHEAD* incluyó sólo a sujetos diabéticos y se basaba en el paradigma de *dieta baja en grasa* (<30% de la ingesta energética total, <10% de grasa saturada). Hasta cierto punto, esto lo opuesto a la dieta mediterránea utilizada en el ensayo PREDIMED (Zazpe et al, 2008; Martínez-González et al, 2012; Estruch et al, 2013), la cual es rica in grasas vegetales saludables tal como las procedentes del aceite de oliva virgen y frutos secos. En los últimos años, las sociedades científicas han recomendado dietas bajas en grasa (que aporten menos del 30% de la energía en forma de grasa). Éste ha sido el enfoque que se ha considerado más adecuado para promover la pérdida de peso y la salud en general. Se ha temido que la alta densidad energética y la alta palatabilidad de los alimentos ricos en grasas conlleven efectos potencialmente adversos sobre el peso corporal y la salud cardiovascular (*National Institute of Health*, 2000). Pero tanto la interrupción del ensayo *Look AHEAD* por su futilidad, como la ineficacia del ensayo *Women's Health Initiative Dietary Modification trial* (Look Ahead Research Group, 2013; Howard, 2006), como los resultados favorables de los estudios PREDIMED (Estruch et al, 2013) y DIRECT (Shai et al,

2008) constituyen poderosos argumentos en contra de aproximaciones basadas en dietas bajas en grasa.

Aunque las dietas que pautan carbohidratos complejos, disminución de grasa y restricción de energía para bajar de peso están generalmente aceptadas, no hay evidencia clara de que la grasa dietética se asocie a un mayor aumento de peso (Willett, 2001; Nordmann et al, 2006; Larsen et al, 2010; Hu et al, 2012; Bueno et al, 2013). Un paradigma dietético diferente al de una dieta baja en grasa y que puede ser más útil en la ejecución y desarrollo de programas dirigidos a lograr una pérdida mantenida de peso y mejorar las alteraciones metabólicas relacionadas con el sobrepeso/obesidad es la **dieta mediterránea tradicional**. Se trata de un patrón alimentario rico en grasas de fuentes vegetales naturales (aceite de oliva virgen y frutos secos), con un consumo abundante de alimentos de origen vegetal mínimamente elaborados (verduras, frutas, cereales integrales y legumbres), bajo consumo de carne (especialmente de carnes rojas o procesadas), consumo moderado de pescado y vino (normalmente consumido en las comidas) y frugalidad en las comidas. El alto contenido en grasa de la dieta mediterránea tradicional hace que sea más palatable y, por tanto, aceptable y fácilmente sostenible a largo plazo.

De hecho, la Guía de Alimentación para los Norteamericanos (*Dietary Guidelines for Americans*), en su edición de 2010 reconoce ya la Dieta Mediterránea tradicional, junto con la dieta DASH, como una dieta saludable para la prevención de ECV aunque en el momento de emitir tal recomendación aún no se disponía de ensayos clínicos aleatorizados de prevención primaria con eventos clínicos mayores como evento principal. Esto ha sido confirmado por los resultados del ensayo de prevención primaria cardiovascular PREDIMED, realizado en España entre 2003-2010 (Estruch et al, 2013).

Respecto a las propiedades de la dieta mediterránea tradicional para la pérdida de peso, en un meta-análisis de ensayos aleatorizados, la asignación a una dieta mediterránea en comparación con dietas control mostró un efecto pequeño, pero significativo, en la reducción del peso corporal (diferencia de medias: -1,75 kg, IC 95%: -2,86 a -0,64 kg). Este efecto se duplicó cuando la restricción de energía se aplicó a la dieta mediterránea (Esposito et al, 2011). Posteriormente, el ensayo PREDIMED mostró ventajas similares para la prevención del aumento de peso en un seguimiento considerablemente a más largo plazo y con un mayor tamaño de muestra (Estruch et al, 2016). Varios meta-análisis de estudios observacionales (Sofi et al, 2010; Sofi et al, 2014; Martínez-González et al, 2017; Dinu et al, 2018), se observó que una mayor adherencia a la Dieta Mediterránea se asociaba a reducciones significativas en la

mortalidad total, cardiovascular y por cáncer, incidencia de eventos cardiovasculares no mortales y riesgo de enfermedades neurodegenerativas. Una posterior actualización del meta-análisis de dieta mediterránea y ECV constató una reducción relativa del riesgo del 13% por cada dos puntos más de conformidad con una escala de 0 a 9 puntos de adherencia a la dieta mediterránea tras identificar y tratar las fuentes de heterogeneidad (Martínez-Gonzalez y Bes-Rastrollo, 2014).

El ensayo aleatorizado **PREDIMED** (“**PRE**venición con **Dieta MEDiterránea**”), el cual incluyó a 7.447 participantes seguidos durante una mediana de 5 años y fue el **mayor ensayo nutricional aleatorizado** jamás realizado **en Europa**. El ensayo PREDIMED demostró que una **dieta mediterránea alta en grasa** suplementada con aceite de oliva virgen o frutos secos implementada en un entorno de prevención cardiovascular primaria resultó en una **reducción de un 30% los eventos clínicos de ECV** después de una mediana de 4.8 años de intervención en comparación con la recomendación de seguir una dieta baja en grasa (Estruch et al, 2013). El ensayo **PREDIMED** ha sido un hito mundialmente reconocido y marcará un antes y un después en la **prevención de enfermedades crónicas**. El haber demostrado una reducción efectiva de los eventos graves cardiovasculares usando una **dieta mediterránea** con un diseño aleatorizado proporciona la mejor evidencia científica posible para prevenir la **enfermedad cardiovascular**, la **principal causa de muerte en el mundo**. Cabe destacar que las dietas utilizadas en el ensayo **PREDIMED** fueron *ad libitum*, no se promovió el incremento de la actividad física, y no se dieron consejos para perder peso.

Se ha postulado que la asociación entre la adherencia a la dieta mediterránea tradicional y el riesgo de ECV puede estar mediada por distintos mecanismos como la reducción en la inflamación de bajo grado (Chrysohoou et al, 2004; Esposito et al, 2004; Mena et al, 2009; Camargo et al, 2011; Urpi-Sarda et al, 2012; Meneses et al, 2012), mayores niveles de adiponectina (Detopoulou et al, 2010; Razquin et al, 2010), menor coagulabilidad (Chrysohoou et al, 2004; Pérez-Jiménez et al, 2006; Pérez-Jiménez et al, 2002), mejoría de la función endotelial (Esposito et al, 2004; Ruano et al, 2005; Fuentes et al, 2008), menor estrés oxidativo (Dai et al, 2008; Chrysohoou et al, 2011; Razquin et al, 2009), menor concentración de lipoproteínas aterogénicas (Jones et al, 2012), menores niveles de partículas de LDL oxidadas (Fito et al, 2007) y menor captación por los macrófagos de las LDL oxidadas (Moreno et al, 2008). Además, los dos alimentos suplementados en el ensayo PREDIMED – aceite de oliva virgen extra y frutos secos – también poseen propiedades biológicas beneficiosas. El aceite de oliva virgen extra presenta un perfil de ácidos grasos saludable y contiene

numerosos compuestos fenólicos bioactivos (Pérez-Jiménez et al, 2006; Covas et al, 2009; López-Miranda et al, 2010). Los compuestos fenólicos del aceite de oliva poseen propiedades antiinflamatorias (Fito et al, 2008), impacto beneficioso sobre el perfil lipídico (Benkhalti et al, 2002; Covas et al, 2006), mejoran los marcadores de estrés oxidativo (Covas et al, 2006), ejercen un efecto antiagregante plaquetario (de Roos et al, 2011; Fito et al, 2008) y estimulan la biogénesis mitocondrial (Zhu et al, 2010). Los frutos secos presentan también un perfil de ácidos grasos saludables basado en ácidos grasos mono- y poliinsaturados, y también contienen minerales, vitaminas y otros compuestos bioactivos antioxidantes, aminoácidos esenciales, fibra, y fitosteroles (Ros, 2009). El consumo de frutos secos se ha asociado a menores concentraciones de colesterol total, colesterol LDL y no-HDL y apolipoproteína B-100 (Li et al, 2009; Sabaté et al, 2010) y menor inflamación (Jiang et al, 2006). Los frutos secos también ejercen un efecto antioxidante, benefician el ritmo cardíaco y mejoran la función plaquetaria y endotelial (Ros, 2009; Defilippis et al, 2010). Todos estos mecanismos pueden explicar el efecto antiaterogénico de una dieta mediterránea rica en frutos secos y aceite de oliva virgen extra. De hecho en el ensayo PREDIMED se observó un fuerte efecto protector frente a la arteriopatía periférica (Ruiz-Canela et al, 2014). En un subestudio del ensayo PREDIMED también se observó que ambas dietas mediterráneas, enriquecidas con frutos secos o aceite de oliva, reducían en un 48% el riesgo de incidencia de diabetes tipo 2 (Salas-Salvadó et al, 2011). Al analizar esta asociación en todos los participantes del estudio se encontró también una protección significativa de la dieta mediterránea frente a la diabetes (Salas-Salvadó et al, 2014).

Aunque el estudio PREDIMED no fue un estudio de pérdida de peso, la provisión gratuita de abundantes alimentos ricos en grasa de origen vegetal natural (aceite de oliva virgen extra y nueces) no condujo al aumento de peso. Actualmente, no se dispone de **evidencia experimental** suficiente que avale que la pérdida intencional de peso, mediante una dieta saludable y cambios favorables del estilo de vida, reduzca la mortalidad o la incidencia de ECV a largo plazo. Concretamente, el impacto de la pérdida de peso sobre el riesgo de ECV en el marco de un patrón de **dieta mediterránea** aún no ha sido testado utilizando un ensayo clínico aleatorizado de una envergadura suficiente (Malik y Hu, 2007). Ante la epidemia de obesidad, se propone la puesta en marcha de un nuevo ensayo, **PREDIMED-PLUS**, que vaya más allá de lo logrado con el ensayo **PREDIMED** y afronte además más específicamente el problema del sobrepeso y la obesidad. La estrategia que se propone tiene efectos positivos para la pérdida de peso (centrada en la pérdida de masa grasa), así como en el mantenimiento de la pérdida de peso a largo plazo (Shai et al, 2008; Beunza et al,

2010; Romaguera et al, 2010; Estruch et al 2016). Todavía más interesante es que esta investigación puede demostrar que un portafolio con una **intervención multifactorial** (patrón alimentario + reducción de peso + actividad física + intervención conductual) sobre el estilo de vida puede ser un medio muy efectivo para la reducción del riesgo cardiovascular asociado al sobrepeso/obesidad que puede ir más allá de los beneficios de una dieta mediterránea sin restricción calórica. Se espera que nuestra contribución a través del ensayo **PREDIMED-PLUS** permita conocer las sinergias entre los efectos de una intervención intensiva sobre la pérdida de peso (con **restricción calórica**, actividad física y terapia conductual) y los efectos beneficiosos de una mayor adherencia a una dieta de alta calidad (es decir, la **dieta mediterránea**) en la incidencia de ECV.

Por otra parte, se van a recoger y almacenar muestras de sangre y orina al inicio y a lo largo del estudio. El posterior análisis de biomarcadores bioquímicos, moleculares en el marco de estudios genéticos y epigenéticos, de transcriptómica, metabolómica y proteómica permitirá ayudar a determinar los beneficios de la intervención así como los mecanismos subyacentes.

HIPÓTESIS

Una **intervención intensiva** sobre el estilo de vida fundamentada en una **dieta mediterránea tradicional** hipocalórica, aumento de la actividad física y soporte conductual proporciona un enfoque **sostenible** y una reducción de peso mantenida en adultos con sobrepeso u obesidad que cumplen criterios de síndrome metabólico, de tal modo que los cambios de estilo de vida conseguidos tendrán efectos beneficiosos a largo plazo sobre la incidencia de ECV.

En comparación con la mera educación sobre dieta mediterránea (grupo control) sin intervención alguna sobre la ingesta calórica o la actividad física, una intervención intensiva sobre el estilo de vida fundamentada en una **dieta mediterránea tradicional** hipocalórica, promoción de actividad física y soporte conductual (grupo de intervención) en personas con sobrepeso u obesidad y síndrome metabólico conseguirá:

1. Una reducción del riesgo de eventos cardiovasculares
2. Una superior reducción del peso corporal y mejor mantenimiento a largo plazo de la pérdida de peso.

OBJETIVOS

El objetivo a largo plazo es proporcionar un tratamiento efectivo para *reducir la excesiva **morbi-mortalidad cardiovascular** en adultos con sobrepeso u **obesidad***, independientemente de su condición de diabéticos al inicio del estudio. Para ello se pretende evaluar el efecto cardiovascular de una intervención **intensiva** de estilo de vida y pérdida de peso basada en la **dieta mediterránea tradicional**, pero incluyendo además promoción de ejercicio físico, reducción calórica y soporte conductual (grupo de intervención), en comparación con un programa no intensivo de educación con **dieta mediterránea tradicional para la prevención CV según los principios del ensayo PREDIMED 1, junto con** los cuidados habituales (*“usual care”*) de los profesionales de la Atención Primaria de salud (grupo control), insistiendo en la importancia de asistir a las visitas de los profesionales sanitarios correspondientes y dando recomendaciones generales sobre el manejo del síndrome metabólico.

Objetivos específicos principales

Evaluar el efecto de la intervención **intensiva** sobre el estilo de vida fundamentada en una **Dieta Mediterránea tradicional** con **restricción de energía, actividad física** y tratamiento **conductual**, con objetivos específicos de pérdida de peso sobre:

1. La incidencia de **ECV** (infarto de miocardio no mortal, ictus no mortal o muerte cardiovascular).
2. La **pérdida de peso y su mantenimiento a largo plazo**.

Objetivos específicos secundarios

Es muy probable que la presente intervención intensiva resulte en una reducción en: perímetro de la cintura, síndromes coronarios agudos, revascularización coronaria, mortalidad total, insuficiencia cardíaca, enfermedad arterial periférica, trombosis venosa, fibrilación auricular, diabetes tipo 2 y sus complicaciones, cáncer total, cáncer de las principales localizaciones (mama, próstata, colorectal, pulmón y estómago), enfermedad de cálculos biliares, gota sintomática, hiperuricemia, enfermedades neurodegenerativas (demencia y enfermedad de Parkinson), depresión unipolar, fracturas óseas y trastornos de conducta alimentaria.

Asimismo, se evaluará el efecto de la intervención sobre los resultados intermedios: la ingesta de nutrientes y el patrón alimentario global, la presión arterial sistólica y diastólica, las concentraciones séricas de lípidos, glucemia en ayunas, hemoglobina glicosilada y ácido úrico, función hepática y renal, niveles de proteína C reactiva, necesidad de medicación antihipertensiva, uso de fármacos antidiabéticos

orales e hipolipemiantes, alteraciones del ECG, función cognitiva, calidad de vida, y escalas psicopatológicas.

Por otra parte, se va a almacenar plasma, suero, células periféricas y muestras de orina, para poder evaluar otras hipótesis en el futuro, dependiendo de la disponibilidad de financiación adicional.

METODOLOGIA

1. Resumen

Se está llevando acabo un ensayo de grupos paralelos, multicéntrico, aleatorizado y de prevención primaria en **hombres de 55-75 años y mujeres de entre 60-75 años**, con un **IMC ≥ 27 y < 40 kg/m²**, que cumplen con al menos **3 criterios** de **síndrome metabólico**. Se considera aumentado el riesgo cardiovascular si el perímetro de la cintura es ≥ 80 cm en mujeres y ≥ 94 cm en población caucásica - se consideran los mismos valores para mujeres sudamericanas y en hombres sudamericanos se considera riesgo aumentado si el perímetro de cintura ≥ 90 cm - (Alberti et al, 2009). Los pacientes con diabetes tipo 2 representan el 27% del total de participantes. Esto último, unido al uso de **dieta mediterránea tradicional**, diferencia sustancialmente al PREDIMED-PLUS del ensayo Look AHEAD en EEUU (Ryan et al, 2003; Gregg et al, 2012; Look AHEAD Research Group, 2013), recientemente interrumpido por falta de eficacia. Los participantes fueron aleatorizados en una proporción 1:1 a un grupo control o a un grupo de intervención intensiva sobre el estilo de vida. La intervención se mantendrá durante **6 años**, con un seguimiento medio de **8 años para eventos clínicos**. El grupo **control** recibe la atención habitual por profesionales de atención primaria y todo el material escrito educativo así como las instrucciones para el seguimiento de la **dieta mediterránea** que ya se ha utilizado en el ensayo PREDIMED y ha demostrado beneficios en la prevención de morbi-mortalidad cardiovascular, además de recomendaciones generales sobre el estilo de vida para el manejo del síndrome metabólico. A los participantes del grupo control se les ofrece una sesión grupal cada 6 meses por parte del equipo de dietistas del estudio PREDIMED-PLUS, donde ellos reciben de forma gratuita aceite de oliva virgen (6 litros cada 6 meses) y frutos secos (750 g cada 6 meses) si asisten a estas sesiones, con el objetivo de potenciar la dieta mediterránea y fidelizarlos al ensayo.

A los participantes del grupo de **intervención intensiva de estilo de vida** se les prescribe una **dieta mediterránea tradicional, pero en este caso, esta es hipocalórica**. La intervención dietética está asociada con un aumento de la actividad física y soporte conductual, con objetivos específicos de pérdida de peso, incluyendo

la auto-monitorización y un seguimiento frecuente durante todo el estudio. Estos participantes participan en entrevistas individuales y sesiones grupales de motivación a base de 3 contactos mensuales el primer año de intervención y 2 contactos mensuales a partir del primer año. Se les suministra gratuitamente aceite de oliva virgen extra (1 l/mes) y frutos secos (125 g/mes de la cantidad total recomendada de 500 g)*. Inicialmente, se decidió proporcionar gratuitamente 500 g por mes de frutos secos a cada participante durante la intervención con el fin de reforzar la adherencia a la dieta mediterránea en ambos brazos del ensayo. Sin embargo, debido a la falta de recursos económicos, solo los participantes incluidos en el estudio piloto reclutados en 2 centros de vanguardia hasta julio de 2014 recibieron gratuitamente 250 g de frutos secos (125 g de pistachos y 125 g de almendras por mes) junto con la recomendación de consumir una cantidad total mensual de 500g. Posteriormente, todos los participantes del ensayo reciben gratuitamente durante todo el seguimiento 125 g de almendras por mes de la cantidad total recomendada de 500 g. El nivel de cumplimiento de la intervención es controlado periódicamente con el objeto de ir adaptando si se considerase necesario.

El objetivo específico de pérdida de peso de la intervención intensiva es conseguir una **reducción media de peso superior al 8%** y una reducción media de la circunferencia de la **cintura superior al 5%** en los primeros 6 meses y su mantenimiento por un período adicional de 7,5 años. El objetivo final es obtener una diferencia media absoluta entre grupos (grupo de intervención intensiva vs. el grupo control) en la pérdida de peso y reducción de la cintura, ambos > 5%.

El evento final primario incluye: a) infartos de miocardio no mortales, b) ictus no mortal y c) muerte cardiovascular. Otros objetivos primarios son la pérdida de peso (y su mantenimiento) y el cambio en la calidad de vida. El protocolo del ensayo será registrado en ClinicalTrials.gov (*National Institutes of Health*) y cumplirá con las guías CONSORT para informar de los resultados (Moher et al, 2001).

