



UCAM

UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO
Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud

Evaluación del efecto de un nutraceutico de fruta y
verdura en la función cognitiva de sujetos sanos
mediante un ensayo clínico aleatorizado con placebo

Autor:

Juan Ángel Carrillo Piñero

Directores:

Dra. D^a. Pilar Zafrilla Rentero

Dr. D. Javier Marhuenda Hernández

Murcia, junio de 2020



UCAM

UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO
Programa de Doctorado en Ciencias de la salud

Evaluación del efecto de un nutraceútico de fruta y
verdura en la función cognitiva de sujetos sanos
mediante un ensayo clínicu aleatorizado con placebo

Autor:

Juan Ángel Carrillo Piñero

Directores:

Dra. D^a. Pilar Zafrilla Rentero

Dr. D. Javier Marhuenda Hernández

Murcia, junio de 2020



UCAM

UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE MURCIA

AUTORIZACIÓN DE LO/S DIRECTOR/ES DE LA TESIS PARA SU PRESENTACIÓN

La Dra. D^a. Pilar Zafrilla Rentero y el Dr. D. Javier Marhuenda Hernández como directores de la Tesis Doctoral titulada “Evaluación del efecto de un nutraceutico de fruta y verdura en la función cognitiva de sujetos sanos mediante un ensayo clínico aleatorizado con placebo” realizada por D. Juan Ángel Carrillo Piñero en el Departamento de nutrición, estrés oxidativo y biodisponibilidad, **autoriza su presentación a trámite** dado que reúne las condiciones necesarias para su defensa.

Lo que firmo, para dar cumplimiento al Real Decreto 99/2011, 1393/2007, 56/2005 y 778/98, en Murcia a 08 de junio de 2020

Dra. Pilar Zafrilla

Dr. Javier Marhuenda

RESUMEN

TÍTULO: Evaluación del efecto de un nutraceutico de fruta y verdura en la función cognitiva de sujetos sanos mediante un ensayo clínico aleatorizado con placebo.

Introducción: Para mantener un adecuado estado de salud y evitar diversas patologías entre las que se encuentra el síndrome metabólico, es necesario mantener unos hábitos de vida y nutricionales adecuados, entre los que se encuentran la ingesta de una adecuada cantidad de fruta y verdura y los compuestos fenólicos que éstas contienen en una amplia variedad y un patrón dietético acorde como es la dieta mediterránea.

Además de estas enfermedades citadas anteriormente, existen otras que afectan a la cognición, asociadas a personas de edad avanzada y que suponen un incremento notable en los últimos años debido a varios factores.

Los polifenoles basan su mecanismo de acción en reducir la actividad oxidante e inflamatoria, ejerciendo efecto neutralizante de especies reactivas de oxígeno, disminuyendo el estrés oxidativo. Esta acción depende de la cantidad y el periodo de consumo y es especialmente importante en cerebro, teniendo una función neuroprotectora, y sobre todo en personas con patologías inflamatorias crónicas.

Existen diversos test consensuados por la comunidad científica para evidenciar determinadas declaraciones saludables de alimentos sobre funciones cognitivas, como la atención o la memoria y que se emplean en estudios de intervención para evaluar efectos de polifenoles en niños y adultos entre los que se encuentran el Test de Stroop, RVIP, RAVLT, TMT, TESEN, RIAS y RIST.

Diversos estudios han demostrado que el consumo de flavonoides disminuye las tasas de demencia en edad avanzada y que por tanto la dieta tiene un impacto importante en enfermedades neurodegenerativas, constituyendo la fruta y verdura en una nueva generación de tratamientos a través de la alimentación.

Aunque no existe tanta evidencia científica en población sana no anciana, se ha puesto de manifiesto por diversos autores, como hábitos de vida no saludables tienen un impacto negativo en la cognición o como el consumo de fruta y verdura reduce los índices de depresión o mejora el estado de ánimo.

Los flavonoides actúan incrementando el flujo sanguíneo cerebral, mejorando la plasticidad sináptica y por tanto la capacidad cognitiva.

Los complementos alimenticios con alta biodisponibilidad pueden suponer un medio de que la población consuma la cantidad de estos compuestos bioactivos tan necesarios para la salud.

Para evaluar el daño oxidativo y el impacto de los compuestos polifenólicos en la salud, se emplean diversos marcadores biológicos como son el análisis de los niveles de vitaminas, homocisteína, diversos marcadores de estrés oxidativo, inmunoglobulinas como marcadores del estado inmunitario, hormonas tiroideas y catecolaminas.

Objetivos: El objetivo principal de esta tesis es evaluar la eficacia de un extracto a base de frutas y verduras frente a un placebo en la función cognitiva y su relación con determinados marcadores biológicos y la capacidad cognitiva en voluntarios sanos, concretamente sobre la memoria, la función ejecutiva, la atención sostenida, y su relación con determinados marcadores plasmáticos de estrés oxidativo, neurotransmisores, vitaminas, homocisteína, hormonas tiroideas e IgA.

Resultados: Se realizó una selección de voluntarios (n=117), comprobando mediante entrevista que cumplieran los criterios de inclusión (n=108). Los sujetos que finalizaron el estudio (n=92), fueron asignados a un grupo de manera aleatoria y consumieron alternativamente en el primer periodo o en el segundo una mezcla homogeneizada de zumo y pulpas deshidratadas de bayas, frutas y verduras en proporciones variables o un placebo, en la misma presentación que el producto, durante 16 semanas continuadas tras otro periodo de 16 semanas con un intervalo de 4 semanas de lavado entre ellas.

Al inicio y final de cada fase, los sujetos fueron sometidos a extracciones sanguíneas para la determinación de los marcadores plasmáticos a estudio y la realización de los test cognitivos Stroop, TESEN y RIST.

Al comparar los resultados de las puntuaciones de todas las variables de los test cognitivos entre valores iniciales y finales se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el producto y no así para placebo. Estas diferencias también lo fueron entre grupos producto y placebo.

En cuanto a los marcadores plasmáticos, hay diferencias estadísticamente significativas en marcadores de estrés oxidativo, homocisteína y en catecolaminas relacionadas con la función cognitiva, pero por el contrario no existen tales diferencias en cuanto a niveles de vitaminas, IgA o en hormonas tiroideas.

Cuando la comparativa se realizó entre sexos, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en ningún caso.

El consumo del producto a estudio mejora la función ejecutiva y la memoria a corto plazo ya sea verbal o no verbal. No se experimentan cambios en los niveles de IgA plasmática que se traduzca en una mejora de la inmunidad y una mayor concentración de vitaminas en el producto a estudio no se traduce en una mayor concentración plasmática.

El consumo del producto a estudio reduce la homocisteinemia, reduciendo así el riesgo de padecer enfermedades isquémicas y otros accidentes cardiovasculares, así como marcadores de estrés oxidativo. No se observa una relación directa entre el consumo de producto y los niveles de hormonas tiroideas en el organismo. Los niveles de catecolaminas, especialmente dopamina cuando se consume producto, muestran un efecto de clara mejora de las funciones cognitivas, especialmente la atención y otras funciones ejecutivas correlacionadas con los resultados de los test anteriormente descritos.

Conclusiones: El producto a estudio puede suponer un sistema alternativo en la prevención mediante el consumo de fruta y verdura en población joven del deterioro cognitivo normal provocado por la edad y signos de envejecimiento celular en asociación con un adecuado estilo de vida además de una mejora de las funciones cognitivas (memoria inmediata y de trabajo, atención sostenida y selectiva).

Palabras clave: polifenoles, memoria, atención, cognición, estrés oxidativo, catecolaminas, Stroop, TESEN, RIST.

ABSTRACT

TITLE: Evaluation of the effect of a fruit and vegetable nutraceutical on the cognitive function of healthy subjects through a randomized placebo clinical trial.

