



Trabajo Original

Obesidad y síndrome metabólico

Influencia de los carotenoides sobre los marcadores de riesgo cardiometabólico en mujeres peri y posmenopáusicas

Influence of dietary carotenoids on biomarkers of cardiometabolic risk in peri- and post-menopausal women

Aina Tomás Luíz^{1,2}, Gala Martín Pozuelo¹, Inmaculada González Navarro¹, Laura Elvira Torales¹, Helena Ponce¹, Rocío González Barrio^{1,2}, Javier García Alonso^{1,2} y María Jesús Periago^{1,2}

¹Departamento de Tecnología de los Alimentos, Nutrición y Bromatología. Facultad de Veterinaria. Campus de Excelencia Regional "Campus Mare Nostrum". Campus Universitario de Espinardo. Murcia. ²Nutrición y Bromatología. Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria (IMIB). Universidad de Murcia. Murcia

Resumen

Introducción: durante la menopausia hay una mayor tendencia a la obesidad y el depósito de grasa visceral, aumentando el riesgo cardiometabólico.

Objetivos: evaluar mediante un estudio de intervención el efecto del consumo de carotenoides sobre los biomarcadores relacionados con el riesgo cardiometabólico en mujeres peri y posmenopáusicas.

Métodos: se seleccionaron 12 mujeres peri y posmenopáusicas, sin antecedentes de enfermedad cardiovascular pero con algún factor de riesgo cardiometabólico. Durante 4 semanas se suplementó su dieta con zumo de naranja-zanahoria, zumo de tomate y espinacas cocidas, proporcionando una ingesta de 415 mg de carotenoides totales a la semana (carotenos, criptoxantina, licopeno y luteína + zeaxantina). En el momento inicial (T_i) y en el final (T_f) se midieron los parámetros antropométricos y se analizaron los parámetros bioquímicos, los carotenoides plasmáticos y los biomarcadores de estrés oxidativo, de inflamación y de función endotelial.

Resultados: en el T_f se observaron cambios significativos, disminuyendo el colesterol unido a LDL y el índice aterogénico, y aumentando el colesterol-HDL. Los carotenoides plasmáticos se incrementaron significativamente ($p < 0,05$) de 0,56 µg/ml en el T_i hasta 1,22 µg/ml en el T_f. Paralelamente se observaron cambios significativos ($p < 0,05$) en los biomarcadores de estrés oxidativo e inflamación, disminuyendo la proteína C-reactiva y el malonaldehído, y aumentando la adiponectina. Por el contrario, los biomarcadores de daño endotelial (sVCAM y sICAM) y la capacidad antioxidante (ORAC) no mostraron cambios tras la intervención.

Conclusiones: el consumo de carotenoides aumenta los niveles plasmáticos de carotenoides y disminuye la dislipemia aterogénica, y mejora los biomarcadores de inflamación y el estrés oxidativo, lo que está relacionado con una disminución del riesgo cardiometabólico.

Palabras clave:

Carotenoides. Riesgo cardiometabólico. Estrés oxidativo. Inflamación. Menopausia. Mujeres.

Recibido: 29/03/2021 • Aceptado: 28/06/2021

Contribuciones de los autores: concepción, diseño del estudio y captación de fondos: MJP y JGA. Reclutamiento de voluntarias y registro de datos antropométricos y recogida y preparación de muestras biológicas: AT, GMP, ING y MJP. Análisis de muestras biológicas: AT, ING, LET y GMP. Análisis de los datos: AT, MJP, RGB y JGA. Redacción del manuscrito: AT, HP y MJP.

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener conflictos de intereses.

Financiación: el presente estudio ha sido financiado por el proyecto 20904/PI/2018 de la Fundación Séneca (Agencia de Ciencia y Tecnología de la Región de Murcia).

Tomás Luíz A, Martín Pozuelo G, González Navarro I, Torales LE, Ponce H, González Barrio R, García Alonso J, Periago MJ. Influencia de los carotenoides sobre los marcadores de riesgo cardiometabólico en mujeres peri y posmenopáusicas. *Nutr Hosp* 2021;38(5):993-1001

DOI: <http://dx.doi.org/10.20960/nh.03624>

Correspondencia:

María Jesús Periago. Departamento de Tecnología de los Alimentos, Nutrición y Bromatología. Facultad de Veterinaria. Campus de Excelencia Regional "Campus Mare Nostrum". Campus Universitario de Espinardo. 30071 Murcia
e-mail: mjperi@um.es

Abstract

Background: peri- and post-menopausal women exhibit a high tendency towards obesity and visceral fat deposition, which increases cardiometabolic risk.

Objective: to evaluate through a prospective nutritional study the effect of carotenoid consumption on cardiometabolic risk biomarkers in peri- and post-menopausal women.

Material and methods: twelve peri- and post-menopausal women without previous symptoms of cardiovascular disease, but with some cardiometabolic risk factor, were recruited. Their diet was supplemented during 4 weeks with orange-carrot juice, tomato juice, and boiled spinach, providing 415 mg of total carotenoids/week (carotenes, cryptoxanthin, lycopene, and lutein + zeaxanthin). At the beginning (T_i) and at the end (T_p) of the intervention period blood samples were drawn to measure biochemical parameters, oxidative stress, inflammation and endothelial function biomarkers, and plasma carotenoid levels.

Results: at T_p a significant decrease ($p < 0.05$) in LDL-cholesterol and atherogenic index, and an increase in HDL-cholesterol were observed. Plasma carotenoids increased significantly ($p < 0.05$) from 0.56 µg/mL at T_i to 1.22 µg/mL at T_p. Concurrently, a shift in oxidative stress and inflammation biomarkers was detected, with a decrease in plasma C-reactive protein and malonaldehyde levels, and an increase in adiponectin. However, endothelial dysfunction biomarkers (sVCAM and sICAM) and total antioxidant capacity remained unchanged.

Conclusions: dietary supplementation with carotenoids leads to an increase in plasma carotenoids, a decrease in atherogenic dyslipidemia, and an improvement in oxidative stress and inflammation biomarkers, which indicates a reduction in cardiometabolic risk.

Keywords:

Carotenoids.
Cardiometabolic
risk. Oxidative
stress. Inflammation.
Menopause. Women.

INTRODUCCIÓN

Tras el climaterio se produce un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular que va asociado a la edad a la que se inicia la menopausia (1,2). Durante la menopausia, como consecuencia de la depleción hormonal, se producen alteraciones de la homeostasis energética que se acompañan de un incremento del peso corporal, con mayor tendencia a la obesidad y al depósito de grasa visceral, aumentando el riesgo cardiometabólico (3,4). En las situaciones de obesidad, y asociado al síndrome metabólico, se produce un cuadro de inflamación de bajo grado que, perpetuado en el tiempo, podría dar lugar a complicaciones cardiovasculares. En los adipocitos, debido a la acumulación de grasa intracelular y a la oxidación de los ácidos grasos, se desarrolla una reacción de lipotoxicidad con formación de radicales libres, lo que conlleva la síntesis de citoquinas proinflamatorias (TNF- α , IL-6 e IL-1), disminuyendo la secreción de adiponectina, como adipoquina antiinflamatoria. En consecuencia, se desencadena una reacción inflamatoria (5).

