



# VNiVERSiDAD D SALAMANCA

## **E. U. de Enfermería y Fisioterapia**

**Titulación:**

Grado en Enfermería

### **TRABAJO FIN DE GRADO**

**Tipo de Trabajo:**

Trabajo de investigación

### **Título**

**EFECTO DE LOS POLIFENOLES DEL CACAO SOBRE LA FUNCIÓN VASCULAR  
EN MUJERES POSTMENOPÁUSICAS. ENSAYO CLÍNICO ALEATORIO.**

**Estudiante:**

Lucía Jiménez San Mauro

**Tutor:**

Susana González Manzano

**Salamanca, Mayo 2019**

*Con todo mi agradecimiento*

*A todos los profesionales que han hecho posible cumplir este sueño.  
A la Prof. Susana González, por transmitirme la pasión por su trabajo, además de sus  
conocimientos. A José Ignacio Recio, por hacerme vivir la enfermería, creer en mí y  
abrirme nuevos horizontes. Al equipo de la Unidad de Investigación de  
“La Alamedilla”, por recibirme y transformarme en profesional.*

*A mi familia y mi novio, por apoyarme en cada adversidad y cada logro, por ser  
ejemplos de perseverancia y constancia, por disfrutar de la vida conmigo.  
Especialmente a mi madre, por contagiarme su amor por la enfermería.*

# ÍNDICE

## GLOSARIO DE ABREVIATURAS

RESUMEN .....	1
1. INTRODUCCIÓN.....	2
1.1. Polifenoles del cacao. ....	3
1.1.1. <i>Estructura de los polifenoles del cacao</i> .....	4
1.1.2. <i>Biodisponibilidad</i> . ....	6
1.1.3. <i>Estudios de actividad biológica</i> .....	7
1.2. Relación de los polifenoles del cacao con los factores de riesgo cardiovascular.....	9
1.3. Estudios de los polifenoles del cacao frente a la función vascular.....	10
2. OBJETIVOS.....	11
3. MATERIAL Y MÉTODOS.....	11
3.1. Diseño.....	11
3.2. Análisis estadístico. ....	15
3.3. Dispositivo VaSera VS 2000.....	16
3.3.1. <i>Valores de referencia</i> .....	16
3.3.2. <i>Instrucciones de uso</i> . ....	17
4. RESULTADOS. ....	18
5. DISCUSIÓN.....	20
6. CONCLUSIONES.....	22
7. BIBLIOGRAFÍA.....	23
8. ANEXOS.....	28

## **GLOSARIO DE ABREVIATURAS**

- ❖ CAVI. *Cardio-Ankle Vascular Index.*
- ❖ VOP. *Velocidad de la onda de pulso.*
- ❖ BaPWV. *Brachial-Ankle Pulse Wave Velocity.*
- ❖ ITB. *Índice tobillo-brazo.*
- ❖ ABI. *Ankle-Brachial Index.*
- ❖ PA. *Presión arterial.*
- ❖ MAPA. *Monitorización Ambulatoria de Presión Arterial.*
- ❖ PAS. *Presión arterial sistólica.*
- ❖ PAD. *Presión arterial diastólica.*
- ❖ HTA. *Hipertensión arterial.*
- ❖ IMC. *Índice de masa corporal.*
- ❖ ECG. *Electrocardiograma.*
- ❖ MSD. *Miembro superior derecho.*
- ❖ MSI. *Miembro superior izquierdo.*
- ❖ MID. *Miembro inferior derecho.*
- ❖ MII. *Miembro inferior izquierdo.*
- ❖ ID. *Identidad.*
- ❖ DE. *Desviación estándar.*

## RESUMEN

**Contexto.** El consumo de chocolate comercial con alto porcentaje de cacao y polifenoles como añadido a la dieta habitual, puede tener un efecto inmediato sobre los parámetros de función vascular y presión arterial. Sin embargo, hay poca evidencia en las mujeres postmenopáusicas. El objetivo, por lo tanto, es evaluar el efecto a los 3 meses de añadir 10 g diarios de ese chocolate sobre la presión arterial y la función vascular.

**Métodos.** Ensayo clínico aleatorizado y controlado con dos grupos paralelos, dirigido a valorar el efecto de añadir a la dieta habitual una cantidad diaria de chocolate, con alta proporción en cacao y polifenoles, frente a un grupo control sin éste suplemento, sobre una variable relacionada con el riesgo cardiovascular, la función vascular. Se incluyeron 64 mujeres en periodo postmenopáusico contrastado, de 50 a 64 años, sin enfermedad cardiovascular, seleccionadas en la consulta de atención primaria. Cada sujeto incluido en el estudio ha sido asignado aleatoriamente a uno de los dos grupos de estudio.

**Resultados.** La población de estudio tenía una edad media de  $58,4 \pm 3,6$  años. Una vez consumido el cacao al 99 %, se observa una disminución en la baPWV de -0,24 (IC 95 %: -0,38 a -0,11). Además, en las extremidades superiores hubo una disminución de la PAS de -4,1 mmHg (IC 95 %: -6,7 a -1,5) y de la PAD de -2,4 mmHg (IC 95 %: -4,1 a -0,6). Lo mismo ocurre con la presión del pulso, en la que hubo una disminución de -1,8 mmHg (IC 95 %: -3,6 a 0,0).

**Conclusiones.** Los resultados de este estudio sugieren que el consumo de 10 g diarios de cacao al 99 % tiene un efecto beneficioso inmediato en la función vascular y en la presión sistólica en mujeres postmenopáusicas.

**Palabras clave:** *polifenoles del cacao, flavonoides, cacao, factores de riesgo cardiovascular, función vascular, presión arterial, índice vascular cardio-tobillo, mujeres postmenopáusicas.*

## 1. INTRODUCCIÓN.

Históricamente, la salud de la mujer se ha basado en la fertilidad, y se asumió que tanto mujeres como hombres actuaban del mismo modo en cuanto al tratamiento y las condiciones médicas. Sin embargo, en los últimos 20 años, la evolución del conocimiento, diagnóstico y tratamientos de las enfermedades cardiovasculares han revelado que las mujeres responden de manera diferente (1).

Las principales causas de mortalidad en las mujeres son las enfermedades cardiovasculares y los accidentes cerebrovasculares. Generalmente, las enfermedades cardiovasculares en las mujeres aparecen 10 años más tarde que en los hombres, con un relevante aumento de la prevalencia en un 16,3 % después de la menopausia (2). Esta es considerada una fase crítica para las mujeres, ya que los factores de riesgo como la hipertensión arterial, la dislipemia, la obesidad y la diabetes, entre otros, presentan un incremento tras la menopausia.

En la década de 1970, fue demostrado que la menopausia es un factor de riesgo independiente para la enfermedad cardiovascular a través del estudio Framingham (3). Este hecho resulta de gran relevancia si tenemos en cuenta que la protección hormonal no está presente en este periodo (4).

La incidencia y progresión de las enfermedades cardiovasculares, junto con otras enfermedades crónicas como el cáncer y la diabetes, pueden verse afectadas por la dieta (5). Los polifenoles son compuestos naturales ampliamente distribuidos en plantas, frutas y verduras, por lo que constituyen una parte fundamental de la dieta (6).

Los polifenoles se pueden clasificar en flavonoides y no flavonoides. Esta primera categoría se encuentra a su vez formada por 6 subgrupos: flavanoles, flavanoles, flavonas, isoflavonas, flavononas y antocianinas. Los ácidos fenólicos, estilbenos y lignanos pertenecen al grupo de no flavonoides (7).

Se ha relacionado el consumo de una dieta rica en polifenoles con diversos beneficios para la salud y efectos favorables sobre el riesgo de enfermedades crónicas (8, 9). Los mecanismos a través de los cuales los distintos flavonoides ejercen su actividad biológica están todavía bajo discusión. Durante muchos años los efectos beneficiosos de los flavonoides han sido atribuidos a sus propiedades antioxidantes, con numerosos estudios que relacionan su estructura química con sus propiedades

antioxidantes (6). Sin embargo, la capacidad antioxidante obtenida mediante ensayos químicos no puede extrapolarse al comportamiento in vivo. De hecho, las evidencias disponibles apuntan a que los flavonoides, más que como antioxidantes directos, podrían actuar mediante mecanismos indirectos, como la regulación de enzimas antioxidantes y desintoxicantes, y la modulación de rutas de señalización redox y de la expresión de genes (10).

Por lo tanto, en este estudio pretendemos evaluar el efecto de añadir a la dieta habitual una cantidad diaria de chocolate con alto porcentaje de cacao, y por lo tanto de polifenoles, disponible en el mercado de forma habitual, sobre la función vascular en mujeres postmenopáusicas.