Introduction: To maintain an adequate state of health and avoid various pathologies such as the metabolic syndrome, it is necessary to implement the right lifestyle and nutritional habits, like the intake of a proper amount of fruit and vegetables and the wide variety of Phenolic compounds that they contain, and a dietary pattern consistent with the Mediterranean diet.

In addition to these diseases mentioned above, there are others that affect cognition, associated with elderly people and that represent a notable increase in recent years due to various factors.

Polyphenols base their mechanism of action on reducing oxidative and inflammatory activity, exerting a neutralizing effect on reactive oxygen species, reducing oxidative stress. This action depends on the amount and the period of consumption and is especially important in the brain, having a neuroprotective function, and especially in people with chronic inflammatory diseases.

There are various tests agreed upon by the scientific community to demonstrate certain healthy food claims on cognitive functions, such as attention or memory, and which are used in intervention studies to evaluate the effects of polyphenols in children and adults, including the Test of Stroop, RVIP, RAVLT, TMT, TESEN, RIAS and RIST.

Various studies have shown that flavonoid consumption decreases dementia rates in old age and that therefore diet has an important impact on neurodegenerative diseases, with fruit and vegetables constituting a new generation of treatments through diet.

Although there is not as much scientific evidence in healthy non-elderly populations, it has been shown by various authors, how unhealthy lifestyle habits have a negative impact on cognition or how the consumption of fruit and vegetables reduces depression rates or improves mood.

Flavonoids work by increasing cerebral blood flow, improving synaptic plasticity and therefore cognitive ability.

Food supplements with high bioavailability can provide a means for the population to consume the amount of these bioactive compounds that are so necessary for health.

To assess the oxidative damage and the impact of polyphenolic compounds on health, various biological markers are used, such as the analysis of vitamin levels, homocysteine, various oxidative stress markers, immunoglobulins as markers of immune status, thyroid hormones and catecholamines.

Objectives: The main objective of this thesis is to evaluate the efficacy of an extract based on fruits and vegetables versus a placebo in cognitive function and its relationship with certain biological markers and cognitive capacity in healthy volunteers, specifically on memory, executive function, sustained attention, and its relationship with certain plasma oxidative stress markers, neurotransmitters, vitamins, homocysteine, thyroid hormones and IgA.

Results: A selection of volunteers (n = 117) was made, verifying by interview that they met the inclusion criteria (n = 108). Subjects who completed the study (n = 92) were randomly assigned to one group and alternately consumed in the first or second period a homogenized mixture of dehydrated juice and pulps of berries, fruits and vegetables in varying proportions or a Placebo, in the same presentation as the product, for 16 continuous weeks after another period of 16 weeks with an interval of 4 weeks of washing between them.

At the beginning and end of each phase, the subjects underwent blood draws to determine the plasma markers under study and to carry out the Stroop, TESEN and RIST cognitive tests.

When comparing the results of the scores of all the variables of the cognitive tests between initial and final values, statistically significant differences were found in the product and not so for placebo. These differences were also between product and placebo groups.

Regarding plasma markers, there are statistically significant differences in oxidative stress markers, homocysteine and in catecholamines related to cognitive function, but on the contrary, there are no such differences in terms of levels of vitamins, IgA or thyroid hormones.

When the comparison was made between the sexes, no statistically significant differences were found in any case.

The consumption of the product under study improves executive function and short-term memory, whether verbal or non-verbal. No change in plasma IgA levels that translates into an improvement in immunity, and a higher concentration of vitamins in the product under study does not translate into a higher plasma concentration.

The consumption of the product under study reduces homocysteinemia, thus reducing the risk of suffering from ischemic diseases and other cardiovascular accidents, as well as oxidative stress markers. There is no direct relationship between the consumption of the product and the levels of thyroid hormones in the body. The catecholamine levels, especially dopamine when the product is consumed, show a clear improvement effect on cognitive functions, especially attention and other executive functions correlated with the results of the tests previously described.

Conclusions: The product under study may represent an alternative system in the prevention through the consumption of fruit and vegetables in a young population of normal cognitive deterioration caused by age and signs of cellular aging in association with an adequate lifestyle in addition to an improvement in cognitive functions (immediate and working memory, sustained and selective attention).

Keywords: polyphenols, memory, attention, cognition, oxidative stress, catecholamines, Stroop, TESEN, RIST.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres y mis hermanos por demostrarme con vuestro ejemplo que cualquier cosa es posible con esfuerzo y voluntad, a Javi Jr. por sacar una pequeña parte del niño que llevo dentro y a *los soprano* por seguir disfrutando de vuestra presencia.

A la Universidad Católica de Murcia y a la facultad de ciencias de la salud, en especial a Pilar Zafrilla y Javier Marhuenda mis dos grandes directores no sólo por su esfuerzo y paciencia conmigo, sino también por el gran trabajo que desarrollan no sólo con los alumnos y doctorandos, sino con los numerosos proyectos que llevan. Es un orgullo estar a vuestro lado.

A todo el equipo del departamento que ha colaborado desde el principio en el desarrollo del estudio de una manera u otra. Gracias Begoña y Débora

A Marta y sobre todo a Raúl por su imprescindible ayuda en el enorme trabajo que ha llevado el estudio sobre todo en la preparación. Un trabajo callado en el que es necesario el método y el sacrificio en muchas ocasiones, además la responsabilidad. Gracias por que sin ti nada de esto hubiera sido posible.

A Raquel y a su equipo de becarios por las horas no sólo de la parte visible de realización de test, sino en las horas de corrección para poder interpretar después y el tiempo dedicado a traducirnos a los profanos en la materia como yo, el fascinante mundo de la cognición. Has sido mi tercera directora.

A M^a Ángeles y Maysa por sus madrugones con las extracciones y la ayuda en todo momento a voluntarios y al equipo, así como al departamento de fisioterapia por el apoyo logístico.

A Esteban (Estebican), por su ayuda con las tablas, figuras y demás familia y por su ayuda con el inglés, al igual que Arancha, que siempre ha estado ahí cuando lo he necesitado, desde un simple correo a un extenso documento.

A Eva, al equipo de inspírate cada día y a las raíces de este proyecto, por la labor de prevención primaria tan importante en nuestra sociedad actual y por ofrecerme el camino a la salud cuando más lo necesitaba.

A Marina Tortosa y a Jay Martin por traer a España y al mundo entero la naturaleza a nuestra mano.

A los integrantes de grupo GAM e especial a Alejandro y a todos los clientes, porque con todo lo conseguido con vuestro esfuerzo y confianza no hubiera podido dedicar ni un solo minuto a todo esto.

A la Fraternidad Monástica de la Paz y a la Comunión de la Paz por ser parte de mi vida y mostrarme el verdadero significado del AMOR.

A Aarón y Mar por ser una parte de mí cada día y personas ejemplares de las que me pueda sentir un padre orgulloso.

A María Dolores. A la que me soporta cada día y que sin ella nada de esto ni de tantas cosas sería capaz de hacer ni conseguir. Te quiero.

A todos los que me dejo.

A los que ya no están con nosotros y han sido nuestra inspiración.

A nuestro Dios.

Gracias, gracias, gracias.