Los carotenoides son uno de los principales antioxidantes alimentarios y, en España, el 89 %, 68 % y 97,1 % del β -caroteno, la luteína + zeaxantina y el licopeno proceden del consumo de frutas y vegetales (6), aunque la ingesta varía en función de la época del año y del estatus socioeconómico y cultural (7). Los principales carotenoides son: α -caroteno, β -caroteno, β -criptoxantina, licopeno, zeaxantina y luteína. Estos constituyen el 70 % de los carotenoides circulantes en el plasma y acumulados en los tejidos humanos (7). Además de su función antioxidante, algunos carotenoides son precursores de la vitamina A y otros retinoides, que juegan un papel importante en el ciclo visual y en la regulación de los genes vinculados a muchos procesos fisiológicos y del desarrollo embrionario y fetal, la diferenciación celular y el control metabólico (8).

En el estudio CARDIA, en el que se estudió la relación entre los niveles plasmáticos de carotenoides y los marcadores de enfermedad cardiovascular en la población de Estados Unidos (hombres y mujeres) durante 15 años, se observó que los niveles

de carotenoides plasmáticos estaban inversamente asociados a la incidencia de la hipertensión y que, en el caso de los fumadores, reducían el estrés oxidativo, la inflamación y la función endotelial, lo que indica su papel en la prevención del riesgo cardiovascular (9,10). Los resultados del proyecto Flamenco han descrito que una alta adherencia a la dieta mediterránea se asocia a un menor riesgo cardiometabólico en las mujeres peri y posmenopáusicas, al disminuir los niveles de colesterol plasmático, triglicéridos y proteína C-reactiva (PCR), reduciéndose también la frecuencia cardíaca en reposo, en comparación con las mujeres que presentaban una adherencia baja o media (11). Teniendo en cuenta la importancia que tienen los cambios del estilo de vida, incluida la dieta, para las mujeres en esta etapa de la vida (12), el objetivo del presente estudio ha sido estudiar el efecto de la suplementación de la dieta con alimentos ricos en carotenoides sobre los parámetros y biomarcadores relacionados con el riesgo cardiometabólico en mujeres peri y posmenopáusicas.

MATERIAL Y MÉTODOS

DISEÑO EXPERIMENTAL

En el presente estudio se ha realizado un estudio de intervención experimental en una población de mujeres peri y posmenopáusicas, sin antecedentes de enfermedad cardiovascular (ECV) y con algún factor de riesgo cardiometabólico. Los criterios de inclusión fueron: amenorrea de 6 o más meses, sobrepeso y obesidad, índice cintura-cadera $> 0,85$, porcentaje de grasa > 32 %, niveles de lípidos plasmáticos elevados, dislipemia aterogénica, hipertensión, fumadora, sin tratamiento con suplementos de vitaminas o minerales. Se reclutaron 12 voluntarias dentro de la comunidad de la Universidad de Murcia (España), con una edad comprendida entre 49 y 57 años y con un nivel socioeducativo similar. Las voluntarias fueron informadas individualmente del estudio de intervención y tras firmar el consentimiento informado, y durante 28 días, suplementaron su

Tabla I. Contenido de carotenoides, expresado en mg/kg de producto fresco en los diferentes alimentos utilizados en el estudio de intervención

Carotenoides	Espinacas cocidas	Zumo de naranja y zanahoria	Zumo de tomate
Luteína + zeaxantina	70,97 ± 5,34	-	-
β-criptoxantina	-	69,47 ± 2,09	-
α-caroteno	69,45 ± 0,9	76,9 ± 3,54	-
β-caroteno	116,69 ± 3,25	89,68 ± 6,1	72,52 ± 0,04
Licopeno	-	-	154,31 ± 4,66
Carotenoides totales	257,11 ± 7,39	236,04 ± 11,73	226,83 ± 4,7
Carotenoides ingeridos a la semana (mg/semana)	102,8	177,03	136,09

dieta semanal con alimentos comerciales proporcionados por los investigadores. Los productos seleccionados fueron alimentos ricos en los principales carotenoides dietéticos (luteína + zeaxantina, β-criptoxantina, α-caroteno, β-caroteno y licopeno) con las siguientes concentraciones de carotenoides totales: 257,11 mg/kg para las espinacas cocidas, 236,04 mg/kg para el zumo de naranja y zanahoria, y 226,83 mg/kg para el zumo de tomate (Tabla I). Las voluntarias ingirieron a la semana 400 g de espinacas, 750 ml de zumo de naranja-zanahoria y 600 ml de zumo de tomate, que proporcionaron 102,8, 177,03 y 136,09 mg de carotenoides, respectivamente, dando lugar a una ingesta semanal de 415 mg carotenoides totales (Tabla I). Al inicio (T_i) y al final (T_f) del periodo de intervención se registraron los datos antropométricos y se realizó una extracción de sangre de la vena antecubital en ayunas para el análisis de los diferentes parámetros, considerando para cada voluntaria la muestra inicial como control. Las muestras de sangre y suero se utilizaron para los análisis hematológicos y bioquímicos. Para la obtención del plasma, las muestras de sangre fueron centrifugadas a 3500 rpm a 4 °C durante 10 minutos. Posteriormente, las muestras de plasma se alicuotaron y congelaron a una temperatura de -80 °C, hasta la realización de los análisis posteriores. El protocolo experimental fue aprobado por la Comisión de Ética de la Investigación de la Universidad de Murcia (ID1476/2017 e ID2614/2019). El estudio se llevó a cabo en condiciones de respeto a los derechos fundamentales de la persona y a los postulados éticos, siguiéndose a estos efectos los contenidos de la Declaración de Helsinki. Los datos recogidos fueron tratados de forma leal y lícita con sujeción en todo momento a los principios y derechos recogidos en la Ley Orgánica de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales.

RECOGIDA DE DATOS ANTROPOMÉTRICOS

Se registraron los siguientes datos: peso, altura, índice de masa corporal (IMC), porcentaje de grasa e índice cintura-cadera (ICC). Para la toma de datos se utilizaron una báscula (TANITA® MC 780-P), un tallímetro y una cinta métrica flexible.