### **1.1. Polifenoles del cacao.**

El consumo de polifenoles presentes en el cacao se ha relacionado con la disminución del riesgo de padecer determinadas patologías como enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas, diabetes y algunos tipos de cáncer, así como la reducción a largo plazo de la mortalidad de una población (11). En estudios de intervención humana el consumo de chocolate negro se ha relacionado con la reducción del riesgo de morbilidad y mortalidad cardiovascular (6, 7, 12). Esta reducción del riesgo cardiovascular se atribuye a una mejora en los factores que condicionan el síndrome metabólico que engloba hipertensión, disfunción endotelial vascular, dislipemia, intolerancia a la glucosa y activación plaquetaria (13, 14).

El cacao y los alimentos que lo contienen, proporcionan beneficios saludables atribuibles al alto contenido de polifenoles, especialmente flavonoides, para los que la causalidad entre la ingestión dietética y la mejora en la función arterial ha sido establecida (7, 8, 11-13, 15). Estos se encuentran en concentraciones más elevadas cuanto mayor porcentaje de cacao disponga la muestra (7, 16).

Este estudio utiliza un chocolate comercial con el 99 % de cacao que es ingerido por un grupo de mujeres diariamente. Teniendo como finalidad valorar el efecto de los polifenoles del cacao se analizó el perfil polifenólico de este compuesto en el laboratorio de nutrición y bromatología de la Universidad de Salamanca (Tabla 1).

Compuesto	Grupo	mg/g
<i>Ac. Protocatéquico</i>	Ac. Fenólicos	0,058±0,008
<i>Dimero de procianidina B3</i>	Flavanoles	0,176±0,013
<i>Catequina</i>	Flavanoles	1,0349±0,105
<i>Dimero de procianidina B2</i>	Flavanoles	1,440±0,055
<i>Epicatequina</i>	Flavanoles	2,610±0,075
<i>Trímero de procianidina C1</i>	Flavanoles	0,853±0,024
<i>Procianidina A hexosido</i>	Flavanoles	0,354±0,007
<i>Glucósido de quercetina</i>	Flavonoles	0,002±0,000
<i>Arabinosido de quercetina</i>	Flavonoles	0,003±0,001

**Tabla 1.** Cuantificación de los polifenoles del cacao utilizado en el estudio.

### *1.1.1. Estructura de los polifenoles del cacao.*

Los polifenoles están formados por una amplia variedad de moléculas que tienen estructura de polifenol, es decir, al menos un anillo aromático con uno o más grupos hidroxilos unidos (17, 18).

Los polifenoles se dividen en dos clases en función del número y la disposición de sus átomos de carbono (17), número de anillos de fenol que contienen y los elementos estructurales que unen estos anillos entre sí (19).

Los **flavonoides** comprenden el grupo más común de polifenoles vegetales. Su estructura se compone de un esqueleto de 15 átomos de carbono, dos anillos aromáticos de benceno conectados por un puente de tres carbonos lineal (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>) formando generalmente un núcleo heterociclo oxigenado (anillo central) (19, 20, tabla 2). Los grupos hidroxilo suelen estar presentes en las posiciones 4, 5 y 7 (17, 18).

Dependiendo de la complejidad estructural de los flavonoides, especialmente en el estado de oxidación del anillo central, los flavonoides se agrupan en diferentes familias. En el cacao se encuentran principalmente flavonoides que pertenecen a las familias de flavanoles y flavonoles (19).

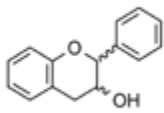
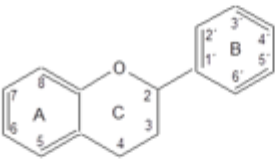
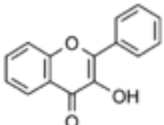
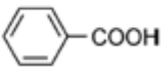


Los flavanoles son la subclase de flavonoides de estructura más compleja (tabla 2), que van desde monómeros simples a oligómeros y proantocianidinas poliméricas. Generalmente, no se encuentran como glucósidos y no es una estructura plana debido a la saturación del -C<sub>3</sub>. Los dos centros quirales en C<sub>2</sub> y C<sub>3</sub> de los flavanoles producen cuatro isómeros para cada nivel de hidroxilación, dos de los cuales, (+) – Catequina y (-) – Epicatequina, están ampliamente distribuidas en la naturaleza, mientras que (-) – Catequina y (+) – Epicatequina tienen una distribución más limitada. Las proantocianidinas tienen un centro quiral adicional en C<sub>4</sub>. Aquellas que se forman exclusivamente por unidades de catequina y epicatequina se llaman procianidinas, que son el tipo más abundante de proantocianidinas en las plantas y son las que están presentes en el cacao de estudio (17, 18).

Los flavonoles son los flavonoides más repartidos por todo el reino vegetal, con excepción de hongos y algas. Los principales flavonoles dietéticos, como la quercetina, se encuentran más comúnmente como O-glucósidos. La conjugación se produce con mayor frecuencia en la posición 3 del anillo C (tabla 2), aunque también pueden tener lugar en las posiciones 5, 7, 3', 4' y 5' (17, 18).

Los **no flavonoides** principales del cacao son los ácidos fenólicos, cuyo esqueleto tiene la estructura C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub> (17, 18, tabla 2).

Los esqueletos estructurales básicos de los compuestos se encuentran en la tabla 2.

Esqueleto	Clasificación	Subclase	Estructura básica
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Flavonoides	Flavanoles	
		Flavonoles	
C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	No Flavonoides	Ácidos Fenólicos	

**Tabla 2.** Esqueletos estructurales de los compuestos fenólicos y polifenólicos presentes en el cacao.

### ***1.1.2. Biodisponibilidad.***

La investigación sobre la absorción, distribución, metabolismo y excreción de los polifenoles ha incrementado en los últimos años, aumentando así su nivel de conocimiento (18). Sin embargo, el metabolismo de estos compuestos es complejo debido a su amplitud y a las complejas reacciones catalizadas por la microbiota intestinal en el colon (14).

El grado de absorción y el metabolismo de los polifenoles se determinan en mayor parte por la estructura química, la glicosilación, acilación, conjugación, polimerización y solubilidad del compuesto (10).

Una vez ingeridos los polifenoles dietéticos, se pueden modificar en la cavidad oral por la actividad hidrolizante de la saliva. El resultado de dicha modificación continuará por el estómago hasta llegar al intestino delgado y, posteriormente, al colon. Dentro del tracto gastrointestinal, la absorción de compuestos está asociada con la actividad de hidrólisis de una cascada de enzimas (20, 21). En el intestino delgado, la absorción de flavonoides glucósidos se produce por la acción de la lactasa floricina hidrolasa (LPH), situada en el borde en cepillo de las células epiteliales del intestino. Un paso alternativo esta mediado por la  $\beta$ -glucosidasa citosólica (CBG) dentro de las células epiteliales (17, 18, 20). Por lo tanto, hay dos rutas posibles por las que se hidrolizan los conjugados glucósidos, y por las que las agliconas resultantes aparecen en las células epiteliales, es decir, LPH/difusión y transporte/CGB (17, 18).

Una vez absorbidos, los flavonoides y compuestos fenólicos siguen la vía común de las sustancias exógenas y se someten a metabolismo de fase II, pudiendo conjugarse con grupos sulfato, glucurónido y/o metabolitos metilados en reacciones catabolizadas por sulfotransferasas (SULTs), uridina-5-glucoronosiltransferasa difosfato (UGT), y catecol O-metiltransferasas (COMTs) (13, 17, 18, 20).

El metabolismo de fase II sucede en primer lugar en la pared del intestino delgado, después de lo cual, los metabolitos pasan a través de la vena porta al hígado, donde pueden ser nuevamente sometidos al metabolismo de fase II antes de entrar en la circulación sistémica, para finalmente producirse la excreción renal (20). Además, algunos metabolitos pueden pasar desde el hígado nuevamente al intestino delgado a través de la recirculación enterohepática mediante la excreción biliar (17, 18).

Sin embargo, los flavonoides y sus metabolitos no absorbidos en el intestino delgado, como las procianidinas, que son resistentes a la acción de LPH/CBG, pasarán al colon y serán sometidos a la acción de la flora colónica (10, 18, 22), que escindirán los restos de conjugación y producirá la fisión de las agliconas, dando lugar a ácidos fenólicos y hidroxycinamatos (17). Estos pueden ser absorbidos por lo que pasarán a la circulación sistémica, excretándose posteriormente en la orina en cantidades mayores a los metabolitos flavonoides que entraron en el sistema circulatorio por el intestino delgado (17, 20). Los resultados más recientes sobre biodisponibilidad concluyen que los polifenoles glucurónidos, metilados y conjugados de sulfato son tratados por el cuerpo como xenobióticos, eliminándose por excreción renal (18).

Por otra parte, el cacao podría influir en el tipo de población y las actividades metabólicas de las bacterias colónicas, incrementando la variación individual en la biodisponibilidad de los flavanoles. Además, el consumo de flavonoides de cacao supone un aumento en el crecimiento de la microflora intestinal en los humanos (12).

Por lo tanto, hay que tener en cuenta que la absorción, el metabolismo y la eliminación de los flavanoles y sus oligómeros afectan a su actividad biológica (23).

