

La mantención de peso en humanos ¿podría ser equivalente a la restricción calórica de los modelos animales?

M Pía de la Maza C¹, Vivien Gattás Z¹, Aquiles Zavala R^{2,3},
Vicente Cataldo D², Julio Guerra S², Gladys Barrera A¹,
Laura Leiva B¹, Sandra Hirsch B¹, Daniel Bunout B¹.

*Weight maintenance in humans.
Could it mimic calorie restriction of
animal models?*

Background: Energy restriction (ER) extends life span in animals, by decreasing oxidative stress. **Aim:** To compare adiposity, metabolic variables and DNA oxidative damage, among adults, reporting a constant body weight (weight maintainers), versus those reporting a progressive increase (weight gainers). **Subjects and Methods:** Clinical history, dietary recall, anthropometric measures, abdominal CT scan and fasting blood samples (to measure lipoproteins, glucose and insulin), were obtained in 44 males. These subjects were classified as weight maintainers if they had a change in weight of 3 kg or less in the last 10 years, or weight gainers, if they had a weight increment of more than 6 kg in the same lapse. Oxidative damage was assessed by 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG), in DNA extracted from circulating lymphocytes, in 5 weight maintainers, 8 weight gainers and 5 healthy elders. **Results:** Energy intake was 18% higher in weight gainers ($p < 0.01$). Adiposity and central fat were higher among weight gainers ($p < 0.01$). Abdominal fat correlated with serum lipoproteins, glucose and insulin sensitivity, assessed by the Homeostasis Model Assessment (HOMA). 8-OHdG levels did not differ between groups. **Conclusions:** The analysis of weight change based on the clinical history correlates with actual body composition, thus it may be a reliable indicator of long term energy intake. This method could be comparable to weight clamp models employed in animals to study aging (Rev Méd Chile 2004; 132: 1166-72).
(Key Words: Body weight; Energy intake; Oxidative stress)

Recibido el 16 de diciembre, 2003. Aceptado en versión corregida el 17 de agosto, 2004.
Trabajo financiado parcialmente por INTA, Universidad de Chile.

¹Instituto de Nutrición & Tecnología de los Alimentos (INTA), Universidad de Chile. ²Departamento de Tecnología Médica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ³Clinica Dávila, Santiago, Chile.

Correspondencia a: M Pía de la Maza. INTA, Universidad de Chile. Macul 5540, Casilla: 138-11. Teléfono: 6781495. Fax: 2214030. E mail: mpmaza@inta.cl

Se ha demostrado que una restricción energética (RE) de 30 a 50%, con aporte suficiente de proteínas y micronutrientes, prolonga la vida de roedores y otras especies, incluyendo levaduras¹, lombrices² y probablemente también primates adultos³. En estos experimentos se fija la ingesta energética del grupo experimental o se ajusta periódicamente para mantener un peso corporal constante. Los animales con RE tienen significativamente menos grasa corporal y menor prevalencia de diabetes mellitus, cáncer, alteraciones renales y aterosclerosis^{4,5}. La restricción energética posiblemente involucra menor exposición a insulina, manteniendo un favorable balance insulina/hormona de crecimiento⁶. En contraposición, animales de laboratorio alimentados *ad libitum* tienden a aumentar el peso en forma progresiva, por acumulación de grasa corporal. Esto también se ha observado en monos *rhesus*, demostrando que la RE previene la obesidad y la morbilidad asociada^{7,8}. Aún no se conoce si ello puede también aumentar la longevidad en primates.

Una de las consecuencias del proceso de envejecimiento es la acumulación de productos derivados de las reacciones oxidativas sobre el ADN, los lípidos y las proteínas⁹. Un hecho interesante es que, en animales, este daño oxidativo puede ser prevenido por RE, de modo que se ha postulado que los beneficios de la RE pueden derivar de una disminución del daño oxidativo, o de una mayor eficiencia de los mecanismos de protección¹⁰. En humanos, el estudio de balance oxidativo es extremadamente difícil, entre otras razones, debido a la dificultad en obtener células provenientes de tejidos postmitóticos, donde se pueda observar directamente la acumulación de productos finales de oxidación¹¹.

Además de la modulación ambiental, el envejecimiento es un proceso genéticamente determinado. Varias mutaciones prolongan la longevidad, a través de diferentes mecanismos¹²⁻¹⁴. Estas mutaciones parecen crear un estado metabólico equivalente a la RE, que explicaría la prolongación de la vida.