PARÁMETROS BIOQUÍMICOS

Entre los parámetros bioquímicos se analizaron los niveles de glucosa, ácido úrico, lipoproteína (a), colesterol total, triglicéridos (TG), lipoproteínas de alta densidad (HDL), lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL) y el índice aterogénico (IA). El análisis bioquímico se realizó en un laboratorio de análisis clínicos.

BIOMARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO

Para evaluar el estrés oxidativo se analizaron en el plasma la capacidad antioxidante y la concentración de malonaldehído (MDA). La capacidad antioxidante hidrofílica del plasma se determinó con la técnica ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*) y se expresó en forma de mmol de equivalentes de Trolox (TE)/L. Para el análisis se siguió la metodología descrita por Prior y cols. (13), y se utilizó un lector de microplacas multimodal (Synergy HT BioTek, Winooski, VT, Estados Unidos).

La determinación de la concentración plasmática de MDA se realizó por HPLC de acuerdo con el método descrito por Mateos y cols. (14). Para la separación cromatográfica se utilizó una columna de fase reversa LiChroCART RP-18 (250 mm x 4 mm x 5 μm de tamaño de partícula), acoplada a una pre-columna del mismo material de 4 mm de longitud (Merck, Alemania). Inicialmente se realizó una hidrólisis alcalina combinando 250 μl de plasma con 50 μl NaOH 6 M e incubando la mezcla en un baño termostático a 60 °C durante 30 min. Finalizado el proceso, se adicionaron 125 μl de ácido perclórico al 35 % para conseguir la precipitación de las proteínas. Se agitó en un vórtex y se centrifugó a 14.000 rpm durante 10 min y a 4 °C. Una alícuota de 350 μl de sobrenadante se sometió a un proceso de derivatización con 25 μl de 2,4-dinitrofenilhidracina (Fluka, Suiza), incubándose a temperatura ambiente durante 30 min protegido de la luz. Finalmente se filtró la muestra con un filtro de 0.2 μm y se inyectaron 100 μl en el HPLC. La separación de los compuestos se realizó con un gradiente isocrático, utilizando como fase móvil una mezcla compuesta por agua con un

1 % de ácido acético (v/v) y acetonitrilo (62:38, v/v) con un flujo de 0,6 ml/min a 25 °C durante 30 minutos. La cuantificación del MDA se realizó a 310 nm. Los resultados se expresaron como nmol/ml de plasma.

BIOMARCADORES DE INFLAMACIÓN Y FUNCIÓN ENDOTELIAL

Como biomarcadores de inflamación y función endotelial se analizaron las concentraciones de adiponectina y de moléculas solubles de adhesión intercelular (sICAM-1) y vascular (sVCAM-1) con kits de ELISA-sandwich en microplacas (Elabscience, EE UU), utilizando un lector de microplacas multimodal (Synergy HT Bio-Tek, Winooski, EE UU) y siguiendo en todo momento el protocolo de análisis descrito por el fabricante. También se determinó la concentración plasmática de la proteína C-reactiva ultrasensible, que fue analizada en el laboratorio de análisis clínicos que realizó las determinaciones bioquímicas.

ANÁLISIS DE CAROTENOIDES PLASMÁTICOS

La determinación y cuantificación de carotenoides se llevó a cabo de acuerdo con el procedimiento de extracción líquido-líquido con algunas modificaciones (15,16). En primer lugar se procedió a la desproteinización de las muestras, disolviendo 400 µl de plasma con 800 µl de etanol, que se agitaron en un vórtex durante 45 segundos. Una vez precipitadas las proteínas se procedió a la extracción de los carotenoides añadiendo 1 ml de hexano/BHT (100 mg/l) como agente antioxidante. Seguidamente, la mezcla se agitó durante 1 minuto y se centrifugó a 23.448 rpm durante 5 minutos a 4 °C. El sobrenadante se transfirió a un tubo de recolección, repitiéndose la extracción. Ambos sobrenadantes se combinaron y se evaporaron bajo una corriente de N₂ hasta la sequedad. Por último, el residuo se reconstituyó en 300 µl de terc-butilmetil-éter/metanol (1/1, v/v), se homogenizó con un vórtex, se filtró con un filtro de jeringa de PTFE con poros de 0,2 µm de tamaño (VWR International, EE. UU.).

Las muestras se analizaron con un equipo de HPLC (Agilent 1200, Alemania) utilizando una columna C₃₀ (250 mm x 4,6 mm y 5 µm de tamaño de partícula) (Trentec, Alemania), usando las

condiciones descritas por Elvira-Torales y cols. (17) utilizando patrones puros de licopeno, luteína y zeaxantina, y β-caroteno para cuantificar el contenido de carotenoides.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el tratamiento estadístico de los datos se utilizó el paquete estadístico para las ciencias sociales (SPSS) 24.0 para Windows (IBM, EE UU). Se llevó a cabo un análisis descriptivo, expresando los datos de los diferentes parámetros del estudio como valor medio y desviación estándar. Se determinó la normalidad de las muestras mediante el test de Kolmogorov-Smirnov y se realizó una comparación entre las medias de los datos iniciales y finales de un mismo parámetro dentro de cada grupo con la prueba de la "t" de Student (para muestras normales) y la de Wilcoxon (para muestras no normales), con un nivel de significación de $p < 0,05$, con el fin de detectar posibles cambios producidos a lo largo del periodo de intervención. Además, se realizó una correlación bivariada de Pearson para establecer la correlación entre los parámetros analizados.

RESULTADOS

La tabla II muestra los datos antropométricos al inicio y al final del estudio. Las doce voluntarias presentaron un peso medio inicial de 74 kg y una altura media de 158 cm, mostrando un IMC ligeramente superior a 29 kg/m². El porcentaje de grasa fue del 39 % y el ICC fue superior a 0,85. No hubo cambios en los datos antropométricos entre el inicio y el final del estudio ya que las voluntarias siguieron su dieta habitual.

La tabla III muestra los parámetros bioquímicos plasmáticos al inicio y al final del periodo de intervención. De los parámetros analizados, se observaron cambios estadísticamente significativos entre ambas mediciones en las proteínas y el perfil lipídico. Concretamente, el colesterol-LDL disminuyó significativamente (de 142,7 a 111,8 mg/dl; $p < 0,001$) mientras que las fracciones de colesterol VLDL y HDL, así como los TG plasmáticos, aumentaron significativamente. Los cambios del perfil lipídico se acompañaron de una disminución significativa ($p < 0,001$) del IA.

Tabla II. Datos antropométricos de las voluntarias al inicio (T_i) y al final del periodo de intervención (T_f)*

Parámetros	Valor T _i	Valor T _f	p
Peso (kg)	74,4 ± 11,4	73,5 ± 11,2	0,117
IMC (kg/m ²)	29,3 ± 3,7	29,1 ± 3,6	0,118
Porcentaje de grasa (%)	39,9 ± 6,0	39,2 ± 5,8	0,077
Altura (m)	1,6 ± 0,05		
ICC	0,9 ± 0,06		

*Datos expresados como media y desviación estándar. Nivel de significación en $p < 0,05$.