### ***1.1.3. Estudios de actividad biológica.***

Los metabolitos y catabolitos formados dentro del cuerpo después de la ingesta de polifenoles dietéticos, se han estudiado ampliamente para determinar la bioactividad de los mismos (18, 20). Estos compuestos han alcanzado gran importancia en los últimos años debido a la creciente evidencia de sus efectos beneficiosos sobre la salud humana (17, 24). El interés fue fomentado principalmente por estudios epidemiológicos que indican una asociación inversa entre la ingesta de alimentos ricos en estos compuestos y la incidencia de las enfermedades no transmisibles como las enfermedades cardiovasculares (25), la diabetes mellitus, el cáncer y las enfermedades neurodegenerativas (14, 17).

Los **flavanoles** han sido estudiados por su función antioxidante (14). La conclusión a la que llegan dichos estudios es que la actividad antioxidante de los metabolitos polifenólicos no es necesariamente la característica más relevante de su actividad biológica. Se determina que los metabolitos de flavonoides pueden contribuir a los efectos epidemiológicos en términos de reducir el riesgo de enfermedades

cardiovasculares (18, 24, 26). Esto puede deberse a que disminuyen la adhesión de monocitos a las células endoteliales (20), mientras que otros estudios afirman que los flavanoles pueden prevenir daños fisiológicos al influir en patologías relacionadas con la inflamación (18). Además, se han relacionado con la reducción de distintos factores de riesgo, entre los que destacan la disminución del porcentaje total de colesterol, esteres de colesterol y triglicéridos de las células (20, 24), así como el descenso de la presión arterial (23-25), la intolerancia a la glucosa, la obesidad (13) y la resistencia a la insulina (25, 27).

Los **flavonoles** han sido estudiados por su bioactividad desde hace más años (18), y entre ellos, la quercetina es el más estudiado (20). Este tipo de metabolitos retienen una parte de la actividad antioxidante, siendo eficiente en las membranas celulares. Otro de sus efectos estudiados es la actividad antiinflamatoria, que ha sido investigada por otros grupos prestando una atención particular al sistema vascular (18), a través de la protección de los vasos contra la disfunción endotelial (20, 26). Además, también inhiben la expresión de moléculas clave implicadas en el reclutamiento de monocitos durante las primeras etapas de la aterosclerosis (18) y tienen efectos vasodilatadores e hipotensores (20, 27).

Distintas investigaciones han ido determinando que los flavonoles llevan a cabo la modulación de la función endotelial (27), la inhibición de las células de cáncer de pulmón, la protección frente a la incidencia del asma y el deterioro de las funciones pulmonares (17) y la mejora de resistencia a la insulina, entre otras funciones (20). Parte de estos beneficios podrían deberse a la producción de óxido nítrico (23). Uno de los resultados que falta por demostrar es si la quercetina alcanza los tejidos cerebrales en cantidades apropiadas (20).

Los **ácidos fenólicos**, entre los que cabe destacar el ácido protocatéquico por ser el que aparece en el cacao del estudio, se caracterizan por la disminución de la agregación inducida por el estrés de las plaquetas, un fenómeno importante en el desarrollo de enfermedades trombóticas arteriales. Por ello, este ácido representa un agente antiplaquetario que puede prevenir la trombosis sin aumentar los riesgos de hemorragia (17). Otros estudios concluyen que puede convertirse en un compuesto terapéutico candidato para la recuperación del accidente cerebrovascular mediante la promoción de la angiogénesis a bajas concentraciones (20).

Cualquier efecto biológico producido por estos metabolitos dependerá de la concentración alcanzada en el sitio pertinente y la susceptibilidad del órgano que podría variar con la genética del individuo (17).

## **1.2. Relación de los polifenoles del cacao con los factores de riesgo cardiovascular.**

Uno de los factores que nos permite valorar el riesgo cardiovascular tras el consumo de polifenoles es la **presión arterial**, aunque su resultado en pacientes sanos tiene opiniones ambiguas. Mientras que unos estudios establecen una relación dosis-dependiente (28), es decir, a mayor ingesta de polifenoles, menores cifras de presión arterial (8, 11, 15), otras investigaciones no han obtenido resultados relevantes tras la ingesta de polifenoles específicos como la epicatequina o la quercetina (5, 24, 25, 29, 30). En personas con sobrepeso y obesidad moderada tras 4 semanas de tratamiento con un cacao con elevado porcentaje de polifenoles, se concluye que no existen cambios en la presión arterial en ayunas (26). Aunque si se combina el consumo de cacao con la actividad física regular se obtienen descensos significativos de este parámetro (27). Tampoco se han encontrado resultados relevantes en pacientes con hipertensión leve (7) ni en diabéticos tipo II (31). En mujeres postmenopáusicas, la disfunción endotelial provoca cambios que promueven el desarrollo de factores de riesgo cardiovascular y la aterosclerosis, que a su vez conducen a la aparición y mantenimiento de la hipertensión (32). En este grupo de mujeres, se ha identificado una disminución de la presión arterial tras el consumo diario de 17 g de cacao. Sin embargo, por debajo de esta dosis no se han encontrado cambios (33).

Otro de los factores que sirve de indicativo del riesgo cardiovascular son las **medidas antropométricas**, cuyos ensayos clínicos basados en el consumo del chocolate no han mostrado diferencias significativas en personas sanas ni en pacientes con sobrepeso u obesidad (7, 25-27).

La **resistencia a la insulina**, relacionada con el riesgo cardiovascular, tiene unos resultados ambiguos en los estudios que la relacionan con el consumo de cacao. Un ensayo clínico de individuos sanos encontró que, aunque los niveles de insulina tendieron a disminuir, la resistencia a la insulina no varió entre las diferentes dosis de cacao administradas con concentraciones variables de polifenoles (29). Sin embargo, otro estudio concluye que el consumo de polifenoles mejora la insulina plasmática en

ayunas (25). Estos resultados se han comprobado también en personas con sobrepeso u obesidad mediante un estudio de 12 semanas en el que consumieron cacao con alto contenido de flavanoles (27).

En cuanto al **perfil lipídico**, en mujeres postmenopáusicas se observó un descenso significativo en los triglicéridos tras la ingesta de 17 g de cacao durante 12 semanas (33). Pero esta relación no se ha constatado en otros trabajos que introducen en la dieta el consumo de cacao (29, 31).

### **1.3. Estudios de los polifenoles del cacao frente a la función vascular.**

En individuos **sanos**, el consumo de polifenoles presentes en el cacao se ha relacionado con una mejora de la presión arterial (22), de la función vascular (14, 20), y en particular de la rigidez arterial medida con la velocidad de la onda de pulso, de forma dosis-dependiente (a mayor consumo, mejor función vascular) (29). Sin embargo, hay estudios que indican que su periodo de intervención pudo haber sido demasiado corto para provocar mejoras en la rigidez arterial y en la presión arterial (25).

En individuos con **hipertensión leve**, el consumo de chocolate negro se ha relacionado con la disminución significativa de la presión arterial (8, 11, 20, 23), sin embargo, no tuvo efecto sobre el CAVI, que es un índice que refleja la rigidez de la arteria desde el corazón a los tobillos. Además, el consumo de chocolate tuvo un efecto beneficioso sobre la función vascular mediante la mejora de la función endotelial (7).

En un estudio realizado en **personas de edad avanzada** se determinó una disminución de la presión arterial sistólica y una mejora de la rigidez vascular, siendo esto relacionado con la mejora de la función endotelial en grandes arterias. En esta intervención se excluyó a los participantes femeninos por las complejidades establecidas durante los cambios hormonales (15).

Sin embargo, otras investigaciones eligen como población de estudio a **mujeres postmenopáusicas**, evitando así la confusión del ciclo menstrual en las respuestas endoteliales vasculares de las mujeres más jóvenes. En dichas intervenciones se observaron mejoras en la velocidad de la onda de pulso, rigidez arterial y la presión sanguínea después del tratamiento con diferentes concentraciones de cacao (16, 33).

En estudios de un año de intervención sobre pacientes **diabéticos tipo II postmenopáusicas**, el consumo de chocolate negro tuvo un efecto positivo sobre la rigidez arterial (7) y la velocidad de la onda de pulso (20).

En el estudio de West et al. (26), llevado a cabo en pacientes con **sobrepeso y obesidad moderada** se concluye que el tratamiento con chocolate negro se asoció con una mejora de vasodilatación arterial y una reducción significativa de la rigidez.

Resultados similares a los concluidos por West et al. se encontraron en un grupo de **obesos con diabetes tipo II**, en donde establecieron los beneficios del cacao en la función vascular, especialmente en la reducción de la presión arterial y de la rigidez arterial, así como el aumento de la vasodilatación (31).

## **2. OBJETIVOS.**

El trabajo que estoy realizando forma parte de un proyecto de investigación más amplio, cuyo objetivo es evaluar en mujeres postmenopáusicas el efecto a 3, 6 y 12 meses de añadir a la dieta habitual 10 gramos diarios, durante 6 meses, de chocolate comercial con alto porcentaje en cacao sobre la presión arterial, función vascular, rendimientos cognitivos, calidad de vida y composición corporal.