Aun cuando es tentador extrapolar estas evidencias a los humanos, crear las condiciones experimentales que repliquen los modelos animales de RE, durante más de 40 años resulta virtualmente imposible. Hasta el momento se conocen sólo dos intervenciones de RE en humanos, ambas de corta duración^{15,16}.

En los seres humanos, la ingestión energética es extremadamente variable, y habitualmente las encuestas recordatorias la subestiman¹⁷. Muchos individuos, cuando disponen de alimentos palatables tienden al sobreconsumo, aumentando progresivamente de peso¹⁸. Más aún, muchos sujetos que refieren restringir su ingesta calórica, pueden sufrir trastornos de conducta alimentaria, enfermedades psiquiátricas caracterizadas por períodos de restricción, intercalados con ingesta compulsiva de alimentos^{19,20}. Todo lo anterior implica que, para estudiar marcadores de envejecimiento, sería poco apropiado diseñar un estudio en que se fije arbitrariamente una ingesta energética baja a un grupo de individuos, para compararla con la de sujetos con mayor consumo de calorías.

A pesar de las consideraciones mencionadas, algunos adultos son capaces de mantener un peso constante durante toda su vida, indicando que se han mantenido en balance energético (BE=0). Sin embargo, muchos individuos tienden a aumentar su peso corporal progresivamente, lo cual necesariamente indica un balance energético positivo. Comparando ambos grupos de sujetos se podría obtener un tipo de modelo retrospectivo de restricción energética, y evaluar los marcadores y factores asociados al envejecimiento y enfermedades crónicas en ambos grupos. La intención de este trabajo fue dar un primer paso en este sentido, identificando variables clínicas y metabólicas entre sujetos cuya única diferencia era el hecho de haber mantenido o aumentado de peso en los últimos años.

El objetivo de este estudio fue comparar la ingesta actual de nutrientes, la composición corporal, la distribución adiposa, los factores de riesgo cardiovascular clásicos y el daño oxidativo en ADN linfocitario, entre sujetos que habían mantenido un peso estable durante los últimos diez años (MP), versus aquellos que habían aumentado progresivamente de peso (AP). Se estudiaron sólo sujetos de sexo masculino debido a la dificultad en interpretar las variaciones de peso propias del embarazo y lactancia en las mujeres.

SUJETOS Y MÉTODOS

Luego de firmar un consentimiento informado de acuerdo a la Declaración de Helsinki, ingresaron al estudio 44 hombres sanos no obesos, entre 35 y

55 años de edad. De acuerdo a su historia de cambio de peso corporal, se dividieron en dos grupos: 1) mantenedores de peso (MP), que incluyó a 20 sujetos que reportaron un peso estable (con variaciones máximas de ± 3 kg) durante los últimos 10 años; y 2) aumentadores de peso (AP), consistente en 24 hombres que reportaron un incremento de más de 6 kg de peso corporal durante este mismo tiempo, sin alcanzar un índice de masa corporal (IMC) superior a 30 kg/m². Los criterios de exclusión eran tabaquismo, ingesta de alcohol excesiva (>80 g/d), diabetes mellitus conocida, liposucción, cambios de peso, o prescripción de dietas especiales en forma reciente, y tratamiento con drogas hipotensoras o hipolipemiantes. La estimación del tamaño muestral fue realizada en base a estudios de RE en modelos animales, en que se detectan diferencias significativas en composición corporal con un n de 25 animales (13 controles y 12 restringidos)¹⁰. Ante la falta de datos comparables en humanos, se decidió tomar un mínimo de 20 sujetos por grupo, tomando como variable primaria el porcentaje de grasa corporal.

Cada sujeto fue sometido a una historia médica completa, examen físico incluyendo mediciones antropométricas estándar (peso, talla, pliegues cutáneos en 4 sitios para el cálculo de la masa grasa (MG), además de circunferencias de cintura y cadera), encuesta dietaria (de 24 h y de tendencia de consumo) y registro de actividad física (usando tablas de FAO-OMS, 1985)²¹. El gasto energético de reposo (GER) fue estimado usando las ecuaciones FAO/OMS²², y el gasto energético de 24 h (GE 24 h) se obtuvo multiplicando el costo energético de todas las actividades, de acuerdo a FAO/OMS/UNU 1985²³. Se realizó una tomografía computarizada (TC) abdominal efectuando un corte único de 5 mm a nivel L4-L5 (en un equipo Elcint CT Twin 1998) para cuantificar área de tejido adiposo abdominal subcutáneo y visceral, de acuerdo a métodos publicados²⁴. Adicionalmente se tomó una muestra de 10 ml de sangre en ayunas para la determinación de los niveles de glucosa, insulina, colesterol total, colesterol HDL y triglicéridos, usando métodos estándar con kits comerciales Abbott. La insulina se midió por RIA usando un kit comercial DPC (Los Angeles, CA, USA). La sensibilidad a la insulina se

evaluó por HOMA (*Homeostasis Model Assessment*), considerando insulino resistencia valores $>2,5^{25}$.