Tabla III. Datos bioquímicos de las voluntarias al inicio (T_I) y al final del estudio de intervención (T_F), y valores de referencia recomendados que indican bajo riesgo cardiometabólico¹

Parámetros	Valor T _I	Valor T _F	p	Valores de referencia*
Proteínas (mg/dl)	7,1 ± 0,5	6,6 ± 0,4	< 0,001	6,4-8,3
Glucosa (mg/dl)	100,4 ± 32,8	100,3 ± 36,2	0,956	0-105
Ácido úrico (mg/dl)	4,3 ± 1,6	4,2 ± 1,4	0,537	2,5-6,8
Colesterol total (mg/dl)	231,9 ± 35,8	222,0 ± 35,3	0,156	< 200
LDL (mg/dl)	142,7 ± 32,0	111,8 ± 35,3	< 0,001	130
VLDL (mg/dl)	20,2 ± 10,4	24,3 ± 10,9	0,043	≤ 35
HDL (mg/dl)	68,9 ± 11,9	85,9 ± 17,1	< 0,001	45-120
TG (mg/dl)	101,2 ± 51,9	121,7 ± 53,9	0,047	40-150
Lipoproteína (a) (mg/dl)	33,2 ± 33,5	36,5 ± 36,4	0,144	≤ 20
IA	3,5 ± 0,8	2,7 ± 0,8	< 0,001	3,3-4,4

¹Datos expresados como media y desviación estándar. Nivel de significación en p < 0,05. *Valores de referencia proporcionados por Laboratorios Munuera S.L.U.

Tabla IV. Concentración plasmática de carotenoides y biomarcadores de estrés oxidativo, inflamación y daño endotelial al inicio (T_I) y al final del periodo de intervención (T_F)¹

Parámetros	Valor T _I	Valor T _F	p
<i>Concentración de carotenoides</i>			
Luteína + zeaxantina	0,05 ± 0,04	0,07 ± 0,02	0,026
β-criptoxantina	0,07 ± 0,09	0,26 ± 0,13	< 0,001
α-caroteno	Nd*	0,02 ± 0,01	< 0,001
β-caroteno	0,16 ± 0,12	0,44 ± 0,20	0,002
Licopeno	0,29 ± 0,10	0,44 ± 0,12	< 0,001
<i>Biomarcadores de estrés oxidativo</i>			
MDA (nmoles/ml)	4,016 ± 0,63	2,95 ± 0,55	< 0,001
ORAC _H (mmolesEq. Trolox/ml)	13,54 ± 2,31	13,21 ± 2,67	0,582
<i>Biomarcadores de inflamación y daño endotelial</i>			
Adiponectina (µg/ml)	5,79 ± 0,59	6,13 ± 0,41	0,011
Proteína C-reactiva (mg/l)	2,08 ± 2,67	< 0,05	0,021
sVCAM-1 (ng/ml)	135,24 ± 65,67	116,94 ± 68,03	0,303
sICAM-1 (ng/ml)	34,51 ± 12,73	29,41 ± 19,02	0,346

¹Datos expresados como media y desviación estándar. Nivel de significación en p < 0,05. *Nd: no detectado.

La tabla IV muestra las concentraciones plasmáticas de los carotenoides y los biomarcadores de estrés oxidativo, inflamación y daño endotelial. Tras el periodo de suplementación dietética se observó un incremento significativo (p < 0,05) de los niveles plasmáticos de todos los carotenoides individuales (Tabla IV), aumentando el contenido total de carotenoides plasmáticos de 0,56 µg/ml en T_I hasta 1,22 µg/ml en T_F (p < 0,05) (Fig. 1). Las variaciones de los distintos carotenoides entre T_I y T_F fueron de 0,05 a 0,07 µg/ml para la luteína, de 0,07 a 0,26 µg/ml para la β-criptoxantina, de niveles no detectados a 0,02 µg/ml para el α-caroteno, de 0,16 a 0,44 µg/ml para el β-caroteno y de 0,29 a 0,44 µg/ml para el licopeno (Tabla IV). Este incremento se acom-

pañó de una modificación del perfil de carotenoides plasmáticos ya que, en el T_I, el licopeno fue el carotenoide mayoritario, seguido del β-caroteno, mientras que en el T_F, licopeno y β-caroteno representaron cada uno el 36 % y la β-criptoxantina el 21 % de los carotenoides totales (Fig. 2).

En relación a los biomarcadores de estrés oxidativo, se produjo una disminución significativa (p < 0,001) de la concentración plasmática de MDA, aunque la capacidad antioxidante hidrofílica del plasma se mantuvo sin cambios, mostrando valores medios de 13 mmoles de equivalentes Trolox/ml (Tabla IV). En cuanto a los biomarcadores de inflamación, hay que destacar un aumento estadísticamente significativo de las concentraciones de adipo-

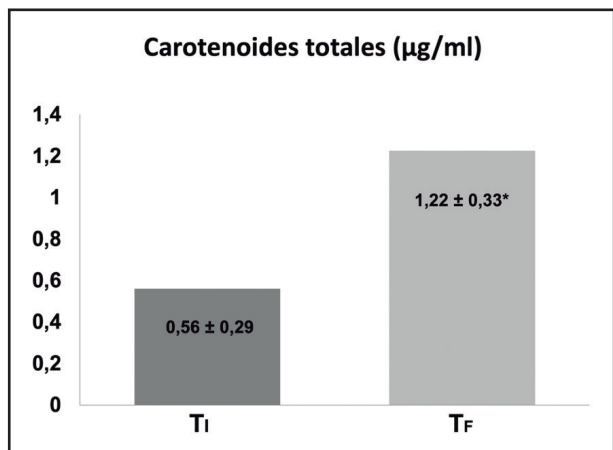


Figura 1. Concentración plasmática de carotenoides totales (expresada en µg/ml) al inicio (T₁) y al final del periodo de intervención (T₂). *Indica diferencias significativas para p < 0,05.