Este ensayo se está desarrollando actualmente, por lo que, al no poder obtener los resultados finales por cuestión de tiempo, he realizado un corte a los 3 meses y he elegido una única variable de estudio para valorar.

Por ello, el objetivo principal de mi estudio es evaluar el efecto a los 3 meses de añadir a la dieta habitual una cantidad diaria de 10 gramos de chocolate comercial con alto porcentaje de cacao (99 %) y polifenoles, sobre la función vascular evaluada con el índice vascular cardio-tobillo y la velocidad de la onda de pulso en una muestra de mujeres postmenopáusicas.

## **3. MATERIAL Y MÉTODOS.**

### **3.1. Diseño.**

Ensayo clínico aleatorizado y controlado con dos grupos paralelos, dirigido a valorar el efecto de añadir a la dieta habitual una cantidad diaria de chocolate, con alta proporción en cacao y polifenoles, sobre la función vascular.

Cada sujeto incluido en el estudio ha sido asignado aleatoriamente a uno de los dos grupos de estudio: grupo control (sin suplemento), grupo intervención (10 g diarios de chocolate con el 99 % de cacao).

**Ámbito.** El estudio se está desarrollando en el ámbito urbano de Atención Primaria del Área de Salud de Salamanca y en la Unidad de Investigación de La Alamedilla, perteneciente a la Red de Investigación en Actividades Preventivas y Promoción de la Salud (REDIAPP) y al Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL).

**Población de estudio.** La población de referencia está constituida por mujeres adultas sanas, con edad comprendida entre 50 y 64 años, en período post-menopáusico. Los sujetos de la población de estudio han sido seleccionados a través de un muestreo consecutivo en las consultas de los centros de salud urbanos de Salamanca.

Criterios de inclusión:

- Mujeres con edad comprendida entre los 50 y 64 años.
- Período post-menopáusico contrastado y definido por amenorrea durante 12 meses consecutivos.
- Firma del consentimiento informado.

Criterios de exclusión:

- Historia personal de enfermedad cardiovascular (infarto agudo de miocardio, accidente cerebrovascular).
- Antecedentes personales de hipertensión arterial en tratamiento farmacológico, diabetes mellitus, dislipemia o condición de fumadora en el momento de la evaluación basal.
- Dietas hipocalóricas.
- Enfermedad neurológica y/o neuropsicológica clínicamente demostrable.
- Tratamiento con terapia hormonal sustitutiva.
- Intolerancia y/o alergia al cacao o alguno de los componentes del suplemento.
- Cualquier otra circunstancia a criterio de los investigadores.

**Tamaño muestral.** La estimación del tamaño de la muestra del ensayo completo se ha realizado en base a la potencial modificación de una de las variables del estudio, la presión arterial sistólica (PAS).



Para ello se ha utilizado como referencia los resultados obtenidos en un estudio similar con personas sanas que consumieron chocolate como suplemento a su dieta habitual (29). En este estudio, la PAS disminuyó  $6,5 \pm 5,8$  mmHg. Con estas premisas, aceptando un riesgo alfa de 0.05 y un riesgo beta de 0.2 en un contraste bilateral y una desviación estándar de 5,8 mmHg, se precisarían 70 sujetos en cada grupo para detectar una diferencia mínima de 2,9 mmHg en la PAS entre los dos grupos, considerando una tasa de pérdidas en el seguimiento del 10 %.

En este trabajo, para la valoración de la función vascular, la muestra poblacional se redujo a un número de 64 pacientes en total, distribuyéndolos para cada grupo de manera aleatoria.

**Variabes e instrumentos de medida.** Las variables relacionadas con la función vascular van a valorar la *rigidez arterial*, que se ha determinado en cada visita mediante el índice CAVI (Cardio-Ankle Vascular Index) y la velocidad de la onda de pulso (VOP). El CAVI representa la rigidez de la aorta y se estima por medio de un método oscilométrico (34). Este valor no depende de las cifras de presión arterial. Las medidas se han hecho en reposo mediante el dispositivo VaSera VS 2000 (Fukuda Denshi, Japón), siguiendo el consenso de Van Bortel et al. (35).

**Aleatorización.** Los sujetos incluidos se randomizaron mediante el programa Epidat 4.0 en 2 grupos (grupo control y grupo intervención) con una razón de 1/1.

**Intervención.** A los participantes de ambos grupos se les indicó que continuasen con el patrón dietético que seguían habitualmente sin modificar sus hábitos alimenticios durante el periodo de estudio.

- **Grupo 1 (Control):** las personas del grupo control no recibieron ninguna cantidad de chocolate añadida a su dieta habitual.
- **Grupo 2 (Intervención):** los participantes de este grupo recibieron chocolate con el 99 % de cacao y las instrucciones de tomar diariamente 10 g añadidos a su alimentación habitual durante los 3 meses, procurando tomarlo en el mismo horario. El aporte de polifenoles por cada 10 g es de 65,4 mg. Los participantes de este grupo reciben la cantidad de chocolate que necesiten hasta la siguiente visita de reabastecimiento.

**Estructura de las visitas.** Una vez identificadas las posibles candidatas a participar en el estudio en las consultas de los centros de salud, se fue contactando con ellas y concertando una entrevista en la que se les explicó el objeto del estudio y se les invitó a firmar el consentimiento informado (Consentimiento informado en anexo I). Cada participante realiza una visita basal al inicio del estudio y antes de la randomización y una visita de seguimiento a los 3 meses de la primera. Cada una de las visitas previstas tiene una duración de una hora y 30 minutos aproximadamente.

Visita basal: se realiza la recogida de datos iniciales, donde se incluyen datos sociodemográficos, antecedentes médicos, presencia de comorbilidades y uso de medicaciones concomitantes, y se asegura el cumplimiento de los criterios de selección.

Se mide la PA clínica, se coloca un MAPA de 24 horas y se evalúan la función vascular, los rendimientos cognitivos, la calidad de vida y el resto de variables de estudio.

Al final de la visita basal se procede a la asignación aleatoria a uno de los dos grupos de estudio. A las personas incluidas en el grupo de intervención se les entrega el chocolate (99 % de cacao) y las instrucciones adecuadas. Para facilitar el registro del consumo de chocolate, a cada participante incluido en el grupo de intervención se le entrega un diario/calendario en el que anote la toma diaria del chocolate (día y hora). El grupo de control no recibe ninguna cantidad de chocolate.

Visitas de reabastecimiento del primer y segundo mes: solo se realizarán en el grupo de intervención, con el único propósito del reabastecimiento del chocolate. Durante esas visitas se recoge el diario/calendario de ingesta del chocolate y se entrega uno nuevo.

Visita de seguimiento a los 3 meses: la visita a los 3 meses es idéntica a la basal.

Los datos resultantes de la visita basal y de los 3 meses han sido clasificados y separados en este trabajo para estudiar la función vascular en el grupo muestral escogido aleatoriamente.

**Estrategia de enmascaramiento.** Debido a la naturaleza de la propia intervención los sujetos participantes y la persona responsable de entregar el chocolate a los participantes del grupo intervención, no pueden ser cegados. Sin embargo, el responsable de realizar las mediciones del estudio en cada visita y el análisis estadístico si son ciegos a la intervención.

**Limitaciones metodológicas.** El estudio sigue todas las recomendaciones del CONSORT, pero por la naturaleza de la intervención los sujetos participantes no serán ciegos a la intervención.

**Cuestiones éticas.** El estudio se está realizando tras la autorización del Comité Ético de Investigación Clínica del área de Salud de Salamanca, previo consentimiento informado de los sujetos de estudio y en concordancia con la Declaración de Helsinki. Los participantes han sido informados de los objetivos del proyecto y de los riesgos y beneficios de las exploraciones que se realizan (Consentimiento informado en anexo I). Del mismo modo, se ha garantizado en todo momento la confidencialidad de los sujetos incluidos conforme lo que dispone la Ley Orgánica de Protección de Datos de Carácter Personal (15/1999 del 13 de Diciembre, LOPD), y en las condiciones que marca la Ley14/2007 de investigación biomédica.

### **3.2. Análisis estadístico.**

Los resultados se expresan según la media  $\pm$  desviación estándar en variables cuantitativas o mediante la distribución de frecuencias en el caso de las cualitativas. Se evalúa la normalidad mediante el Test de Kolmogorov-Smirnov. En los casos en los que no se puede asumir una distribución normal se utilizan las correspondientes pruebas no paramétricas que se indican entre paréntesis. Se utiliza el test chi cuadrado para analizar la asociación entre variables cualitativas independientes y el test de McNemar para muestras apareadas. Mediante la prueba t de Student (U de Mann Whitney) para muestras independientes se comparan las medias entre dos grupos, evaluando el cambio dentro del mismo grupo con la t de Student para datos apareados (Test de Wilcoxon). La relación entre variables cuantitativas es analizada mediante el coeficiente de correlación de Pearson (coeficiente de correlación de Spearman). Se realiza un análisis multivariante mediante diferentes modelos de regresión lineal múltiple y logística para analizar el efecto del consumo de chocolate sobre la presión arterial clínica y ambulatoria y los parámetros de rigidez arterial (VOP y CAVI).