"Cuida tu cuerpo. Es el único sitio en el que puedes vivir".
Jim Rohn

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL

AUTORIZACIÓN DE LOS DIRECTORES	
AGRADECIMIENTOS	
ÍNDICE GENERAL	
SIGLAS Y ABREVIATURAS.....	21
ÍNDICE DE TABLAS.....	26
ÍNDICE DE FIGURAS.....	22
I – INTRODUCCIÓN.....	35
1.1. ALIMENTACIÓN Y SALUD.....	35
1.1.1. Relación del estilo de vida y los hábitos nutricionales con la salud ..	35
1.1.2. Consumo de fruta y verdura	35
1.1.3. Ausencia de salud	37
1.2. POLIFENOLES	37
1.2.1. Clasificación de los polifenoles	37
1.2.2. Mecanismos de acción de los polifenoles	39
1.3. FUNCIÓN COGNITIVA.....	42
1.3.1. Test validados	43
1.3.2. Patologías cognitivas	44
1.3.3. Cognición y edad.....	45
1.3.4. Flujo sanguíneo cerebral	46
1.3.5. Memoria.....	48
1.3.6. Impacto del consumo de fruta y verdura en la función cognitiva	49
1.3.7. Biodisponibilidad.....	50
1.4. MARCADORES BIOLÓGICOS Y SU RELACIÓN CON LA SALUD	51
1.4.1. Vitaminas.....	52
1.4.2. Homocisteína	53
1.4.3. LDL Oxidada	54
1.4.4. Inmunoglobulina A.....	55
1.4.5. Hormonas tiroideas (TSH, T3, T4)	56
1.4.6. IL-6, FNT α , Proteína C Reactiva	58
1.4.7. Catecolaminas (Cortisol, Epinefrina, Noradrenalina y Dopamina).....	59
II - JUSTIFICACIÓN	65
III - OBJETIVOS.....	69
3.1. OBJETIVO GENERAL	69
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	69
IV - MATERIAL Y MÉTODOS.....	73

4.1. SELECCIÓN VOLUNTARIOS	73
4.1.1. Fase de reclutamiento.....	73
4.1.2. Fase de selección.....	73
4.1.3. Criterios de inclusión.....	73
4.1.4. Criterios de exclusión	74
4.2. FASE PREVIA DE ESTUDIO.....	74
4.2.1. Descripción de la muestra a estudio.....	74
4.2.2. Diseño del estudio.....	75
4.2.3. Método de aleatorización.....	77
4.2.4. Técnica de enmascaramiento y ciego	77
4.2.5. Criterios de retirada y análisis de los mismos	78
4.2.6. Perdidas pre-aleatorización	78
4.2.7. Comité de ética	79
4.3. CONFIDENCIALIDAD	79
4.4. FASE EXPERIMENTAL	80
4.4.1. Extracciones de sangre para bioquímica.....	80
4.4.2. Producto	82
4.4.3. Placebo	83
4.5. TEST	84
4.5.1 Test Stroop.....	84
4.5.2. Tesen (Test de los senderos)	85
4.5.3. Test RIST	87
4.6. DETERMINACIONES BIOQUÍMICAS EN PLASMA.....	88
4.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	89
4.7.1. Metodología estadística.....	90
V – RESULTADOS Y DISCUSIÓN	95
5.1. EVOLUCIÓN DE LAS PUNTUACIONES EN EL TEST STROOP	95
5.2. EVOLUCIÓN DE LAS PUNTUACIONES EN EL TEST TESEN.....	97
5.3. EVOLUCIÓN DE LAS PUNTUACIONES EN EL TEST RIST.....	99
5.4. EVOLUCIÓN DE LAS VITAMINAS Y HOMOCISTEÍNA.....	101
5.5. EVOLUCIÓN DE MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO	103
5.6. EVOLUCIÓN DE HORMONAS TIROIDEAS	105
5.7. EVOLUCIÓN DE MARCADOR DE INMUNIDAD	106
5.8. EVOLUCIÓN DE CATECOLAMINAS.....	107
VI - CONCLUSIONES.....	115
VII- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	119
VIII - ANEXOS.....	145

SIGLAS Y ABREVIATURAS

AChE	Acetilcolinesterasa
ARN	Ácido ribonucleico
BHE	Barrera hematoencefálica
C	Colores
CAD	Enfermedad arterial coronaria
CAS	Estenosis arterial carótida
CRD	Cuaderno de recogida de datos
CREB	cAMP response element-binding
DTT	Ditiotreitol
E	Ejecución
EA	Enfermedad de Alzheimer
EDTA	Ácido etilendiaminatetraacético
EFSA	European Food Safety Authority
EGC	Epigallocatequina
EGCG	Epigallocatequina galato
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
ERO	Especies reactivas de oxígeno
FNTα	Factor de necrosis tumoral
HPLC	High performance liquid chromatography
IgA	Inmunoglobulina A
IMC	Índice de masa corporal
IL-6	Interleucina 6

KOH	Hidróxido de potasio
LDL	Low density lipoprotein
MAO	Monoaminoxidasa
MMSE	Mini-mental state examination
OMS	Organización mundial de la salud
ON	Óxido nítrico
P	Palabras
PC	Palabras-colores
PCA	Ácido procatequídico
PCR	proteína C-reactiva
PD	Puntuación directa
PDF	Producto en fase final
PDI	Producto en fase inicial
PETIA	Inmunoensayo turbidimétrico mejorado por partículas
PF	Placebo en fase final
PI	Placebo en fase inicial
PR	Precisión
PT	Puntuación típica
RAVLT	Rey auditory verbal learning test
RIAS	Reynolds Intellectual Assessment Scales
RIST	Reynolds Intellectual Screening Test
RVIP	Rapid visual information processing

SAH	S-adenosil-L-homocisteína
SDS	Dodecilsulfato sódico
SNC	Sistema nervioso central
SOD	Superóxido dismutasa
SO₂	Dióxido de azufre
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
sRFNT1	Receptor 1 del factor de necrosis tumoral soluble
TDA	Transtorno de déficit de atención
TMB	Tetrametilbenzidina
TMT	Trail making teskt
TPO	Tiroperoxidasa
TSH	Thyroid-Stimulating Hormone
T3	Triyodotironina
T4	Tiroxina
V	Velocidad
VS	Visita de selección
VSLT	Visual spatial learning test
VVLT	Visual verbal learning test

INDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Indicadores dietéticos esenciales en la dieta mediterránea .	36
Tabla 2. Acciones de seguimiento en cada visita a la unidad	81
Tabla 3. Evolución de resultados obtenidos en el tiempo en test Stroop con producto y placebo.	95
Tabla 4. Evolución de resultados obtenidos en el test TESEN en el tiempo con producto y placebo.	97
Tabla 5. Evolución de resultados obtenidos en el tiempo con producto y placebo en el test RIST.	99
Tabla 6. Evolución de resultados obtenidos en el tiempo con producto y placebo en niveles plasmáticos de vitamina E, vitamina B12 y homocisteína.	102
Tabla 7. Evolución de resultados obtenidos en el tiempo con producto y placebo en niveles plasmáticos de marcadores de estrés oxidativo: LDL Oxidada, FNT α , sRFNT1 y PCR.	104
Tabla 8. Evolución de resultados obtenidos en el tiempo con producto y placebo en niveles plasmáticos de hormonas tiroideas.	106
Tabla 9. Evolución de resultados obtenidos en el tiempo con producto y placebo en niveles plasmáticos de IgA.	107
Tabla 10. Evolución de resultados obtenidos en el tiempo con producto y placebo en niveles plasmáticos de catecolaminas.	108

INDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. La estructura básica de los flavonoles y sus clases. Adaptado de Panche y col. 2016. (39, 40).....	38
Figura 2. Mecanismos de acción de los flavonoides. Adaptado de Spencer JP, 2010 (102).....	47
Figura 3. Estructura química de la vitamina E y vitamina B12 (141, 142).....	52
Figura 4. Estructura química de la homocisteína (148).....	53
Figura 5. Estructura química de la IgA (148).	55
Figura 6. Ciclo de producción de hormonas tiroideas (167).	57
Figura 7. Estructura química del cortisol (181).	59
Figura 8. estructura química de la Norepinefrina (184).	60
Figura 9. Estructura química de la dopamina (184).	61
Figura 10. Visita a la unidad para la extracción de sangre.....	75
Figura 11. Esquema de diseño del estudio	76
Figura 12. Extracción de plasma centrifugado en alícuotas para determinaciones bioquímicas	81
Figura 13. Envases de producto y placebo identificados para voluntario, previo a su entrega.	83
Figura 14. Test de Stroop antes de ser realizado por un voluntario.....	84
Figura 15. Evolución de resultados en las distintas variables de los test entre grupos placebo y producto en porcentajes de aumento o disminución. Los asteriscos indican diferencias significativas.	101
Figura 16. Evolución de resultados en las distintas variables de variables bioquímicas de vitaminas, homocisteína y marcadores de estrés oxidativo entre grupos placebo y producto en porcentajes de aumento o disminución. Los asteriscos indican diferencias significativas.	105
Figura 17. Evolución de resultados en las distintas variables de variables bioquímicas de hormonas tiroideas, IgA y catecolaminas entre grupos placebo y producto en porcentajes de aumento o disminución. Los asteriscos indican diferencias significativas.	111

