

3.1-MÉTODOS COMUNES: EL PROYECTO SUN (SEGUIMIENTO UNIVERSIDAD DE NAVARRA)

3.1.1-LA COHORTE SUN

Este estudio forma parte del proyecto SUN (Seguimiento Universidad de Navarra). El proyecto SUN es una cohorte de graduados universitarios diseñada para establecer la asociación entre dieta y la ocurrencia de enfermedades y patologías crónicas. Entre los efectos a valorar están incluidos el sobrepeso, la obesidad y el cambio de peso a lo largo del tiempo (95). La cohorte fue diseñada en colaboración con la *Harvard School of Public Health* usando una metodología similar a la de las grandes cohortes Americanas como la *Nurses' Health Study* (NHS) o la *Health Professionals' Follow-up Study* (HPFS) (95).

3.1.2-RECLUTAMIENTO

Antes de comenzar el reclutamiento de los participantes, se realizó un estudio piloto para valorar la viabilidad de la cohorte. En este estudio piloto se comprobó que existía suficiente variabilidad en el consumo de los alimentos más representativos de la Dieta Mediterránea, confirmando que esta población ofrecería un rango de exposiciones suficiente como para detectar posibles asociaciones dieta-enfermedad (96).

El reclutamiento de los participantes se ha realizado en diversos colectivos:

- Agrupación de graduados de la Universidad de Navarra (*Alumni Navarrensium*).
- Colegio de Enfermería de Navarra.

- Miembros con título universitario de la aseguradora sanitaria de la Clínica Universitaria (Asistencia Clínica Universitaria de Navarra (ACUNSA)).
- Alumnos recién graduados de la Universidad de Navarra.
- Padres (con título universitario) de alumnos actuales de la Universidad de Navarra.
- Miembros de otros colegios profesionales de diversas provincias españolas.

A los miembros de estos colectivos se les envió una carta de invitación, exponiéndoles brevemente los objetivos del estudio, explicándoles lo que supondría su participación y la colaboración que se les exigiría a lo largo del tiempo. Junto con la carta de invitación, se proporcionaba el cuestionario basal de la cohorte y un sobre de respuesta a franquear en destino.

El protocolo de estudio fue aprobado por el Comité de Investigación Clínica de la Universidad de Navarra. Se consideró que la respuesta al cuestionario equivalía al consentimiento informado de los individuos a participar en el estudio.

3.1.3-SEGUIMIENTO

Con el objeto de facilitar el seguimiento de los participantes de la cohorte, a todos ellos se les pedía que proporcionaran dos direcciones de correo (personal y una dirección alternativa, como la del trabajo o la de una segunda vivienda) y el nombre y datos de contacto de un familiar o amigo del participante.

El seguimiento de los participantes se está realizando mediante cuestionarios enviados por correo cada dos años. Para maximizar la retención de los participantes en la cohorte se están llevando a cabo hasta seis envíos a los individuos que no responden, el último de ellos por correo certificado. Asimismo, se están utilizando otros medios para contactar con los participantes perdidos: búsquedas en Internet (Páginas Blancas) o contacto a través de *Alumni Navarrens*.

En los años en que no se envía cuestionario de seguimiento, a todos los participantes de la cohorte SUN, se les hace llegar una carta recordatorio con noticias sobre el estudio y recordándoles la necesidad de actualizar sus datos en el caso de que hayan cambiado de domicilio.

A fecha de Diciembre del 2004 el Proyecto SUN incorporaba 17.170 participantes.

3.1.4-CUESTIONARIO BASAL

Una vez que se recibe un cuestionario basal en el departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública de la Universidad de Navarra, éste se procesa de manera estandarizada. En primer lugar, los datos 'administrativos' (nombre, direcciones) del participante se introducen en una base de datos (base de datos administrativa) cuyo acceso es restringido y no tiene conexión a la red. A continuación, se lleva a cabo la supervisión manual para verificar si se contestó correctamente y la codificación del cuestionario para algunas variables. Posteriormente, se realiza la lectura óptica del mismo, pasando esa información a una base de datos en formato SPSS donde a cada participante

sólo se le identifica con un código numérico. Así se mantiene en todo momento la confidencialidad respecto a la identidad de los participantes.

En el cuestionario basal se pueden distinguir diversos apartados. Un ejemplar del mismo se puede consultar en el Anexo 1.