En todos los casos se ajusta por las variables que pueden influir en el resultado como son las variables sociodemográficas, las relacionadas con los estilos de vida (actividad física y alimentación, estatus de fumadora), el consumo de fármacos, la presencia de comorbilidad o el IMC basal, entre otras. Para los contrastes bilaterales de hipótesis se fija un riesgo alfa de 0,05 como límite de significación estadística. El programa estadístico usado fue SPSS, v.23.0.

### 3.3. Dispositivo VaSera VS 2000.

Las variables relacionadas con la función vascular, entre la que destaca la rigidez arterial por ser la de referencia en nuestro estudio, obtienen sus mediciones mediante el dispositivo VaSera VS 2000 (figura 1 en anexo II).

La rigidez arterial se basa en los cambios estructurales que se producen antes de la formación de la placa o trombo en los vasos musculares y elásticos. En 1980, Hayashi et al. propusieron el *parámetro de rigidez* =  $1n (Ps/Pd) \cdot D/\Delta D$ , donde Ps es la presión sistólica, Pd es la presión diastólica, D es el diámetro de la arteria y  $\Delta D$  es el cambio de diámetro arterial en relación con la presión arterial (34).

El dispositivo VaSera nos permite medir: *CAVI* (Cardio-Ankle Vascular Index), *ABI /ITB* (Ankle-Brachial Index) y *Velocidad de onda de pulso del brazo al tobillo* (baPWV, Brachial-Ankle Pulse Wave Velocity).

#### 3.3.1. Valores de referencia.

Mediante el valor de referencia del **CAVI (Índice vascular corazón-tobillo)** se evalúa la rigidez del segmento arterial que comprende la aorta, la arteria femoral y la arteria tibial (34). Dependiendo de los diferentes valores se otorgan distintos valores de rigidez arterial (tabla 3).

Valor CAVI	Rigidez arterial
< 8.0	Rango normal
≥ 8.0 - < 9.0	Límite
≥ 9.0	Sospecha de arterosclerosis

**Tabla 3.** Valor de referencia del CAVI.

El valor de referencia de **ITB (Índice tobillo-brazo)** según las Guías ACC/AHA 2008 (tabla 4), nos permite determinar la estenosis y la oclusión de las arterias crurales y es calculado a partir de la tensión arterial en los brazos y los tobillos.

Valor ITB	Oclusión arterial
$\geq 1.30$	Patológico. No comprensible. Posible calcificación arterial.
$\geq 1 - \leq 1.29$	Rango normal
$\geq 0.91 - \leq 0.99$	Límite normal (en el borde de la normalidad)
$\geq 0.41 - \leq 0.90$	Oclusión ligera/leve o sospecha de estenosis
$\leq 0.40$	Oclusión grave o sospecha de estenosis

**Tabla 4.** Valor de referencia de ITB.

La **velocidad de onda de pulso del brazo al tobillo (baPWV)** es un indicador clave de la rigidez arterial que es ampliamente utilizado en la actualidad por la simplicidad de su medición. Se calcula como la relación de la trayectoria de desplazamiento dividido por la diferencia de tiempo entre las ondas del pulso que se transmiten a la arteria braquial y del tobillo (36). El valor de referencia de la baPWV para la población española aún no ha sido establecido, sin embargo, en la actualidad consideramos que el valor de baPWV a partir del cual se considera patológico es 18.3 m/s (37).

### 3.3.2. Instrucciones de uso.

Le indicamos al paciente que se tumbe en la camilla en posición de decúbito supino para colocarle los manguitos de tensión arterial siguiendo el mismo código de colores que en los ECG: **rojo** en MSD, **amarillo** en MSI, **negro** en MID y **verde** en MII (figura 2 en anexo II).

Además, le colocamos un adhesivo de doble cara 2 dedos por debajo del borde esternal, donde posteriormente pegamos un micrófono (figura 3 en anexo II).

Una vez colocado el dispositivo, introducimos los datos del paciente (figura 4 en anexo II) a través del teclado táctil (ID, fecha de nacimiento, sexo, talla y peso) y dejamos que se establezca la imagen hasta completar una pantalla completa con señal del micrófono (figura 5 en anexo II). Al mismo tiempo, le diremos al paciente que debe estar tranquilo, sin hablar ni moverse; le informaremos de la prueba comentándole que se hincharán los 4 manguitos a la vez, pero con poca presión, para después hincharse con mayor presión los del lado derecho y a continuación los del lado izquierdo. Finalmente, pulsamos el botón START.

Una vez realizada la medida en las cuatro extremidades vemos si esta medida es válida. Para ello deben aparecer un doble círculo o un círculo junto a cada valor (figura 6 en anexo II). Si aparece un triángulo o un aspa no es válida (figura 7 en anexo II), por lo que debe pararse el aparato y repetirse la prueba.

Concluidas todas las pruebas y tras retirar el monitor y los manguitos, se registran los valores resultantes, ABI y CAVI, (figura 8 en anexo II) que quedarán grabados en una tarjeta SD, para posteriormente almacenarlos en la aplicación VaSera del ordenador y exportarlos a otro Excel que calculará la velocidad de onda del pulso del brazo al tobillo.

#### **4. RESULTADOS.**

La tabla 5 muestra las características (en general y por grupos de intervención) de 64 mujeres postmenopáusicas, con una edad media (media  $\pm$  DE, %) de  $58,4 \pm 3,6$  años, de las cuales ninguna es hipertensa, 17,2 % son dislipémicas y el 14,1 % son fumadoras. La media del IMC (media  $\pm$  DE) fue de  $25,1 \pm 3,1$  ( $24,7 \pm 3,2$  en el grupo control y  $25,5 \pm 2,9$  en el grupo intervención). La actividad física en el grupo intervención es mayor que en el control ( $2083 \pm 2247$  METS/min/semana frente a  $1278 \pm 751$  METS/min/semana), pero no se establecen diferencias significativas entre ellos. La frecuencia cardiaca fue similar en ambos grupos con una media de  $65,6 \pm 8,2$ . No se han encontrado diferencias significativas para los niveles de glucosa y colesterol entre ambos grupos de actuación.

	<b>TOTAL</b> (N = 64) Media (n ± DE, %)	<b>G. CONTROL</b> (N = 28) Media (n ± DE, %)	<b>G. INTERVENCIÓN</b> (N = 36) Media (n ± DE, %)	<b>p valor</b>
Edad (años)	58,4 ± 3,6	59,2 ± 3,4	57,7 ± 3,7	0,094
Glucosa (mg/dL)	87,8 ± 8,7	87,8 ± 6,9	87,8 ± 10,0	0,982
Colesterol total (mg/dL)	208,7 ± 25,6	205,5 ± 23,2	211,2 ± 27,3	0,384
HDL-Colesterol (mg/dL)	67,2 ± 14,5	66,4 ± 13,7	67,9 ± 15,2	0,691
LDL-Colesterol (mg/dL)	124,7 ± 24,5	121,8 ± 23,5	126,9 ± 25,3	0,412
Actividad física (METS*/min/semana)	1731 ± 1791	1278 ± 751	2083 ± 2247	0,074
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	25,1 ± 3,1	24,7 ± 3,2	25,5 ± 2,9	0,302
Frecuencia cardiaca (latidos/min)	65,6 ± 8,2	65,6 ± 7,9	65,5 ± 8,5	0,977
Nº fumadores (%)	9 (14,1 %)	4 (14,3 %)	5 (13,9 %)	0,964
Nº hipertensos (%)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1,000
Nº con dislipemia (%)	11 (17,2 %)	5 (17,9 %)	6 (16,7 %)	0,900

\* METS: equivalentes de gasto metabólico.

**Tabla 5.** Características demográficas y clínicas basales de los pacientes en función del grupo.

Las diferencias en los parámetros antes y después del consumo del cacao al 99 % por grupos de actuación se muestran en la tabla 6. No se han encontrado modificaciones significativas en los valores de CAVI ni del ITB en ningún grupo. Sin embargo, se observa una disminución en la baPWV de -0,24 (IC 95 %: -0,38 a -0,11) con una mayor significación en el grupo intervención de -0,23 (IC 95 %: -0,41 a -0,04) frente al grupo control de -0,27 (IC 95 %: -0,50 a -0,04). Además, en las extremidades superiores hubo una disminución de la PAS de -4,1 mmHg (IC 95 %: -6,7 a -1,5), aunque solo alcanzó significación estadística en el grupo intervención con una PAS de -5,1 mmHg (IC 95 %: -0,9 a -1,2), y de la PAD de -2,4 mmHg (IC 95 %: -4,1 a -0,6), únicamente significativa en el grupo intervención con unos valores de -2,6 mmHg (IC 95 %: -5,2 a 0,0). Lo mismo ocurre con la presión del pulso, en la que hubo una disminución de -1,8 mmHg (IC 95 %: -3,6 a 0,0), alcanzando significación en el grupo intervención con una presión de -2,5 mmHg (IC 95 %: -5,0 a 0,0).