2. Investigadores del estudio

**La decisión de recomendar 500 g al mes de frutos secos se basa en diferentes estudios epidemiológicos y clínicos. En el estudio SUN (Seguimiento Universidad de Navarra) demostró que aquellos individuos que consumían frutos secos dos o más veces por semana (400 g/mes) presentaron un riesgo significativamente inferior de ganancia de peso y de síndrome metabólico que aquellos que raramente o nunca consumían frutos secos (Fernández-Montero et al, 2012, Bes-Rastrollo et al, 2007). Por otro lado, una dieta tipo Mediterráneo moderada en grasa conteniendo 25 g/día de cacahuets o frutos secos (750 g/mes) se asoció a una mejor adherencia a la intervención y a una mayor pérdida de peso que una dieta baja en grasa (McManus et al, 2001). También se apoya en las asociaciones observadas entre consumo de frutos secos y mortalidad en el estudio PREDIMED (en cuanto a consumo basal) (Guasch-Ferre et al, 2013) y en las cohortes norteamericanas de las enfermeras y profesionales sanitarios (Bao et al, 2013).*

El ensayo PREDIMED-PLUS incluye 6,874 participantes, 3,406 participantes asignados al grupo de intervención intensiva y 3468 al grupo control. El reclutamiento de participantes comenzó en septiembre de 2013 y finalizó en diciembre de 2016. Los 2 centros de reclutamiento de vanguardia fueron Navarra-Epidemiología (comenzando el reclutamiento en septiembre de 2013 y la aleatorización en octubre de 2013) y Reus (comenzando el reclutamiento en noviembre de 2013 y la aleatorización en enero de 2014).) La capacitación de dietistas para los otros centros de reclutamiento se llevó a cabo en diciembre de 2013. Los objetivos propuestos inicialmente de reclutamiento con 20 centros reclutadores fueron que incluyeran cada uno 300 participantes de media. Con el propósito de aumentar la posibilidad de cumplir el objetivo en número de participantes reclutados, en noviembre de 2014, el *Steering Committee* aceptó la inclusión de tres centros de reclutamiento adicionales [Universidad Miguel Hernández, Sant Joan d'Alacant, Alicante (IP: Jesús Vioque); Universidad de Jaén, Jaén (IP: Miguel Delgado Rodríguez) y; Universidad de León, León (IP: Vicente Martín)]. La muestra final incluyó 6,874 participantes distribuidos en 23 centros.

Para la puesta en marcha de este ensayo se reunió a un destacado equipo de investigadores con experiencia en intervenciones sobre dieta y estilo de vida y con una fructífera y documentada trayectoria de investigación colaborativa en nutrición, evaluación de la actividad física, medicina interna, cardiología, endocrinología, atención primaria de salud, epidemiología y ciencias básicas.

La experiencia previa de los 11 nodos reclutadores del PREDIMED es uno de los activos más valiosos con los que se cuenta para iniciar el PREDIMED-PLUS. La incorporación de otros centros (algunos de ellos también del CIBEROBN) que no han participado en el PREDIMED y se sumarán a esta iniciativa garantizará el buen desarrollo del estudio PREDIMED-PLUS, ya que son grupos con alta solvencia científica y gran experiencia en ensayos clínicos de intervención nutricional. Esto incrementará la factibilidad del ensayo propuesto.

Asimismo, se diseñarán subproyectos ligados al ensayo principal, de modo que todos los grupos participantes puedan desarrollar las actividades específicas de investigación nutricional que les son propios. Ello ayudará a aumentar el interés por el proyecto y a obtener un mayor rendimiento.

3. Estudios preliminares: el ensayo PREDIMED

Se presenta un resumen de la metodología y los hallazgos clave del ensayo **PREDIMED** (Estruch et al, 2006; Zazpe et al, 2008; Martínez-González et al, 2012; Estruch et al, 2013), Este estudio se realizó en el marco del CIBEROBN y de la Red

PREDIMED (RD06/0045). Se trata de un ensayo multicéntrico, de grupos paralelos, aleatorizado con tres grupos de intervención (ver www.predimed.es). En el año 2006 se publicaron los resultados de un estudio piloto en el que se valoraron los efectos a 3 meses de las tres intervenciones sobre factores de riesgo cardiovascular clásicos y emergentes en los primeros 772 participantes (Estruch et al; 2006). Su diseño y métodos han sido objeto de una publicación específica (Martínez-González et al, 2012). Los participantes fueron hombres de entre 55-80 años y mujeres de 60-80 años sin ECV en al inicio del estudio y con alto riesgo cardiovascular, por presentar una diabetes tipo2 o al menos tres de los siguientes seis factores de riesgo cardiovascular: tabaquismo, hipertensión arterial, colesterol-LDL elevado, colesterol-HDL bajo, sobrepeso/obesidad o historia familiar de enfermedad coronaria precoz.

Los candidatos elegidos fueron reclutados en centros de salud (Atención Primaria). Entre los que fueron invitados, el 89% aceptó participar y firmó el correspondiente consentimiento informado. El tamaño de la muestra final del ensayo fue de 7447 participantes. El protocolo fue aprobado por el comité de ética de investigación de todos los centros del estudio y fue registrado en el Registro de ensayos clínicos de Londres (ISRCTN35739639).

Los participantes fueron asignados al azar en una proporción 1:1:1 a cada uno de los tres grupos de intervención de que constaba el ensayo:1) **Dieta mediterránea** sin restricción energética suplementada con **aceite de oliva virgen extra**; 2) **Dieta mediterránea** sin restricción energética suplementada con **frutos secos**; 3) Grupo **control** (consejo para seguir una dieta baja en grasa) sin restricción energética.

Al inicio del estudio y trimestralmente, los dietistas realizaban sesiones individuales y grupales por separado para cada uno de los grupos de intervención y con menos de 20 participantes por grupo (Zazpe et al, 2008). En cada sesión se recogía un cuestionario con 14 puntos (Martínez-González et al, 2004; Schroeder et al, 2011) para evaluar la adherencia a la dieta mediterránea o un cuestionario de 9 puntos para evaluar la adherencia a la dieta control. De esta manera, las dietas podrían personalizarse y los cambios dietéticos apropiados podrían negociarse individualmente con cada participante.

Asimismo, los participantes en los dos grupos de **dieta mediterránea** recibieron **aceite de oliva virgen extra** (1 litro/semana, para el participante y la familia) o **frutos secos** (30 g/día: 15 g de nueces, 7,5 g de avellanas y 7,5 g de almendras, para el participante) de forma gratuita de acuerdo con el grupo asignado al azar, mientras que los participantes asignados al azar al grupo control recibieron artículos o incentivos no

alimentarios durante todo el estudio .A lo largo de toda la intervención, en ningún momento se pautó una restricción de energía ni se promocionó la actividad física.

La información sobre los eventos primarios finales (muerte cardiovascular, ictus no mortal o infarto agudo de miocardio no mortal) se obtuvo a través del contacto continuo con los participantes, de los médicos de atención primaria de salud, de las revisiones anuales que se hacían *ad hoc* de las historias clínicas de todos los participantes por un equipo médico en cada nodo, y de una consulta anual del Índice Nacional de Defunciones.

Los datos fueron analizados según los principios del análisis por intención de tratar. Los participantes fueron seguidos durante una mediana de 4,8 años.

Durante el estudio, los participantes de los grupos a los que se les aconsejó seguir la dieta mediterránea aumentaron la adhesión a este patrón alimentario, reflejado en un aumento medio de 2 puntos en el cuestionario de adherencia de 14 puntos a lo largo de la duración del estudio. En este sentido, hay que destacar que los participantes de los grupos de dieta mediterránea tuvieron una mayor puntuación media que los participantes del grupo control en todos los ítems, excepto en el de carnes rojas y/o elaboradas y en el de bebidas gaseosas azucaradas, ya que su consumo se desaconsejaba en los tres grupos de intervención.

Tras una mediana de seguimiento de 4,8 años, 288 participantes tuvieron algún evento cardiovascular mayor. Las *hazard ratios* ajustadas fueron de 0,70 (intervalo de confianza (IC) al 95% 0,54 a 0,92) para el grupo de Dieta Mediterránea suplementada con aceite de oliva virgen extra y 0,72 (IC al 95%, 0,54 a 0,96) para el grupo de Dieta Mediterránea suplementada con frutos secos (ver Figura 1) en comparación con el grupo control.

FIGURA 1. Incidencia acumulada de eventos cardiovasculares mayores (muerte cardiovascular, infarto de miocardio no mortal, ictus no mortal) según grupo de aleatorización (n=7.447).



4. Ensayo propuesto (PREDIMED-PLUS) y criterios de elección

El nuevo ensayo que aquí se describe incluye una población de adultos de entre 55-75 años (60-75 para las mujeres) con un IMC ≥ 27 y < 40 kg/m² y que cumplen por lo menos 3 de los criterios para el síndrome metabólico (Alberti et al, 2009). Se exige la presencia de estos criterios, teniendo en cuenta evidencias recientes del papel beneficioso de la dieta mediterránea sobre el síndrome metabólico (Kastorini et al, 2011; Salas-Salvadó et al, 2008), la resistencia a la insulina y la diabetes (Salas-Salvadó, 2014), especialmente cuando se acompaña de promoción de actividad física de resistencia (Fernández et al, 2012). Aproximadamente, el 50% de la población de estudio este compuesta de mujeres y las personas diabéticas representan el 27% de la muestra final. Los individuos que participaron en el primer estudio PREDIMED no fueron candidatos al nuevo estudio PREDIMED-PLUS.

4.1. Criterios de exclusión:

- Incapacidad o falta de voluntad para dar consentimiento informado por escrito o comunicarse con el personal del estudio o analfabetismo.
- Institucionalización del participante (que habite en residencias o centros de larga estancia).
- Historia documentada de ECV previa, incluyendo la angina de pecho, infarto de miocardio, procedimientos de revascularización coronaria, accidente cerebrovascular (ya sea isquémico o hemorrágico, incluidos los ataques isquémicos transitorios), enfermedad arterial periférica sintomática que haya requerido cirugía o

que fuera diagnosticada con técnicas de imagen vascular, las arritmias ventriculares; fibrilación auricular no controlada, insuficiencia cardiaca congestiva (Clase III o IV de la *New York Heart Association*), miocardiopatía hipertrófica, e historia de aneurisma aórtico $\geq 5,5$ cm de diámetro o cirugía de aneurisma de aorta.

- Cáncer activo o antecedentes de tumores malignos en los últimos 5 años (con excepción del cáncer de piel no melanoma).
- Imposibilidad de seguir la dieta recomendada (por razones religiosas, problemas de deglución, etc.) o incapacidad para realizar actividad física.
- Baja probabilidad predicha de cambiar los hábitos alimentarios de acuerdo a los estadios de Prochaska y DiClemente del modelo de estadios de cambio (Nigg et al, 1999).
- La incapacidad 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.)
- Haber sido incluido en otro programa de consejos para pérdida de peso (> 5 kg) durante los 6 meses previos a la visita de selección.
- Historia de haber seguido una dieta de muy bajo valor calórico durante los 6 meses antes del inicio del estudio.
- Antecedentes de procedimientos quirúrgicos para bajar de peso o intención de someterse a cirugía bariátrica en los próximos 12 meses.
- Historia de resección del intestino delgado o grueso.
- Historia de enfermedad inflamatoria intestinal.
- Obesidad de origen endocrino conocido (con la excepción de hipotiroidismo tratado).
- Alergia a alimentos o componentes de la dieta mediterránea.
- Inmunodeficiencia o estado VIH positivo.
- Cirrosis o insuficiencia hepática.
- Trastornos psiquiátricos graves: esquizofrenia, trastorno bipolar, trastornos de la conducta alimentaria, depresión con hospitalización en los últimos 6 meses.
- Toda condición severa de comorbilidad con menos de 24 meses de esperanza de vida.
- Consumo problemático de alcohol o síndrome de dependencia alcohólica (o ingesta total diaria de alcohol > 50 g) o abuso de drogas en los últimos 6 meses.
- Historia del trasplante de órgano vital.
- Tratamiento concomitante con fármacos inmunosupresores o agentes citotóxicos.
- Tratamiento actual con corticosteroides sistémicos.
- Uso actual de medicación para la pérdida de peso.

- Participación simultánea en otro ensayo clínico aleatorizado.
- Los pacientes con una infección aguda o inflamación (por ejemplo, neumonía) se les permitirá participar en el estudio 3 meses después de su recuperación.
- Cualquier otra condición que pueda interferir con la realización del protocolo del estudio.

5. Reclutamiento y estrategia de retención

Los participantes fueron reclutados por los médicos de familia de los Centros de Salud de atención primaria asociados a los nodos de reclutamiento. La misión de los médicos de atención primaria fue garantizar una alta tasa de reclutamiento y una exhaustividad lo más cercana al 100% en la revisión de las historias clínicas y recogida de información clínica sobre eventos durante el seguimiento. Teniendo en cuenta que los médicos involucrados son los responsables de la atención médica de los participantes, no existió ningún conflicto potencial ético de confidencialidad en la etapa de identificación de los participantes candidatos ni en las consultas de historias clínicas. Los datos demográficos de los participantes, así como los criterios de elegibilidad, fueron obtenidos de los registros de los centros de salud, que están en su totalidad informatizados. Esta tarea se hizo en una etapa de evaluación previa a la selección antes de que el potencial participante fuera contactado. A los candidatos se les entrevistó brevemente por teléfono para ser informados sobre el estudio y se les invitó a asistir a una visita en los centros de atención primaria.

En esta primera visita o *visita de selección 1* se explicó a los candidatos al estudio el propósito y características del mismo y, en caso de aceptar participar, se les pedía que firmaran el consentimiento informado. De acuerdo con nuestra experiencia con el ensayo PREDIMED, más del 95% de los candidatos elegidos y que fueron localizados de esta forma estuvieron de acuerdo en participar en el estudio (Martínez-González et al, 2012; Estruch et al, 2013). Además, en el ensayo PREDIMED, que también incluyó una intervención de estilo de vida a largo plazo (mediana de seguimiento 4.8 años), la tasa de retención global fue superior al 90% (Estruch et al, 2013).

6. Consentimiento informado/Comité de Ética

Las juntas de revisión institucional de todos los centros de reclutamiento aprobaron el protocolo de estudio. Como ya se ha explicado y se detalla más adelante, todos los participantes firmaron los formularios de consentimiento por escrito.

7. Puesta en marcha del estudio

El calendario previsto fue el siguiente:

- Entre agosto de 2013 y enero de 2014, fueron contratados el personal dietista-nutricionista y de enfermería, y capacitados para entregar el protocolo del ensayo.
- Entre agosto de 2013 y mayo 2014, los potenciales candidatos elegibles comenzaron a ser llamados, entrevistados e invitados a participar en el ensayo.
- A continuación, se llevaron a cabo las primeras visitas de evaluación e intervención con participantes seleccionados y aleatorizados al azar.
- El período de reclutamiento finalizó en diciembre de 2016.

7.1. El objetivo de la etapa inicial del ensayo (llamadas telefónicas y entrevistas) fue evaluar la disposición de cada candidato para participar en el estudio, su posible cumplimiento con la intervención prevista y su disponibilidad a perder peso. Además, los posibles participantes se evaluaron exhaustivamente para garantizar que se cumplieran los criterios de elegibilidad, y evaluar su probabilidad de:

- a) asistir a las sesiones programadas,
- b) completar las herramientas de evaluación del protocolo, autocontrol y registro de datos de estilo de vida y hábitos alimentarios, y lo que es más importante,
- c) su disposición y actitud para cambiar sus hábitos alimentarios de acuerdo con el modelo de las etapas del cambio (Nigg et al, 1999), tal como se hizo en el PREDIMED.

7.2. El período de rodaje (run-in) o evaluación previa a la aleatorización duró 4 semanas. Comprendía una visita inicial de selección, una llamada telefónica de refuerzo a las 2 semanas y otra visita de evaluación al final

7.2.1. La visita de selección¹ (45-60 min), incluye:

- a) La administración de un cuestionario de inclusión o exclusión. Sólo si el participante fue elegible se pasa al punto 2.
- b) Explicación del estudio, entrega de la **hoja de información del estudio** para el paciente y cumplimentación de los **consentimientos informados** (imprescindibles para su inclusión en el estudio). Los candidatos elegibles firmaban dos formularios de consentimiento informado: uno para la participación y análisis de las variables generales y otro para la recolección de muestra de ADN para análisis genéticos. Se explicaba detalladamente todos los procedimientos y el compromiso de tiempo previsto. A los candidatos también se les informó que, si no cumplían los criterios de elegibilidad serían excluidos del estudio. El formulario de consentimiento informado incluye una declaración que permite a los investigadores revisar las

historias clínicas del participante, tanto en los centros de atención primaria como en los hospitales de referencia a lo largo de todo el tiempo que dure el ensayo, a fin de determinar y adjudicar la ocurrencia de cualquier evento.

c) Registrar un trazado de ECG, así como las determinaciones protocolizadas y estandarizadas de altura, peso, cintura y presión arterial.

d) Proporcionar a los participantes material escrito sobre recomendaciones generales acerca del manejo del síndrome metabólico en forma de díptico.

e) Proporcionar un cuaderno de registro de alimentos prospectivo de 3 días (2 días hábiles y 1 día de fin de semana), un cuestionario de actividad física en el tiempo libre y un registro autocontrol en el que los participantes registraban su peso, circunferencia de la cintura y circunferencia de la cadera (los participantes recibieron una cinta métrica). Los/las dietistas dieron instrucciones de cuándo y cómo cumplimentar el registro de alimentos y el cuestionario de actividad física, y cómo registrar sus medidas de peso, circunferencia de la cintura y cadera (1 vez/semana durante el periodo de ejecución del ensayo).

f) Proporcionar a los participantes los cuestionarios clínico-psicopatológicos (Depresión de Beck BDI-II, escala multidimensional de locus de control sobre el peso, y criterios diagnósticos TCA) y de calidad de vida (SF-36) para que los contestaran en sus domicilios (ver más abajo).

g) Se les pidió a los participantes que devolvieran todos los cuestionarios anteriormente mencionados bien cumplimentados en la siguiente visita (visita de selección 3).

7.2.2. Visita de selección 2. Después de dos semanas, los participantes recibieron una llamada telefónica para evaluar su cambio de peso y recordar la próxima visita, insistiéndoles en que llevaran el registro de alimentos completo, el cuestionario de actividad física, el registro de autocontrol y los cuestionarios clínico-psicopatológicos y de calidad de vida.

7.2.3. Visita de selección 3. Esta visita de evaluación al finalizar el periodo de rodaje (*run-in*) de 4 semanas (30 minutos) incluyó:

a) Recolección por el dietista el registro de alimentos, el cuestionario de actividad física, el registro de autocontrol de peso, circunferencia de la cintura y cadera, y los cuestionarios clínico-psicopatológicos y de calidad de vida.

b) Medición del peso y las circunferencias de la cintura y cadera del participante por el dietista.

c) Administración y cumplimentación de un cuestionario semicuantitativo de frecuencia de consumo de alimentos de 137 ítems y 5 tests cognitivo-

neuropsicológicos, que, a diferencia de los clínico-psicopatológicos, debían completarse en presencia de la persona. Estos 5 tests son: Mini-mental, fluencia verbal y fonológica, series inversas de dígitos, *trail making test* y test del reloj (ver más abajo).

d) Explicación a los participantes de que se les informaría por teléfono si habían sido seleccionados para participar en el ensayo.

e) Explicación de ayuno nocturno para la extracción de sangre y recogida de la primera orina de la mañana *in situ*, y de la evaluación basal inmediata tras la aleatorización, si el candidato era seleccionado para el estudio.

Sólo los candidatos que cumplieron los siguientes cuatro criterios fueron seleccionados y asignados aleatoriamente a uno de los dos grupos de intervención:

- 1) Asistencia completa a las dos sesiones anteriores en las horas programadas y respuesta a la llamada telefónica.
- 2) Correcta cumplimentación de los cuestionarios clínico-psicopatológicos y de calidad de vida que debía cumplimentar en su domicilio: Depresión de Beck BDI-II, escala multidimensional de locus de control sobre el peso, criterios diagnósticos TCA y cuestionario de salud SF-36.
- 3) Correcta cumplimentación del registro de alimentos y el cuestionario de actividad física.
- 4) Registro apropiado de al menos tres medidas de autocontrol de peso y otras tres de perímetro de la cintura.

Mencionar, que Inicialmente la pérdida >1.5 kg de peso corporal durante el periodo de rodaje (*run-in*) fue también uno de los criterio de selección. Sin embargo, en enero de 2014, el *Steering Committee*, siguiendo el consejo del DSMB (*Data Safety and Monitoring Board*), decidió enmendar el Protocolo y eliminar el criterio de pérdida de peso de 1,5 kg propuesto durante el período de rodaje inicial. Dicho cambio solo afectó a los primeros 70 participantes que fueron elegibles y aleatorizados en 2 centros de vanguardia.