Variables sociodemográficas

El cuestionario recoge información sobre fecha de nacimiento, sexo, nivel máximo de estudios alcanzado, carrera universitaria cursada, estado civil, situación laboral, número de hijos, número de personas con las que vive el participante.

Actividad física y otras variables de estilo de vida

Para la valoración de la actividad física se utiliza un cuestionario de frecuencia de práctica de actividades basado en el empleado en el NHS y el HPFS (55, 97). El cuestionario utilizado en el estudio SUN indaga sobre la participación en 17 actividades deportivas diferentes y el tiempo semanal dedicado a cada una de ellas (10 categorías: “desde nunca” a “más de 11 horas a la semana”). Se añade otra pregunta para cada actividad sobre el número de meses al año en que se practica. Para cuantificar el volumen de actividad física durante el tiempo libre, se asignan equivalentes metabólicos (METs) a cada actividad. Los METs representan la cantidad de energía empleada por el organismo durante la realización de una actividad física respecto a la empleada estando sentado y en reposo (98). Para estimar la cantidad total de actividad física en una semana (METs-horas) se multiplicó el número de horas semanales dedicadas a una determinada actividad por la

asignación de equivalentes metabólicos específica de esa actividad. Por último, sumando los METs-horas correspondientes a todas las actividades durante una semana se obtuvo la cantidad total de METs-horas/semana de cada participante en el estudio, que comprobamos que estaba adecuadamente correlacionada (Rho de Spearman=+0,51; p=0,002) con el gasto energético medido de forma objetiva con un acelerómetro triaxial en un estudio de validación realizado en una submuestra de la cohorte (99).

Otras variables de estilo de vida que se recogían en el cuestionario eran: hábito tabáquico, exposición pasiva al tabaco, consumo de alcohol y hábito de picotear entre comidas. Se recogieron otras variables no relacionadas con el objetivo de este estudio como son las referentes a conducción bajo los efectos del alcohol, uso de cinturón de seguridad y/o casco, número de kilómetros conducidos anualmente en moto y/o coche, y uso de cremas fotoprotectoras.

Variables clínicas y antropométricas

El cuestionario incluía preguntas sobre la presencia de un diagnóstico médico de diversas manifestaciones de enfermedad cardiovascular, cáncer, diabetes, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, entre otras patologías. Asimismo, se recogía información sobre los antecedentes familiares de enfermedad cardiovascular, HTA, cáncer, diabetes y obesidad.

La información sobre el peso y la talla era auto-declarada. Uno de los objetivos de la presente memoria fue realizar una validación del peso y talla auto-declarados.

Evaluación dietética

La dieta se valoró utilizando un cuestionario semicuantitativo de frecuencia de consumo de alimentos (CSFC) previamente validado en España por Martín-Moreno et al. (100). En el estudio de validación de este cuestionario, comparando la ingesta de nutrientes según el cuestionario y según tres registros de 4 días cada uno, separados 3 meses entre sí, se observaron unos coeficientes de correlación atenuados entre un mínimo de 0,45 para la vitamina A y un máximo de 0,90 para el consumo de alcohol. En relación con el grado más grosero de mala clasificación, únicamente el 3% de los individuos clasificados en el quintil más alto o más bajo según el registro de alimentos tenían asignado el quintil más bajo o más alto según el CSFC. Este CSFC ya ha sido utilizado previamente por el departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública de la Universidad de Navarra en un estudio de casos y controles para evaluar factores dietéticos asociados con la incidencia de un primer infarto de miocardio (64, 101-104).

Al cuestionario original de Martín-Moreno se le han añadido algunas pequeñas modificaciones para mejorar su adaptación a los objetivos específicos del proyecto SUN. La versión empleada en el proyecto SUN cubre 136 ítems e incluye una sección de preguntas abiertas para suplementos de vitaminas y/o minerales y otros alimentos no especificados en el cuestionario junto con otra nueva sección más específica sobre los patrones de consumo que son típicos de la Dieta Mediterránea (por ejemplo: vino y grasas) y algunas cuestiones sobre actitudes y prácticas frente a los alimentos y la salud. Además, se incluye una pregunta específica indagando sobre el seguimiento de dietas especiales.