En un subgrupo de 13 sujetos (5 MP y 8 AP), se obtuvo una segunda muestra de sangre, de la que se aislaron linfocitos y se extrajo ADN nuclear usando un kit comercial (*Wizard Genomic DNA purification kit, Promega Corp*, Madison WI, USA, cat # A1620). Luego de la hidrólisis del ADN, se cuantificaron los nucleósidos por espectroscopia a 260 nm. Los niveles de 8-OHdG como marcador de daño oxidativo del ADN se midieron por ELISA con un kit comercial (*Genox Corp*, Baltimore, MD, USA, cat # KOG-10HS). Los resultados se expresaron como 8-OHdG/nucleósidos. Dado que el daño oxidativo ha sido asociado con el proceso de envejecimiento, los valores obtenidos en estos sujetos se compararon con los de 5 ancianos sanos >70 años, como probable grupo control positivo.

Los datos se presentan como promedio \pm DE. Para el análisis estadístico se usó el programa Statistica de Windows^R version 4.5 (*StatSoft Inc*, 1993, Tulsa, OK). Para la comparación de las variables entre grupos se usó t de Student y para establecer asociaciones entre variables el coeficiente de correlación de Pearson.

RESULTADOS

La edad promedio de los MP fue $43,3 \pm 5,5$, y de los AP $42 \pm 5,3$ años ($p=NS$). El peso, IMC, cambio de peso, porcentaje de grasa corporal, circunferencia de cadera y razón cintura/cadera fueron significativamente mayores en los AP comparados con los MP. El área total de tejido adiposo abdominal se correlacionó positivamente con el incremento de peso ($r=0,55$, $p < 0,001$), y fue significativamente mayor en los AP, especialmente a expensas del compartimento subcutáneo. Los datos antropométricos y de TC se presentan en la Tabla 1. No hubo diferencias significativas en la presión sanguínea sistólica y diastólica entre los grupos. Un sujeto del grupo AP presentó niveles de glicemia sobre 200 y triglicéridos sobre 1.000 mg/dL, explicando la elevada desviación estándar de estas variables.

La ingesta dietaria actual de macronutrientes era mayor en los sujetos que reportaron incremen-

to de peso comparado con los que mantuvieron el peso. El consumo de vitaminas fue similar en ambos grupos. El gasto energético de 24 h, calculado por encuesta, no mostró diferencias significativas entre los dos grupos, ambos mayoritariamente sedentarios. La Tabla 2 muestra la ingesta de macronutrientes y gasto energético calculados por encuestas.

Los niveles en ayuno de glucosa, insulina y lípidos fueron similares en ambos grupos, sin embargo los valores mostraron una gran dispersión. La sensibilidad a insulina no difirió entre los grupos; 2 de 20 MP tuvieron HOMA >2,5, versus 7 de 24 AP (p= 0,11). El HOMA se correlacionó con grasa abdominal, específicamente con la subcutánea (r= 0,48, p= 0,01), con colesterol sérico (r= 0,36, p= 0,02), triglicéridos séricos (r= 0,47, p= 0,001), y con la ingesta de proteínas, hidratos de carbono y grasa (p <0,05). Los datos de laboratorio clínico se presentan en la Tabla 3.

Tabla 1. Antropometría y tomografía computarizada (TC) en los grupos estudiados

	Mantenedores de peso (n=20)	Aumentadores de peso (n=24)
Antropometría		
Peso (kg)	71,7±8,9	81,7±8,3*
IMC (kg/m ²)	25,6±2,7	27,9±2,12*
Grasa (%)	24,7±5,4	27,9±5,5
Cintura (cm)	88±7,3	95,4±6,8*
δ Peso (kg)	0,49±2,2	8,9±2,4*
TC		
Área total (cm ²)	594,4±112,4	700,7±104,7*
TASC (cm ²)	170,5±51,1	223,3±54,0*
TAPV (cm ²)	130,1±60,3	164,8±60,0

*Diferencia con mantenedores, p <0,05.