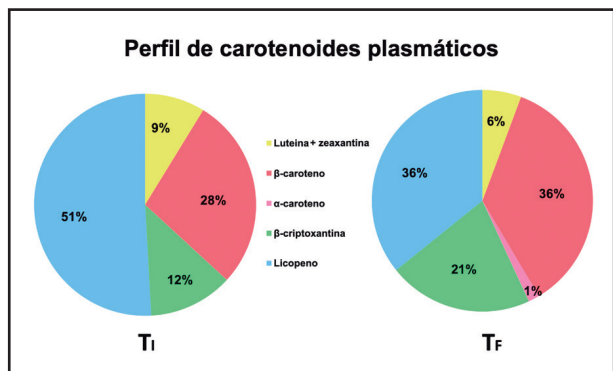


Figura 2. Perfil de carotenoides plasmáticos al inicio (T₁) y al final del periodo de intervención (T₂), expresado como porcentaje del contenido total de carotenoides.

nectina (de 5,79 a 6,13 µg/ml; p < 0,011) y una disminución de la PCR (de 2,08 a < 0,05 mg/l; p = 0,021) (Tabla III). No se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas para los biomarcadores de función endotelial sICAM-1 y sVCAM-1 (Tabla IV), pero en ocho de las 12 voluntarias se observó una disminución de ambos biomarcadores (diminución media de 15 ng/ml para sICAM-1 y de 28,514 ng/ml para sVCAM-1).

DISCUSIÓN

Los criterios de inclusión tenidos en cuenta a la hora de la selección de las voluntarias comprendían el riesgo cardiometabólico ya que estas presentaban sobrepeso y un alto porcentaje de grasa corporal, lo que nos indica un alto grado de adiposidad y un mayor depósito de grasa visceral (3,4), factores que pueden

derivar en un síndrome metabólico. Hay que mencionar que no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre estas variables al inicio y al final del periodo de intervención, pues el objetivo del estudio era suplementar la dieta con carotenoides pero no modificar el aporte energético de la misma. Por ello se indicó a las voluntarias que siguieran con su estilo de vida habitual (dieta y actividad física) durante el periodo de intervención, con el objetivo de evaluar los cambios asociados a la ingesta de carotenoides y no a la pérdida de peso. Se acepta que las mujeres posmenopáusicas son propensas a tener un mayor riesgo cardiometabólico. Concretamente, la acumulación de grasa en el tronco con baja cantidad de grasa en las piernas se relaciona con un riesgo tres veces mayor de padecer enfermedades cardiovasculares (18), por lo que en esta etapa de la vida es necesario realizar cambios en la dieta y el estilo de vida que reduzcan este riesgo (12).

Las concentraciones plasmáticas de glucosa y de ácido úrico se mantuvieron sin cambios entre el T₁ y el T₂. Sin embargo, se observaron diferencias estadísticamente significativas en el colesterol unido a LDL, VLDL y HDL, los TG y el IA. Las concentraciones medias de colesterol-LDL disminuyeron en 31,02 mg/dl (lo que representa una disminución del 23 %) mientras que el colesterol-HDL se incrementó en 17 mg/dl (un incremento del 25 %). La reducción de los niveles de colesterol-LDL de riesgo medio (con concentraciones de 130-159 mg/dl) a valores por debajo del riesgo moderado (< 130 mg/dl) y el incremento del colesterol-HDL indicarían un efecto positivo de la suplementación dietética con carotenoides sobre la prevención cardiovascular, lo que condujo a una disminución significativa del IA, aunque los valores pre- y posintervención de este indicador permanecieron en niveles de bajo riesgo. Los efectos de los carotenoides sobre la mejora de la dislipemia aterogénica ya han sido descritos previamente por otros autores (19), pero este efecto no se había evaluado en un grupo de riesgo como el de las mujeres peri y posmenopáusicas. Además, se observó una correlación negativa y significativa (r = -0,6, p < 0,05) entre los valores de HDL y el porcentaje de grasa corporal, por lo que el consumo de carotenoides favorece el incremento de las HDL cuando la concentración de grasa corporal es elevada. Por el contrario, los valores de colesterol-VLDL y de TG aumentaron. La elevación de los TG se produce a expensas de las VLDL y depende de numerosos factores ambientales, entre los que destacan la dieta, el estilo de vida y la exposición a tóxicos o fármacos (20). A pesar de observarse un incremento de las VLDL y los TG, los valores medios permanecieron dentro de los valores considerados de referencia. En relación a la Lp(a) no se observaron diferencias estadísticamente significativas en los valores medios entre T₁ y T₂ debido a la gran variabilidad interindividual, ya que algunas voluntarias mostraron valores muy elevados, por encima de 30 mg/dl, lo que nos indica un riesgo cardiovascular 1,6 veces mayor que el correspondiente a los valores inferiores a esta concentración (21).

En relación a la concentración plasmática de carotenoides (Tabla III), el incremento observado tras la intervención muestra una clara mejora del perfil de antioxidantes lipofílicos plasmáticos. Los incrementos de los distintos carotenoides individuales

estuvieron determinados por los alimentos elegidos para la intervención, destacando un incremento mayor para la β -criptoxantina, el β -caroteno y el licopeno, asociados al consumo de los zumos de naranja y zanahoria y de tomate. Estos zumos constituyen una fuente importante de carotenoides, que se presentan en forma más accesible como consecuencia del tratamiento térmico. Además, el consumo de zumo de naranja y zanahoria mostró un papel relevante en el incremento de los niveles de β -criptoxantina, por la naranja, y de α -caroteno y β -caroteno, por la zanahoria, pues son las principales fuentes dietéticas de estos carotenoides, proporcionando un beneficio adicional ya que estos tres carotenoides tienen actividad provitamina A y, por lo tanto, contribuyen a mejorar el estado nutricional de esta vitamina al ser convertidos en retinol (8,7). La suplementación dietética de carotenoides ha sido objeto de cierta controversia, pero hay que tener en cuenta que, en este caso, la suplementación se hizo de forma natural a partir de alimentos y no con suplementos o nutracéuticos. Además, las ingestas de carotenoides aportadas por los alimentos proporcionados se encontraban dentro de los valores que la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria considera seguros en relación con el licopeno, el β -caroteno, la luteína y la zeaxantina (22-24). Concretamente, el consumo de 75 mg/día de all-trans-licopeno y 20 mg de all-trans-luteína se considera seguro (24).

En un estudio realizado por Taylor Nuss y cols. (25) se ha observado que en las mujeres perimenopáusicas existe una relación inversa entre la grasa corporal y los carotenoides plasmáticos debido a la acumulación de los carotenoides en el tejido graso: su naturaleza lipofílica hace que no se encuentren de forma circulante en el plasma. Por ello, es conveniente incrementar el consumo de estos antioxidantes en caso de sobrepeso y obesidad, con el objetivo de poder tener carotenoides circulantes disponibles para otros tejidos y órganos. En nuestro estudio se observó una correlación negativa entre el contenido de luteína plasmática y el porcentaje de grasa ($r = -0,68$, $p < 0,05$). Además, cabe destacar que la incorporación de alimentos ricos en estos antioxidantes condujo a una mejora del contenido de carotenoides en el plasma, lo que determina que estén disponibles para poder ejercer un efecto funcional y beneficioso como antioxidantes o antiinflamatorios en otros tejidos y órganos.