El tiempo entre que se completó la fase de *run-in* y la entrada a la intervención varió entre una semana y un mes.

Excepcionalmente, en función de la disponibilidad del candidato de venir a la visita de Run-in S3 y siempre que los candidatos cumplan con los cuatro criterios previamente mencionados, los candidatos podrán ser aleatorizados a uno de los dos grupos de

intervención tras completar la visita de selección S2, siendo en tal caso esta visita presencial.

8. Evaluación inicial, visitas de seguimiento y evaluaciones

La tabla 1 muestra las principales medidas y actividades de toma de datos por visita (Ver a continuación).

TABLA 1. Recogida de datos en las visitas del PREDIMED PLUS.

	EVALUACIÓN PREVIA			INICIO	6M	AÑO1	AÑO2	AÑO 3	AÑO 4	AÑO 5	AÑO 6	AÑO 7	AÑO 8
	S1	S2	S3										
1. CUESTIONARIO DE ELEGIBILIDAD	X												
2. REGISTRO DE ALIMENTOS (3 DIAS)	e		r										
3. MEDICIONES ANTROPOMÉTRICAS*	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
4. CUESTIONARIO GENERAL				X									
5. 137-item FFQ			X		X	X	X	X	X	X	X	X	X
6. CUESTIONARIO DIETA MEDITERRANEA (17/14-items)**				X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
7. CUESTIONARIOS DE ACTIVIDAD FÍSICA‡	e†		r†	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
8. TEST DE LA SILLA (Evaluación actividad física)				X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
9. ACELEROMETRÍA			e	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
10. CUESTIONARIO DE SEGUIMIENTO					X	X	X	X	X	X	X	X	X
11. ELECTROCARDIOGRAMA	X				X	X	X	X	X	X	X	X	X
12. MEDICIONES DE TENSIÓN ARTERIAL	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
13. RECOGIDA DE MUESTRA DE SANGRE				X	X	X		X		X		X	X
14. RECOGIDA DE ORINA MATUTINA				X	X	X		X		X		X	X
15. RECOGIDA DE UÑAS				X		X		X		X		X	X
16. PRUEBAS COGNITIVO-NEUROPSICOLÓGICAS‡			X				X		X		X		X
17. CUESTIONARIOS CLÍNICO-PSICOPATOLÓGICOS€	e		X			X	X	X	X	X	X	X	X
18. CUESTIONARIOS DE CALIDAD DE VIDA≈	e		X			X		X		X		X	

S: Visita de selección; FFQ: Cuestionario validado semicuantitativo de frecuencia de consumo de alimentos; M: mes; e: Entrega; r: Recogida.

*Las mediciones antropométricas incluyen: peso, talla, circunferencia de la cintura y circunferencia de la cadera.

‡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.

**Se trata de cuestionarios breves de adhesión a Dieta Mediterránea. En el grupo control se utiliza el mismo cuestionario que se usó en PREDIMED (Schroeder et al, 2011) y que tiene 14 ítems. En el grupo de intervención intensiva se utiliza el cuestionario de Dieta Mediterránea hipocalórica (ver más abajo) que tiene 17 ítems.

‡Mini-Mental State Examination, test del reloj, fluencia verbal semántica y fonológica (animales + P), dígitos (batería WAIS-III) directos e inversos y test del trazo.

€Depresión de Beck BDI-II, escala multidimensional de locus de control sobre el peso y criterios diagnósticos TCA. ≈Cuestionario de salud SF-36.

Elegibilidad: La elegibilidad para la inclusión en el ensayo fue evaluada al comienzo del estudio. Los participantes seleccionados debían cumplir con los criterios de elegibilidad. La ausencia de criterios de exclusión también fue verificada.

Mediciones antropométricas: El peso y la cintura se registrarán en cada visita con los participantes en ropa ligera y sin zapatos o accesorios, con una balanza electrónica de alta calidad que será calibrada semanalmente con una unidad de masa conocida. La altura se mide a la entrada del estudio con un tallímetro. La circunferencia de cintura se mide en el punto medio entre la última costilla y la cresta ilíaca. El perímetro de la cadera se mide en la parte más ancha en la visita de selección 1, visita basal y de forma anual.

Información general: La información sobre el historial médico, antecedentes familiares y uso de medicamentos se recoge en la visita basal a través del cuestionario general, siguiendo el mismo protocolo de ensayo PREDIMED.

Valoración de hábitos alimentarios e ingesta dietética: Previamente se ha validado el cuestionario semicuantitativo de frecuencia de consumo de alimentos con 137 ítems que se utiliza tanto en visita de selección 3 como en cada visita anual de seguimiento para evaluar la dieta de los participantes (Fernández-Ballart et al, 2010). Además, la escala de 17 ítems de dieta mediterránea hipocalórica (ver más abajo) es cumplimentada en cada visita en el grupo de intervención intensiva. Esta puntuación de 17 ítems, que contiene algunas modificaciones respecto a una herramienta previamente validada (Schröder et al, 2011), se utiliza para evaluar el cumplimiento de la intervención y como un elemento clave para orientar las entrevistas de motivación individuales durante el seguimiento. En cambio, en el grupo control se utiliza la misma escala de 14 ítems que se usó en el PREDIMED (Schröder et al, 2011).

Actividad física: A excepción de la visita de selección 1 donde a los participantes se les proporciona un cuestionario largo de actividad física en el tiempo libre de Minnesota, al inicio, a los 6 meses y durante las visitas de seguimiento los participantes cumplimentan una versión reducida de un cuestionario previamente validado para actividad física (Elosua et al, 1994; Elosua et al, 2000) en su versión reducida. En tales visitas (al inicio, a los 6 meses y durante las visitas de seguimiento), a los participantes se les realiza el test de la silla (30 segundos) para evaluar la forma física y los cuestionarios PAR-Q (*Physical Activity Readiness Questionnaire*), RAPA (RAPA1 y RAPA2) (*Rapid Assessment of Physical Activity*) y el de preguntas de sedentarismo del NHS (*Nurses' Health Study*). Además, cada participante aleatorizado al grupo de intervención intensiva recibe un podómetro (Yamax SW200 Digi-Walker Pedometer) para el auto-control de los pasos caminados cada día. Se utilizan acelerómetros

GENEActiv para cuantificar la actividad física en una submuestra de participantes (20% de los sujetos del grupo control y 50% de los sujetos del grupo de intervención intensiva) al inicio, a los 6 meses, al año y anualmente. *En base a la valoración según la clasificación del estado y actividad física, se realizan una recomendación progresiva de actividad física aeróbica y fuerza, y se fomentaran actividades de equilibrio y flexibilidad al finalizar la actividad física* (ver protocolo de actividad física).

Auto-control y monitorización de la información durante el seguimiento: En las visitas de seguimiento, se interrogan a los participantes sobre posibles eventos clínicos que pudieran haber sucedido entre visitas. La información sobre la prescripción de medicamentos que cada participante ha recibido se actualiza en cada visita.

Evaluación de efectos adversos: a los 6 meses y anualmente se cumplimenta un cuestionario específico sobre posibles efectos adversos ocurridos atribuibles a la intervención o la pérdida de peso.

Electrocardiograma: Los electrocardiogramas se realizarán en los Centros de Salud en el momento de entrada al estudio (visita de selección¹), a los seis meses y en todas las visitas anuales posteriores, se escanearán y almacenarán y se registran en la base de datos específicamente diseñada para este propósito. El personal de enfermería de cada centro reclutador es responsable de recoger los ECGs, escanearlos, informatizar su contenido y mantener el registro y la base de datos.

Recogida de sangre en ayunas: Las muestras de sangre en ayunas se recogen en las visitas de inicio (basal), 6 meses, al año, a los 3, 5 y 7 años, y en la visita final de seguimiento. Los análisis convencionales [perfil lipídico (colesterol total, colesterol-HDL, colesterol-LDL, triglicéridos), glucemia plasmática en ayunas, hemograma, ionograma, calcio, ácido úrico, urea, creatinina, albúmina, proteína C reactiva, velocidad de sedimentación globular, hemoglobina A1c y la función hepática (bilirrubina, fosfatasas alcalinas y transaminasas)] se recogen al inicio del estudio (basal) y en las visitas de seguimiento según protocolo. El personal de enfermería de cada centro reclutador es responsable de la recogida de muestras, su procesamiento, envío, almacenamiento y conservación, así como de mantener el registro y la base de datos de muestras recogidas y analíticas realizadas. El personal de enfermería también es responsable de informatizar y mantener la base de datos con los resultados de todas las determinaciones analíticas (ver protocolo de recogida de muestras biológicas).

Recogida de orina de la mañana: Una muestra de orina de la mañana se recoge in situ en las visitas de inicio (basal), 6 meses, al año, a los 3, 5 y 7 años, y en la visita final de seguimiento. Los análisis convencionales (albúmina en orina y creatinina en orina)

se llevan a cabo al inicio y en las visitas de seguimiento según protocolo. El personal de enfermería es responsable de la recogida de estas muestras, su procesamiento, envío a los nodos respectivos, conservación, registro y mantenimiento.

Recogida muestras de uñas: Una muestra de uñas se recoge in situ en las visitas de inicio (basal), al año, a los 3, 5 y 7 años, y en la visita final de seguimiento. Se pide a los participantes que traigan las uñas de los dedos de ambos pies sin cortar. Con ayuda de un cortaúñas se procede a cortarlas y se depositan en una bolsa con cierre zip-lock etiquetada convenientemente con las etiquetas provistas para ello.

Valoración neuropsicológica y de calidad de vida:

Esta valoración incluye 3 apartados:

- A) Función cognitiva
- B) Calidad de vida
- C) Psicopatología.

Al inicio del estudio y cada dos años (a los 2, 4, 6 y 8 años de seguimiento, es decir en años pares), se le administra a los participantes una batería de 6 tests de función cognitiva (ver más abajo, apartado A). El primero (Mini-Mental State Examination (MMSE)) es un test de cribado cognitivo, los otros 5 tests exploran diversas áreas de función cognitiva. El objetivo es detectar cambios en el rendimiento cognitivo. Estas pruebas cognitivas se irán alternando con las de calidad de vida (ver apartado B), de modo que en años pares se recojan los 6 tests de función cognitiva y en años impares se recoja el único test de calidad de vida (ver más abajo, apartado B). Este distanciamiento de 2 años entre tests cognitivos secuenciales reducirá el sesgo debido a un efecto de “aprendizaje”.

La escala única de calidad (Short-Form 36, o SF-36, ver debajo apartado B) se recoge de todos los participantes basalmente y luego en años impares (tras 1, 3, 5, y 7 años de seguimiento). Mientras que los cuestionarios psicopatológicos (ver más abajo, apartado C) se recogen basalmente y con carácter anual.

Todos los instrumentos incluidos en la batería cognitiva (A), de calidad de vida (B) y psicopatológicos (C) han sido normalizados en población española para el rango de edad de la muestra de estudio. La batería completa cognitiva de calidad de vida y psicopatológica se compone, por tanto, de las siguientes pruebas:

A) Seis tests cognitivo-neuropsicológicos (16 minutos, presencial):

- 1) MMSE (Folstein et al., 1975);

- 2) Fluencia verbal semántica mediante “animales en 1 minuto” (Ramier y Hécaen, 1970, 1977; Benton et al., 1994);
- 3) Fluencia verbal fonológica mediante “palabras en 1 minuto que empiezan por la letra P” (Benton et al., 1994);
- 4) Memoria de trabajo verbal y visual series inversas de Dígitos de la batería WAIS-III (Wechsler, 1997);
- 5) Trail Making Test (Reitan, 1973);
- 6) Test del reloj (Clock drawing test o CDT).

Los datos normativos en población española para estas pruebas han sido publicados por Peña-Casanova et al., (2009a, 2009b). Estos seis tests del apartado A) se recogen solo basalmente (run-in period) y en años pares de seguimiento (2, 4, 6 y 8). Estos seis tests, con una duración de 16 minutos aproximadamente, son administrados por el personal del ensayo PREDIMED PLUS en la tercera visita de selección y en las visitas de seguimiento cada dos años que correspondan a los años pares (años 2, 4, 6 y 8 de seguimiento).

B) Un solo test de calidad de vida:

Se valorará con el cuestionario de salud SF-36 (versión de 36 ítems) (Alonso et al., 1995, 1998; Ware y Gandek 1998); que se utiliza basalmente (run-in period) y cada dos años (años 1, 3, 5 y 7 es decir, en años impares) para alternarlo con los tests cognitivos.

C) Tres cuestionarios clínico-psicopatológicos (con una duración de 20-25 minutos, que se completan en casa):

- 1) Inventario de Depresión de Beck (BDI-II) (Beck, Steer y Brown, 1996; Sanz, Navarro y Vázquez, 2003);
- 2) Escala multidimensional de Locus de Control sobre el peso (Wallston, Wallston, & DeVellis, 1978);
- 3) Screening para descartar TCA comórbido según criterios diagnósticos (DSM-IV-TR; APA, 2000).

Se prevé recoger estos 10 cuestionarios (apartados A, B y C) en la totalidad del estudio PREDIMED-PLUS, es decir de cada uno de los participantes.

Los cuatro cuestionarios de los apartados B) y C) se entregan al participante en la visita de selección 1 y podrán ser cumplimentados por los participantes en sus casas o

en otro momento ajeno a la visita de estudio, pero se debe exigir que el participante se comprometa a entregarlos o remitirlos después a los centros reclutadores en un plazo máximo de 15 días. El mismo procedimiento se repite en las visitas de seguimiento cuando corresponda recogerlos. El personal de enfermería de cada nodo reclutador es responsable de recoger, enviar, y mantener toda la información sobre pruebas cognitivas.

Para facilitar que los datos gráficos (dibujos de dos pentágonos del MMSE, de un reloj en el CDT, o el trazo del Trail Making test) queden custodiados y puedan ser supervisados y releídos después por un experto. La recogida de los cuestionarios del grupo A, B y C, se hace siempre en formato papel, aprovechando los formularios de lectura óptica para el MMSE, test del reloj y el FS-36 preparados a tal efecto. Una vez completados, el MMSE, el test del reloj y el SF-36 son enviados por correo al nodo de Navarra (quedándose antes con una fotocopia de seguridad en el nodo reclutador), para que sean informatizados mediante un lector óptico, con un ahorro de tiempo y materialmente exento de errores, ya que para eso se han preparado los formularios con este formato de lectura automatizada.

9. Definición y adjudicación de los eventos clínicos finales

Los eventos clínicos son verificados por un **Comité Clínico de Adjudicación de Eventos**, liderado por el Dr. Fernando Arós del grupo de Vitoria (miembros: M. Aldamiz, A. Alonso, J. Berjón, L. Forga, J. Gállego, M. A. García Layana, A. Larrauri, J. Portu, J. Timiraus, y M. Serrano-Martínez). La determinación del evento clínico se basa en la información recogida de las historias clínicas de los participantes que son revisadas anualmente ad-hoc por los médicos que participan en el ensayo PREDIMED-PLUS. Tanto los médicos que revisarán las historias como los miembros del Comité Clínico están enmascarados a la asignación del participante al grupo de intervención. La información que se envía al Comité Clínico carece de datos personales de los participantes y los informes son identificados con el número de identificación de los participantes en el estudio.

9.1. Resultados primarios o eventos principales finales

1. Infarto de miocardio no mortal, ictus no mortal y mortalidad cardiovascular.

1.a. Infarto de miocardio no mortal (IAM) se define de acuerdo con la tercera definición universal de IAM del grupo de trabajo conjunto ESC / ACCF / AHA / WHF

(Thygesen et al., 2012) como evidencia de necrosis miocárdica en un contexto clínico coherente con isquemia miocárdica aguda.

Cualquiera de los criterios siguientes cumple el diagnóstico de IM:

- Detección de un aumento o descenso de los valores de biomarcadores cardiacos [(preferiblemente troponina cardíaca (cTn)] con al menos un valor por encima del percentil 99 del LRS (límite superior de referencia),y
- con al menos uno de los siguientes:
 - (i) Síntomas de isquemia.
 - (ii) Nuevos o presuntos nuevos cambios significativos del segmento ST- onda T, o nuevo bloqueo de rama izquierda del haz (BRIHH).
 - (iii) Aparición de ondas Q patológicas en el ECG.
 - (iv) Pruebas por imagen de nueva pérdida de miocardio viable o nuevas anomalías regionales en el movimiento de la pared.
 - (v) Identificación de un trombo intracoronario en la angiografía o la autopsia.

Infarto de miocardio previo:

Cualquiera de los siguientes criterios es suficientes para el diagnóstico de IAM previo:

- Onda Q patológica con o sin síntomas, en ausencia de causas no isquémicas.
- Pruebas de imagen de una región de pérdida de miocardio viable que es delgada y no se contrae, en ausencia de una causa no isquémica.
- Hallazgos patológicos de un IAM anterior.

1.b. Ictus (Accidente cerebrovascular agudo) se define como un déficit neurológico agudo de duración superior a 24 horas causado por una interrupción focal del flujo sanguíneo en una arteria que irriga al cerebro (trombosis o embolia cerebral) o por una hemorragia cerebral.

Ictus isquémico (Sacco RL, et al. 2013) Episodio de disfunción neurológica cerebral, retiniana o de médula espinal, manifestado por signos clínicos, focales o globales, habitualmente de duración superior a 24 horas, causado por un infarto por la interrupción focal del flujo sanguíneo en una arteria que irriga estos territorios.

El Infarto del sistema nervioso central (SNC) es la muerte de células del cerebro, médula espinal o retina atribuible a isquemia, basado en:

1. Lesiones anatomopatológicas, en estudios de neuroimagen u otras evidencias objetivas de daño isquémico focal en el cerebro, médula

- espinal o retina, en un territorio con distribución vascular definida; o
2. Evidencia clínica de daño isquémico focal en el cerebro, médula espinal o retina, basado en síntomas clínicos persistentes durante ≥ 24 horas o mortales, tras excluir otras etiologías como hipoglucemia o las convulsiones.

Los Infartos Isquémicos Silentes, son infartos del SNC documentados en los estudios de neuroimagen o anatomopatológicos, que han cursado de modo asintomático. No se consideran end-point primario en este estudio.

Ictus hemorrágico. Ictus por hemorragia intracerebral se define como rápida aparición de signos clínicos de disfunción neurológica atribuible a una hemorragia Intracerebral. Ésta se define como una colección focal de sangre dentro del parénquima cerebral o del sistema ventricular que no ha sido ocasionada por un traumatismo. Ictus causado por hemorragia subaracnoidea se define como una rápida aparición de signos clínicos de disfunción neurológica y/o cefalea causado por sangrado dentro del espacio subaracnoideo (el espacio entre las membranas Aracnoides y Piamadre del SNC), que no ha sido ocasionada por un traumatismo.

Los Infartos Hemorrágicos Silentes, son colecciones focales o productos de sangre crónicos dentro del parénquima cerebral, espacio subaracnoideo o sistema ventricular documentados en los estudios de neuroimagen o anatomopatológicos, que no han sido causados por traumatismo y que han cursado de modo asintomático. No se consideran end-point primario en este estudio.

1.c. Mortalidad Cardiovascular: Incluye la muerte súbita y la muerte cardiovascular no súbita (Buxton AE, et al. 2006).

Muerte súbita es debida al cese de la actividad cardiaca con colapso hemodinámico provocado por ejemplo por taquicardia ventricular sostenida/fibrilación ventricular.

Puede ser:

- Presenciada en paciente estable previamente. Puede ocurrir con o sin síntomas o signos previos (la muerte sucede en los primeros 60 min) o puede ocurrir inmediatamente después de la aparición súbita de disnea, mareo o palpitaciones.

- No presenciada. Paciente encontrado muerto y que en el momento del último contacto se encontraba en su situación habitual sin molestias evidentes. Esta definición incluye a los pacientes que fallecen durante el sueño.

Muerte cardiaca no súbita: Incluye pacientes que fallecen por edema pulmonar agudo severo, insuficiencia cardiaca progresiva, shock cardiogénico, o después de un procedimiento quirúrgico cardiaco reciente.

Muerte vascular no cardiaca: Incluye aquellas muertes provocadas por eventos tromboembólicos, ACV, aneurisma disecante y arteriopatía periférica.