	TOTAL (N=64) Media (n ± DE, %)			GRUPO CONTROL (N=28) Media (n ± DE, %)			GRUPO INTERVENCIÓN (N=36) Media (n ± DE, %)		
	Basal	3 meses	Diferencia (IC 95 %)	Basal	3 meses	Diferencia	Basal	3 meses	Diferencia
CAVI	4,56 ± 0,52	4,64 ± 0,54	0,08 (-0,02 a 0,19)	4,79 ± 0,49	4,84 ± 0,52	0,05 (-0,12 a 0,23)	4,40 ± 0,48	4,50 ± 0,51	0,10 (-0,04 a 0,24)
ITB	1,07 ± 0,08	1,08 ± 0,07	0,01 (-0,01 a 0,03)	1,08 ± 0,09	1,09 ± 0,07	0,01 (-0,03 a 0,05)	1,07 ± 0,06	1,08 ± 0,07	0,01 (-0,02 a 0,03)
baPWV (m/s)	7,94 ± 1,02	7,71 ± 0,99	-0,24 (-0,38 a -0,11)*	8,21 ± 0,94	7,94 ± 0,93	-0,27 (-0,50 a -0,04)*	7,76 ± 1,05	7,53 ± 1,01	-0,23 (-0,41 a -0,04)*
PAS en brazo (mmHg)	109,3 ± 13,8	105,1 ± 13,8	-4,1 (-6,7 a -1,5) *	110,3 ± 11,1	107,4 ± 10,6	-2,9 (-6,3 a 0,5)	108,6 ± 15,6	103,5 ± 15,7	-5,1 (-9,0 a -1,2)*
PAD en brazo (mmHg)	72,6 ± 8,9	70,3 ± 8,6	-2,4 (-4,1 a -0,6)*	73,0 ± 8,3	71,0 ± 7,1	-2,0 (-4,5 a 0,5)	72,4 ± 9,4	69,8 ± 9,6	-2,6 (-5,2 a 0,0)*
Presión del pulso (mmHg)	36,7 ± 8,3	34,9 ± 7,8	-1,8 (-3,6 a 0,0)*	37,3 ± 5,6	36,4 ± 6,8	-0,9 (-3,5 a 1,8)	36,2 ± 9,8	33,7 ± 8,4	-2,5 (-5,0 a 0,0)*

\* $p < 0,05$

CAVI: cardio-ankle vascular index; ITB: Índice tobillo brazo; baPWV: velocidad de la onda de pulso brazo tobillo; PA: presión arterial.

**Tabla 6.** Efecto del cacao (99 %) sobre la rigidez y la presión arterial.

## 5. DISCUSIÓN.

Las principales conclusiones del estudio fueron que el consumo diario de 10 g cacao al 99 % podría tener una mejora inmediata de los parámetros de **baPWV** en mujeres postmenopáusicas, ya que a pesar de que es un parámetro que mejora también sin el consumo de cacao, la significación es mayor tras su ingesta.

Varios estudios (7, 16, 33) apoyan nuestros resultados sobre el efecto beneficioso inmediato que el consumo de chocolate podría tener sobre los parámetros de rigidez arterial en mujeres postmenopáusicas. Grassi et al. (29) en un estudio sobre individuos sanos que utiliza los mismos gramos de cacao que nuestro estudio pero con diferente proporción de flavonoides, que incrementaba en cada semana, obtuvo una reducción de la baPWV con unos valores de 7,39 m/s después de 800 mg/día de flavonoides, resultados ligeramente inferiores a los de nuestro ensayo (7,53 ± 1,01 m/s). Siguiendo esta misma línea de estudio, Heiss et al. (15) determinaron en una población anciana



una mejora en la rigidez arterial, valorada a partir de la disminución de la baPWV tras el consumo de cacao en ayunas durante 14 días. En otros trabajos se obtienen los mismos resultados, como se observa en el estudio de 1 año de intervención de Curtis et al. (7) llevado a cabo en pacientes diabéticas tipo II postmenopáusicas, donde el consumo de chocolate negro tuvo un efecto positivo sobre la rigidez arterial; o en el estudio realizado en adultos con sobrepeso, donde West et al. (26) determinaron que el chocolate negro produce una reducción significativa de la rigidez arterial solo en las mujeres, aunque no determinan si es debido a la edad o al sexo. Por otra parte, Marsh et al. (16) realizó un estudio en mujeres postmenopáusicas, las cuales ingerían chocolate con diferentes concentraciones de cacao (80 %, 35 % y chocolate blanco), cuyas conclusiones afianzan nuestros resultados al ser en el cacao de mayor concentración donde se observa una mejora de la función vascular. Por el contrario, Okamoto et al. (33) incluye en su estudio mujeres postmenopáusicas que consumen las mismas cantidades de cacao (17 g) durante 12 semanas variando la frecuencia de la ingesta, y aunque no observó diferencias significativas entre ambos grupos, si obtuvo una mejora de la rigidez arterial con una disminución de la baPWV. La cantidad, el porcentaje de polifenoles y el tiempo de consumo merecen una consideración clave a la hora de investigar el efecto de la ingesta de cacao sobre la rigidez arterial. Por lo tanto, en el estudio llevado a cabo por Dower et al. (25) en el que no se obtuvieron mejoras en la rigidez arterial ni en la presión arterial, pudo ser debido a su escasa duración.

En cuanto a la **presión arterial**, siendo este otro resultado fundamental en nuestro estudio, se determinó una disminución de la PAS y PAD en ambas extremidades superiores. Estos resultados son consistentes con el meta-análisis realizado por Kerimi et al. (22) donde se encontró una disminución de la PA tras la ingesta de chocolate negro, aunque no se esclarece cual es el determinante principal del beneficio observado. Las mismas conclusiones son establecidas en una revisión realizada por Al-Dashti et al. (23) en la que el consumo de cacao es clave para conseguir una reducción de la presión arterial. Los estudios realizados por Marsh et al. (16) y Okamoto et al. (33) para ver los efectos del chocolate con alta concentración de cacao en mujeres postmenopáusicas obtienen los mismos resultados concluyentes sobre la presión arterial que nuestro estudio.

Referente al **CAVI**, en nuestro estudio no se han encontrado diferencias significativas entre el grupo control y el de intervención, hecho que se refuerza con el estudio realizado por Koli et al. (7) donde determinaron que el ensayo de intervención no tuvo efecto sobre el CAVI.

Otro de los parámetros que tiene diferencias significativas en nuestro estudio es la **presión del pulso**, cuyo valor es la diferencia entre la presión arterial sistólica y la diastólica, lo que indica que cuanto mayor sea la diferencia, mayor es el riesgo de rigidez arterial. Por lo tanto, es otro factor que indica el efecto beneficioso del cacao al 99 % sobre la función vascular.

Teniendo en cuenta la posible asociación del chocolate utilizado en nuestro estudio con los efectos beneficiosos inmediatos en la baPWV, la presión arterial en las extremidades superiores y la presión del pulso, esto podría ser un hábito dietético que se recomienda aconsejar en las consultas de atención primaria, especialmente en las mujeres postmenopáusicas, para evitar el incremento de la presión arterial asociado al periodo postmenopáusico, y conseguir así una mejora de la salud cardiovascular.

## **6. CONCLUSIONES.**

Los resultados de este estudio sugieren que el consumo de 10 gramos diarios de cacao al 99 % tiene un efecto beneficioso inmediato en la función vascular, mejorando la rigidez arterial al conseguir unas diferencias significativas en los valores de la velocidad de la onda de pulso brazo tobillo y la presión del pulso, además de influir también en la presión sistólica de miembros superiores en mujeres postmenopáusicas.

## 7. BIBLIOGRAFÍA.

- 1) Shaw LJ, Bugiardini R, Merz CN. Women and Ischemic Heart Disease: Evolving Knowledge. *J Am Coll Cardiol.* 2009;54(17):1561-1575.
- 2) Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Muntner P, Whelton PK, He J. Global burden of hypertension; analysis of worldwide data. *Lancet.* 2005;365(9455):217-223.
- 3) Hjortland MC, McNamara PM, Kannel WB. Some atherogenic concomitants of menopause: The Framingham Study. *Am J Epidemiol.* 1976;103(3):304-311.
- 4) Hernández-Hernández R, Silva H, Velasco M, Pellegrini F, Macchia A, Escobedo J, et al. Hypertension in seven Latin American cities: the Cardiovascular Risk Factor Multiple Evaluation in Latin America (CARMELA) study. *J Hypertens.* 2010;28(1):24-34.
- 5) Tzounis X, Rodríguez-Mateos A, Vulevic J, Gibson GR, Kwik-Urbe C, Spencer JP. Prebiotic evaluation of cocoa-derived flavanols in healthy humans by using a randomized, controlled, double-blind, crossover intervention study. *Am J Clin Nutr.* 2011;93(1):62-72.
- 6) Rios LY, Gonthier MP, Rémésy C, Mila I, Lapiere C, Lazarus SA, et al. Chocolate intake increases urinary excretion of polyphenol-derived phenolic acids in healthy human subjects. *Am J Clin Nutr.* 2003;77(4):912-8.
- 7) Koli R, Köhler K, Tonteri E, Peltonen J, Tikkanen H, Fogelholm M. Dark chocolate and reduced snack consumption in mildly hypertensive adults: an intervention study. *Nutr J.* 2015;14:84.
- 8) Visioli F, Bernaert H, Corti R, Ferri C, Heptinstall S, Molinari E, et al. Chocolate, lifestyle, and health. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2009;49(4):299-312.
- 9) Sánchez-Rabaneda F, Jáuregui O, Casals I, Andrés-Lacueva C, Izquierdo-Pulido M, Lamuela-Raventós RM. Liquid chromatographic/electrospray ionization tandem mass spectrometric study of the phenolic composition of cocoa (*Theobroma cacao*). *J Mass Spectrom.* 2003;38(1):35-42.