Tras la ingesta de carotenoides se observó una disminución estadísticamente significativa de los niveles plasmáticos de MDA, lo que nos indica una menor oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados y, por tanto, una reducción del estrés oxidativo (26). Los carotenoides son antioxidantes plasmáticos y contribuyen de forma positiva a mejorar el balance oxidativo, actuando como captadores de radicales libres (oxígeno singlete y radicales peróxilos) y protegiendo a las lipoproteínas y los lípidos de membrana frente a la oxidación. Diferentes estudios han relacionado el consumo de carotenoides con una disminución del riesgo cardiovascular por su actividad antioxidante (27). Como se ha mencionado anteriormente, en las mujeres perimenopáusicas el α -caroteno puede ser uno de los carotenoides liberados a la circulación sanguínea para actuar como antioxidante frente al estrés oxidativo inducido por la obesidad (25). Esto coincide con los resultados obtenidos

en nuestro estudio ya que en el T_F se produjo una reducción de los compuestos oxidados de los lípidos y un incremento del α -caroteno, asociado principalmente al consumo de zumo de naranja y zanahoria.

Se determinó la capacidad antioxidante plasmática de los componentes hidrofílicos, como la vitamina C y el α -tocoferol, sin observarse diferencias estadísticamente significativas. Sin embargo, no se pudo determinar la capacidad antioxidante lipofílica (carotenoides) del plasma por falta de muestra, por lo que el incremento de los carotenoides plasmáticos no se pudo correlacionar con la capacidad antioxidante plasmática total. No obstante, diferentes estudios (28,29) correlacionan la capacidad antioxidante total sérica con los niveles de ácido úrico y, en menor medida, con los de albúmina, ácido ascórbico, hierro y bilirrubina, pero no con las concentraciones del resto de antioxidantes de la dieta.

Con respecto a los biomarcadores de la inflamación, aumentaron significativamente ($p < 0,05$) los niveles de adiponectina, una adipocina antiinflamatoria (Tabla III), que presentó un incremento de alrededor del 8 %. Recientemente, Wattanapol y cols. (30) han evaluado el nivel de adiponectina en mujeres peri y posmenopáusicas, con y sin síndrome metabólico, observando una variación significativa ($6,0 \pm 4,6$ vs. $9,2 \pm 5,2$ $\mu\text{g/ml}$, $p < 0,001$, respectivamente). Estos autores han establecido que la adiponectina es un buen biomarcador para el síndrome metabólico en las mujeres y han recomendado un punto de corte de 7,15 $\mu\text{g/ml}$ para los niveles de adiponectina como cribado del síndrome metabólico. Los valores obtenidos en este estudio para la concentración plasmática de adiponectina coinciden con los descritos por estos autores para las mujeres con síndrome metabólico; aunque mejoran tras la intervención dietética, no superan el valor de corte establecido para considerar la ausencia de síndrome metabólico (7,15 $\mu\text{g/ml}$) (30). El aumento de la adiponectina observado tras la intervención dietética es beneficioso, ya que es una citoquina antiinflamatoria que incrementa la sensibilidad a la insulina, estimula la captación de glucosa y favorece la oxidación de los ácidos grasos y la reducción de la síntesis de glucosa en el hígado. Además, suprime la diferenciación y activación de los macrófagos M1, disminuyendo la secreción de citoquinas proinflamatorias (TNF- α e IL-6), a la vez que promueve la proliferación de los macrófagos M2 y la expresión de otros biomarcadores antiinflamatorios (31). Estos resultados nos indicarían que la posible acumulación de los carotenoides en el tejido graso, como principal órgano de reserva de estos antioxidantes lipofílicos (25), disminuye la inflamación que tiene lugar en el tejido adiposo asociado a la obesidad, como consecuencia de la lipotoxicidad producida por la oxidación de los ácidos grasos, aumentando los niveles de adiponectina y disminuyendo la concentración plasmática de MDA. Aunque en este estudio no hemos analizado las concentraciones plasmáticas de IL-6 y TNF- α , otros estudios han descrito la disminución de los biomarcadores de la inflamación en mujeres obesas jóvenes tras la ingesta de tomate como fuente de licopeno (32). Además de los cambios observados en la adiponectina, la concentración plasmática de PCR disminuyó de forma estadísticamente significativa entre el inicio y el final del estudio, lo que indica también una disminución del estado de inflamación.

La PCR es útil como biomarcador de la ECV aterosclerótica y, a pesar de que tiene poca especificidad, sirve para evaluar la inflamación crónica de bajo grado relacionada con el riesgo cardiovascular (20), por lo que un descenso indicaría una mejora de dicho riesgo cardiovascular.

No se observaron diferencias significativas ($p > 0,05$) tras la ingesta de carotenoides en los niveles de sVCAM-1 y sICAM-1, moléculas que regulan la adhesión de los glóbulos blancos a las células endoteliales, así como la adhesión intercelular, debido a la alta variabilidad interindividual. A pesar de que en cuatro de las 12 voluntarias se observó un incremento, en las ocho voluntarias restantes ambos biomarcadores mostraron una disminución en torno al 15 % entre el T_1 y el T_F , lo que sugiere una reducción del riesgo cardiovascular. El efecto de los carotenoides sobre sVCAM y sICAM se ha estudiado de forma individualizada según los distintos carotenoides. En un estudio realizado previamente en mujeres se observó que el consumo de licopeno, tras la ingesta de zumo de tomate, condujo a una disminución de los niveles circulantes de sVCAM de manera significativa (en un 42 %) con respecto al inicio (33). La dieta influye en la expresión y secreción de marcadores inflamatorios en los tejidos adiposo, hepático y endotelial vascular. El grado de obesidad y el tiempo de duración de la intervención nutricional, a su vez, también pueden influir en la respuesta hepática y del tejido adiposo a la dieta. En algunos estudios se ha observado que la expresión de ICAM-1 podría estar relacionada con las dietas ricas en hidratos de carbono en las personas con síndrome metabólico, así como con los ácidos grasos saturados y los ácidos grasos trans, con mayores concentraciones de VCAM-1 e ICAM-1 en los individuos con sobrepeso. Del mismo modo habría una asociación inversa de la ingesta de aceite de oliva y la dieta mediterránea con la expresión de VCAM (34). De este modo, tanto la calidad y la cantidad de los nutrientes ingeridos por las voluntarias durante el periodo de intervención, como la distribución de macronutrientes y la presencia de componentes bioactivos en la dieta, junto con el patrón dietético y el estilo de vida adoptado, podrían ser factores determinantes del estado inflamatorio.