2. El cambio de peso. Las enfermeras del estudio registran el peso al inicio del estudio y en cada visita de seguimiento. La medición se realiza de manera protocolizada y uniforme, con el participante vestido con ropa ligera y sin zapatos ni accesorios.

9.2. Resultados secundarios

1. Mortalidad total. Este *end-point* incluye todas las causas de muerte tanto las de causa cardiovascular (ver apartado anterior) como las provocadas por traumatismo, insuficiencia renal, neoplasia, sepsis, suicidio, y muertes de causa no indeterminada. Todos los fallecimientos se confirmarán mediante revisión del Informe del Instituto Nacional de Defunciones.
2. Los cambios en la circunferencia de la cintura. Las enfermeras del estudio miden la circunferencia de la cintura al inicio del estudio y en cada visita de seguimiento. La medición se realiza de manera protocolizada y uniforme, seleccionando la circunferencia en el punto medio entre la cresta ilíaca y la última costilla.
3. Síndrome coronario agudo sin elevación del segmento ST (angina inestable). El diagnóstico de angina inestable se realizará siguiendo la definición de las Guías de la ESC para el manejo de los síndromes coronarios agudos en pacientes que no presentan elevación persistente del segmento ST (Hamm et al. al, 2011); Requiere la presencia de al menos una de las siguientes características clínicas:
 - a) Dolor anginoso en reposo prolongado (>20 min).
 - b) Angina de comienzo reciente (Class II or III of the Classification of the Canadian Cardiovascular Society).
 - c) Angina progresiva por desestabilización reciente de una angina previa con

al menos grado III de la clasificación canadiense y/o episodios en reposo.

4. Revascularización coronaria (percutánea o quirúrgica): (Hamm et al, 2011). Las dos indicaciones fundamentales para la revascularización percutánea o quirúrgica son:
 - 1) Pacientes con angina inestable o síndrome coronario agudo sin elevación del ST.
 - 2) Los pacientes que se considera probable de dicha cirugía en función de la localización y la severidad del dolor en el pecho, el número de vasos afectados y la presencia de disfunción ventricular izquierda.

5. Insuficiencia cardíaca (IC): La insuficiencia cardíaca aguda o crónica es un síndrome en el que los pacientes presentan síntomas y signos provocados por alteración de la estructura o función cardíacas (McMurray JJ, et al. 2012; Yancy CW, et al. 2013). Las manifestaciones clínicas principales de la IC son disnea y cansancio, que pueden limitar la tolerancia al ejercicio y la retención hídrica, que puede provocar congestión pulmonar y/o congestión esplánica y/o edemas maleolares.
 - 5.a. El diagnóstico de IC con fracción de eyección reducida requiere tres condiciones: 1) Síntomas típicos de IC; 2) Signos típicos de IC, y 3) Fracción de eyección reducida (<40%).
 - 5.b. El diagnóstico de IC con fracción de eyección preservada requiere cuatro condiciones: 1) Síntomas típicos de IC; 2) Signos típicos de IC; 3) Fracción de eyección normal o ligeramente reducida y el ventrículo izquierdo no dilatado. 4) Afectación estructural cardíaca (Hipertrofia V. Izdo / dilatación de A. Izda) y/o disfunción diastólica.
 - 5.c. Un evento de IC puede conllevar visitas al Servicio de Urgencias u hospitalización. Para que pueda ser considerado como un episodio de IC se deben cumplir TODOS las condiciones siguientes:
 - El paciente presenta empeoramiento de la IC o aparición nuevos síntomas, que incluye al menos de UNO de los siguientes (disnea, disminución de la capacidad funcional, fatiga u otro síntoma de fallo anterógrado o retrógrado).
 - El paciente presenta evidencia objetiva de empeoramiento o aparición de IC, que consta de al menos DOS hallazgos del examen físico o UN hallazgo del examen físico y al menos UN criterio de laboratorio, que incluyen: hallazgos del examen físico que se consideran debidos a IC, incluye empeoramiento o aparición de edema periférico, aumento de la distensión abdominal o ascitis (en ausencia de enfermedad hepática primaria), crepitantes/crepitaciones en la

auscultación pulmonar, ingurgitación yugular, 3º tono y aumento de peso clínicamente significativo o rápido que se cree relacionado con la retención de líquidos.

- Evidencia de laboratorio de empeoramiento o aparición de IC, si se obtiene en las primeras 24h, que incluye: concentraciones aumentadas de péptido natriurético tipo B (BNP)/NT-proBNP, o evidencia cardiológica de congestión pulmonar, o datos ecocardiográficos de congestión, o disminución del gasto cardíaco.
- El paciente inicia o intensificación el tratamiento específico para la IC (diuréticos, inotrópicos, vasodilatadores, procedimientos mecánicos).

6. Enfermedad arterial periférica. La adjudicación del evento se realizará de acuerdo con los criterios de la TASC II y la guías de la Sociedad Europea de Cardiología (Norgren et al., 2007; Tendera M, et al., 2011). Se considerará como evento confirmado cuando un voluntario presenta claudicación intermitente, entre 60-69 años y un factor de riesgo cardiovascular, o con edad ≥ 70 años y un índice tobillo-brazo ≤ 0.90 , o una ecografía Doppler anormal, o afectación significativa objetivada en angiografía por resonancia magnética/TAC, o por angiografía convencional.

7. Tromboembolismo venoso (TEV): Todos los TEV deben satisfacer los criterios de diagnóstico estándar para la trombosis venosa o el (Trombo) Embolismo Pulmonar (EP) en la población general (ver a continuación 1-3). El diagnóstico debe confirmarse mediante técnicas objetivas de imagen (por ejemplo, la ecografía, la flebografía, la angiografía por tomografía computarizada (angioTAC) pulmonar, RNM, etc.) y no debe basarse solo en la sospecha clínica.

Criterios de diagnóstico estándar para TEV en los estudios clínicos (Carrier M et al, 2012):

1. Trombosis Venosa Profunda (TVP), definida como la pérdida de la compresibilidad venosa o defecto de llenado intraluminal de segmentos venosos profundos de las extremidades inferiores/superiores detectado mediante ecografía por compresión venosa o flebografía respectivamente.
 - La presencia de trombo de extremidad inferior distal (distal a la vena poplítea) califica para TEV primario final sólo si es sintomático.
 - Todos los trombos proximales califican como un resultado primario final (primary end-point) si se identifican por técnica de imagen (ecográfica o radiológica) sean o no sintomáticos.

2. Embolia Pulmonar (EP) se define como:

- Arteriografía pulmonar de contraste:
 - Defectos de llenado intraluminales constatados en dos proyecciones.
 - Corte repentino del contraste de uno o varios vasos de más de 2,5 mm de diámetro.
- Gammagrama pulmonar de Ventilación/Perfusión (V/Q):
 - Una gammagrafía pulmonar de V/Q de alta probabilidad de EP en pacientes con no baja probabilidad clínica de EP.
- Angiografía pulmonar por tomografía computada:
 - Defecto de llenado en un vaso subsegmentario o más proximal.

3. EP fatal se define como:

- Muerte sin otra explicación aparte de la EP y/o la confirmación mediante la autopsia o confirmación radiológica.

Consideraciones importantes:

- a) La tromboflebitis venosa superficial no debe ser descrita como un TEV.
- b) Se recomienda informar del TEV según su localización:
 - Extremidades inferiores
 - Extremidades superiores
 - Embolia pulmonar
 - Otros sitios: (venas del sector esplácnico, venas cerebrales, etc.)
- c) Descripción de la extensión del TVE es altamente conveniente (por ejemplo, distal a la vena poplítea vs. TVP proximal; subsegmentarios vs. EP más central).
- d) El TEV asociado a catéter venoso central (por ejemplo, trombosis venosa profunda de las extremidades superiores) se debe informar por separado.
- e) Un TEV incidental debe diferenciarse de cualquier otro evento sintomáticos.

8. Fibrilación Auricular (FA). La fibrilación auricular se define (Camm AJ, et al. 2010; Fuster V, et al. 2011) como la arritmia cardíaca con las siguientes características:

- 1) El ECG de superficie muestra intervalos RR' irregulares sin ningún patrón.
- 2) No se observan ondas P bien definidas en el ECG. Algunas ondas auriculares aparentemente regulares se pueden ver en algunas derivaciones del ECG, especialmente en V1.
- 3) La longitud del ciclo auricular (cuando se ve), es decir, el intervalo entre dos ondas auriculares, es habitualmente variable y <200 mseg (>300 lat/min).

9. Diabetes tipo 2: El diagnóstico de nuevos casos de diabetes se establece siguiendo las recomendaciones de la American Diabetes Association dándose alguna de las siguientes circunstancias:

1. HbA1c $\geq 6,5\%$. La prueba debe realizarse en un laboratorio que use un método certificado (NGSP) y estandarizado para el ensayo DCCT; o
2. Glucemia en ayunas ≥ 126 mg/dl (7.0 mmol/L). El ayuno se define como la no ingesta calórica por lo menos durante 8 horas, o
3. Glucemia 2 horas postprandial ≥ 200 mg/dl (11.1 mmol/L) durante la prueba de tolerancia a la glucosa. La prueba debe realizarse como indica la OMS, con una carga de glucosa que contenga el equivalente a 75 g de glucosa anhidra disuelta en agua; o
4. En un paciente con síntomas clásicos de hiperglicemia y una glucemia al azar 200mg/dl (11.1 mmol/L).

En ausencia de hiperglucemia inequívoca (punto anterior), los resultados deben ser confirmados mediante pruebas repetidas (American Diabetes Association, 2014).

10. Complicaciones de Diabetes tipo 2. Se evaluarán anualmente la presencia o no de complicaciones microvasculares de la diabetes en todos los participantes:

1. Nefropatía diabética. La enfermedad renal en la diabetes se define sobre la base de la alteración del filtrado glomerular (FGR) y/o en la presencia de albuminuria persistente (la excreción normal de albúmina se define como < 30 mg/24h). El FGR se calcula mediante la fórmula *Modification Diet Renal Disease* (MDRD), que mide la progresión de la afectación renal. La albuminuria se determinará por el cociente albúmina/creatinina (valor normal < 30 mg albúmina/g creatinina) en una muestra de orina matutina. Dada la variabilidad de la eliminación urinaria de albúmina, se requiere que al menos 2 de 3 muestras recogidas en 3–6 meses sean anormales antes de diagnosticar la presencia de albuminuria o su progresión. La presencia de uno de los dos criterios señalados indica la presencia de nefropatía diabética, y en estos pacientes se valorará anualmente la progresión de la afectación (American Diabetes Association, 2014).

Los estadios de la insuficiencia renal crónica son:

1. Daño renal* con FGR normal o aumentado: ≥ 90 mL/min/1.73 m²
2. Daño renal* con FGR ligeramente disminuido: 60–89 mL/min/1.73 m²
3. FGR moderadamente disminuido: 30–59 mL/min/1.73 m²
4. FGR severamente disminuido: 15–29 mL/min/1.73 m²
5. Fallo renal: FGR < 15 mL/min/1.73 m² área de superficie corporal o diálisis

2. Retinopatía diabética. Diagnosticada en estudio oftalmológico y/o tratada mediante fotocoagulación con láser (American Diabetes Association, 2014).
3. Polineuropatía diabética. Diagnóstico basado en síntomas, exploración neurológica y resultados de estudios electrofisiológicos de nervios periféricos (American Diabetes Association, 2014).

*Daño renal se define como la presencia de alteraciones objetivas en biopsia, orina, sangre o técnicas de imagen.

11. Cáncer: Se consideran todos los cánceres excepto los cánceres de piel no-melanoma. Los nuevos casos de cáncer se codificarán de acuerdo a la Clasificación Internacional de la OMS (International Agency for Research in Cancer, WHO, 2014).
12. Enfermedad/demencia de Alzheimer. Los nuevos casos de se determinan de acuerdo con las recomendaciones del National Institute on Aging and the Alzheimer's Association workgroup (McKhann et al., 2011) o si el diagnóstico de demencia lo realiza un neurólogo.
13. Otras demencias. Los nuevos casos de se determinan según los criterios de McKhann et al. 2011 (ver abajo), o si el diagnóstico de demencia lo realiza un neurólogo. El diagnóstico de demencia se realiza ante la aparición de síntomas cognitivos o de comportamiento (neuropsiquiátricos) que:
 - a) Interfieren con las habilidades necesarias para realizar el trabajo habitual o las actividades cotidianas.
 - b) Representan un declinar respecto a los niveles previos de funcionalidad o rendimiento
 - c) No son explicados por delirio o trastorno psiquiátrico grave.
 - d) El deterioro Cognitivo es detectado y diagnosticado a través de la combinación de (1) historia clínica obtenida del paciente y de un informador fiable, y (2) una evaluación cognitiva objetiva (examen del estado mental o test neuropsicológicos).
 - e) El deterioro cognitivo o del comportamiento, afecta como mínimo a 2 de los siguientes dominios:
 - Deterioro en la capacidad de adquirir o recordar nueva información (repetitivos, olvidos).
 - Deterioro en el juicio y manejo de situaciones complejas (por ejemplo

finanzas).

- Pérdida de habilidades visuespaciales (por ejemplo reconocer caras).
- Pérdida de funciones del lenguaje (hablar, leer, escribir).
- Cambios en la personalidad y comportamiento (fluctuaciones del ánimo, agitación, cese de actividades sociales).

14. Enfermedad de Parkinson. Los nuevos casos de se determinan de acuerdo con los criterios diagnósticos descritos por Hughes (Hughes AJ, et al., 1992) o si el diagnóstico lo realiza un neurólogo.
15. Depresión unipolar. El diagnóstico se debe realizar según los criterios del DSM-V (American Psychiatric Association, 2013). En estos, se aceptan como trastornos depresivos: depresión mayor, depresión persistente, y otros trastornos depresivos (DSM-V). Se acepta el diagnóstico de depresión realizado por médicos de atención primaria o psiquiatras en pacientes tratados con antidepresivos durante más de 6 meses. En estos casos, se acepta también el diagnostico de depresión de acuerdo con el CIE 10 (International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems, 10th version). Para aquellos facultativos que no utilicen CIE 10 ni DSM-V, se recomienda la inclusión de una respuesta afirmativa a las dos preguntas especificadas en las guías clínicas NICE (<https://www.nice.org.uk>).
16. Fractura osteoporótica. Fractura de baja energía se define como la fractura producida por una caída del mismo nivel. Las fracturas se identifican a partir de radiografías o informes obtenidos a partir de al menos dos servicios radiológicos. Las fracturas traumáticas severas, fracturas potencialmente patológicas (por ejemplo de cáncer o enfermedad de Paget), o fracturas de cabeza, dedos, y dedos de los pies no son incluidas (Bliuc D, et al. 2009).
17. Enfermedad de cálculo biliar (Colelitiasis). La enfermedad de cálculo biliar se diagnostica de acuerdo con los hallazgos obtenidos de las exploraciones con imagen incluyendo ecografía abdominal, TAC o RMN. El diagnóstico de colescistectomía requerirá el informe quirúrgico.
18. Gota sintomática. Los nuevos casos de se determinan de acuerdo con los criterios del American College of Rheumatology. Se trata de un trastorno que muestra un espectro de hallazgos clínicos y patológicos. Normalmente la enfermedad se

presenta inicialmente como una artritis que es aguda y puntual, pero que puede ser recurrente en algunos pacientes. La gota también puede manifestarse como una artritis crónica de una o varias articulaciones. Este cuadro clínico se basa en un exceso de ácido úrico, que se expresa en parte por una hiperuricemia, que se define como una cifra de ácido úrico en suero mayor de 7,0 mg/dl (Khanna D, et al. 2012).

19. Accidente isquémico transitorio (AIT). El diagnóstico de AIT deberá hacerse de acuerdo con la Declaración científica de la American Heart Association / American Stroke Association Stroke Council (Easton JD et al. 2009). El AIT es un episodio transitorio y focal de disfunción neurológica causado por isquemia cerebral, retiniana o de la médula espinal, sin evidencia de infarto agudo en las técnicas de neuroimagen, preferentemente resonancia magnética cerebral.
20. Cataratas. Definida por un informe médico de cirugía de cataratas.
21. Cirugía para la obesidad. Definida por un informe médico de cirugía bariátrica.

9.3. Marcadores intermedios

Los cambios en la ingesta de nutrientes y el patrón alimentario serán determinados a partir de los 17 ítems de puntuación de adherencia a una dieta mediterránea hipocalórica (grupo de intervención intensiva) o de 14 ítems (grupo control) y por cambios en los alimentos e ingesta de nutrientes derivados del cuestionario de frecuencia de alimentos (137 ítems) durante el seguimiento.

Los cambios en la presión arterial sistólica y diastólica, las concentraciones séricas de lípidos, glucosa en ayunas, pruebas de función renal, ácido úrico, hemoglobina A1c, proteína C reactiva y las pruebas de función hepática son evaluadas anualmente durante el período de intervención. También se evalúa anualmente la proporción de participantes en cada grupo que requieran medicación antihipertensiva o antidiabética, o hipolipemiantes, los resultados del ECG, la función cognitiva, la calidad de vida y las puntuaciones en las escalas psicológicas y neuropsicológicas.

10. Procedimiento de aleatorización (asignación al azar)

Entre una y 4 semanas de la visita de selección 3, cada centro asignó los participantes elegidos al azar para el grupo correspondiente (grupo de intervención intensiva o control, de atención habitual, “usual care” (grupo control) mediante el uso

de una secuencia numérica aleatoria generada por ordenador y asignada centralmente (disponible en www.predimedplus.com). El centro de coordinación fue el responsable del procedimiento de aleatorización de los participantes, y éstos fueron asignados al grupo de intervención de forma estratificada por centro, sexo y grupo de edad (<65, 65-70, >70). Se permitió la inclusión en el mismo grupo de matrimonios o parejas, que se debían aleatorizar conjuntamente. Los centros reclutadores sometieron mediante un sistema basado en Internet la identificación del participante. El sistema informático automáticamente asignó al participante o la pareja de participantes al grupo de intervención sin que existiera la posibilidad de que pudiera cambiarse el grupo de intervención desde aquel momento. En los casos específicos de parejas en las que el cónyuge fue reclutado en diferente momento, el último cónyuge que ingresó al estudio fue asignado (no al azar) al mismo brazo de estudio que su compañero para asegurar, un alto cumplimiento de la intervención y evitar contaminación, y conflictos potenciales entre parejas del mismo hogar.

11. Protocolo de intervención

Todos los participantes seguirán recibiendo asistencia sanitaria habitual durante el periodo que dure el estudio por parte de los profesionales de Atención Primaria y su médico de cabecera habitual. En ningún caso, esta asistencia la llevarán a cabo ni los investigadores del estudio ni el personal contratado a cargo del estudio.

11.1. Etapas del estudio en el brazo del ensayo asignado a intervención intensiva con Dieta Mediterránea hipocalórica (grupo de intervención)

Seis primeros meses:

Además de la visita inicial, los participantes asignados aleatoriamente al programa de intervención intensiva participaron en seis sesiones individuales (I) y en 6 reuniones de grupo (G) durante los primeros 6 meses (ver debajo):

Mes 1		Mes 2		Mes 3		Mes 4		Mes 5		Mes 6	
G	I	G	I	G	I	G	I	G	I	G	I

Los participantes también recibieron un tercer contacto mensual mediante una **llamada telefónica** de un dietista con el objetivo de reforzar los objetivos del estudio y resolver posibles dudas.

Durante estos seis primeros meses, se animó a **los participantes en el grupo de intervención** a alcanzar una reducción del 10% de su peso inicial y una reducción de entre el 5 y el 10% de su circunferencia de la cintura inicial. Los objetivos del ensayo durante los primeros seis meses fueron obtener una pérdida **media** de peso superior al 8% del peso inicial y una reducción media superior al 5% de la circunferencia de la cintura inicial. Se sabe que el éxito de la pérdida de peso inicial es un predictor reconocido de la pérdida de peso a largo plazo. Por ello, se hará entrega a cada participante de unos registros para que controlen y registren su peso y su cintura y aprendan a auto-monitorizarse correctamente.