I - INTRODUCCIÓN

I – INTRODUCCIÓN

1.1. ALIMENTACIÓN Y SALUD

1.1.1. Relación del estilo de vida y los hábitos nutricionales con la salud

Para mantener un adecuado estado de salud es necesario mantener unos hábitos de vida y nutricionales adecuados, entre los que se incluyen: adecuada ingesta de fruta y verdura (1-3), consumo habitual de ácidos grasos de la serie omega Ω -3/6 (250-500 mg/día) y limitar el consumo de grasas saturadas a un máximo de un 10% del total de macronutrientes. Otros aspectos importantes son, por ejemplo, realizar alguna actividad física al menos moderada de forma periódica y dormir unas 7 u 8 horas.

Otros hábitos positivos de carácter alimentario para mantener una adecuada calidad de vida y prevenir enfermedades son beber al menos dos litros de agua diaria, disminuir el consumo de azúcares simples para evitar picos de glucemia, desayunar adecuadamente teniendo una ingesta adecuada de vitaminas y minerales, por ejemplo a través del consumo de fruta y verdura y por tanto de flavonoides (4).

1.1.2. Consumo de fruta y verdura

Dentro de los factores indicados en el punto anterior como determinantes para alcanzar un estado óptimo de salud, se encuentra el consumo de fruta y verdura en cantidad adecuada, por su contenido en compuestos antioxidantes, con un consumo mínimo de 5 piezas al día según la OMS.

El consumo de fruta y verdura en cantidad adecuada tiene un impacto directo en la salud, siendo de elección en el tratamiento de determinadas enfermedades. Se han encontrado efectos positivos descritos en patologías como obesidad (5), enfermedades crónicas degenerativas (6, 7) y un importante papel protector en enfermedades cardiovasculares a través de la regulación del colesterol y disminución del daño celular lipídico en leucocitos y eritrocitos (8).

Aunque el consumo de flavonoides en la población adulta española es adecuado (9, 10) incluso en la población joven, éste es menor a otros países europeos como Polonia (11).

Uno de los patrones dietéticos más acordes con estas indicaciones es la dieta mediterránea, por su alto contenido en antioxidantes y polifenoles (12-15) (Tabla 1).

Tabla 1. Indicadores dietéticos esenciales en la dieta mediterránea (12).		
Indicador	Efectos en la salud asociados	Características diferenciales de la dieta mediterránea
Ratio ácidos grasos saturados/monoinsaturados	Relación inversa entre enfermedades cardiovasculares y mortalidad total	Alta ratio derivada del elevado consumo de aceite de oliva y moderado consumo de grasas animales
Ingesta de fibra dietética	Prevención de enfermedad coronaria y cáncer de colon	Elevado consumo de fruta y verdura fresca
Capacidad antioxidante de la dieta completa	Alta capacidad antioxidante Prevención de daño oxidativo	Alta variedad de antioxidantes de alimentos y bebidas de origen vegetal
Ingesta de fitoesteroles	Bajo nivel de colesterol LDL y total	Alta ingesta de aceites vegetales

1.1.3. Ausencia de salud

Existen diversas patologías asociadas al estilo de vida, como el cáncer. En 1981 se demostró la influencia de la alimentación, el patrón dietético y el estilo de vida en la salud humana (16, 17), algo que ha sido ratificado recientemente por otros autores (18). Posteriormente, se confirmó en estudios de revisión, clasificados por tipos de cáncer (19), en enfermedades como la diabetes (20), la aterosclerosis (21) enfermedades cardiovasculares en general (22), afectando a la capacidad de respuesta del organismo frente a agentes externos a través del sistema inmunitario (23) o simplemente reduciendo el daño oxidativo (7), proceso común a múltiples afecciones. Todas estas patologías suponen la principal causa de muerte en las sociedades occidentales como es la española y quedan englobadas en el llamado síndrome metabólico y resistencia a la insulina (24-26).

1.2. POLIFENOLES

1.2.1. Clasificación de los polifenoles

Los polifenoles son sustancias ampliamente presentes en frutas y verduras que en su composición química presentan un anillo fenol. La clasificación más habitual de los polifenoles es según la estructura de su esqueleto carbonado (Figura 1), clasificándose en flavonoides y no-flavonoides (27, 28). Sin embargo, a lo largo de los últimos años se ha realizado una extensa clasificación según sus estructuras químicas (29, 30).

Dentro de los flavonoides se encuentran las antocianinas, muy abundantes en bayas y frutos rojos como uva y arándanos (31, 32), las flavanonas, y flavonoles entre otros. Estos últimos se encuentran principalmente en té verde y cacao a través de las catequinas y derivados (33, 34). La quercetina o Kaemferol se encuentran

muy presentes en cebolla, puerros o brócoli. Los flavonoles se encuentran en altas concentraciones en perejil o el apio, las isoflavonas más presentes en la soja que en otros alimentos (35) o derivados de la hesperidina en los cítricos (36). Incluso un cereal poco empleado gastronómicamente, como la harina integral de sorgo, se ha propuesto como fuente de polifenoles (37). Otros componentes fenólicos no flavonoides están presentes en alimentos de origen vegetal como es el vino, a través del resveratrol (38).