- 10)** Murphy KJ, Chronopoulos AK, Singh I, Francis MA, Moriarty H, Pike MJ, et al. Dietary flavanols and procyanidin oligomers from cocoa (*Theobroma cacao*) inhibit platelet function. *Am J Clin Nutr.* 2003;77(6):1466-73.
- 11)** Grassi D, Desideri G, Ferri C. Blood pressure and cardiovascular risk: what about cocoa and chocolate? *Arch Biochem Biophys.* 2010;501(1):112-5.
- 12)** Peluso I, Palmery M, Serafini M. Effect of cocoa products and flavanols on platelet aggregation in humans: a systematic review. *Food Funct.* 2015;6(7):2128-34.
- 13)** Naomi Osakabe. Flavan 3-ols improve metabolic syndrome risk factors: evidence and mechanisms. *J Clin Biochem Nutr.* 2013;52(3):186-192.
- 14)** Williamson G. The role of polyphenols in modern nutrition. *Nutr Bull.* 2017; 42(3):226-235.
- 15)** Heiss C, Sansone R, Karimi H, Krabbe M, Schuler D, Rodríguez-Mateos A, et al. Impact of cocoa flavanol intake on age-dependent vascular stiffness in healthy men: a randomized, controlled, double-masked trial. *Age (Dordr).* 2015;37(3):9794.
- 16)** Marsh CE, Carter HH, Guelfi KJ, Smith KJ, Pike KE, Naylor LH, et al. Brachial and Cerebrovascular Functions Are Enhanced in Postmenopausal Women after Ingestion of Chocolate with a High Concentration of Cocoa. *J Nutr.* 2017;147(9):1686-1692.
- 17)** Crozier A, Jaganath IB, Clifford MN. Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Nat Prod Rep.* 2009;26(8):1001-43.
- 18)** Del Rio D, Rodríguez-Mateos A, Spencer JP, Tognolini M, Borges G, Crozier A. Dietary (poly) phenolics in human health: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. *Antioxid Redox Signal.* 2013;18(14):1818-92.
- 19)** Grassi D, Desideri G, Ferri C. Flavonoids: antioxidants against atherosclerosis. *Nutrients.* 2010;2(8):889-902.

- 20) Rodríguez-Mateos A, Vauzour D, Krueger CG, Shanmuganayagam D, Reed J, Calani L, et al. Bioavailability, bioactivity and impact on health of dietary flavonoids and related compounds: an update. *Arch Toxicol.* 2014;88(10):1803-53.
- 21) Borges G, Ottaviani JI, van der Hooft JJJ, Schroeter H, Crozier A. Absorption, metabolism, distribution and excretion of (-)-epicatechin: A review of recent findings. *Mol Aspects Med.* 2018;61:18-30.
- 22) Kerimi A, Williamson G. The cardiovascular benefits of dark chocolate. *Vascul Pharmacol.* 2015;71:11-15.
- 23) Al-Dashti YA, Holt RR, Stebbins CL, Keen CL, Hackman RM. Dietary Flavanols: A Review of Select Effects on Vascular Function, Blood Pressure, and Exercise Performance. *J Am Coll Nutr.* 2018;37(7):553-567.
- 24) Crews WD Jr, Harrison DW, Wright JW. A double-blind, placebo-controlled, randomized trial of the effects of dark chocolate and cocoa on variables associated with neuropsychological functioning and cardiovascular health: clinical findings from a sample of healthy, cognitively intact older adults. *Am J Clin Nutr.* 2008;87(4):872-80.
- 25) Dower JI, Geleijnse JM, Gijssbers L, Zock PL, Kromhout D, Hollman PC. Effects of the pure flavonoids epicatechin and quercetin on vascular function and cardiometabolic health: a randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover trial. *Am J Clin Nutr.* 2015;101(5):914-21.
- 26) West SG, McIntyre MD, Piotrowski MJ, Poupin N, Miller DL, Preston AG, et al.. Effects of dark chocolate and cocoa consumption on endothelial function and arterial stiffness in overweight adults. *Br J Nutr.* 2014;111(4):653-61.
- 27) Davison K, Coates AM, Buckley JD, Howe PR. Effect of cocoa flavanols and exercise on cardiometabolic risk factors in overweight and obese subjects. *Int J Obes (Lond).* 2008;32(8):1289-96.

- 28)** Mendonça RD, Carvalho NC, Martin-Moreno JM, Pimenta AM, Lopes ACS, Gea A, et al. Total polyphenol intake, polyphenol subtypes and incidence of cardiovascular disease: The SUN cohort study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2019;29(1):69-78.
- 29)** Grassi D, Desideri G, Necozione S, di Giosia P, Barnabei R, Allegaert L, et al. Cocoa consumption dose-dependently improves flow-mediated dilation and arterial stiffness decreasing blood pressure in healthy individuals. *J Hypertens.* 2015;33(2):294-303.
- 30)** Ried K, Sullivan TR, Fakler P, Frank OR, Stocks NP. Effect of cocoa on blood pressure. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012;(8):CD008893.
- 31)** Basu A, Betts NM, Leyva MJ, Fu D, Aston CE, Lyons TJ. Acute Cocoa Supplementation Increases Postprandial HDL Cholesterol and Insulin in Obese Adults with Type 2 Diabetes after Consumption of a High-Fat Breakfast. *J Nutr.* 2015;145(10):2325-32.
- 32)** Zilberman JM, Cerezo GH, Del Sueldo M, Fernández-Pérez C, Martell-Claros N, Vicario A. Association Between Hypertension, Menopause, and Cognition in Women. *J Clin Hypertens (Greenwich).* 2015;17(12):970-6.
- 33)** Okamoto T, Kobayashi R, Natsume M, Nakazato K. Habitual cocoa intake reduces arterial stiffness in postmenopausal women regardless of intake frequency: a randomized parallel-group study. *Clin Interv Aging.* 2016;11:1645-1652.
- 34)** Shirai K, Utino J, Saiki A, Endo K, Ohira M, Nagayama D, et al. Evaluation of Blood Pressure Control using a New Arterial Stiffness Parameter, Cardio-ankle Vascular Index (CAVI). *Curr Hypertens Rev.* 2013;9(1):66-75.
- 35)** Van Bortel LM, Laurent S, Boutouyrie P, Chowienczyk P, Cruickshank JK, De Backer T, et al. Expert consensus document on the measurement of aortic stiffness in daily practice using carotid-femoral pulse wave velocity. *J Hypertens.* 2012;30(3):445-8.

- 36)** Yiming G, Zhou X, Lv W, Peng Y, Zhang W, Cheng X, et al. Reference values of brachial-ankle pulse wave velocity according to age and blood pressure in a central Asia population. *PLoS One*. 2017;12(4):e0171737.
- 37)** Shirai K, Hiruta N, Song M, Kurosu T, Suzuki J, Tomaru T, et al. Cardio-ankle vascular index (CAVI) as a novel indicator of arterial stiffness: theory, evidence and perspectives. *J Atheroscler Thromb*. 2011;18(11):924–38.

## 8. ANEXOS.

### ANEXO I: CONSENTIMIENTO INFORMADO GENERAL.

**Título del estudio. Efecto de una intervención consistente en suplementar la dieta habitual con una dosis de chocolate, con alto porcentaje de cacao y polifenoles, sobre la presión arterial, función vascular, calidad de vida y rendimientos cognitivos en mujeres postmenopáusicas. Ensayo clínico aleatorio.**

Usted ha sido invitada a participar en un estudio de investigación. Antes de confirmar su participación, es importante que entienda en qué consiste. Por favor, lea detenidamente este documento y pregunte todas las dudas que le puedan surgir.

Objetivo del estudio. Evaluar el efecto de una intervención consistente en suplementar la dieta habitual con una dosis de chocolate, con alto porcentaje de cacao y polifenoles, sobre la presión arterial, función vascular, calidad de vida y rendimientos cognitivos en mujeres postmenopáusicas.