Para cada uno de los alimentos incluidos en el cuestionario se especifica un tamaño de la ración y se ofrece la posibilidad de elegir entre 9 posibles frecuencias de consumo de ese alimento (desde 'nunca o casi nunca' hasta 'más de seis veces al día'). Este tipo de cuestionarios ofrecen una buena aproximación a la dieta actual y reciente del individuo.

Las variables dietéticas se ajustaron por energía según el método de los residuales propuesto por Willett (105). Para ajustar por ingesta energética total mediante este método se ejecuta un modelo de regresión lineal donde el alimento o nutriente específico constituye la variable dependiente y las calorías totales de la dieta se usan como variable independiente. Posteriormente, se suman los residuales obtenidos a la media de ingesta del nutriente o alimento. Esta nueva variable será la que se utilice en todos los análisis. Ésta es la aproximación recomendada también por la Enciclopedia de métodos epidemiológicos (106). El ajuste por energía total es necesario por dos motivos:

- El ejercicio físico puede actuar como factor de confusión, ya que a medida que se realiza más ejercicio físico aumenta el consumo energético total y el consumo de cada nutriente individual. Y, a su vez, el ejercicio físico se relaciona con el desenlace de estudio (la ganancia de peso o el sobrepeso y la obesidad).
- Este método permite corregir por la infradeclaración o sobredeclaración de consumo de alimento de un individuo.

En esta cohorte para efectuar el ajuste por energía y obtener los residuales se ejecutaron modelos de regresión distintos para hombres y

mujeres. Una vez que se realizó el ajuste por energía, el consumo de cada alimento o nutriente se categorizó en quintiles o cuartiles.

3.1.5-CUESTIONARIO DE SEGUIMIENTO

El cuestionario de seguimiento (C_2) (Anexo II) recoge información sobre nuevos diagnósticos de enfermedades y sobre otros sucesos relacionados con la salud. Asimismo, indaga sobre el peso actual del individuo, cambios en la dieta y en algunos estilos de vida.

La tasa de seguimiento de los individuos de la cohorte superó el 90% para los dos primeros años de seguimiento.

Para la presente memoria, se definió como cambio de peso (o IMC) a la diferencia entre el peso (o IMC) corporal de los sujetos en el cuestionario de seguimiento (C_2) y el peso corporal (o IMC) de los mismos en el cuestionario basal (C_0). Para valorar el diagnóstico de sobrepeso/obesidad ($IMC \geq 25 \text{ kg/m}^2$) se tomó como referencia el punto de corte en el IMC propuesto por la OMS ($IMC \geq 25 \text{ kg/m}^2$) y aceptado unánimemente por la comunidad científica.

3.1.6-CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y DE EXCLUSIÓN

Para los análisis en los que se valoró la incidencia de sobrepeso/obesidad se excluyeron a aquellos participantes que eran casos prevalentes de sobrepeso/obesidad ($IMC \geq 25 \text{ kg/m}^2$ en C_0) y también aquellos con ingestas calóricas extremas en C_0 (menos de 400 Kcal/día o más de 3.500 Kcal/día para las mujeres, y menos de 600 Kcal/día o más de

4.200 Kcal/día para los varones) así como aquellos con valores perdidos para alguna de las variables consideradas en el análisis.

3.2-MÉTODOS ESPECÍFICOS DE CADA OBJETIVO

3.2.1-VALIDACIÓN DEL PESO E IMC AUTO-DECLARADOS

Se comparó el peso y la talla auto-declarados en el cuestionario basal (C_0) con el peso y talla medidos en una consulta médica de la Clínica Universitaria de Navarra de todos los participantes posibles de la cohorte (n=70) que después (≤ 3 meses) de su declaración del peso y la talla en el cuestionario fueron atendidos en alguna consulta médica de la Clínica Universitaria en la que se les pesó y se les talló. Los participantes no conocían en el momento de rellenar el cuestionario que sus pesos y tallas auto-declarados se fueran a comparar después con los medidos objetivamente. Por motivos éticos se usó un procedimiento para enmascarar la identidad de los participantes ante quienes comparaban sus datos medidos con sus datos declarados. El proceso fue el siguiente: una primera persona (A) preparó un listado con la identificación numérica y los nombres y apellidos de los participantes, una segunda persona (B) se encargó de buscar el peso y la talla medida en consulta y devolver la lista con los pesos y tallas medidos sin los nombres y apellidos a una tercera persona (C) que fue la encargada de realizar los análisis de ambos ficheros (datos medidos y datos auto-declarados) emparejándolos sólo mediante un número de identificación anónimo.