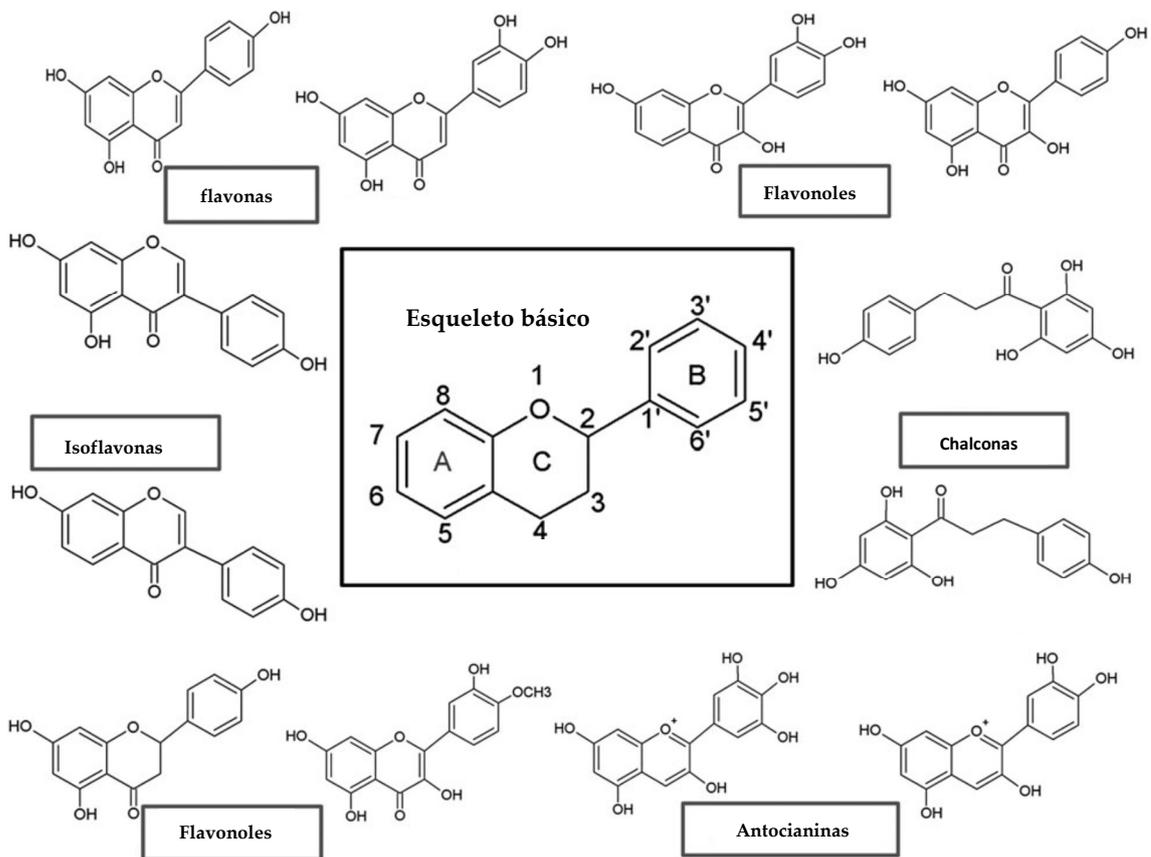


Figura 1. La estructura básica de los flavonoles y sus clases. Adaptado de Panche y col. 2016. (39, 40).

1.2.2. Mecanismos de acción de los polifenoles

Los antocianos, más allá del papel relacionado con el metabolismo de fármacos a través de la inhibición del citocromo P450, es decir inhibición de reacciones de oxidación que modulan la acción de éstos, tienen una función de reducción del estrés oxidativo y daño celular (41, 42) comprobado en estudios en ratas con arándanos y antocianinas (43).

Estos compuestos basan su mecanismo de acción en dos principales vertientes muy relacionadas entre sí: actividad antioxidante y actividad antiinflamatoria.

La literatura científica ha demostrado ampliamente que el contenido de compuestos antioxidantes en frutas y verduras es determinante para su capacidad de neutralizar radicales libres y evitar el deterioro propio del envejecimiento y las enfermedades degenerativas (44). Entre los principales efectos demostrados, se pueden encontrar la disminución de los efectos adversos provocados por la contaminación atmosférica y los radicales libres que ésta provoca en el organismo (45). Este efecto neutralizante de las especies reactivas de oxígeno (ERO), cualquiera que sea su origen permanece en el tiempo, con lo que los polifenoles hacen efecto barrido sobre los radicales libres. Este efecto se ha puesto de manifiesto en estudios donde este efecto se sigue manifestando pasados días desde su consumo (46). De forma preventiva, se ha comprobado como de cara a una cirugía dental se puede prevenir este estrés oxidativo neutralizando estas moléculas reactivas (47).

Así mismo, los marcadores de estrés oxidativo en la membrana neuronal del sistema nervioso central (SNC) disminuyen al disminuir las ERO, cuando se suplementa con zumo concentrado rico en polifenoles, según un estudio con atletas

de élite (48). Este hecho es especialmente importante en el cerebro, dada la relación existente entre la edad y el desarrollo de enfermedades.

La suplementación con polifenoles disminuye la vulnerabilidad de personas con edad avanzada que presentan mayores factores de riesgo al estrés oxidativo, mejorando la comunicabilidad neuronal (49, 50). Además, el cerebro es especialmente sensible y propenso a este daño oxidativo y a la acumulación de ERO por el aumento en el consumo de oxígeno (51).

Por otro lado, en pacientes con patología renal sometidos a hemodiálisis, la suplementación con uva roja rica ha demostrado reducción de los daños provocados por estrés oxidativo (52).

La cantidad de compuestos con función antioxidante y beneficiosa para el organismo es variable según la fruta y verdura de que se trate. Por ejemplo, la granada presenta mayor capacidad antioxidante que la manzana (53) y valores muy similares a diferentes tipos de bayas (54, 55). No obstante, esta capacidad depende de la cantidad de consumo de cada una de ellas (56) y la duración de este consumo (57).

Los mecanismos de acción de esta actividad antioxidante de los compuestos bioactivos presentes en frutas y verduras se han determinado en diferentes estudios de intervención (28, 58, 59). En todos los casos, la capacidad antioxidante era dependiente de la concentración de polifenoles y enzimas de la cadena quinasa (60). Así ocurre en la prevención y control de diabetes tipo II a través de la inhibición de enzimas implicadas en la digestión de carbohidratos como la α -amilasa o la α -glucosidasa (20).

Los pacientes diabéticos presentan mayor estrés oxidativo a nivel local, lo cual reduce la actividad antioxidante en el cerebro. Este hecho deriva en mayor

deterioro cognitivo y puede reducirse con la ingesta de antioxidantes, tal como se demuestra en la literatura científica (61).

También se ha comprobado en otros estudios de intervención el efecto sinérgico de la combinación de algunos de estos polifenoles (62). Aunque el efecto de esta sinergia sea positivo por ejemplo en el caso de la granada y el limón, siendo el efecto de la combinación mejor que por separado (63).

Los polifenoles del vino tinto también han demostrado capacidad para ejercer protección frente a daño oxidativo a nivel del sistema nervioso central, dada su capacidad para traspasar la barrera hematoencefálica (64). Por otro lado, la ingesta de alimentos ricos en polifenoles como el cacao o el té verde, disminuye la susceptibilidad de la LDL a la oxidación (65), siendo muy evidentes en el caso de población diabética. Diversos estudios han demostrado la eficacia de los polifenoles de granada (66) o cebolla (67) en esta población, reduciendo la peroxidación lipídica en adultos obesos y diabéticos frente a adultos sanos.

También se han evaluado los efectos de los polifenoles como antioxidantes en combinación con vitamina C en hipertensos, dado el incremento de daño oxidativo y la consecuente disfunción endotelial en este tipo de patologías (68, 69).

Recientemente, se ha demostrado que la capacidad antioxidante de los alimentos contenidos en la dieta se relaciona con la capacidad antioxidante del plasma (70, 71). Del mismo modo, una dieta con alimentos con elevada capacidad antioxidante disminuye los marcadores de estrés oxidativo en plasma, mejorando el estado de enfermos con patologías crónicas (72).

En el caso de los procesos inflamatorios crónicos, se puede encontrar una pérdida del “efecto barrera” y una sobreproducción de sustancias oxidantes como citoquinas, quimiocinas y metaloproteínas. En estos casos, los polifenoles actúan como moduladores de la respuesta a enfermedades crónicas inflamatorias, por su

capacidad de neutralización de estas sustancias oxidantes y función neuroprotectora (31, 73), como en el caso de la artritis reumatoide o psoriásica (74). Finalmente, la respuesta inflamatoria está íntimamente relacionada con el daño muscular y la homeostasis durante la práctica de ejercicio físico intenso (75), al igual que en adultos jóvenes (76) o en personas de edad avanzada con enfermedades neurodegenerativas y/o deterioro cognitivo (49).

1.3. FUNCIÓN COGNITIVA.

Dentro de la cognición se pueden diferenciar diversas funciones, las cuales pueden valorarse a través de pruebas o test validados y consensuados por la comunidad científica y que los resultados de los mismos puedan emplearse como evidencia para determinadas declaraciones saludables consideradas por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) (77, 78). Algunas de estas funciones cognitivas son:

- Atención sostenida. Definida como la capacidad de mantener la atención a un estímulo o tarea durante un largo periodo de tiempo.
- Atención selectiva. Definida como la capacidad de focalizar la mente en una tarea o estímulo concreto.
- Memoria inmediata. Definida como la capacidad de mantener una pequeña cantidad de información un corto periodo de tiempo
- Memoria de trabajo. Definida como el conjunto de procesos que nos permiten el almacenamiento y el manejo de la información para la realización de tareas cognitivas complejas como el lenguaje, lectura o matemáticas, entre otras.