Durante este período, se les animó a reemplazar una comida al día por alimentos debajo aporte calórico, y para ello se les ofrecían alternativas amplias y agradables, en consonancia con la tradición culinaria de la Dieta Mediterránea (ver más abajo).

Por último, en el supuesto de que el participante no hubiera alcanzado los objetivos previstos en la última visita individual de esta etapa (sexto mes), se mantuvo una **entrevista motivacional** con la dietista para intentar averiguar por qué el paciente no alcanzó la pérdida de peso deseada (ver más abajo) y trató de reconducir la situación y proporcionó medidas de rescate.

Meses 7 - 12:

Los participantes asistieron a una sesión individual (I) y 1 reunión de grupo (G) cada mes durante los meses 7 a 12 del ensayo.

AÑO 1	Mes 7		Mes 8		Mes 9		Mes 10		Mes 11		Mes 12	
Meses 7-12	G	I	G	I	G	I	G	I	G	I	G	I

Además, durante este periodo también tuvieron un tercer contacto personal mediante una **llamada telefónica** mensual de la dietista para recibir refuerzo de los objetivos y resolver posibles dudas.

La visita de seguimiento del primer año (ver más abajo) coincidió con la última visita individual de esta etapa.

Años 2 - 6:

Después del primer año y durante todos los demás años que dure el ensayo (años 2-6), los participantes asistena una sesión individual (I) cada 3 meses, una reunión de grupo (G) al mes y dos llamadas telefónicas (T) cada 3 meses según el esquema.

Meses 13-72	Mes 13		Mes 14		Mes 15		Mes 16		Mes 17		Mes 18		Mes 19		Mes 20		Mes 21		Mes 22		Mes 23		Mes 24	
	G	T	G	T	G	I	G	T	G	T	G	I	G	T	G	T	G	I	G	T	G	T	G	I

Los meses 25-36 siguen el mismo procedimiento que los meses 13-24, y este procedimiento se repetirá durante los años sucesivos. Las visitas anuales de seguimiento (ver más abajo) coinciden con la última visita individual de cada año (mes 24 en el esquema). A lo largo de todo el estudio, las visitas perdidas son reprogramadas.

11.2. Programa de cada visita individual y cada sesión grupal en el brazo del ensayo asignado a intervención intensiva con Dieta Mediterránea hipocalórica (grupo de intervención)

A) Visitas individuales

Todas las visitas individuales incluyen:

- El cuestionario de 17 ítems de la adhesión a una Dieta Mediterránea hipocalórica.
- La medida por la dietista del peso y circunferencia de la cintura.
- Una entrevista motivacional individual con la dietista de acuerdo con los cambios observados en el peso y con la puntuación en el cuestionario de 17 ítems de adhesión a una dieta mediterránea hipocalórica (ver más abajo).
- El fomento del autocontrol y auto-monitorización de los participantes. A los participantes se facilitarán hojas especialmente preparadas de recogida de datos para el auto-registro y el auto-control de peso y cintura elaborados de acuerdo con el simulador de peso corporal del Instituto Nacional de Diabetes y Enfermedades Digestivas y del Riñón (Hall et al, 2011; *National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases*, 2012). Este simulador será proporcionado a los participantes durante la primera visita individual de intervención, dónde la dietista les explicará su manejo.
- Recomendaciones personalizadas para aumentar la actividad física.

B) Sesiones de grupo

En estas sesiones se proporciona a los participantes recetas de cocina, listas de la compra y menús, así como descripciones de alimentos paradigmáticos de la dieta mediterránea y consejos sobre la modificación del estilo de vida. Las dietistas del estudio PREDIMED-PLUS son las encargadas de todas las sesiones en grupo, con un máximo de 20 participantes por sesión. Las sesiones de grupo incluyen los siguientes aspectos:

- i) Una charla introductoria para revisar el **cuestionario de 17 ítems** de adherencia a una **dieta mediterránea hipocalórica** (ver más abajo).
- ii) Una exposición de 15 minutos de los principales aspectos de la **dieta mediterránea** con apoyo de material audiovisual preparado por el Centro de Coordinación.
- iii) La aclaración de posibles dudas sobre cualquier aspecto de la intervención.
- iv) Entrega del siguiente material escrito:
 - Descripción de 4-5 alimentos bajos en calorías y típicos de la dieta mediterránea propios de cada temporada.
 - Lista semanal de la compra de acuerdo con la estación del año.
 - Plan semanal de comidas (con menús detallados) adaptado a la lista de la compra.
 - Recetas de cocina para los menús sugeridos.
- v) Suministro de aceite de oliva virgen (1 litro por mes) y frutos secos (125 g por mes) para cada participante.
- vi) La sesión finaliza agradeciendo al participante su asistencia, y recordándole la fecha de la próxima visita.

11.3. Programa de cada visita individual y cada sesión grupal en el **grupo control**

Los participantes del grupo **control** reciben la atención habitual por parte del personal sanitario de los Centros de Salud y se insiste en la importancia de asistir a las visitas médicas habituales. Los participantes reciben toda la información por escrito para seguir la **dieta mediterránea** que ya se ha utilizado en el ensayo PREDIMED, y también recomendaciones generales sobre el estilo de vida para el manejo del síndrome metabólico en forma de trípticos. Al inicio del estudio se mantuvo una sesión grupal y una visita individual donde las/los dietistas les proporcionaron todo el material escrito que se ha utilizado en el PREDIMED (listas de la compra, recetas de cocina, menús, descripción de alimentos mediterráneos). Las/los dietistas no darán instrucciones para perder peso a los participantes del grupo control, sino que esta tarea queda a cargo de sus médicos de familia o especialistas (cuidados habituales). Se les ofrece además una sesión grupal cada 6 meses. En la visita inicial y luego en las sesiones grupales semestrales se les proporciona de forma gratuita aceite de oliva virgen (6 litros cada 6 meses) y frutos secos (750 g cada seis meses). Estas entregas se condicionarán a que asistan a estas sesiones, con el objetivo de fidelizarlos en el ensayo. Las sesiones grupales semestrales del grupo control consisten en explicaciones sobre cómo seguir la **dieta mediterránea** para la prevención

cardiovascular, sin impartir consejos ni establecer objetivos sobre restricción de calorías de la dieta, pérdida de peso o actividad física.

11.4. Intervención dietética y de estilo de vida

La intervención dietética y sobre el estilo de vida es coordinada por el **Comité de Intervención** liderado por Jordi Salas-Salvadó y compuesto por 4 coordinadores (Jordi Salas, Montse Fitó, Ramon Estruch y Miguel Ángel Martínez-Gonzalez), 3 de los cuales corresponden a los responsables de las tres comisiones de intervención: Dieta (responsable: Jordi Salas; vocales: Nancy Babio, Emilio Ros y Ana Sánchez-Tainta), Ejercicio Físico (responsable; Montse Fitó, Vocales: Helmut Schröder, Ascensión Marcos, Miguel A. Martínez-González, Dolores Corella, Julia Warnberg), Tratamiento psico-conductual (responsable: Ramon Estruch; vocales: Fernando Fernández-Aranda, Cristina Botella y Jordi Salas-Salvadó). Este Comité será el responsable de diseñar la intervención sobre el estilo de vida en el grupo de intervención intensivo y velar por su correcta ejecución. Miguel Ruiz-Canela, Miguel A. Martínez-González y Jordi Salas-Salvadó se responsabilizarán de los aspectos éticos.

Recomendaciones sobre dieta

Muchos aspectos de la calidad de la dieta pueden afectar el peso corporal y el riesgo de padecer enfermedades relacionadas con la obesidad, en mayor medida que la cantidad relativa de macronutrientes (Mozaffarian et al, 2011; Ludwig, 2012). En las recomendaciones dadas a los participantes, dos grupos de alimentos (A y B) son claramente diferenciados:

- A) Patrones de alimentación tradicionales basados en alimentos enteros o mínimamente elaborados, como ocurre con la **dieta mediterránea**, que incorpora muchos alimentos cardioprotectores y pocos perjudiciales. El consumo de aceite de oliva virgen, frutos secos (en especial nueces), frutas y verduras, ensaladas, cereales integrales, alimentos ricos en fibra, y yogures bajos en grasa se ha relacionado en repetidas ocasiones con pérdida de peso o menor ganancia de peso (Martínez-González y Bes-Rastrollo, 2011; Mozaffarian et al, 2011).
- B) Por el contrario, las bebidas azucaradas, comida rápida, productos refinados (pan blanco, especialmente en España), arroz blanco, la pasta (excepto las pastas de grano integral), patatas fritas, patatas cocidas, grasas trans (presentes principalmente en muchos tipos, no en todos, de bollería industrial en España), dulces, tortas, pasteles, azúcar, platos precocinados, embutidos o fiambres de carnes procesadas, y patés se han asociado de manera consistente con el aumento de peso (Schulze et al, 2006; Mozaffarian et al, 2011).

Por lo tanto, el objetivo principal del programa de intervención intensiva (grupo de intervención) se centra en la calidad global de la dieta con el fin de evitar los alimentos del grupo B) y remplazarlos por alimentos del grupo A).

Además, se provee una reducción de aproximadamente 600 kcal en la ingesta diaria de energía (aproximadamente el 30% de las necesidades energéticas estimadas), basándose en la estimación de las necesidades energéticas según la ecuación del *Institute of Medicine* y teniendo en cuenta el metabolismo basal de cada participante y su grado de actividad física. Esta restricción de energía en el patrón mediterráneo se hace disminuyendo el consumo de carnes y embutidos, azúcares y pan blanco, zumos de fruta envasados y bebidas azucaradas y otros alimentos del grupo B, del siguiente modo:

RESTRICCIÓN DE ENERGÍA EN LA DIETA MEDITERRÁNEA HIPOCALÓRICA	
NUTRIENTE	INGESTA RECOMENDADA
Calorías ¹	Aproximadamente 600 kcal/día (sobre un 30 %) de reducción de su ingesta habitual
Grasa total ²	
Ácidos grasos saturados ³	8 - 10 % del total de energía
Ácidos grasos monoinsaturados	> 20 % del total de energía
Ácidos grasos poliinsaturados	> 10 % del total de energía
Colesterol ³	< 300 mg/d
Proteínas ⁴	Aproximadamente un 20 % del total de energía
Carbohidratos ⁵	40-45 % del total de calorías (de bajo índice glucémico)
Cloruro sódico	
Calcio ⁶	1000 - 1500 mg
Fibra dietética ⁵	30-35 g

1. Una reducción de calorías de entre 500 y 1.000 kcal/día ayuda a los participantes a lograr una pérdida de peso de 0,5 a 1 kg por semana.

El alcohol aporta calorías innecesarias y desplaza el consumo de alimentos con mayor densidad nutricional. Además, el consumo de alcohol no sólo aumenta el número de calorías en una dieta, sino que también se ha asociado con obesidad en estudios epidemiológicos y experimentales. Por ello, aunque en el cuestionario de 17 puntos de adherencia a la dieta mediterránea uno de los ítems se refiere al consumo de vino, el impacto de las calorías del alcohol en la ingesta global de calorías de una persona es evaluado y controlado adecuadamente, y en todo caso se evitarán bebidas alcohólicas distintas del vino.

2. El consumo de alcohol permitido es de uno a dos vasos de vino/día para mujeres y de dos a tres vasos de vino/día para los hombres. Se desaconseja el consumo de alcohol de otras fuentes distintas del vino y se da preferencia al vino tinto y que éste sea consumido durante las comidas (Gea et al, 2014).
3. La restricción de la ingesta de grasas debe ser a partir de alimentos de origen animal. El aceite de oliva y los frutos secos deben ser las fuentes preferidas de grasa.
4. Las proteínas deben ser derivadas preferentemente de fuentes vegetales y secundariamente de fuentes magras de origen animal (pescado o ave).
5. El aporte de hidratos de carbono es preferentemente en forma de alimentos sólidos, mínimamente elaborados y ricos en fibra con bajo índice glucémico como las verduras, frutas y cereales integrales, todos ellos buenas fuentes de vitaminas, minerales y fibra. Una dieta rica en fibra soluble, como el salvado de avena, las legumbres, y la mayoría de las frutas y verduras pueden ser eficaces en la reducción de la colesterolemia y la resistencia a la insulina. Una dieta alta en todos los tipos de fibra también puede ayudar en el control del peso mediante la promoción de la saciedad y también ayudará a mantener niveles reducidos de consumo total de calorías.
6. Durante la pérdida de peso, se debe prestar atención a mantener una ingesta adecuada de vitaminas y minerales. El mantenimiento de la ingesta de calcio recomendada de 1.000 a 1.500 mg/día es especialmente importante para las mujeres que pueden estar en riesgo de osteoporosis.

Los participantes en el grupo de intervención reciben asesoramiento para ayudarlos a aumentar progresivamente su cumplimiento de los siguientes 17 objetivos (el **cuestionario de 17 ítems de adhesión a una dieta mediterránea hipocalórica** en el grupo intensivo). Se otorga **un punto por cada objetivo** que se cumpla:

1. Uso culinario exclusivo de aceite de oliva virgen (exclusivamente de la variedad extra virgen) para cocinar, aderezar ensaladas y para untar.
2. Consumo de frutas ≥ 3 piezas por día.
3. Consumo de verduras y hortalizas ≥ 2 raciones/día (por lo menos una de ellas en forma de ensalada).
4. Reducción del consumo de pan blanco a ≤ 1 ración / día (1 ración = 75 g).
5. Consumo de cereales y pasta integrales ≥ 5 veces por semana.
6. Consumir ≤ 1 ración (una ración = 100-150 g) de carne roja, hamburguesas o productos cárnicos (jamón, salchichas, etc.) por semana.

7. Consumir < 1 porción de mantequilla o de nata a la semana (1 ración = 12 g).
8. Consumir < 1 bebida azucarada o zumo de fruta con azúcar añadido por semana.
9. Consumir ≥ 3 raciones/semana de legumbres (1 ración = 150 g).
10. Consumir ≥ 3 raciones/semana de pescado o mariscos (1 ración: 100-150 g de pescado, o 4-5 unidades o 200 g de marisco).
11. Consumir < 3 unidades/semana dulces, postres dulces, tales como pasteles, galletas, bizcochos o natillas.
12. Consumir ≥ 3 raciones/semana de frutos secos (cacahuetes incluidos) a la semana (1 ración = 30 g).
13. Consumir pollo, pavo o carne de conejo en lugar de ternera, cerdo, hamburguesas o salchichas.
14. Usar sofrito ≥ 2 veces/semana (salsa hecha con tomate y cebolla, puerros o ajo, a fuego lento, con aceite de oliva).
15. No añadir azúcar a las bebidas (café, té), sino que se sustituirá por edulcorantes no calóricos artificiales.
16. Reducir el consumo de pasta o arroz a menos de tres raciones por semana (a no ser que se trate de productos integrales).
17. Beber los hombres entre 2-3 vasos (200 ml) de vino al día, y las mujeres entre 1-2 vasos de vino al día. Este punto solo se promocionará entre los participantes que fueron consumidores de alcohol al inicio del estudio. Los abstemios nunca serán invitados a comenzar a consumir vino o cualquier otra bebida alcohólica.

Por otro lado, la herramienta de instrumentación de la intervención que se utiliza para el grupo control es el cuestionario del PREDIMED de 14 ítems de adhesión a la Dieta Mediterránea (Schroeder et al, 2011) sin restricción calórica. No obstante, es preciso insistir en que en el grupo control se recoge también el cuestionario de 17 ítems para efectos/fines comparativos.

Recomendaciones sobre ejercicio físico: A los participantes se les anima y se les evalúa para que aumenten gradualmente su nivel de actividad física hasta alcanzar por lo menos 45 minutos al día (6 días por semana) después de 6 meses primeros de intervención. El programa de actividad física incluye actividades aeróbicas, como caminar a paso ligero (principalmente), o cualquier otra actividad equivalente de intensidad moderada, y también incluye otras actividades de entrenamiento de resistencia (Fernández et al, 2012). Las/los dietistas adaptan las recomendaciones a

las preferencias personales y animan a los participantes a realizar intercambios entre actividades que representen la misma cantidad de METS.

Soporte psico-conductual: Los participantes reciben instrucciones sobre estrategias y se les proporciona las herramientas necesarias para la resolución de problemas referentes a ingesta de alimentos con exceso de calorías y actividades sedentarias. Se estimula al participante que aprenda a tomar conciencia de la pérdida de control de la ingesta ante determinadas situaciones de estrés o ansiedad y trabaje el autocontrol ante las mismas.

Recomendaciones sobre tabaco: El equipo de dietistas de PREDIMED-PLUS no realizan recomendación alguna sobre el uso de tabaco; esta tarea es responsabilidad de los profesionales de los centros de salud según las prácticas habituales de los cuidados de atención primaria.

Entrevistas individuales motivacionales: La entrevista personal con el/la dietista en cada una de las visitas individuales se adaptan a las condiciones, situación clínica, preferencias y creencias de los participantes, introduciendo los cambios dietéticos pertinentes dirigidos a lograr la dieta aconsejada en cada caso así como los cambios oportunos de su estilo de vida. Los objetivos son fijados de manera consensuada a través de un pacto entre ambas partes, la dietista y el participante, en relación a lo que el participante perciba que es una meta alcanzable y factible. El objetivo principal está en cambiar el patrón de dieta, no sólo la ingesta de ciertos macronutrientes. La atención puede variar entre cambiar el tamaño de las raciones, la frecuencia de consumo o los métodos culinarios de preparación.

Los logros alcanzados en los meses anteriores, aunque pudiesen parecer de menor importancia, son siempre considerados como un indispensable punto de apoyo para proporcionar una mejora de la autoestima y auto-recompensa. Se tiene especial cuidado para evitar que los participantes reciban asesoramiento dietético contradictorio por parte de los profesionales de la salud ajenos al ensayo PREDIMED-PLUS.

Cada participante del grupo de intervención, tal y como se ha descrito, recibe información oral y escrita sobre los alimentos y hábitos de cocina propios de la **dieta mediterránea hipocalórica**. Asimismo, tal y como se ha comentado en la sección sobre acciones individuales, en cada visita se les entregan cuadernos de auto-registro y automonitorización del cambio de peso y de la circunferencia de la cintura.

Los participantes del grupo de intervención que hayan tenido una pérdida de peso limitada e inferior a lo previsto durante la participación activa de la fase de pérdida de peso o no hayan mantenido la pérdida de peso conseguida reciben un refuerzo especial y una serie de alternativas de rescate para la consecución de la pérdida de peso y su mantenimiento. De nuevo, el compromiso se establece entre el/la dietista y el participante.

El papel de los/las dietistas: Los/las dietistas del PREDIMED-PLUS son directamente responsables de la intervención dietética. Estos, son específicamente entrenados capacitados y preparados para poder realizar con solvencia el protocolo de intervención del PREDIMED-PLUS. Todos los procedimientos de intervención se llevan a cabo en conformidad con el manual de operaciones del estudio PREDIMED-PLUS. Asimismo, a lo largo del estudio, se llevarán a cabo reuniones anuales, en las que los/las dietistas pueden discutir los problemas detectados y buscar posibles soluciones. Cualquier problema que pueda surgir en el desarrollo del estudio, será discutido y estudiado por las dietistas y los coordinadores del estudio, facilitándose así una retroalimentación continua.

12. Procedimientos de formación y de calibración

Se elaboró un manual general de operaciones del estudio así como material de formación para el personal, con el fin de garantizar la estandarización de todos los procedimientos en todos los centros de reclutamiento. Antes de la implementación del protocolo, el personal del estudio asistió a un curso de capacitación de 3 días en el Centro de Coordinación. Este incluyó discusiones en grupos teóricas y prácticas con expertos en intervenciones sobre estilo de vida para transmitir los objetivos del estudio, para desarrollar todos los aspectos específicos de la ejecución de la intervención, y para ser formados en el proceso de recogida de consentimiento informado, realización de mediciones antropométricas, medición de presiones arteriales, recopilación de datos mediante cuestionarios de lectura óptica o sistemas *online* y la recogida de muestras biológicas y su procesamiento. En estos cursos se revisaron las habilidades de cada una de las personas contratadas mediante entrevistas personales. El equipo de investigación hizo hincapié en la importancia de crear una confianza y empatía con los participantes, prestando especial atención a sus necesidades individuales para alentar a los participantes en la motivación y asegurar una alta retención. El personal del estudio guarda una copia del manual de operaciones que detalla todos los puntos en los que se basará el entrenamiento.