Procedimientos del estudio. El médico/investigador valorará si usted es una candidata adecuada para este estudio. Una vez haya otorgado su consentimiento y el investigador haya verificado que cumple los criterios para participar en el presente estudio, se le hará una visita de 1 hora y media de duración que consistirá en unas preguntas sobre su salud, actividad física, alimentación y calidad de vida y se realizarán las exploraciones que se detallan a continuación: determinación de la composición corporal, medidas de la función vascular (velocidad de la onda de pulso e índice cardio-tobillo) y medición de la presión arterial clínica y ambulatoria, para esta última se colocará un monitor de presión arterial de 24 horas (MAPA). Además, se le hará una extracción de sangre para la determinación de parámetros analíticos básicos y se evaluarán los rendimientos cognitivos y la calidad de vida mediante una serie de cuestionarios breves. Estas mediciones se realizarán también a los 3, 6 y 12 meses de la primera visita.

Tras ello, las participantes serán distribuidas aleatoriamente en dos grupos.

- Grupo 1: las participantes de este grupo no recibirán ninguna cantidad de chocolate.



- Grupo 2: las participantes de este grupo recibirán chocolate (99 % de cacao) con las instrucciones de tomar diariamente 10 g. añadidos a su alimentación habitual durante 6 meses.

Beneficios y riesgos esperados. El beneficio para usted será conocer su presión arterial periférica, otros factores de riesgo cardiovascular y el envejecimiento de sus arterias. También recibirá un informe detallado con los resultados de las exploraciones realizadas. Las exploraciones que se realizan no conllevan riesgo vital alguno, únicamente la incomodidad que pueda suponer la realización de las pruebas (una hora y media), ninguna de ellas invasiva, a excepción de la extracción de sangre.

Confidencialidad. Si usted accede a colaborar en este estudio, debe saber que serán utilizados algunos datos sobre su salud los cuales serán incorporados a una base de datos informatizada sin su nombre.

Ninguna participante será identificada personalmente en la comunicación y publicación de los resultados. Sus documentos médicos podrían ser revisados por personas dependientes de las Autoridades Sanitarias, miembros de comités éticos independientes y otras personas designadas por ley para comprobar que el estudio se está llevando a cabo correctamente. Todos sus datos se mantendrán estrictamente confidenciales, y no podrán ser divulgados por ningún medio, conservando en todo momento la confidencialidad investigadora/participante (Ley de Protección de datos 15/1999).

Se atenderá cualquier imprevisto, urgencia o problema sobreañadido o de nueva aparición durante el curso del estudio. Se interrumpirá éste en caso de aparecer otras prioridades terapéuticas.

Preguntas / Información. Si desea hacer alguna pregunta o aclarar algún tema relacionado con el estudio, o si precisa ayuda por cualquier problema de salud relacionado con este estudio, por favor, no dude en ponerse en contacto con el personal del estudio.

D/Dña.:....., médico/investigador he informado de todo lo anterior al firmante, aclarando sus dudas y apreciando su entendimiento de todos los términos expuestos.

Firma

Fecha

Dña.:....., comprendo que mi participación es voluntaria y que puedo retirarme del estudio cuando quiera, sin tener que dar explicaciones y sin que esto repercuta en mi atención médica. Doy libremente mi conformidad para participar en el estudio en el día de hoy,

En....., a..... de....., de 20....

Firma

Fecha

## ANEXO II: INSTRUCCIONES DE USO DEL DISPOSITIVO VASERA.



**Figura 1.** Dispositivo VaSera VS 2000.



**Figura 2.** Disposición de los manguitos.



**Figura 3.** Colocación del micrófono en el borde externo.



**Figura 4.** Registro de datos.



Figura 5. Estabilización de la imagen.

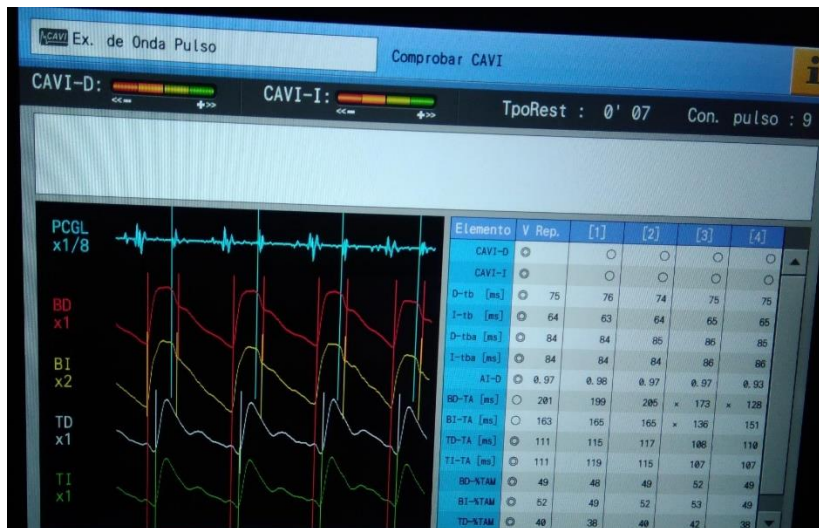


Figura 6. Validez de la medida.

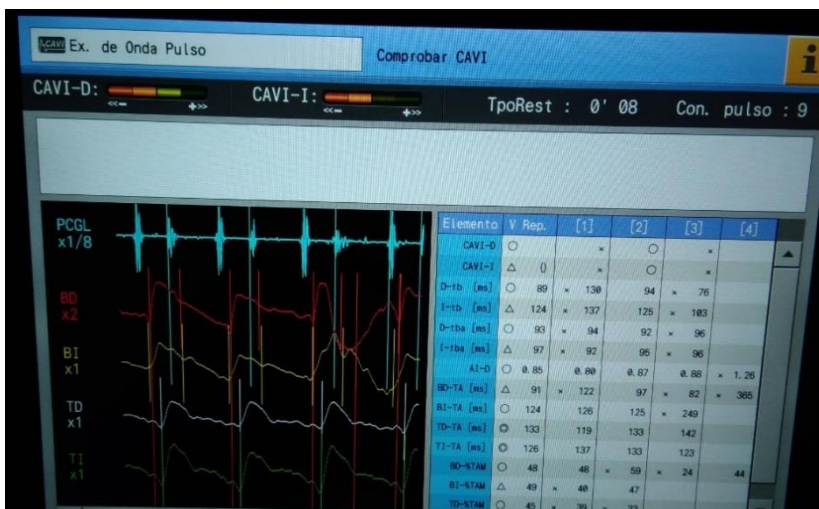
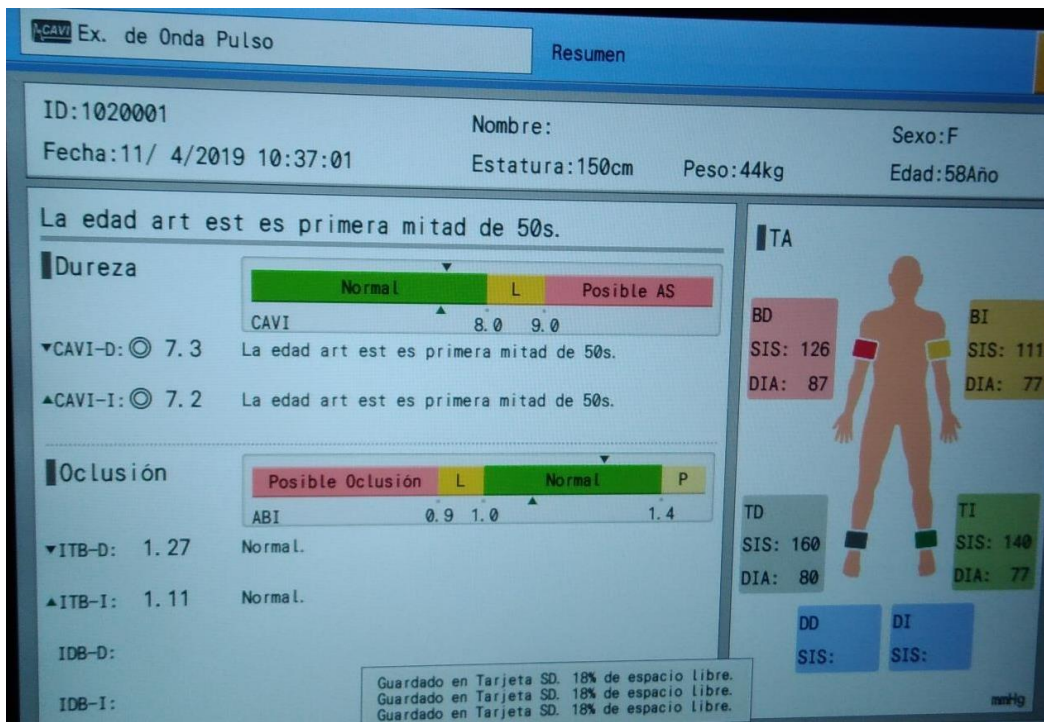


Figura 7. Medida inválida.



**Figura 8.** Resultados: valores de ABI y CAVI.