Igualmente, existen pruebas validadas como el test de Reynolds, que se emplea en estudios clínicos o de intervención para determinar el estado cognitivo de partida, siendo eminentemente un screening de inteligencia (79).

1.3.1. Test validados

Para medir o evaluar la atención selectiva, se emplea el test de Stroop, una prueba en la que el individuo ha de clasificar la información del entorno y reaccionar selectivamente a esa información (80). Esta prueba se ha empleado en estudios en adultos (81, 82) e incluso en niños (83), y es muy utilizado en estudios de intervención para evaluar efectos positivos de flavonoides en memoria y atención en niños y adultos (84).

Otro de los test más comunes en estudios de intervención es el test RVIP o test de procesamiento rápido de información visual, para evaluar la función ejecutiva. Esta función ejecutiva se define como el conjunto de operaciones cognitivas complejas para evaluar la fijación y clasificación de metas, planes, tareas, y monitorización y vigilancia de las mismas, que exigen razonamiento y toma de decisiones.

En un estudio con consumo de resveratrol se valoraron sus efectos en la cognición a través de la concentración de óxido nítrico y la oxigenación de la sangre y se comprobó con este test la función ejecutiva (81, 85, 86). Esta prueba se emplea habitualmente en estudios de intervención en adultos para evaluación de funciones ejecutivas como en este caso con bebida de cacao (87) o combinada de arándanos y uva (88).

Otro test muy empleado en estudios de valoración cognitiva es el test de RAVLT o Test de Aprendizaje Auditivo Verbal de Rey. Tiene como objetivo evaluar la capacidad de aprendizaje y memoria de trabajo (83). Otras variantes son el test

de Visual spatial learning test (VSLT) y el test Visual verbal learning test (VVLT), probados en mujeres adultas para evaluar la memoria (57).

Por otro lado, el llamado Trail making test (TMT) o tarea de rastreo está siendo empleado frecuentemente para evaluar función ejecutiva en niños y adultos en estudios de intervención (89) y en ancianos, combinado con test Mini-mental state examination (MMSE) utilizado en enfermedades neurodegenerativas como la Enfermedad de Alzheimer (EA) (90).

Existe una combinación de test muy parecida a la anterior, llamada TESEN (Test de los senderos), desarrollado en España para evaluación de funciones ejecutivas y memoria de trabajo, especialmente indicado en estudios de intervención con población sana (91), sobre todo jóvenes y niños. Esta adaptación presenta un sistema de puntuación estandarizado y unos baremos actuales para población españolaa diferencia del TMT

Como método de evaluación de inteligencia y memoria se emplean dos test muy relacionados entre sí, el test RIAS y el test RIST (una adaptación del primero) (92), empleándose en jóvenes y niños como evaluación de memoria de trabajo (93).

1.3.2. Patologías cognitivas

Aunque las patologías citadas en el capítulo 1.1.2 suponen la principal causa de muerte en países occidentales y son consideradas las enfermedades de presente y de futuro, hay otras afecciones degenerativas asociadas a personas con edad avanzada que afectan a la cognición como la EA o la demencia (94-98). Estas enfermedades están aumentando durante los últimos años, debido no sólo al envejecimiento progresivo de la población y a la mayor esperanza de vida en países desarrollados, sino también en personas cada vez más jóvenes, probándose que se produce mejora en este deterioro cognitivo con el consumo de flavonoides a través

de la dieta (99). De hecho, en un estudio que abarca a 23 países desarrollados, se demostró que el consumo de flavonoides disminuye las tasas de demencia en edad avanzada (100), algo que afecta incluso a patologías asociadas como la depresión (101).

En este mismo sentido, el impacto de la dieta y los hábitos de vida en el coste de salud no pueden ignorarse. El coste de la demencia solamente en Reino Unido, se estima de 17 billones de libras al año. Si se lograra un complemento o tratamiento que pudiera reducir tan sólo un 1% por año el deterioro cognitivo severo, se cancelaría el aumento de coste por cuidado de estas personas a largo plazo en la población que envejecerá, más allá de desarrollar complementos capaces de mejorar memoria y aprendizaje en adultos y niños en el futuro. La fruta y la verdura deben ser precursores de una nueva generación de tratamientos a través de la alimentación y el estilo de vida (102), ya que la terapia farmacológica necesita complementarse con un nuevo enfoque a través de estas opciones (103).

1.3.3. Cognición y edad

En el caso de la población joven universitaria, estos hábitos de vida y nutricionales se hacen más importantes, pues esta población tiene unos requerimientos mayores en cuanto al metabolismo basal y la renovación celular. Además, presentan una plasticidad cerebral mayor, con lo que las necesidades nutricionales son más exigentes, sobre todo por el desgaste la función cognitiva. El hecho de llevar una dieta mediterránea como patrón dietético saludable, da lugar a la disminución del riesgo de demencia de estos jóvenes cuando tengan una edad avanzada (104, 105). En este sentido, también se ha demostrado recientemente un efecto positivo en la disminución de marcadores de estrés oxidativo en un patrón

dietético con elevado contenido en frutas y verduras y un menor consumo de carne (70).

Aunque no existen suficientes estudios en jóvenes que relacionen patrones dietéticos y cognición de forma directa, se ha evidenciado como hábitos de vida o comportamientos no saludables como el consumo de alcohol, fumar, poca actividad física o escaso consumo de fruta y verdura son determinantes para la capacidad cognitiva (memoria y función ejecutiva) (106). La intensidad y la duración de estas actividades repercuten de forma inversamente proporcional en la mejora de la capacidad cognitiva a largo plazo (107). Además, el consumo de fruta y verdura reduce el riesgo de padecer depresión. De hecho, se ha constatado que el consumo de fruta, principalmente debido a la capacidad de los flavonoides de mejorar la función ejecutiva, mejora el estado de ánimo en niños y jóvenes (99). Asimismo, se ha demostrado la relación inversa entre factores de estrés oxidativo en adolescentes y consumo de fruta y verdura en la dieta (108).

Por otro lado, la función cognitiva disminuye con la edad (109) y que está relacionada con el consumo de antioxidantes (97, 110). La intervención de frutas y verduras en la cognición, por ejemplo en la mejora de ésta asociada a la disminución provocada por la edad, muestra una mayor relación en el caso de flavonoides, sobre todo antocianinas y flavonas (111).

1.3.4. Flujo sanguíneo cerebral

Los flavonoides tienen un efecto positivo en las neuronas, asociado a la memoria, principalmente debido al aumento del flujo sanguíneo cerebrovascular (112-115) (Figura 2). Este aumento provoca una mejora en la plasticidad sináptica y, por tanto, la capacidad cognitiva (115). Las catequinas participan en las cascadas de señalización de la quinasa lipídica, afectando a factores de transcripción como

la proteína CREB, provocando cambios en el sistema cardiovascular y por tanto cerebrovascular (58). La epigallocatequina galato (EGCG), epicatequinas (EGC), hesperidinas y pelargonidinas son los flavonoides que mejor atraviesan la barrera hematoencefálica (BHE) y por tanto tienen un mayor efecto en la capacidad cognitiva (113).

Todo lo expuesto anteriormente, relacionado con el aumento de óxido nítrico y la oxigenación por el aumento del flujo sanguíneo cerebral, se ha puesto de manifiesto mediante test cognitivos y resonancia magnética en adultos jóvenes sanos (114).



Figura 2. Mecanismos de acción de los flavonoides. Adaptado de Spencer JP, 2010 (102).

1.3.5. Memoria

Durante los últimos años, diferentes autores han evaluado la memoria en estudios de intervención con consumo de fruta y verdura (88) en la realización de planes de acción (116).

Los polifenoles del té verde y cacao presentan una importante función protectora de la función neuronal y la memoria como muestra un estudio de estrés psicológico en ratas (33). Estos efectos parecen demostrarse por la disminución significativa de marcadores de estrés e inflamación como IL-6 o superóxido dismutasa (SOD) (117).