Además, todo el personal responsable de la intervención asiste a reuniones anuales y está en continuo contacto con los investigadores principales para lograr una ejecución estandarizada del protocolo del estudio. Todas las balanzas y otros instrumentos de medida utilizados en el estudio son periódicamente calibrados de acuerdo al protocolo del estudio.

13. Retención y cumplimiento de las estrategias y de supervisión

El reclutamiento de los participantes y las tasas de **cumplimiento de las estrategias de intervención** son cruciales para el éxito de un ensayo de este tipo. Por este motivo, se planificó un periodo de rodaje o evaluación previa (*run-in*) anterior **a la aleatorización**: sólo aquellos participantes que cumplieran con **todos** los requisitos del protocolo durante el periodo de rodaje se incluyeron en el ensayo. El tiempo entre la finalización del *run-in* y el inicio de la intervención fue como mínimo una semana y como máximo un mes.

Además, los investigadores del estudio han adquirido una valiosa experiencia en la gestión de ensayos a largo plazo con el PREDIMED, al mismo tiempo que este estudio les ha permitido desarrollar estrategias para involucrar a los participantes en el cumplimiento del protocolo y para su **fidelización y retención a largo plazo**. Se entiende que este aspecto es especialmente sensible entre los participantes del grupo control. Esta es la razón por la cual en cada sesión de grupo, a todos los participantes, tanto a los del grupo de intervención intensiva como a los del grupo control, se les proporciona gratuitamente aceite de oliva virgen y frutos secos. La experiencia del PREDIMED demuestra que estos regalos, especialmente el de aceite de oliva virgen, contribuyen en gran manera a la fidelización del participante. Otras estrategias de retención incluyen la retroalimentación a profesionales de atención primaria según los resultados durante el seguimiento, así como otras medidas no coercitivas de incentivos materiales en ambos grupos. Además, en el grupo de intervención intensiva, donde se prevé una pérdida significativa de peso, se va a mantener un contacto continuo con los participantes e intervenciones flexibles y medidas de rescate, de acuerdo con las necesidades de los participantes. Además, las técnicas de autocontrol, auto-recompensa y auto-monitorización también refuerzan a los participantes para que cumplan el protocolo de la intervención. Finalmente, el hecho de adaptar la intervención a las necesidades de los participantes facilitará su buen cumplimiento.

14. Muestras biológicas y procedimientos de laboratorio

El personal de enfermería contratado en cada nodo será el responsable de la obtención de muestras biológicas y la organización del procesamiento y almacenamiento en congeladores a -80°C de estas muestras. Las extracciones de sangre se llevan a cabo en los centros de reclutamiento de la misma manera que se llevan a cabo en la asistencia sanitaria habitual. Además, se extraen 38,5 ml de sangre y se recogen en los siguientes tubos: dos tubos de 10 ml de K2E EDTA, un tubo de 4.5 ml citrato, dos tubos de 10 ml de gel, separador de suero. El suero, el plasma citrato y las muestras de plasma EDTA se distribuyen en alícuotas de 250 μl y 500 μl , y se almacenan a -80°C para futuros análisis en los centros de reclutamiento. Las determinaciones bioquímicas se llevan a cabo enmascaradamente respecto al grupo de intervención y en el mismo lote de muestras consecutivas de cada participante. Cada centro de reclutamiento dispone de un ultracongelador con capacidad suficiente para almacenar estas muestras hasta su envío definitivo. Todas las muestras biológicas son procesadas en cada centro de reclutamiento, a más tardar una hora después de la extracción. Durante el transporte desde los centros de atención primaria hasta el laboratorio, se almacenan en una nevera portátil (4°C). Los análisis de orina se llevan a cabo en los centros de reclutamiento de la misma manera que se llevan a cabo en la atención médica habitual siguiendo el protocolo específico de recogida de muestras biológicas para PREDIMED-PLUS.

15. Control de calidad

La base de datos general del ensayo PREDIMED-PLUS es gestionada y conservada por el grupo del instituto IMIM (CIBEROBN). Los cuestionarios de frecuencia de consumo de alimentos, la base de datos de alimentación así como los cuestionarios MMSE, test del reloj y de calidad de vida (SF-36), se procesan y gestionan en la Universidad de Navarra. Los datos en relación a la medición de actividad física mediante acelerómetros son procesados por el nodo de Málaga con la colaboración de CSIC/UAM. Dichos datos procesados se envían trimestralmente al IMIM para ser incorporados a la Base de Datos General. Los datos de la detección de eventos, recogida de información durante la intervención y visitas de seguimiento se introducen en formularios específicos, preferentemente por sistemas *online*, en los centros de reclutamiento y se envían como muy tarde mensualmente al administrador de datos en el IMIM. Este envía mensualmente los informes de las entradas incompletas o inadecuadas al centro coordinador y a los centros reclutadores para la clarificación y resolución de dudas. Desde el IMIM también se envían informes mensuales a los diferentes centros de reclutamiento con la suma de cada nodo. El

steering committee se estableció para garantizar la calidad del proyecto y corregir los defectos o desvíos que puedan detectarse. Este comité estaba formado inicialmente por Jordi Salas-Salvadó (coordinador del estudio PREDIMED-PLUS), Miguel Ángel Martínez-González, Ramon Estruch, Montserrat Fitó, Emilio Ros y Dolores Corella. En diciembre de 2016, el Dr. Francisco Tinahones (Hospital de Málaga) fue incorporado como el séptimo miembro *del Steering Committee*. En cada reunión anual de PREDIMED-PLUS, el IMIM llevará a cabo una sesión del estado del manejo de datos. Se enviará un resumen anual al centro coordinador que lo distribuirá a todos los grupos.

Para reducir los gastos de entrada de datos y velocidad de procesamiento, los cuestionarios y formularios de datos serán procesados por lectura óptica o mediante formularios de transferencia de datos *online*. Los formularios de datos se introducen por duplicado y se realizan comprobaciones de datos faltantes. De todos los formularios enviados a otro centro de reclutamiento se debe hacer una fotocopia y almacenar en el centro que lo recogió. Después de la entrada de datos, se realizarán controles de forma transversal y se verificarán posibles inconsistencias en los datos. Con el fin de detectar problemas no resueltos se realizarán periódicamente auditorías a los centros reclutadores. Se redactan informes que resuman los posibles problemas en la base de datos y que ayuden a proporcionar un método adicional que asegure la calidad y exactitud de los datos. Para reducir al mínimo las posibilidades de error, se ha desarrollado un manual de operaciones detallado.

Además se llevan a cabo reuniones anuales de capacitación para el personal. El rendimiento de cada centro de reclutamiento es evaluado por el administrador de datos y una Comisión de auditoría. Se implementarán nuevos procedimientos o correcciones apropiadas en caso de que se observen deficiencias. Hasta el final del estudio, todos los centro de estudio se enmascararán a los datos de los resultados del ensayo, excepto para las dos personas encargadas de realizar los análisis estadísticos, que siempre realizarán las tareas en duplicado, con dos unidades de análisis estadístico, uno en Navarra (Miguel Ángel Martínez-González) y otra en el IMIM en Barcelona (Joan Vila). Debido a la naturaleza de la intervención, sin embargo, los/las dietistas en cada centro necesitan conocer la asignación de cada participante. Los médicos que realizan en cada centro el informe anual *ad-hoc* en la revisión de historias clínicas de los participantes están enmascarados a la asignación del grupo de intervención, al igual que el **Comité Clínico de Adjudicación de Eventos**. Los miembros del *Steering Committee* que asisten a las reuniones con el *Data and Safety Monitoring Board* también permanecerán totalmente enmascarados a los resultados de

los análisis intermedios durante el progreso del ensayo. Solo conocen el número total de eventos observados, sin diferenciar en qué grupo se han producido.

PLAN DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todos los análisis se llevarán a cabo siguiendo el principio de intención a tratar. Miguel Ángel Martínez-González será el estadístico senior responsable del plan de análisis estadístico. Todos los principales análisis de datos se realizarán bajo su supervisión. El análisis estadístico para los principales objetivos del estudio también se realizará por duplicado por el centro en IMIM, Barcelona (estadístico responsable en IMIM: Joan Vila).

1. Análisis del efecto de la intervención

Para determinar el efecto de la intervención sobre la incidencia de eventos cardiovasculares, se usarán modelos de regresión de Cox al tratarse de datos que tienen en cuenta el tiempo transcurrido hasta el evento. Para los cambios de peso y de perímetro de la cintura se usarán modelos mixtos de análisis de la varianza y ecuaciones de estimación generalizada (*generalized estimating equations, GEE*). En estos modelos se incluirán las siguientes covariables de ajuste:

- 1) Todos los factores que estén relacionados con el evento según la literatura científica,
- 2) Los factores que se aproximen a la significación estadística en el análisis univariado.

En estos modelos, se comprobará siempre que se cumplen i) el supuesto de proporcionalidad de los *hazards*, ii) la linealidad de las variables continuas, utilizando en su caso métodos de suavización con *splines*, y iii) la influencia de observaciones extremas en la estimación de parámetros, evaluada por el cálculo de los valores de delta-betas. La aplicación de otros enfoques dependerá de los resultados obtenidos anteriormente (es decir, transformaciones normalizadoras de la distribución, análisis estratificados, etc.). Los participantes se agruparán por los Centros reclutadores. Debido a esto, se puede esperar que exista cierta estructura de correlación entre ellos. Por lo tanto, el centro será incluido como una variable de estratificación, incluyendo estimaciones de fragilidad, en los modelos de regresión de Cox. La bondad del ajuste de los modelos se llevará a cabo por el test modificado de Hosmer-Lemeshow para los estudios de supervivencia. Se utilizarán estimadores de varianza robustos que tienen

en cuenta el efecto de agrupación de los miembros de un mismo hogar (el segundo miembro no se aleatoriza por razones de viabilidad) para tener en cuenta la correlación intra- clúster. Se llevarán a cabo análisis de sensibilidad después de excluir a los segundos miembros (no aleatorizados) del mismo hogar. Además de la estratificación por centro, todos los modelos de Cox también estarán estratificados por sexo y nivel educativo.

2. Análisis intermedios y reglas de detención del ensayo

Los datos del estudio PREDIMED-PLUS se analizarán a los 3 años de seguimiento medio (análisis intermedio), a los 5 años y al final del ensayo. El adecuado seguimiento de un ensayo debe incluir al menos un análisis intermedio, no sólo por los aspectos metodológicos, sino sobre todo por razones éticas (Schulz y Grimes, 2005). Sin embargo, para preservar un error alfa global de 0,05, el análisis intermedio tiene que ser penalizado. Se utilizarán los límites propuestos por O'Brien y Fleming (O'Brien y Fleming, 1979). Según este método, los límites son más estrictos en los estados iniciales de la investigación que en los finales. Por lo tanto, la aplicación de esta regla lleva a al siguiente valor de p para detener el ensayo:

Primer análisis intermedio (seguimiento mediano: 3 años), valor límite de p: 0.0005.

Segundo análisis (seguimiento mediano: 5 años), valor p: 0.014.

Análisis final (seguimiento mediano: 8 años), valor p: 0.045

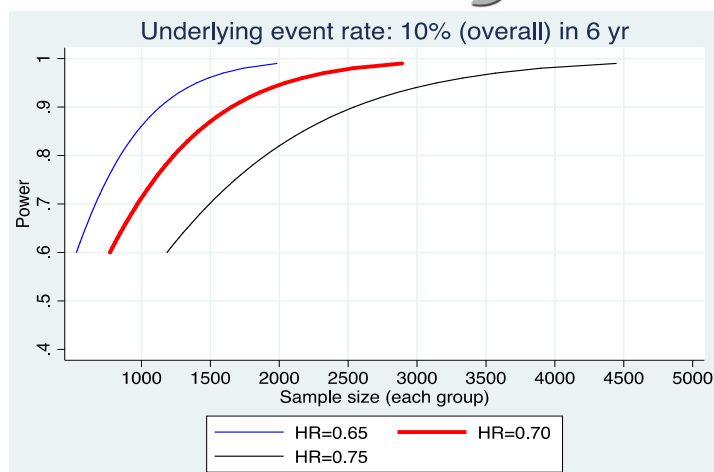
El valor p de significación estadística no debe ser considerado como una imposición obligatoria de detener el ensayo. Representa más bien una guía para la seguridad de los datos y el Comité Asesor Externo (*Data and Safety Monitoring Board*) deberá emitir un juicio en el que también tendrá en cuenta el tamaño del efecto, el tiempo de seguimiento en cada centro de reclutamiento, la heterogeneidad en el efecto entre los centros de reclutamiento, y la evidencia de otros ensayos en curso y de estudios observacionales, entre otros factores. Todo esto debe tenerse en cuenta para decidir si continuar o interrumpir el ensayo tras cada análisis intermedio. Entre las razones para la interrupción del ensayo se encuentran: 1) pruebas suficientemente convincentes del efecto beneficioso de la intervención (el ensayo se suspendería solo si el efecto de la intervención fuese de gran magnitud), 2) pruebas suficientemente convincentes de efectos nocivos de la intervención, 3) que los resultados sugieran que es altamente improbable que se pueda para probar la hipótesis propuesta, debido, por ejemplo, a un muy pequeño tamaño del efecto de la intervención que afecte dramáticamente a la potencia estadística del ensayo.

3. Estimaciones de tamaño de la muestra

Se va a abordar el efecto de la intervención intensiva dirigida a la pérdida de peso con **dieta mediterránea** hipocalórica sobre los dos resultados primarios que se describen a continuación, asumiendo un error alfa de dos colas de 0,05.

1. Efecto de la intervención en la **incidencia de enfermedad cardiovascular** (infarto de miocardio no mortal, ictus no mortal y muerte cardiovascular): La incidencia acumulada proyectada tras la inclusión como evento primario de todos los infartos agudos de miocardio no mortales, también de microinfartos con test de troponina altamente sensible positivo, después de 6 años será al menos de un 10% en el grupo control, teniendo en cuenta los resultados observados en el ensayo PREDIMED después de 4,8 años en el que no se incluyó la troponina ultrasensible. El riesgo relativo (*hazard ratio*, HR) para el resultado primario combinado “*primary end-point*” se puede suponer que será 0,70 (Estruch et al, 2013). Probablemente será aún más bajo (mayor efecto protector) teniendo en cuenta que en el ensayo PREDIMED no se llevó a cabo restricción alguna de energía y no se estimuló el aumentar la actividad física ni perder peso. Por lo tanto, bajo estos supuestos, incluso si las tasas de abandono alcanzasen hasta un 20%, el tamaño de la muestra necesario será de 2.400 participantes por grupo (ver Figura 3), aunque para ser conservadores, el objetivo propuesto inicialmente fue reclutar a 6.000 participantes, y asignar 3.000 a cada grupo. Sin embargo, la muestra final incluyó 6.874 participantes distribuidos en 23 centros, 3.406 participantes asignados al grupo de intervención intensiva y 3.468 al grupo control.

FIGURA 3. Estimación del tamaño de muestra necesario por grupo de aleatorización en el ensayo PREDIMED-PLUS.



2. Efecto de la intervención sobre el **cambio de peso**: De acuerdo con estudios previos, se puede esperar un cambio en el peso mínimo en el grupo control y una pérdida de peso entre 3-4,5 kg en el grupo de intervención intensiva, con una desviación estándar de 8 kg (Shai et al, 2008; Sacks et al, 2009; Wing, 2010). Si se asume incluso un efecto pequeño de la intervención en el cambio de peso, el tamaño de la muestra de acuerdo con un cambio de peso de 1 kg en el grupo control, un cambio de peso de 3 kg en la intervención intensiva y asumiendo una desviación estándar de 8 kg, lograría una potencia estadística de 0,80, con sólo un tamaño muestral de 337 en cada grupo. Dado que la cifra de participantes reclutados está muy por encima de este requerimiento, la potencia estadística para hacer frente a este objetivo está ampliamente garantizada.

FORTALEZAS Y LIMITACIONES

1. Fortalezas

A. Este estudio proporciona un abordaje multidisciplinar del grave problema de la epidemia de obesidad y sobrepeso. Nuestra población diana son adultos obesos o con sobrepeso, que representan una fracción cada vez mayor de la población general. La intervención en estas personas, basada en un cambio profundo de estilo de vida (un portafolio multifactorial que incluye la mejoría del patrón alimentario, la pérdida de peso, una intervención conductual y un aumento de la actividad física) puede erigirse como un modelo novedoso y especialmente útil para reducir la carga de la obesidad y las enfermedades asociadas, contribuyendo así al sostenibilidad del sistema de salud. El ensayo claramente aborda los objetivos prioritarios del sistema público de salud, ya que aborda tanto la principal epidemia de nuestros días (sobrepeso/obesidad) como la principal causa de muerte en el mundo (enfermedad cardiovascular).

B. El proyecto es muy innovador, ya que presenta un nuevo paradigma en cuanto a las recomendaciones nutricionales destinadas a lograr la pérdida de peso, es decir, un patrón tradicional de dieta que se caracteriza por un moderado a alto contenido de grasa dietética. Creemos que este nuevo enfoque contribuirá al mejor cumplimiento de la intervención y a superar el desafío principal, no superado hasta ahora, de cualquier intervención dietética destinada a combatir el sobrepeso y la obesidad: el mantenimiento de la pérdida de peso a largo plazo (Shai et al, 2008; Beunza et al, 2010; Romaguera et al, 2010).

C. El enfoque de la intervención está estructurado y el estudio está debidamente planteado para determinar el efecto de la intervención sobre los principales resultados clínicos y cuenta con una alta capacidad de transferencia y traslación al realizarse en el seno de la Atención Primaria de Salud e integrar aspectos epidemiológicos, clínicos y básicos en la investigación propuesta.

D. El equipo de investigación incluye investigadores con una experiencia muy valiosa en la realización de ensayos de estilo de vida (por ejemplo, de intervención como PREDIMED). Como estos investigadores provienen de una amplia gama de campos, su trabajo será complementario y las posibilidades de éxito del ensayo se verán incrementadas. Todas estas razones, junto con el éxito y los logros del ensayo PREDIMED, dan fe de la viabilidad de esta propuesta de prueba.

E. Desde una perspectiva estratégica, esta es una propuesta oportuna dado que brinda continuidad al proyecto colaborativo en el que han participado la mayoría de los centros CIBEROBN, es decir, PREDIMED.

2. Limitaciones

A. Nuestro estudio reclutó a participantes de entre 55 a 75 años. Esto puede impedir la generalización a grupos de edad más jóvenes.

B. El abandono de los voluntarios en un ensayo clínico a gran escala siempre es un factor limitante a tener en cuenta. Sin embargo los investigadores pretenden asegurar el cumplimiento en ambos grupos mediante: a) provisión gratuita de alimentos (aceite de oliva y frutos secos); b) el establecimiento de relaciones personal con cada uno de los voluntarios a través de las sesiones individuales y grupales establecidas; c) la administración al inicio del estudio de un test de Prochaska y DiClemente de baja probabilidad predicha de cambiar los hábitos alimentarios, siendo una baja probabilidad criterio de exclusión y d) el establecimiento al inicio del estudio de un período de *run-in* de un mes de duración, para identificar y seleccionar sólo aquellos

individuos con menor riesgo de abandono de la intervención y con más garantías de cumplimiento del protocolo (ver Punto 5 y 13).

C. La homogeneidad de las intervenciones es compleja dada la naturaleza de la intervención basada en tres enfoques: dieta, ejercicio físico y conducta. Por ello se ha desarrollado un protocolo detallado de la ejecución de la intervención y un Comité para cada uno de los tres enfoques de la intervención. También realizamos una sesión de capacitación del personal al inicio del estudio y llevaremos a cabo sesiones de seguimientos anuales a lo largo de todo el desarrollo del proyecto.