% grasa corporal según Durnin & Womerseley usando pliegues bicipital, tricípital, subscapular y suprailíaco¹. Cintura medida como la menor circunferencia bajo el tórax. δ Peso = Cambio de peso. TASC = tejido adiposo subcutáneo. TAPV= tejido adiposo perivisceral.

¹Br J Nutr 1974; 32: 77-97.

Los niveles de 8-OHdG linfocitario fueron similares en ambos grupos, tanto expresado como valor total, como el corregido por masa libre de grasa (MLG). Los valores obtenidos en ancianos fueron similares a los de individuos adultos jóvenes.

DISCUSIÓN

El presente estudio sugiere que los hombres de mediana edad que mantienen el peso corporal a través de su vida adulta, podrían asemejarse a otros mamíferos con restricción energética, en cuanto a que de hecho ingieren menos calorías y acumulan

Tabla 2. Ingesta de macronutrientes y gasto energético calculados a través de encuestas

Ingesta dietaria	Mantenedores de peso (n=20)	Aumentadores de peso (n=24)
Energía (kcal/d)	2.657±507	3.243±569*
Proteínas (g/d)	70,2±17,2	88,5±29,5*
Lípidos (g/d)	71,2±17,9	100,6±33,0*
Carbohidratos (g/d)	411,7±86,3	460,6±115,8
Gasto energético (kcal/d)	2.735±361	2.746±520

Ingesta dietaria calculada por encuesta recordatoria de 24 h y tendencia de consumo. Gasto energético de 24 h calculado según FAO-OMS, 1985. *Diferencia con mantenedores, p <0,05.

Tabla 3. Resultados de los análisis de laboratorio clínico

Variables	Mantenedores de peso (n=20)	Aumentadores de peso (n=24)
Glucosa (mg/dL)	94,1±10,9	103,3±38,5
Insulina (µU/ml)	7,3±5,3	8,2±5,1
HOMA	1,7±1,2	2,2±1,7
Triglicéridos (mg/dL)	132,3±36,9	191,8±304,6
Col total (mg/dL)	172,3±29,7	181,9±38,5
COL HDL (mg/dL)	38,4±6,7	36,2±10,7
COL LDL (mg/dL)	160,3±33,6	184,1±95,7

menos tejido grasa. Un peso corporal estable refleja necesariamente un balance energético= 0²⁶. A modo de contraste, en esta muestra, los adultos que reportan aumento de peso progresivo, sin llegar a obesidad, consumen 18% más de energía comparados con los mantenedores de peso. Esta energía extra es almacenada principalmente como masa grasa, distribuida principalmente en los compartimentos subcutáneos. Sin embargo, estas diferencias en balance energético son menores que las de los estudios de restricción en animales, o de la experiencia biósfera 2¹⁵. Estos resultados, aunque predecibles, permiten comprobar que las encuestas dietarias, si bien tienden a subestimar la ingesta energética real, en estos sujetos fueron suficientes para identificar a aquellos individuos que tienden a depositar mayor tejido adiposo. En cambio, es muy probable que los individuos que mantienen un peso normal y estable a lo largo de los años, «restringan» relativamente su ingesta calórica en forma permanente.

Aun cuando los niveles de triglicéridos, insulina y glucosa en ayunas resultaron más bajos en los MP, estas diferencias no alcanzaron a ser estadísticamente significativas, debido al tamaño de la muestra y la exclusión de individuos obesos. No obstante la sensibilidad de insulina se correlacionó con grasa abdominal y lípidos séricos, al igual que los sujetos de la biósfera 2.

En estudios epidemiológicos prospectivos, que han incluido obesos y ancianos, se ha demostrado que los sujetos que han aumentado de peso progresivamente tienen un peor perfil de riesgo cardiovascular comparado con los mantenedores o perdedores de peso²⁷. Esto sugiere que la mantención de un peso estable evita cambios metabólicos nocivos que aumentan el riesgo cardiovascular.