Figura 3.1. Procedimiento seguido para enmascarar la identidad de los participantes.

	A	B	C
Nombre	X	X	
Nº Identificación	X	X	X
Peso y talla medida		X	X
Peso y talla auto-declarada			X

Para una información detallada sobre los métodos seguidos en la realización de este trabajo consultar el artículo enviado a publicar¹.

Adicionalmente para mejorar la valoración del grado de acuerdo de variables cuantitativas se ha analizado el coeficiente de correlación intraclase (CCI) entre el peso declarado y el peso medido de acuerdo con un modelo de efectos aleatorios (107). También se ha representado gráficamente la proporción de discordancia entre los valores de peso e IMC declarados y los directamente medidos. Para ello se ha utilizado tanto el método de Altman y Bland (108) como otra técnica más recientemente propuesta y que supone una adaptación del método de Kaplan Meier (109, 110).

¹ Bes-Rastrollo M, Pérez-Valdivieso JR, Sánchez-Villegas A, Alonso A, Martínez-González MA. Validación del peso e Índice de Masa Corporal auto-declarados de los participantes de una cohorte de graduados universitarios. Disponible en: **Publicaciones-Artículo 1**.

3.2.2-ASOCIACIÓN DE LA INGESTIÓN DE FIBRA Y EL CONSUMO DE FRUTAS Y VERDURAS CON LA GANANCIA DE PESO

Se trata de un estudio transversal basado en un pregunta con cierto carácter prospectivo del cuestionario basal (“¿has cambiado de peso en los últimos 5 años?”) que fue recodificada en 2 grupos: haber ganado, o no, 3 kg o más en los últimos 5 años.

Se realizaron modelos de regresión logística en los que la variable dependiente fue la ganancia o no de 3 kg de peso en los últimos 5 años y como variable de exposición se tomaron los quintiles de ingestión de fibra o consumo de frutas y verduras. Se realizó un análisis de regresión múltiple “*stepwise*” para identificar las principales fuentes de fibra de los participantes del SUN (111). Finalmente, se realizaron análisis estratificados por distintas variables para identificar posibles modificaciones del efecto.

Una descripción más detallada de los métodos usados en la realización de este estudio se encuentran en nuestro artículo original enviado actualmente a publicar².

3.2.3-ASOCIACIÓN ENTRE EL CONSUMO DE ACEITE DE OLIVA Y LA GANANCIA DE PESO

Se realizó un análisis prospectivo con aquellos participantes (n=7.368) que habían contestado tanto el cuestionario basal (C_0) como el primer cuestionario de seguimiento (C_2). Se llevó a cabo en primer lugar, un análisis

² Bes-Rastrollo M, Martínez-González MA, Sánchez-Villegas A, de la Fuente C, Martínez JA. Association of fiber intake and fruit/vegetable consumption with weight gain in a Mediterranean population. Disponible en: **Publicaciones-Artículo 2**.

lineal tomando como variable dependiente el cambio en el peso corporal y variable de exposición los quintiles de consumo de aceite de oliva. En segundo lugar, un análisis logístico no condicional en el que la variable dependiente fue la incidencia de sobrepeso/obesidad ($IMC \geq 25 \text{ kg/m}^2$) durante los dos años de seguimiento. También se tomó como variable de exposición, tanto para el análisis lineal como para el de regresión logística no condicional, la combinación entre el consumo basal de aceite de oliva y el cambio dietético en el consumo de aceite de oliva a los dos años de seguimiento, información obtenida en el cuestionario de seguimiento (C_2).

Una explicación pormenorizada de los métodos utilizados en este trabajo se pueden encontrar en nuestro artículo original enviado actualmente a publicar³.