COMITÉS Y GOBERNANZA

El **Comité Ejecutivo** de PREDIMED-PLUS incluye a los investigadores principales de todos los Centros participantes (Anexo I). Este Comité servirá de guía científica y estratégica para la toma de decisiones y será responsable de diseñar, implementar y publicar el protocolo del estudio y garantizar la calidad de su ejecución y gestión. Determinará sus propias directrices y aprobará los criterios y directrices de las demás comisiones dentro del estudio. El Comité Ejecutivo se reunirá periódicamente (al menos dos veces al año) para discutir e informar sobre los avances del estudio. En febrero de 2018, la Dra. Julia Wärnberg (Escuela de Ciencias de la Salud) reemplazó al investigador principal del centro de reclutamiento de la Universidad de Málaga, el Prof. Enrique Gómez-Gracia, quien continúa en el ensayo como investigador principal de un nuevo grupo de apoyo (A8).

El **Steering Committee** formado por Jordi Salas Salvadó (Coordinador de PREDIMED-PLUS), Miguel Ángel Martínez-González (Investigador Principal European Research Council-Advanced Research Grant), Ramón Estruch, Montserrat Fitó, Emilio Ros, Dolores Corella y Francisco Tinahones que fue incorporado como el séptimo miembro *del Steering Committee* en diciembre de 2016, es responsable de garantizar la calidad del proyecto y corregir cualquier defecto o desvío que pueda detectarse.

Comité Científico Asesor Externo (Data Safety and Monitoring Board)

Para garantizar la seguridad de los participantes y el buen funcionamiento del ensayo se ha formado el Comité Científico Asesor Externo de Monitorización (**Data Safety and Monitoring Board, DSMB**). Este comité está formado por: Presidente, Meir J Stampfer (Harvard School of Public Health); otros miembros, Joan Sabaté

(Loma Linda University), Arne Astrup (Copenhagen University), Francisco Fernandez-Avilés (Universidad Complutense de Madrid) y Xavier Pi-Sunyer (Columbia University). El Comité tuvo su primera reunión en 2015 y se reúnen para supervisar la aplicación del protocolo, y para monitorizar el progreso del ensayo, al menos una vez al año. Este comité examina la competencia y cumplimiento de los objetivos de cada nodo participante y decidirá si debe excluirse algún nodo de continuar en el ensayo por falta de cumplimiento de los objetivos fijados.

Además, el *Steering Committee* envía periódicamente informes por correo a los miembros de este Comité (DSMB) con los análisis estadísticos pertinentes que ayuden a determinar la continuación del ensayo PREDIMED-PLUS. El DSMB podrá solicitar cualquier análisis estadístico durante el curso del estudio, ya sea de modo enmascarado o no. El DSMB puede, en cualquier momento durante el estudio, recomendar la detención del ensayo si se diera el caso de una tasa de incidencia inaceptable de efectos adversos o en función de las diferencias significativas en la mortalidad entre los grupos de intervención. La decisión final será tomada por el Comité Ejecutivo del ensayo PREDIMED-PLUS.

FUENTES DE FINANCIACIÓN Y CUESTIONES ADMINISTRATIVAS

Este estudio fue financiado por la agencia oficial del Gobierno de España de financiación de proyectos de investigación biomédica, el Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), que a través del Fondo de Investigación Sanitaria (FIS) nos ha concedido cuatro proyectos de investigación coordinados para los períodos anuales de 2014-2016 y 2017-2019 (IP de los proyectos coordinados Jordi Salas-Salvadó) y para los períodos anuales de 2015-2017 y 2018-2020 (IP de los proyectos coordinados Josep Vidal); el Centro de Investigación Biomédica en Red-Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición (CIBEROBN), que es co- financiado por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional, y por el Consejo Europeo de Investigación –ERC- (Advanced Research Grant 2013-2018; 340918) (ayuda concedida a Miguel Ángel Martínez-Gonzalez).

Sitio web del estudio

<http://www.predimedplus.com>

Nombre y dirección del contacto

Prof. Jordi Salas-Salvadó, MD, PhD. Unidad de Nutrición Humana, Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud, Universidad Rovira i Virgili, C/ San Lorenç , 21, 43201

Reus, Tarragona (España). Tel.: 977759312; Fax: 977759322. E-mail: jordi.salas@urv.cat.

Prof. Miguel A. Martínez-González, MD, PhD, PH, Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública, Facultad de Medicina–Clínica Universidad de Navarra, Irunlarrea 1, 31008 Pamplona, España. Tel.: 636 355 333. E-mail: mamartinez@unav.es

Registro PREDIMED-PLUS

El ensayo PREDIMED-PLUS se registró en el International Standard Randomized Controlled Trial (ISRCT; <http://www.isrctn.com/ISRCTN89898870>) con número 89898870 y fecha de registro, 24 de julio 2014.

BIBLIOGRAFÍA

American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes-2014. Diabetes Care 2014;37 Suppl 1:S14-80.

Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. Circulation 2009;120:1640-5.

Alonso J, Prieto L, Anto JM. [The Spanish version of the SF-36 Health Survey (the SF-36 health questionnaire): an instrument for measuring clinical results]. Med Clin (Barc) 1995;104:771-6.

Alonso J, Regidor E, Barrio G, Prieto L, Rodriguez C, de la Fuente L. [Population reference values of the Spanish version of the Health Questionnaire SF-36]. Med Clin (Barc) 1998;111:410-6.

American Dietetic Association. Adult Weight Management Evidence-Based Nutrition Practice Guideline. Ver [http://www.adaevidencelibrary.com/topic.cfm?cat=2798 &auth=1](http://www.adaevidencelibrary.com/topic.cfm?cat=2798&auth=1), consulted 12/4/2012.

American Psychiatry Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition (DSM-5) Arlington, VA, American Psychiatric Association, 2013.

Bao Y, Han J, Hu FB, et al. Association of nut consumption with total and cause-specific mortality. N Engl J Med 2013;369:2001-11.

Basterra-Gortari FJ, Beunza JJ, Bes-Rastrollo M, Toledo E, García-López M, Martínez-González MA. [Increasing trend in the prevalence of morbid obesity in Spain: from 1.8 to 6.1 per thousand in 14 years]. Rev Esp Cardiol 2011;64:424-6.

Benton AL, Hamsher, K, Sivan AB. Multilingual Aphasia Examination (3rd ed.). San Antonio, Texas: Psychological Corporation; 1994.

Berrington de Gonzalez A, Hartge P, Cerhan JR, et al. Body-mass index and mortality among 1.46 million white adults. N Engl J Med 2010;363:2211-9.

Bes-Rastrollo M, Sabaté J, Gómez-Gracia E, Alonso A, Martínez JA, Martínez-González MA. Nut consumption and weight gain in a Mediterranean cohort: The SUN study. *Obesity* (Silver Spring) 2007;15:107-16.

Beunza JJ, Toledo E, Hu FB, et al. Adherence to the Mediterranean diet, long-term weight change, and incident overweight or obesity: the Seguimiento Universidad de Navarra (SUN) cohort. *Am J Clin Nutr* 2010;92:1484-93.

Benkhalti F, Prost J, Paz E, Perez-Jimenez F, El Modafar C & El Boustani E. Effects of feeding virgin olive oil or their polyphenols on lipid of rat liver. *Nutrition Research* 2002; 22:1067-1075.

Beck A T, Steer R A, y Brown GK. BDI-II. Beck Depression Inventory-Second Edition Manual. San Antonio, TX: The Psychological Corporation, 1996.

Bueno NB, de Melo IS, de Oliveira SL, da Rocha Ataíde T. Very-low-carbohydrate ketogenic diet v. low-fat diet for long-term weight loss: a meta-analysis of randomised controlled trials. *Br J Nutr* 2013;110:1178-87.

Buxton AE, Calkins H, Callans DJ, et al. ACC/AHA/HRS 2006 key data elements and definitions for electrophysiological studies and procedures: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Data Standards (ACC/AHA/HRS Writing Committee to Develop Data Standards on Electrophysiology). *Circulation* 2006;114:2534-70.

Bliuc D, Nguyen ND, Milch VE, Nguyen TV, Eisman JA, Center JR. Mortality risk associated with low-trauma osteoporotic fracture and subsequent fracture in men and women. *JAMA* 2009;301:513-21.

Bray F, Znaor A, Cueva P, et al. Planning and Developing Population-Based Cancer Registration in Low- and Middle-Income Settings. IARC Technical Publication No. 43. International Agency for Research on Cancer. WHO, Geneva 2014.

Camargo A, Delgado-Lista J, Garcia-Rios A, et al. Expression of proinflammatory, proatherogenic genes is reduced by the Mediterranean diet in elderly people. *Br J Nutr* 2012;108:500-8.

Camm AJ, Kirchhof P, Lip GY, et al. ESC Committee for Practice Guidelines. Guidelines for the management of atrial fibrillation: the Task Force for the Management of Atrial Fibrillation of the European Society of Cardiology (ESC). European Heart Rhythm Association; European

Association for Cardio-Thoracic Surgery, *Europace*. 2010;10:1360-420.

Carrier M, Khorana AA, Zwicker JI, Lyman GH, Le Gal G, Lee AY; subcommittee on Haemostasis and Malignancy for the SSC of the ISTH. Venous thromboembolism in cancer clinical trials: recommendation for standardized reporting and analysis. *J Thromb Haemost* 2012;10:2599-601.

Chrysohoou C, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Das UN, Stefanadis C. Adherence to the Mediterranean diet attenuates inflammation and coagulation process in healthy adults: The ATTICA Study. *J Am Coll Cardiol* 2004;44:152-8.

Chrysohoou C, Skoumas J, Pitsavos C, et al. Long-term adherence to the Mediterranean diet reduces the prevalence of hyperuricaemia in elderly individuals, without known cardiovascular disease: the Ikaria study. *Maturitas* 2011;70:58-64.

Covas MI, Konstantinidou V, Fito M. Olive oil and cardiovascular health. *J Cardiovasc Pharmacol* 2009;54:477-482.

Covas MI, Nyyssonen K, Poulsen HE, et al. The effect of polyphenols in olive oil on heart disease risk factors: a randomized trial. *Ann Intern Med* 2006;145: 333-41.

Dai J, Jones DP, Goldberg J, et al. Association between adherence to the Mediterranean diet and oxidative stress. *Am J Clin Nutr* 2008;88:1364-70.

de Roos B, Zhang X, Rodriguez Gutierrez G, et al. Anti-platelet effects of olive oil extract: in vitro functional and proteomic studies. *Eur J Nutr* 2011;50: 553-62.

Defilippis AP, Blaha MJ, Jacobson TA. Omega-3 Fatty acids for cardiovascular disease prevention. *Curr Treat Options Cardiovasc Med* 2010;12:365-80.

Detopoulou P, Panagiotakos DB, Chrysohoou C, et al. Dietary antioxidant capacity and concentration of adiponectin in apparently healthy adults: the ATTICA study. *Eur J Clin Nutr* 2010; 64:161-8.

Dinu M, Pagliai G, Casini A, Sofi F. Mediterranean diet and multiple health outcomes: an umbrella review of meta-analyses of observational studies and randomised trials. *Eur J Clin Nutr* 2018;72:30-43.

DSM-IV-TR; APA, 2000. American Psychiatric Association. (2000). Diagnostic and statistical manual of mental disorders (4th ed., text rev.). Washington, DC.

Easton JD, Saver JL, Albers GW, et al. Definition and evaluation of transient ischemic attack: a scientific statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association Stroke Council; Council on Cardiovascular Surgery and Anesthesia; Council on Cardiovascular Radiology and Intervention; Council on Cardiovascular Nursing; and the Interdisciplinary Council on Peripheral Vascular Disease. The American Academy of Neurology affirms the value of this statement as an educational tool for neurologists. *Stroke* 2009;40:2276-93.

Elosua R, Garcia M, Aguilar A, Molina L, Covas MI, Marrugat J. Validation of the Minnesota Leisure Time Physical Activity Questionnaire In Spanish Women. Investigators of the MARATDON Group. *Med Sci Sports Exerc* 2000;32:1431-7.

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- 209.

Esposito K, Marfella R, Ciotola M, et al. Effect of a Mediterranean-style diet on endothelial dysfunction and markers of vascular inflammation in the metabolic syndrome: a randomized trial. *JAMA* 2004;292:1440-6.

Esposito K, Kastorini CM, Panagiotakos DB, Giugliano D. Mediterranean diet and weight loss: metaanalysis of randomized controlled trials. *Metab Syndr Relat Disord* 2011;9:1-12.

Estruch R, Martínez-González MA, Corella D, et al. Effects of a Mediterranean-style diet on cardiovascular risk factors. A randomized trial. *Ann Intern Med* 2006;145:1-11.

Estruch R, Martínez-González MA, Corella D, et al. Effect of a high-fat Mediterranean diet on bodyweight and waist circumference: a prespecified secondary outcomes analysis of the PREDIMED randomised controlled trial. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2016;4:666-76.

Estruch R, Ros E, Salas-Salvado J, et al. Primary prevention of cardiovascular disease with Mediterranean diets: the PREDIMED trial. 2013;368:1279-90.

European Stroke Organisation (ESO) Executive Committee and ESO Writing Committee. Guidelines for management of ischaemic stroke and transient ischaemic attack 2008. *Cerebrovasc Dis* 2008;25:457-507.

Fernández JM, Rosado-Álvarez D, Da Silva Grigoletto ME, et al. Moderate-to-high-intensity training and a hypocaloric Mediterranean diet enhance endothelial progenitor cells and fitness in subjects with the metabolic syndrome. *Clin Sci (Lond)* 2012;123:361-73.

Fernández-Ballart JD, Piñol JL, Zazpe I, et al. Relative validity of a semi-quantitative food-frequency questionnaire in an elderly Mediterranean population of Spain. *Br J Nutr* 2010;103:1808-16.

Fernández-Montero A, Bes-Rastrollo M, Beunza JJ, et al. Nut consumption and incidence of metabolic syndrome after 6-year follow-up: the SUN (Seguimiento Universidad de Navarra, University of Navarra Follow-up) cohort. *Public Health Nutr* 2012 Oct 23:1-9.

Finucane MM, Stevens GA, Cowan MJ, et al. National, regional, and global trends in body-mass index since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 960 country-years and 9.1 million participants. *Lancet* 2011;377:557-67.

First MB, Spitzer RL, Gibbon M, Williams J, Structured Clinical Interview for DSM-IV-TR Axis I Disorders, Research Version, Non-patient Edition (SCID-I/P). New York: Biometrics Research, New York State Psychiatric Institute. 2002.

Fuster V, et al. "ACC/AHA/ESC 2006 guidelines for the management of patients with atrial fibrillation executive summary: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and the European Society of Cardiology Committee for Practice Guidelines(Writing Committee to Revise the 2001 Guidelines for the Management of Patients with Atrial Fibrillation)." *Eur Heart J* 2006; 27:1979-2030.

Fito M, Cladellas M, de la Torre R, et al. Anti-inflammatory effect of virgin olive oil in stable coronary disease patients: a randomized, crossover, controlled trial. *Eur J Clin Nutr* 2008;62:570-4.

Fito M, Fitó M, Guxens M, et al. Effect of a traditional Mediterranean diet on lipoprotein oxidation: a randomized controlled trial. *Arch Intern Med* 2007;167:1195-1203.

Flegal KM, Kit BK, Orpana H, Graubard BI. Association of all-cause mortality with overweight and obesity using standard body mass index categories: a systematic review and meta-analysis. *JAMA* 2013;309:71-82.

Flint AJ, Hu FB, Glynn RJ, et al. Excess weight and the risk of incident coronary heart disease among men and women. *Obesity (Silver Spring)* 2010;18:377-83.

Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. Mini-mental state: A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 1975;12:189-98.

Fuentes F, López-Miranda J, Pérez-Martínez P, et al. Chronic effects of a high-fat diet enriched with virgin olive oil and a low-fat diet enriched with alpha-linolenic acid on postprandial endothelial function in healthy men. *Br J Nutr* 2008;100:159-65.

GBD 2015 Obesity Collaborators. Health Effects of Overweight and Obesity in 195 Countries over 25 Years. *N Engl J Med* 2017;377:13-27.

Gea A, Bes-Rastrollo M, Toledo E, Garcia-Lopez M, Beunza JJ, Estruch R, Martinez-Gonzalez MA. Mediterranean alcohol-drinking pattern and mortality in the SUN (Seguimiento Universidad de Navarra) Project: a prospective cohort study. *Br J Nutr* 2014;111:1871-80.

González-Muniesa P, Martínez-González MA, Hu FB, Després JP, Matsuzawa Y, Loos RJF, Moreno LA, Bray GA, Martinez JA. Obesity. *Nat Rev Dis Primers* 2017;3:17034

Gregg EW, Chen H, Wagenknecht LE, et al. Association of an intensive lifestyle intervention with remission of type 2 diabetes. *JAMA* 2012;308:2489-96.

Guasch-Ferré M, Bulló M, Martínez-González MÁ, et al. Frequency of nut consumption and mortality risk in the PREDIMED nutrition intervention trial. *BMC Med* 2013;11:164.

Gunstad J, Lhotsky A, Wendell CR, Ferrucci L, Zonderman AB. Longitudinal examination of obesity and cognitive function: results from the Baltimore longitudinal study of aging. *Neuroepidemiology* 2010;34:222-9.

Gutiérrez-Fisac JL, Guallar-Castillón P, León-Muñoz LM, et al. Prevalence of general and abdominal obesity in the adult population of Spain, 2008-2010: the ENRICA study. *Obes Rev* 2012;13:388-92.

Haaf P, Drexler B, Reichlin T, et al. High Sensitivity Cardiac Troponin in the Distinction of Acute Myocardial Infarction from Acute Cardiac Non-Coronary Artery Disease, *Circulation* 2012;126:31-40.

Hall KD, Sacks G, Chandramohan D, et al. Quantification of the effect of energy imbalance on bodyweight. *Lancet* 2011;378:826-37.

Henríquez Sánchez P, Ruano C, de Irala J, Ruiz-Canela M, Martínez-González MA, Sánchez-Villegas A. Adherence to the Mediterranean diet and quality of life in the SUN Project. *Eur J Clin Nutr* 2012;66:360-8.

Hernán MA, Taubman SL. Does obesity shorten life? The importance of well-defined interventions to answer causal questions. *Int J Obes (Lond)* 2008;32 Suppl 3:S8-14.

Howard BV, Van Horn L, Hsia J, et al. Low-fat dietary pattern and risk of cardiovascular disease: the Women's Health Initiative Randomized Controlled Dietary Modification Trial. *JAMA* 2006;295:655-66.

Hu T, Mills KT, Yao L, et al. Effects of low-carbohydrate diets versus low-fat diets on metabolic risk factors: a meta-analysis of randomized controlled clinical trials. *Am J Epidemiol* 2012;176 Suppl 7:S44-54.

Hamm CW, Bassand JP, et al. ESC Committee for Practice Guidelines. ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation The Task Force for the management of acute coronary syndromes (ACS) in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2011;32:2999–3054.

Hughes AJ, Daniel SE, Kilford L, Lees AJ. Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson's disease: a clinic-pathological study of 100 cases. *J Neurol Neurosurg Psych* 1992;5:181-184.

Jiang R, Jacobs DR Jr, Mayer-Davis E, et al. Nut and seed consumption and inflammatory markers in the multi-ethnic study of atherosclerosis. *Am J Epidemiol* 2006;163:222-31.

Jones JL, Fernandez ML, McIntosh MS, et al. A Mediterranean-style low-glycemic-load diet improves variables of metabolic syndrome in women, and addition of a phytochemical-rich medical food enhances benefits on lipoprotein metabolism. *J Clin Lipidol* 2011;5:188-96.

Kastorini CM, Milionis HJ, Esposito K, Giugliano D, Goudevenos JA, Panagiotakos DB. The effect of Mediterranean diet on metabolic syndrome and its components: a meta-analysis of 50 studies and 534,906 individuals. *J Am Coll Cardiol* 2011; 57:1299-313.

Khanna D, Fitzgerald JD, et al. 2012 American College of Rheumatology guidelines for management of gout. Part 1: systematic nonpharmacologic and pharmacologic therapeutic approaches to hyperuricemia. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2012;64:1431-1446.

Larsen TM, Dalskov SM, van Baak M, et al. Diets with high or low protein content and glycemic index for weight-loss maintenance. *N Engl J Med* 2010;363:2102-13.