Estos resultados, junto con la experiencia clínica, muestran que el antecedente de cambio de peso, aunque sea retrospectivo, serviría para estudiar los procesos de envejecimiento en humanos, siendo una herramienta más factible de emplear, que intentar fijar arbitrariamente la ingesta energética, como se hace en animales. En modelos animales, a diferencia de los humanos, los investigadores pueden controlar exactamente la cantidad y la composición de las dietas durante largos periodos de tiempo. De hecho, los estudios

con RE generalmente disminuyen la ingesta energética entre 30 y 50%, mientras que simultáneamente se suplementan cantidades suficientes de proteínas y micronutrientes. En seres humanos, la regulación del apetito es extremadamente compleja, lo que hace muy difícil seguir las indicaciones dietarias, especialmente cuando son hipocalóricas²⁸.

Al igual que los estudios de restricción calórica de corta duración, nosotros no encontramos diferencias en los niveles de 8-OHdG linfocitario. La explicación más posible para esto son las conocidas limitaciones de los métodos disponibles para estudios de daño oxidativo en humanos, que se basan en la cuantificación de bases oxidadas en tejidos de vida corta como los linfocitos circulantes, o en su excreción urinaria, medición altamente variable. Los niveles de 8-OHdG aumentan producto de diversas enfermedades, tabaquismo y por exposición a toxinas²⁹. En estudios de RE moderada por periodos cortos, se ha demostrado que la disminución secundaria del gasto energético se correlaciona con el cambio en la excreción urinaria de 8-OHdG¹⁶, sugiriendo que el consumo de oxígeno y por ende la composición corporal, están también correlacionadas con estos marcadores de daño oxidativo. Requeriríamos mediciones seriadas de los niveles de 8-OHdG en nuestros sujetos para confirmar estos resultados.

En conclusión, el análisis del cambio de peso basado en la historia clínica se correlaciona con la composición corporal actual, la ingesta energética y los clásicos factores de riesgo metabólico, por lo que es un indicador confiable del balance energético a largo plazo. Por lo tanto, este estudio exploratorio, limitado por un pequeño tamaño muestral, podría servir como base para aplicar esta metodología en estudios humanos de restricción calórica, debido a los diversos obstáculos que plantea un estudio prospectivo de 50 ó 60 años de plazo. De hecho se ha propuesto que este método podría ser equivalente a los modelos de RE empleados en animales para estudiar el proceso de envejecimiento³⁰. Se requiere más investigación en esta área para aclarar si estas modestas diferencias en ingesta energética y composición corporal, influyen sobre el proceso de envejecimiento, tal como ocurre en animales. Esta metodología podría constituir una primera etapa en esa dirección.