3.2.4-ASOCIACIÓN ENTRE EL CONSUMO DE BEBIDAS AZUCARADAS-CARBONATADAS Y “FAST-FOOD” CON LA GANANCIA DE PESO

Este trabajo consiste en un análisis prospectivo llevado a cabo con los primeros participantes (n=7.194) del estudio SUN que contestaron tanto el cuestionario basal (C_0) como el primer cuestionario de seguimiento (C_2) con una mediana de 28,5 meses de seguimiento. Se realizaron regresiones logísticas no condicionales para valorar la asociación entre los quintiles de consumo de bebidas azucaradas-carbonatadas o comida rápida (“fast-food”) (definido como la suma de 3 ítems del CSFC: salchichas, hamburguesas y

³ Bes-Rastrollo M, Sánchez-Villegas A, de la Fuente C, de Irala J, Martínez JA, Martínez-González MA. Olive oil consumption and weight change: the SUN prospective cohort study. Disponible en: **Publicaciones-Artículo 3.**

pizzas) con el hecho de haber aumentado de peso entre el primer cuestionario de seguimiento y el cuestionario basal. Para valorar la magnitud del efecto se realizaron regresiones lineales múltiples tomando como variables de exposición las mismas que las citadas en la regresión logística no condicional y como variable dependiente el cambio en el peso corporal tomada como variable cuantitativa continua.

En el caso de la valoración en el consumo de bebidas azucaradas-carbonatadas se realizaron los análisis de forma estratificada por aquellos participantes que habían ganado, o no, 3 kg o más de peso en los últimos 5 años previos a C_0, tras valorar la interacción (modificación del efecto) entre esta variable y el consumo basal de bebidas azucaradas-carbonatadas usando términos de producto en los modelos multivariantes (112).

Una descripción más detallada de los métodos usados en la derivación del consumo de alimentos y los análisis estadísticos utilizados se encuentran en nuestro artículo original enviado actualmente a publicar⁴.

3.2.5-ASOCIACIÓN ENTRE EL SEGUIMIENTO DE UN PATRÓN DE DIETA MEDITERRÁNEO Y LA GANANCIA DE PESO

Se trata de un análisis longitudinal de 6.319 participantes de la cohorte SUN que habían completado tanto el cuestionario basal (C_0) como el primer cuestionario de seguimiento (C_2). La variable de exposición se definió

⁴ Bes-Rastrollo M, Sánchez-Villegas A, Gómez-Gracia E, Martínez JA, Pajares RM, Martínez-González MA. Sugar-sweetened soft drinks, fast food consumption, and weight gain in a Mediterranean cohort. Disponible en: **Publicaciones-Artículo 4**.

como el seguimiento de un Patrón Dietético Mediterráneo (PDM) definido “a priori” y la variable dependiente fue el cambio de peso durante el seguimiento. Para calcular el índice PDM se otorgó a cada participante una puntuación en función del consumo de cereales, vegetales, frutas, legumbres, pescado, frutos secos, aceite de oliva y consumo moderado de vino a los que se les valoró de forma positiva, en cambio, el consumo de carne/productos cárnicos y productos lácteos enteros se les valoró de forma negativa. El cuestionario de seguimiento (C_2) incluye algunos ítems que hacen referencia a los cambios en los principales hábitos dietéticos (consumo de frutas, verduras, carne/productos cárnicos, pescado, aceite de oliva, alcohol). Se construyó una nueva puntuación para valorar si el índice de seguimiento del PDM había cambiado. Se puntuó de forma positiva el incremento en el consumo de fruta, verdura, aceite de oliva, pescado y alcohol; y de forma negativa el incremento en el consumo de carne/productos cárnicos.

Se usaron modelos de regresión lineal para valorar la asociación entre cada componente nutricional contribuyente al índice PDM, así como con sus cuartiles y el cambio de peso durante el período de seguimiento. También se analizó el efecto conjunto entre el índice PDM y los cambios producidos en la dieta durante los dos años de seguimiento combinando las dos puntuaciones anteriormente citadas. Finalmente, también se valoró la asociación entre los cuartiles del índice PDM y la incidencia de sobrepeso/obesidad ($IMC \geq 25$ kg/m²) durante el seguimiento.

Los métodos utilizados en el análisis de los datos se muestran de forma completa y con mejor detalle en el artículo situado en el apartado de

Publicaciones de este trabajo, que se encuentra enviado actualmente para su publicación⁵.

Las afirmaciones sobre significación estadística se refieren al punto de corte convencional -y arbitrario (**113**)- de 0,05 para la totalidad de los estudios realizados. Todos los análisis se realizaron con el programa SPSS para Windows v.11 y 12 (SPSS Inc, Chicago, IL, EE.UU.).

⁵ Sánchez-Villegas A, Bes-Rastrollo M, Martínez-González MA, Serra-Majem L. Adherence to Mediterranean dietary pattern and weight gain in a follow-up study: the SUN cohort. Disponible en: **Publicaciones-Artículo 5**.