Lauby-Secretan B, Scoccianti C, Loomis D, Grosse Y, Bianchini F, Straif K; International Agency for Research on Cancer Handbook Working Group. Body Fatness and Cancer--Viewpoint of the IARC Working Group. *N Engl J Med* 2016;375:794-8.

Li TY, Brennan AM, Wedick NM, Mantzoros C, Rifai N, Hu FB. Regular consumption of nuts is associated with a lower risk of cardiovascular disease in women with type 2 diabetes. *J Nutr* 2009;139:1333-8.

Look AHEAD Research Group. Cardiovascular effects of intensive lifestyle intervention in type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2013;369:145-54.

López-Miranda J, Pérez-Jiménez F, Ros E, et al. Olive oil and health: Summary of the II International Conference on Olive Oil and Health consensus report, Jaén and Córdoba (Spain) 2008. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2010;20:284-94.

Lozano R, Naghavi M, Foreman K, et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet* 2012;380:2095-128.

Ludwig DS. Weight loss strategies for adolescents: a 14-year-old struggling to lose weight. *JAMA* 2012;307:498-508.

Luppino FS, de Wit LM, Bouvy PF, et al. Overweight, obesity, and depression: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *Arch Gen Psychiatry* 2010;67:220-9.

Malik VS, Hu FB. Popular weight-loss diets: from evidence to practice. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2007;4:34-41.

Malik VS, Willett WC, Hu FB. Global obesity: trends, risk factors and policy implications. *Nat Rev Endocrinol* 2013;9:13-27.

Martínez-González MÁ, Bes-Rastrollo M. Nut consumption, weight gain and obesity: Epidemiological evidence. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2011;21(Suppl 1): S40-45.

Martinez-Gonzalez MA, Bes-Rastrollo M. Dietary patterns, Mediterranean diet, and cardiovascular disease. *Curr Opin Lipidol* 2014;25:20-6.

Martínez-González MÁ, Corella D, Salas-Salvadó J, et al. Cohort profile: design and methods of the PREDIMED study. *Int J Epidemiol* 2012;41:377-85.

Martínez-González MÁ, Fernández-Jarne E, Serrano-Martínez M, Wright M, Gomez-Gracia E. Development of a short dietary intake questionnaire for the quantitative estimation of adherence to a cardioprotective Mediterranean diet. *Eur J Clin Nutr* 2004;58:1550-2.

Martínez-González MÁ, Hershey MS, Zazpe I, Trichopoulou A. Transferability of the Mediterranean Diet to Non-Mediterranean Countries. What Is and What Is Not the Mediterranean Diet. *Nutrients* 2017;9:1226.

Masters RK, Powers DA, Link BG. Obesity and US Mortality Risk Over the Adult Life Course. *Am J Epidemiol* 2013;177:431-42.

McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, et al. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 2011;7:263-9.

McMurray JJ, Adamopoulos S, Anker SD, Auricchio A, Böhm M, Dickstein K, et al; ESC Committee for Practice Guidelines. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012. The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur Heart J* 2012;33:1787–1847.

McManus K, Antinoro L, Sacks F. A randomized controlled trial of a moderate-fat, low-energy diet compared with a low fat, low-energy diet for weight loss in overweight adults. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001;25:1503-11.

Mena MP, Sacanella E, Vazquez-Agell M, et al. Inhibition of circulating immune cell activation: a molecular antiinflammatory effect of the Mediterranean diet. *Am J Clin Nutr* 2009;89:248-56.

Meneses ME, Camargo A, Perez-Martinez P, et al. Postprandial inflammatory response in adipose tissue of patients with metabolic syndrome after the intake of different dietary models. *Mol Nutr Food Res* 2011;55:1759-70.

Moher D, Schulz KF, Altman DG. The CONSORT statement: revised recommendations for improving the quality of reports of parallel-group randomised trials. *Lancet* 2001;357:1191-4.

Moreno JA, López-Miranda J, Pérez-Martínez P, et al. A monounsaturated fatty acid-rich diet reduces macrophage uptake of plasma oxidised low-density lipoprotein in healthy young men. *Br J Nutr* 2008;100:569-75.

Mozaffarian D, Hao T, Rimm EB, Willett WC, Hu FB. Changes in diet and lifestyle and long-term weight gain in women and men. *N Engl J Med* 2011;364:2392-404.

National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. Body weight simulator. See: <http://bwsimulator.niddk.nih.gov/>, consulted 05/01/2012.

National Institute of Health. ClinicalTrials.gov. A service of the U.S. National Institutes of Health. See: <http://clinicaltrials.gov/ct2/home>, consulted 05/01/2012.

National Institute of Health. Clinical Guidelines on the Identification, Evaluation, and Treatment of Overweight and Obesity in Adults--The Evidence Report. National Institutes of Health. *Obes Res* 1998;2(6Suppl):51S-209S.

National Institute of Health, National Heart Lung and Blood Institute and North American Association for the Study of Obesity. The practical guide: Identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults. 2000.

Ni Mhurchu C, Rodgers A, Pan WH, Gu DF, Woodward M. Body mass index and cardiovascular disease in the Asia-Pacific Region: an overview of 33 cohorts involving 310 000 participants. *Int J Epidemiol* 2004;33:751-8.

Nigg CR, Burbank PM, Padula C, et al. Stages of change across ten health risk behaviors for older adults. *Gerontologist* 1999;39: 473-82.

Nordmann AJ, Nordmann A, Briel M, Keller U, Yancy WS Jr, Brehm BJ, Bucher HC. Effects of low-carbohydrate vs low-fat diets on weight loss and cardiovascular risk factors: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Intern Med* 2006;166:285-93.

Norgren L, Hiatt WR, Dormandy JA, Nehler MR, Harris KA, Fowkes FG. Inter-Society Consensus for the Management of Peripheral Arterial Disease (TASC II). *J Vasc Surg* 2007;45 Suppl S:S5-67.

O'Brien PC, Fleming TR. A multiple testing procedure for clinical trials. *Biometrics* 1979;35:549-56.

Pedrero-Perez EJ, Ruiz-Sanchez de Leon JM, Lozoya-Delgado P, Llanero-Luque M, Rojo-Mota G, Puerta-García C. Evaluación de los síntomas prefrontales: propiedades psicométricas y datos normativos del cuestionario disejecutivo (DEX) en una muestra de población española. *Rev Neurol* 2011; 52: 394-404.

Peña-Casanova J, Quiñones-Ubeda S, Gramunt-Fombuena N, et al. Spanish Multicenter Normative Studies (NEURONORMA Project): norms for verbal fluency tests. *Arch Clin Neuropsychol* 2009a;24:395-411.

Peña-Casanova J, Quiñones-Ubeda S, Quintana-Aparicio M, et al. Spanish Multicenter Normative Studies (NEURONORMA Project): norms for verbal span, visuospatial span, letter and number sequencing, trail making test, and symbol digit modalities test. *Arch Clin Neuropsychol* 2009b;24:321-41.

Pérez-Jiménez F, Lista JD, Pérez-Martínez P, et al. Olive oil and haemostasis: a review on its healthy effects. *Public Health Nutr* 2006;9:1083-8.

Ramier AM, Hécaen H. Role Respectif des atteintes frontales et de la latéralisation lésionnelle dans les déficits de la fluence verbale. *Rev Neurol (Paris)* 1970;123:17-22.

Ramier AM, Hécaen H. Les déficits au test de "fluence verbale" chez les sujets gauchers avec lésions hémisphériques unilatérales. *Rev Neurol (Paris)* 1977;133: 571-4.

Razquin C, Martínez JA, Martínez-González MA, Mitjavila MT, Estruch R, Martí A. A 3 years follow-up of a Mediterranean diet rich in virgin olive oil is associated with high plasma antioxidant capacity and reduced body weight gain. *Eur J Clin Nutr* 2009;63:1387-93.

Razquin C, Martínez JA, Martínez-González MA, Salas-Salvadó J, Estruch R, Martí A. A 3-year Mediterranean-style dietary intervention may modulate the association between adiponectin gene variants and body weight change. *Eur J Nutr* 2010;49:311-9.

Reitan RM. Trail Making Test: Manual for administration and scoring. Tucson: Reitan Neuropsychology Laboratory; 1992.

Rejeski WJ, Ip EH, Bertoni AG, et al. Lifestyle Change and Mobility in Obese Adults with Type 2 Diabetes. *N Engl J Med* 2012;366:1209-17.

Romaguera D, Norat T, Vergnaud AC, et al. Mediterranean dietary patterns and prospective weight change in participants of the EPIC-PANACEA project. *Am J Clin Nutr* 2010;92:912-21.

Ros E. Nuts and novel biomarkers of cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* 2009; 89:1649S-56S.

Ruano J, Lopez-Miranda J, Fuentes F, et al. Phenolic content of virgin olive oil improves ischemic reactive hyperemia in hypercholesterolemic patients. *J Am Coll Cardiol* 2005; 46:1864-8.

Ruiz-Canela M, Estruch R, Corella D, Salas-Salvadó J, Martínez-González MA. Association of Mediterranean diet with peripheral artery disease: the PREDIMED randomized trial. *JAMA* 2014;311:415-7.

Ryan DH, Espeland MA, Foster GD, et al. Look AHEAD (Action for Health in Diabetes): design and methods for a clinical trial of weight loss for the prevention of cardiovascular disease in type 2 diabetes. *Control Clin Trials* 2003;24:610-28.

Sabaté J, Oda K, Ros E. Nut consumption and blood lipid levels: a pooled analysis of 25 intervention trials. *Arch Intern Med* 2010;170:821-7.

Sacco RL, Kasner SE, Broderick JP, et al. An Updated Definition of Stroke for the 21st Century: A Statement for Healthcare Professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke* 2013;44:2064-2089.

Sacks FM, Bray GA, Carey VJ, et al. Comparison of weight-loss diets with different compositions of fat, protein, and carbohydrates. *N Engl J Med* 2009;360:859-73

Salas-Salvadó J, Fernández-Ballart J, Ros E, et al. Effect of a Mediterranean diet supplemented with nuts on metabolic syndrome status: one-year results of the PREDIMED randomized trial. *Arch Intern Med* 2008;168:2449-58.

Salas-Salvadó J, Bulló M, Babio N, et al. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with the Mediterranean diet: results of the PREDIMED-Reus nutrition intervention randomized trial. *Diabetes Care* 2011;34:14-9.

Salas-Salvadó J, Bulló M, Estruch R, et al. Prevention of diabetes with Mediterranean diets: a subgroup analysis of a randomized trial. *Ann Intern Med* 2014;160:1-10.

Sanchez-Villegas A, Ara I, Dierssen T, de la Fuente C, Ruano C, Martínez-González MA. Physical activity during leisure time and quality of life in a Spanish cohort: SUN (Seguimiento Universidad de Navarra) project. *Br J Sports Med* 2012;46:443-8.

Sanz, Navarro y Vázquez, Adaptación española para el Inventario de Depresión de Beck-II (BDI-II). 1. Propiedades psicométricas en estudiantes universitarios. *Análisis y modificación de conducta* 2003;29: 239-288.

Schröder H, Fitó M, Estruch R, et al. A short screener is valid for assessing Mediterranean diet adherence among older Spanish men and women. *J Nutr* 2011;141:1140-5.

Schulz KF, Grimes DA. Multiplicity in randomised trials II: subgroup and interim analyses. *Lancet* 2005;365:1657-61.

Schulze MB, Fung TT, Manson JE, Willett WC, Hu FB. Dietary patterns and changes in body weight in women. *Obesity (Silver Spring)* 2006;14:1444-53.

Shai I, Schwarzfuchs D, Henkin Y, et al. Weight loss with a low-carbohydrate, Mediterranean, or low-fat diet. *N Engl J Med* 2008;359:229-41.

Smith, A. Symbol Digit Modalities Test. Manual. Los Angeles: Western Psychological Services; 1973.

Sofi F, Abbate R, Gensini GF, Casini A. Accruing evidence on benefits of adherence to the Mediterranean diet on health: an updated systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr* 2010;92:1189-96.

Sofi F, Macchi C, Abbate R, Gensini GF, Casini A. Mediterranean diet and health status: an updated meta-analysis and a proposal for a literature-based adherence score. *Public Health Nutr* 2014;17:2769-82.

Song YM, Sung J, Davey Smith G, Ebrahim S. Body mass index and ischemic and hemorrhagic stroke: a prospective study in Korean men. *Stroke* 2004;35:831-6.

Tendera M, Aboyans V, Bartelink ML, et al. ESC Guidelines on the diagnosis and treatment of peripheral artery diseases. *Eur Heart J* 2011;32: 2851–2906.

Tobias DK, Hu FB. Does being overweight really reduce mortality? *Obesity (Silver Spring)* 2013;21:1746-9.

Thygesen K, Alpert JS, Jaffe L, et al. Third universal definition of myocardial infarction. *Eur Heart J* 2012;33:2551–2567.

Urpi-Sarda M, Casas R, Chiva-Blanch G, et al. Virgin olive oil and nuts as key foods of the Mediterranean diet effects on inflammatory biomarkers related to atherosclerosis. *Pharmacol Res* 2012; 65:577-83.

Wallston KA, Stein MJ, Smith CA. Form C of the MHLC scales: a condition-specific measure of locus of control. *J Pers Assess* 1994;63:534-53.

Wallston, Wallston, & DeVellis, 1978, *Health Education Monographs*, 6, 160-170.

Ware JE, Gandek B, Gandek B Jr. Overview of the SF-36 Health Survey and the International Quality of Life Assessment (IQOLA) Project. *J Clin Epidemiol* 1998;51:903-12.

Wechsler, D. Wechsler Adult Intelligence Scale-III. San Antonio, Texas: Psychological Corporation; 1997a.

Wechsler, D. Wechsler Memory Scale. San Antonio, Texas: Psychological Corporation; 1997b.
Wechsler, D. WAIS III. Escala de inteligencia de Wechsler para adultos-III. Manual técnico. Madrid: TEA Ediciones; 1999.

Wechsler D. Escala de memoria Wechsler.-III. Manual técnico: TEA Ediciones. S. A; 2004.

Willett WC. Dietary fat plays a major role in obesity: no. *Obes* 2002;Rev 3:59-68.

Willett WC. Eat, drink, and be healthy: the Harvard Medical School guide to healthy eating. New York: Free Press, 2001

Wilson BA, Alderman N, Burgess PW, Emslie H, Evans JJ. Behavioural assessment of the dysexecutive syndrome. Bury St. Edmunds, UK: Thames Valley Test; 1996.

Wing RR. Long-term effects of a lifestyle intervention on weight and cardiovascular risk factors in individuals with type 2 diabetes mellitus: four-year results of the Look AHEAD trial. *Arch Intern Med* 2010;170:1566-75.

World Health Organization. Obesity: Preventing and managing the global epidemic. Geneva: World Health Organization, 1998. World Health Organization. International Classification of Diseases for Oncology, 3rd Edition (ICD-O-3).

<http://www.who.int/classifications/icd/adaptations/oncology/en/index.html>, consulted 24/04/2012.

Yesavage JA. Geriatric Depression Scale. *Psychopharmacol Bull* 1988;24:709-11.

Yancy CW, Jessup M, Bozkurt B, et al. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol* 2013; 62: e147- e239.

Zazpe I, Sanchez-Tainta A, Estruch R, et al. A large randomized individual and group intervention conducted by registered dietitians increased adherence to Mediterranean-type diets: the PREDIMED study. J Am Diet Assoc 2008;108:1134-44

Zhu L, Liu Z, Feng Z, et al. Hydroxytyrosol protects against oxidative damage by simultaneous activation of mitochondrial biogenesis and phase II detoxifying enzyme systems in retinal pigment epithelial cells. J Nutr Biochem 2010;21:1089-98.

ANEXO 1. SUBESTUDIOS

1. Composición Corporal:

El uso de DEXA o tomografía computarizada para medir la composición corporal se realiza en algunos centros de reclutamiento en los que se dispone del equipo y la tecnología necesaria. El análisis de la composición corporal mediante DEXA se realiza mediante equipo Lunar (General Electrics) en los siguientes centros: Universidad Rovira i Virgili, la Universidad de las Illes Balears, el Hospital Clínico de Barcelona y los Departamentos de Medicina Preventiva y Nutrición en Navarra.

2. Otros subestudios:

De acuerdo con la financiación conseguida se realizarán subestudios para evaluar interacciones gen-ambiente, estudios epigenéticos como la metilación del ADN, modificación de las histonas, y las alteraciones de microARN, la composición y la funcionalidad de la microbiota intestinal por pirosecuenciación, y el efecto de la intervención sobre la metabolómica, la transcriptómica y la proteómica.

ANEXO 2. CENTROS PARTICIPANTES

Centros reclutadores

ID	PI	Email address	Center
01	Julia Wärnberg	jwarnberg@uma.es	Facultad de Ciencias de la Salud Universidad de Málaga-IBIMAMálaga
02	José Lapetra	jlapetra@ono.com	Distrito Sanitario de Atención Primaria de Sevilla, Sevilla
03	J. Alfredo Martínez	jalfmtz@unav.es	Universidad de Navarra - Nutrition, Pamplona
04	María Adoración Romaguera; Miquel Fiol	mariaadoracion.romaguera@ ssib.es; miquelfiol@yahoo.es	Hospital Son Espases, Palma
05	Ramon Estruch	restruch@clinic.ub.es	Hospital Clínic-Medicina Interna, Barcelona
06	Montserrat Fitó	mfito@imim.es	Institut Hospital del Mar d'Investigacions Mèdiques, Barcelona
07	Jordi Salas-Salvadó	jordi.salas@urv.cat	Universitat Rovira i Virgili, Reus
08	Aurora Bueno	abueno@ugr.es	Universidad de Granada, Granada
09	Clotilde Vázquez	cvazquezma@gmail.com	Hospital Ramón y Cajal, Madrid
10	Miguel Ángel Martínez-González	mamartinez@unav.es	Universidad de Navarra - Epidemiology, Pamplona
11	Fernando Aròs	aborau@htxa.osakidetza.net	Hospital Universitario Araba, Vitoria
12	Dolores Corella	dolores.corella@uv.es	Universidad de Valencia, Valencia
13	Lluis Serra-Majem	lserra@dcc.ulpgc.es	Universidad de las Palmas de Gran Canaria, Las Palmas
14	Xavier Pintó	xpinto@csub.scs.es	Hospital de Bellvitge, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona
15	José López Miranda	jlopezmir@gmail.com	Universidad de Córdoba, Córdoba
16	José María Ordovás	Jose.Ordovas@tufts.edu	IMDEA, Madrid
17	Pilar Matía Martín	pilar.matia@gmail.com	Hospital Clínico, Madrid
18	Francisco Tinahones	fjtinahones@hotmail.com	Hospital de Málaga, Málaga
19	Josep Tur	pep.tur@uib.es	Universitat de les Illes Balears, Palma
20	Josep Vidal	JOVIDAL@clinic.ub.es	Hospital Clínic – Endocrinología, Barcelona
21	Jesús Vioque López	vioque@umh.es	Universidad Miguel Hernández, Sant Joan d'Alacant, Alicante
22	Miguel Delgado Rodríguez	mdelgado@ujaen.es	Universidad de Jaén, Jaén
23	Vicente Martin	vicente.martin@unileon.es	Universidad de León, León

Grupos de apoyo

ID	PI	Email address	Center
A1	Emilio Ros	eros@clinic.ub.es	Hospital Clínic, Barcelona
A2	Rosa M. Lamuela-Raventós	lamuela@ub.edu	Universitat de Barcelona
A3	Guillermo Sáez	guillermo.Saez@uv.es	Universitat de Valencia
A4	María del Puy Portillo	mariapuy.portillo@ehu.es	Universidad del País Vasco
A5	Ascensión Marcos	amarcos@ictan.csic.es	CSIC, Madrid
A6	Cristina Botella	botella@uji.es	Universitat Jaume I de Castellón
A7	Fernando Fernández-Aranda	ffernandez@bellvitgehospital.cat	Hospital Universitari de Bellvitge
A8	Enrique Gómez-Gracia	egomezgracia@gmail.com	Medicina Preventiva, Facultad de Medicina, Universidad de Málaga, Málaga