Así pues, parece haber una mejora de las funciones cognitivas a nivel general en los estudios de intervención cuando se administran alimentos con elevado contenido en polifenoles, sobre todo flavonoides. Estos efectos parecen evidentes en poblaciones muy jóvenes o ancianas en las que se puede mejorar la conectividad neuronal o el crecimiento neuronal en el hipocampo (118). Este hecho también se ha puesto de manifiesto con un nutraceutico a base de resveratrol en adultos jóvenes, sometidos a tareas cognitivas exigentes y relacionándolo con el flujo sanguíneo cerebrovascular a través de la modulación de ON (86, 114), al igual que la mejora en la función endotelial (87).

En un estudio prospectivo en adultos franceses se evaluó la memoria, la función ejecutiva y el lenguaje. Si embargo, en este caso, no se pudo determinar una asociación clara y evidente entre la mejora de estas funciones y el consumo de frutas o verduras, aunque sí se observa una mejora en el deterioro cognitivo (119). Otro estudio posterior, logró asociar un patrón dietético saludable con un consumo de fruta y verdura elevado con la mejora en la función ejecutiva (120).

Así mismo, se han podido determinar algunas mejoras del rendimiento cognitivo en tareas asociadas a distintos tipos de memoria con el consumo de complejos multivitamínicos (66).

Sin embargo, hay una necesidad científica en este sentido, ya que se han realizado pocos estudios aleatorizados en modelos humanos en población joven acerca de los efectos de los polifenoles en la memoria y el aprendizaje, siendo abundantes en población anciana asociados a envejecimiento y con patologías degenerativas (121, 122).

1.3.6. Impacto del consumo de fruta y verdura en la función cognitiva

La dieta es especialmente importante como prevención por el efecto antioxidante que presenta en estas enfermedades degenerativas de asociadas a la edad y el estrés oxidativo propio del envejecimiento (98).

En este sentido, se demostró el impacto positivo que presenta el consumo de fruta y verdura en la cognición a través de un estudio longitudinal que relaciona ésta con el estilo de vida (123), dado que el envejecimiento neuronal causado por la edad de manera natural puede ser contrarrestado eficazmente con suplementación a base de antioxidantes (124, 125).

En las enfermedades neurodegenerativas, uno de los tratamientos de elección es aquel que inhibe la enzima acetilcolinesterasa (AChE), permitiendo mayores niveles de acetilcolina, favoreciendo las conexiones neuronales. Los flavonoides de las frutas y las verduras son una importante opción en una acción terapéutica contra los signos de la EA (39, 126), dado que mejora sensiblemente la plasticidad sináptica en estos enfermos, mejorando la memoria y los procesos cognitivos (127).

Igualmente, a través de numerosos estudios de intervención clínica y epidemiológicos, se ha relacionado la función cognitiva con el consumo de fruta y verdura en enfermos con diversas enfermedades degenerativas, pero se pueden encontrar pocas intervenciones en población sana (128).

Por tanto, realizar estudios en población no anciana y sin deterioro cognitivo es determinante tanto para evaluar el impacto en estas poblaciones como para determinar las consecuencias del consumo crónico. Incluso se ha tratado la posibilidad de la utilización de fitoquímicos como terapéuticos como alternativa al uso de fármacos, con el fin de evitar los efectos secundarios que éstos provocan y de esta manera tratar las enfermedades más acuciantes de los últimos años.

Numerosos investigadores han clasificado los efectos beneficiosos sobre la salud en diferentes alimentos (129), concluyendo que las frutas y las verduras tienen un interesante potencial como agentes terapéuticos.

Con el fin de llegar a consumir los niveles adecuados de antioxidantes en la dieta, la industria alimentaria ha desarrollado complementos alimenticios con una elevada vida útil. De esta manera se facilita a la población la posibilidad de acceder de una manera fácil y sencilla a consumir la cantidad adecuada de estos compuestos poniendo a disposición del consumidor los nutrientes bioactivos de plantas como promotores de la salud (130, 131) siempre dentro de los niveles máximos de consumo para evitar toxicidad (132).

1.3.7. Biodisponibilidad

La biodisponibilidad de los compuestos polifenólicos y el conocimiento sobre los metabolitos resultantes tras el consumo de complementos alimenticios es muy importante (28, 133), ya que comparada con la aparición en plasma después de su ingestión de los polifenoles de los alimentos puede ser muy diferente (56, 97),

y sobre soto con un consumo continuado de estos polifenoles en comparación con una dosis única (134).

De hecho, la biodisponibilidad de las antocianinas en los alimentos es muy baja, con lo que la ingesta diaria necesaria ha de ser mucho más alta para conseguir la misma capacidad antioxidante, algo que no ocurre en muchos complementos alimenticios (135).

Además, y en relación con lo expuesto anteriormente, debido a que se ha investigado mucho sobre los efectos beneficiosos de extractos y nutraceúticos de frutas y verduras, se ha estudiado muy poco acerca de los efectos adversos y la sobredosificación de polifenoles. En este sentido, hay que tener muy en cuenta, además de las concentraciones de los compuestos, la biodisponibilidad in vivo y el consumo a través de alimentos y de forma sinérgica y conjugada en éstos (136).

Además, se han de seguir, para una correcta presentación de resultados y conclusiones, las alegaciones sobre propiedades saludables, sobre todo en el caso de suplementos alimentarios, expuestas por el Instituto Europeo de Ciencias de la Vida (137), además de las pautas para la correcta realización de estudios de intervención.

1.4. MARCADORES BIOLÓGICOS Y SU RELACIÓN CON LA SALUD

Los siguientes marcadores biológicos a estudio han sido determinados según los indicadores de salud determinados por la “European Food Safety Agency” (EFSA), que son claves para determinar daño oxidativo o la salud cardiovascular (138, 139).

1.4.1. Vitaminas

Las principales vitaminas determinar cómo marcadores biológicos en plasma, relacionados con el daño oxidativo y las funciones cognitivas celular son la Vitamina E y la Vitamina B12.

La vitamina E o tocoferol es una vitamina liposoluble caracterizada por su gran capacidad antioxidante. Se encuentra ampliamente presente en vegetales de hoja verde y otros alimentos de origen vegetal y un consumo de estos sugiere una capacidad antioxidante mayor por presencia de esta vitamina (140).

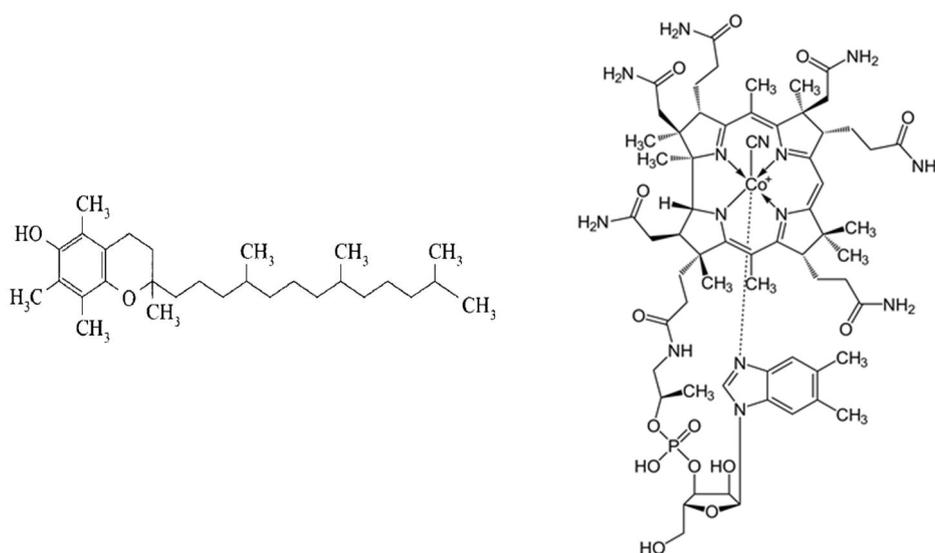


Figura 3. Estructura química de la vitamina E y vitamina B12 (141, 142).