Los estudios realizados en seres humanos con alimentos vegetales que incluyen carotenoides, suelen tener otros muchos componentes presentes en la matriz alimentaria, incluyendo fibra dietética, minerales y vitaminas, que podrían tener un efecto sinérgico, lo que dificulta predecir el efecto individual. En los estudios epidemiológicos se observan de forma indirecta los posibles beneficios, teniendo como principal limitación que no pueden demostrar la causalidad. Además, los efectos antioxidantes de los carotenoides *in vivo* son más difíciles de medir, al esperarse efectos pequeños y transitorios. Los estudios existentes son muy distintos entre sí, comprendiendo poblaciones, dosis de carotenoides, tiempos de suplementación y resultados distintos (35). La dosis total de carotenoides empleada en el presente estudio (415 mg/semana) es mayor que la utilizada en otros. Respecto al tiempo de suplementación, es similar al de otros estudios, aunque hay estudios que se extienden hasta 8 y 12 semanas. En un estudio realizado en hombres se demostró que la cantidad absoluta de licopeno absorbida no parecía variar mucho con la

dosis y que las diferencias individuales tenían mayor impacto que la dosis en la cantidad de licopeno absorbida (36). También se ha observado que, a dosis altas, la concentración de β -caroteno en el suero parece ser independiente de la cantidad ingerida, sugiriéndose que el intestino humano tiene una capacidad finita para absorber carotenoides. Así mismo, se ha visto que las dosis pequeñas de carotenoides se pueden absorber más eficientemente. De este modo, los resultados no dependen solo de la cantidad ingerida, que puede afectar a la biodisponibilidad y, por tanto, a la bioactividad, sino que hay que tener en cuenta otros factores como la fuente de carotenoides, otros componentes de la dieta y factores relacionados con el individuo (7).

Los estudios de intervención humana con diseño aleatorio, doble ciego y controlado con placebo se consideran el *gold standard* o “patrón oro” de la nutrición para probar los efectos de la dieta en la salud (35). El presente estudio no tiene dichas características, si bien el efecto de la falta de un grupo con placebo podría verse minimizado al actuar las voluntarias como propio grupo control. No obstante, los resultados sí que podrían verse afectados por el número de participantes, por la pertenencia de todas las voluntarias a una misma área geográfica y por la falta de muestras plasmáticas. A pesar de estas limitaciones, los resultados muestran que la suplementación de la dieta con carotenoides es beneficiosa para las mujeres perimenopaúsicas con riesgo cardiometabólico. Esta información es de interés para el diseño de dietas para este grupo de población, ya que los carotenoides contribuyen a la mejora de la dislipemia aterogénica y de los biomarcadores de inflamación y estrés oxidativo.

BIBLIOGRAFÍA

1. El Khoudary SR. Age at menopause onset and risk of cardiovascular disease around the world. *Maturitas* 2020;141:33-8. DOI: 10.1016/j.maturitas.2020.06.007
2. Ley SH, Li Y, Tobias DK, Manson JAE, Rosner B, Hu FB, et al. Duration of reproductive life span, age at menarche, and age at menopause are associated with risk of cardiovascular disease in women. *J Am Heart Assoc* 2017;6(11). DOI: 10.1161/JAHA.117.006713
3. Soto Rodríguez A, García Soidán JL, Arias Gómez MJ, Leirós Rodríguez R, del Álamo Alonso A, Pérez Fernández MR. Síndrome metabólico y grasa visceral en mujeres con un factor de riesgo cardiovascular. *Nutr Hosp* 2017;34(4):863-8. DOI: 10.20960/nh.1085
4. Chopra S, Sharma K, Ranjan P, Malhotra A, Vikram N, Kumari A. Weight management module for perimenopausal women: A practical guide for gynecologists. Vol. 10, *Journal of Mid-Life Health*. Wolters Kluwer Medknow Publications; 2019. p. 165-72. DOI: 10.4103/jmh.JMH_155_19
5. Fernández-Sánchez A, Madrigal-Santillán E, Bautista M, Esquivel-Soto J, Morales-González Á, Esquivel-Chirino C, et al. Inflammation, oxidative stress, and obesity. *International Journal of Molecular Sciences* 2011(12):3117-32. DOI: 10.3390/ijms12053117
6. Beltrán-de-Miguel B, Estévez-Santiago R, Olmedilla-Alonso B. Assessment of dietary vitamin A intake (retinol, α -carotene, β -carotene, β -cryptoxanthin) and its sources in the National Survey of Dietary Intake in Spain (2009-2010). *Int J Food Sci Nutr* 2015;66(6):706-12. DOI: 10.3109/09637486.2015.1077787
7. Meléndez-Martínez AJ, Mandić AI, Bantis F, Böhm V, Borge GJA, Brncić M, et al. A comprehensive review on carotenoids in foods and feeds: status quo, applications, patents, and research needs. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. Bellwether Publishing, Ltd.; 2020. DOI: 10.1080/10408398.2020.1867959
8. Rodríguez-Concepción M, Avalos J, Bonet ML, Boronat A, Gomez-Gomez L, Hornero-Mendez D, et al. A global perspective on carotenoids: Metabolism,