REFERENCIAS

1. LIN SJ, DEFOSSEZ PA, GUARENTE L. Requirement of NAD and SIR2 for life span extension by calorie restriction in *Saccharomyces cerevisiae*. *Science* 2000; 289: 2126-8.
2. LAKOWSKI B, HEKIMI S. The genetics of calorie restriction in *Caenorhabditis elegans*. *Proc Natl Acad Sci* 1998; 95: 13091-6.
3. WANAGAT J, ALLISON DB, WEINDRUCH R. Caloric intake and aging: mechanisms in rodents and a study in nonhuman primates. *Toxicol Sci* 1999; 52 (supplement): 35-40.
4. HART RW, DIXIT R, SENG J, TURTURRO A, LEAKEY JEA, FEUERS R ET AL. Adaptative role of caloric intake on the degenerative disease processes. *Toxicol Sci* 1999; 52 (supplement): 3-12.
5. ORTMEYER HK. *In vivo* insulin regulation of skeletal muscle glycogen synthase in calorie-restricted and in *Ad libitum*-fed rhesus monkeys. *J Nutr* 2001; 131: S907-S912.
6. PARR T. Insulin exposure and unifying aging. *Gerontology* 1999; 45: 121-35.
7. HANSEN BC, BODKIN NL, ORTMEYER HK. Calorie restriction in nonhuman primates: mechanisms of reduced morbidity and mortality. *Toxicol Sci* 1999; 52 (supplement): 56-60.
8. LANE MA, INGRAM DK, ROTH GS. Calorie restriction in nonhuman primates: effects on diabetes and cardiovascular disease risk. *Toxicol Sci* 1999; 52 (supplement): 41-8.
9. JOHNSON FB, SINCLAIR DA, GUARENTE L. Molecular biology of aging. *Cell* 1999; 96: 291-302.
10. ZAINAL TA, OBERLEY TD, ALLISON DB, SZWEDA LI, WEINDRUCH R. Caloric restriction of rhesus monkeys lowers oxidative damage in skeletal muscle. *FASEB J* 2000; 14: 1825-36.
11. SOHAL RS, BRUNK UT. Lipofuscin as an indicator of oxidative stress and aging. *Adv Exp Med Biol* 1989; 266: 17-29.
12. FABRIZIO P, POZZA F, PLETCHER SD, GENDRON CM, LONGO VD. Regulation of longevity and stress resistance by Sch9 in yeast. *Science* 2001; 292: 288-90.
13. STRAUSS E. Growing old together. *Science* 2001; 292: 41-3.
14. TATAR M, KOPELMAN A, EPSTEIN D, TU MP, YIN CM, GAROFALO RS. A mutant *Drosophila* insulin receptor homolog that extends life span and impairs neuroendocrine function. *Science* 2001; 292: 107-10.
15. WALFORD RL, HARRIS SB, GUNION MW. The calorically restricted low-fat nutrient-dense diet in Biosphere 2 significantly lowers blood glucose, total leukocyte count, cholesterol, and blood pressure in humans. *Proc Natl Acad Sci* 1992; 89: 11533-7.
16. VELTHUIS-TE WIERIK EJ, VAN LEEUWEN RE, HENDRIKS HF, VERHAGEN H, LOFT S, POULSEN HE ET AL. Short term moderate energy restriction does not affect indicators of oxidative stress and genotoxicity in humans. *J Nutr* 1995; 125: 2631-9.
17. HILL RJ, DAVIES PS. The validity of self reported energy intake as determined using the doubly labelled water technique. *Br J Nutr* 2001; 85: 415-30.
18. LARSON DE, RISING R, FERRARO RT, RAVUSSIN E. Spontaneous overfeeding with a «cafeteria diet» in men: effects on 24 hour energy expenditure and substrate oxidation. *Int J Obes* 1995; 19: 331-7.
19. BOSCHI V, IORIO D, MARGIOTTA N, D'ORSI P, FALCONI C. The three factor eating questionnaire in the evaluation of eating behaviour in subjects seeking participation in a dietotherapy programme. *Ann Nutr Metab* 2001; 45: 72-7.
20. HARRIS MB. Eating habits, restraint, knowledge and attitudes toward obesity. *Int J Obes* 1983; 7: 271-86.
21. FAO. Application of brief scale dietary surveys. Field Manual. *Nutrition and Agriculture* N° 5, 1992.
22. Energy and protein requirements: Report of an expert panel FAO/WHO/UNU. *Series of Technical reports*, 724, Geneve: WHO 1985.
23. Report of a joined FAO/WHO/UNU expert consultation. In WHO (World Health Organization) (ed): Energy and protein requirements. *Technical report series* 724. World Health Organization, Geneva, pp 206, 1985.
24. ZAMBONI M, TURCATO E, ARMELLINI F, KAHN HS, ZIVELONGHI A, SANTANA H ET AL. Sagittal abdominal diameter as a practical predictor of visceral fat. *Int J Obes* 1998; 22: 655-60.
25. MATTHEWS DR, HOSKER JP, RUDENSKI AS, NAYLOR BA, TREACHER DF, TURNER RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and B-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetología* 1985; 28: 412-9.

26. FRAYN KN. Physiological regulation of macronutrient balance. *Int J Obes* 1995; 19: S4-S10.
27. JEOR ST, BRUNNER RL, HARRINGTON ME, SCOTT BJ, DAUGHERTY SA, CUTTER GR ET AL. A classification system to evaluate weight maintainers, gainers and losers. *J Am Diet Assoc* 1997; 97: 481-8.
28. JEFFERY RW, FRENCH SA. Preventing weight gain in adults: the pound of prevention study. *Am J Public Health* 1999; 89: 747-51.
29. LOFT S, POULSEN HE, VISTISEN K, KNUDSEN LE. Increased urinary excretion of 8-oxo-2'-deoxyguanosine, a biomarker of oxidative DNA damage, in urban bus drivers. *Mutat Res* 1999; 26; 441: 11-9.
30. LEE IM, BLAIR SN, ALLISON DB, FOLSOM AR, HARRIS TB, MANSON JAE ET AL. Epidemiologic data on the relationships of caloric intake, energy balance, and weight gain over the life span with longevity and morbidity. *J Gerontol* 2001; 56A: 7-19.

Agradecimientos

A Clínica Dávila Servicios Médicos S.A. A las Sras. Lorena Santa María y Bianca Curotto que contribuyeron al aislamiento e hidrólisis del ADN.