- biotechnology, and benefits for nutrition and health. Vol. 70, Progress in Lipid Research. Elsevier Ltd; 2018. p. 62-93. DOI: 10.1016/j.plipres.2018.04.004
9. Hozawa A, Jacobs DR, Steffes MW, Gross MD, Steffen LM, Lee DH. Relationships of circulating carotenoid concentrations with several markers of inflammation, oxidative stress, and endothelial dysfunction: The Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA)/Young Adult Longitudinal Trends in Antioxidants (YALTA) study. *Clin Chem* 2007;53(3):447-55. DOI: 10.1373/clinchem.2006.074930
 10. Hozawa A, Jacobs DR, Steffes MW, Gross MD, Steffen LM, Lee DH. Circulating carotenoid concentrations and incident hypertension: The Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) study. *J Hypertens* 2009;27(2):237-42. DOI: 10.1097/HJH.0b013e32832258c9
 11. Ruiz-Cabello P, Coll-Risco I, Acosta-Manzano P, Borges-Cosic M, Gallo-Vallejo FJ, Aranda P, et al. Influence of the degree of adherence to the Mediterranean diet on the cardiometabolic risk in peri and menopausal women. The Flamenco project. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2017;31(1):48-52. DOI: 10.1016/j.numecd.2016.07.022
 12. Soto-Rodríguez A, García-Soidán JL, de Toro-Santos M, Rodríguez-González M, Arias-Gómez MJ, Pérez-Fernández MR. Ensayo clínico con intervención educativa en mujeres perimenopáusicas con un factor de riesgo cardiovascular. *Gac Sanit* 2017;31(1):217-24. DOI: 10.1016/j.gaceta.2016.07.022
 13. Prior RL, Hoang H, Gu L, Wu X, Bacchiocca M, Howard L, et al. Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORACFL)) of plasma and other biological and food samples. *J Agric Food Chem* 2003;51(11):3273-9. DOI: 10.1021/jf0262256
 14. Mateos R, Lecumberri E, Ramos S, Goya L, Bravo L. Determination of malondialdehyde (MDA) by high-performance liquid chromatography in serum and liver as a biomarker for oxidative stress: Application to a rat model for hypercholesterolemia and evaluation of the effect of diets rich in phenolic antioxidants from fruits. *J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci* 2005;827(1):76-82. DOI: 10.1016/j.jchromb.2005.06.035
 15. Arranz S, Martínez-Huélamo M, Vallverdu-Queralt A, Valderas-Martínez P, Illán M, Sacanella E, et al. Influence of olive oil on carotenoid absorption from tomato juice and effects on postprandial lipemia. *Food Chem* 2015;168:203-10. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.07.053
 16. Colmán-Martínez M, Martínez-Huélamo M, Valderas-Martínez P, Arranz-Martínez S, Almanza-Aguilera E, Corella D, et al. trans-Lycopene from tomato juice attenuates inflammatory biomarkers in human plasma samples: An intervention trial. *Mol Nutr Food Res* 2017;61(11). DOI: 10.1002/mnfr.201600993
 17. Elvira-Torales LI, Navarro-González I, González-Barrio R, Martín-Pozuelo G, Doménech G, Seva J, et al. Tomato juice supplementation influences the gene expression related to steatosis in rats. *Nutrients* 2018;10(9):1215. DOI: 10.3390/nu10091215
 18. Chen GC, Arthur R, Iyengar NM, Kamensky V, Xue X, Wassertheil-Smoller S, et al. Association between regional body fat and cardiovascular disease risk among postmenopausal women with normal body mass index. *Eur Heart J* 2019;40(34):2849-55. DOI: 10.1093/eurheartj/ehz391
 19. García-Alonso FJ, Jorge-Vidal V, Ros G, Periago MJ. Effect of consumption of tomato juice enriched with N-3 polyunsaturated fatty acids on the lipid profile, antioxidant biomarker status, and cardiovascular disease risk in healthy women. *Eur J Nutr* 2012;51(4). DOI: 10.1007/s00394-011-0225-0
 20. Pedro-Botet J, Ascaso JF, Blasco M, Brea Á, Díaz Á, Hernández-Mijares A, et al. Triglycerides, HDL cholesterol and atherogenic dyslipidaemia in the 2019 European guidelines for the management of dyslipidaemias. *Clin e Investig en Arterioscler* 2020;32(5):209-18. DOI: 10.1016/j.arteri.2019.12.003
 21. Cook NR, Mora S, Ridker PM. Lipoprotein(a) and Cardiovascular Risk Prediction Among Women. *J Am Coll Cardiol* 2018;72(3):287-96. DOI: 10.1016/j.jacc.2018.04.060
 22. EFSA. Use of lycopene as food colour. Scientific Opinion of the panel of food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food. *EFSA J* 2008;674:1-66.
 23. EFSA. Statement on the safety assessment of the exposure to lutein preparations based on a new data on the use levels of lutein. *EFSA J* 2012;10(3):2589-99.
 24. Shao A, Hathcock JN. Risk assessment for the carotenoids lutein and lycopene. *Regul Toxicol Pharmacol* 2006;45(3):289-98. DOI: 10.1016/j.yrtph.2006.05.007
 25. Nuss ET, Valentine AR, Zhang Z, Lai HCJ, Tanumihardjo SA. Serum carotenoid interactions in premenopausal women reveal α -carotene is negatively impacted by body fat. *Exp Biol Med* 2017;242(12):1262-70. DOI: 10.1177/1535370217706962
 26. Ramana K V., Srivastava S, Singhal SS. Lipid peroxidation products in human health and disease 2019. Vol. 2019, Oxidative Medicine and Cellular Longevity. Hindawi Limited; 2019. DOI: 10.1155/2019/7147235
 27. Ciccone MM, Cortese F, Gesualdo M, Carbonara S, Zito A, Ricci G, et al. Dietary intake of carotenoids and their antioxidant and anti-inflammatory effects in cardiovascular care. Vol. 2013, Mediators of Inflammation. Hindawi Publishing Corporation; 2013. DOI: 10.1155/2013/782137
 28. Benzie IFF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Anal Biochem* 1996;239(1):70-6. DOI: 10.1006/abio.1996.0292
 29. Cao G, Prior RL. Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum. *Clin Chem [Internet]*. 1998 [citado 23 junio 2021];44(6):1309-15. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9625058/>. DOI: 10.1093/clinchem/44.6.1309
 30. Wattanapol P, Vichinsartvichai P, Sakoonwatanyoo P. Serum adiponectin is a potential biomarker for metabolic syndrome in peri-and postmenopausal women. *Gynecol Endocrinol* 2020;36(7):620-5. DOI: 10.1080/09513590.2020.1742688
 31. Billingsley HE, Carbone S. The antioxidant potential of the Mediterranean diet in patients at high cardiovascular risk: An in-depth review of the PREDIMED. Vol. 8, Nutrition and Diabetes. Nature Publishing Group; 2018. DOI: 10.1038/s41387-018-0025-1
 32. Ghavipour M, Saedisomeolia A, Djalali M, Sotoudeh G, Eshraghyan MR, Moghadam AM, et al. Tomato juice consumption reduces systemic inflammation in overweight and obese females. *Br J Nutr* 2013;109(11):2031-5. DOI: 10.1017/S0007114512004278
 33. García-Alonso FJ, Jorge-Vidal V, Ros G, Periago MJ. Effect of consumption of tomato juice enriched with N-3 polyunsaturated fatty acids on the lipid profile, antioxidant biomarker status, and cardiovascular disease risk in healthy women. *Eur J Nutr* 2012;51(4):415-24. DOI: 10.1007/s00394-011-0225-0
 34. Hermsdorff HHM, Zulet MÁ, Bressan J, Martínez JA. Efecto de la dieta en la inflamación crónica y de bajo grado relacionada con la obesidad y el síndrome metabólico. Vol. 55, Endocrinología y Nutrición. Ediciones Doyma, S.L.; 2008. p. 409-19. DOI: 10.1016/S1575-0922(08)75078-2
 35. Kaulmann A, Bohn T. Carotenoids, inflammation, and oxidative stress-implications of cellular signaling pathways and relation to chronic disease prevention. Vol. 34, Nutrition Research. Elsevier Inc.; 2014. p. 907-29. DOI: 10.1016/j.nutres.2014.07.010
 36. Bojórquez MC, González Gallego J, Collado PS. Propiedades funcionales y beneficios para la salud del licopeno. *Nutr Hosp* 2013;28(1):6-15.