Se ha comprobado que las concentraciones plasmáticas de vitamina E debido al aporte en la dieta y mediante complementos nutricionales disminuye la peroxidación lipídica, mostrando menor excreción urinaria de isoprostanos (143) y una disminución del riesgo cardiovascular (144).

La vitamina B12 o cobalamina es una vitamina hidrosoluble necesaria en la actividad cerebral y por tanto fundamental en la cognición, lo que la hace especialmente importante en poblaciones por encima de los 50 años (145).

1.4.2. Homocisteína

La Homocisteína es un aminoácido muy relevante relacionado con el estrés oxidativo y el daño celular, relacionada con enfermedades del SNC y cardiovasculares. Existe una estrecha relación entre este compuesto, la vitamina B12 y el deterioro cognitivo. Así pues, una hiperhomocisteinemia conlleva muerte neuronal por un mecanismo neurotóxico relacionado con el estrés oxidativo muy frecuente en la EA (146, 147).

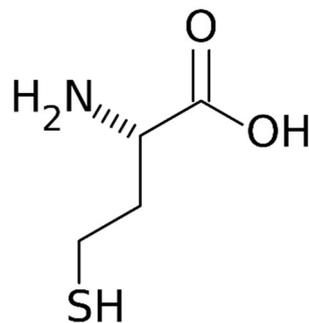


Figura 4. Estructura química de la homocisteína (148).

De esta manera, un consumo elevado de frutas y verduras está inversamente relacionado con el riesgo cardiovascular y cerebrovascular a través de la disminución de la homocisteína plasmática (149).

1.4.3. LDL Oxidada

La oxidación de la partícula de LDL es un proceso complejo en el cual la proteína y los lípidos constituyentes de esta lipoproteína sufren cambios oxidativos originando productos complejos (150).

Además, la LDL oxidada es determinante en la iniciación y la progresión de la aterogénesis caracterizada por una inflamación crónica, la acumulación de lípidos y modificaciones de las células vasculares en la pared arterial. A diferencia de las LDL nativas, las LDL oxidadas no son reconocidas por los receptores de LDL y son captadas por las células vasculares. Este proceso lleva a la acumulación de colesterol en la pared vascular originando las células espumosas, características de la lesión aterosclerótica (151).

A través de numerosos estudios realizados organismo (152), se ha comprobado como mediante el consumo en diferentes concentraciones de alimentos como el aceite de oliva, se reducen los fenómenos de oxidación de las LDL (153).

En pacientes con estenosis arterial carótida (CAS), se suplementó a los pacientes con zumo de granada durante uno a tres años y se evaluó el efecto de inhibición de las LDL oxidadas y la disminución de signos de aterosclerosis, obteniéndose unos resultados muy positivos (154).

Igualmente, la suplementación con un extracto de cacao podría ser determinante para lograr una reducción de LDL oxidada en población obesa (155), al igual que en ciclistas (156).

El mecanismo de acción de los polifenoles sobre la LDL oxidada es a través del ácido procatequídico (PCA), un metabolito intermedio de polifenoles que ejerce actividades antiapoptóticas, antiinflamatorias y antiescleróticas (56).

En adultos jóvenes también se ha asociado la disminución de los niveles plasmáticos de LDL oxidada con el consumo de fruta y verdura (157).

1.4.4. Inmunoglobulina A

La IgA es el anticuerpo responsable de la inmunidad en la mucosa intestinal. Se han realizado estudios que relacionan dietas ricas en polifenoles y el nivel de IgA (158) y otros relacionado el ejercicio físico intenso y la inflamación asociada a éste (75).

También se ha estudiado en modelos animales, determinando que los polifenoles presentes en el cacao pueden influir en el estado inmunitario mediante la concentración de IgA intestinal y la composición de la microbiota (159).

Sin embargo, cuando se compara la concentración de IgA salival y plasmática en diferentes patrones dietéticos, no se encuentran diferencias. Así se demostró en el año 1994, cuando se compararon estos niveles con cambios en la dieta a una dieta vegetariana (160).

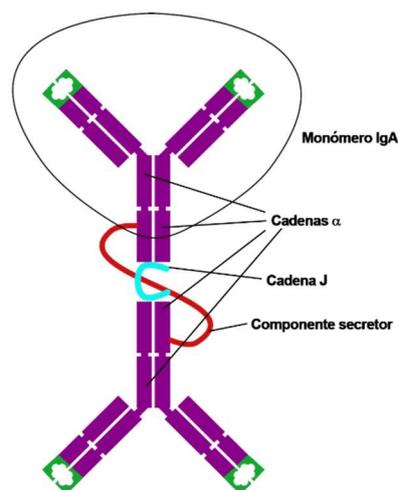


Figura 5. Estructura química de la IgA (148).

Los polifenoles del té provocan un aumento de la IgA. Este aumento provoca la disminución de las afecciones alérgicas y las funciones inmunes en general (161). Igualmente, se ha demostrado la influencia de la quercetina en la concentración de IgA, neutrófilos y macrófagos (23).

Por otro lado, cuando se aportan proantocianidinas de arándanos a sujetos con patologías digestivas donde la función linfoide está alterada, ésta se normaliza (162).

1.4.5. Hormonas tiroideas (TSH, T3, T4)

La hormona TSH o Tirotropina es la hormona producida por la hipófisis que actúa como estimulante de la glándula tiroidea, promoviendo la secreción de T3 y T4 y su liberación a sangre. Estas hormonas intervienen en la regulación de numerosas funciones vitales como el crecimiento, el metabolismo, la regulación de la temperatura corporal o el ritmo cardíaco (163).

La T3 aumenta los niveles de serotonina en corteza cerebral, interviniendo así en la función cognitiva (164).

El consumo de flavonoides (165) favorece la biosíntesis de T3 y T4 sin variar la producción de TSH o incluso con una disminución de la misma (25) y la producción de tiroperoxidasa (TPO), enzima clave en la producción de hormonas tiroideas. Igualmente, la quercetina inhibe el crecimiento de las células tiroideas según algunos autores, en asociación con la inhibición de la enzima de regulación de la insulina. Esta acción también se produce por la reducción del ARN modulado por la TSH y la inhibición de la absorción de Ioduro (166).

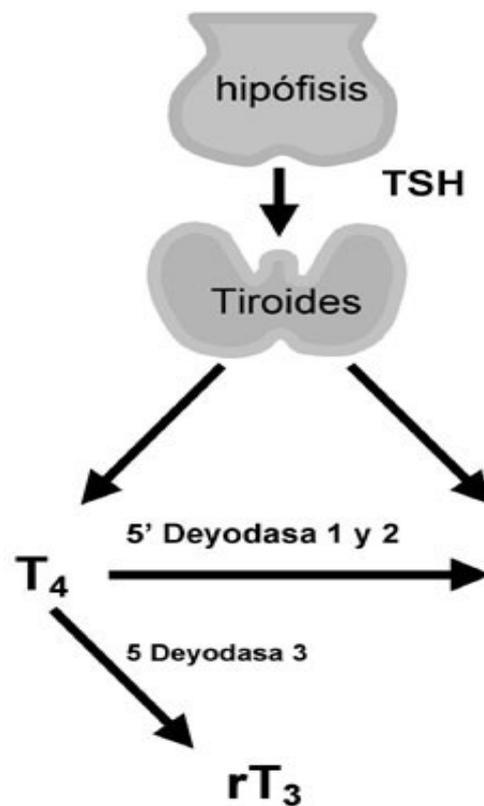


Figura 6. Ciclo de producción de hormonas tiroideas (167).

En el mismo sentido, se ha puesto de manifiesto que la naranja o el plátano tienen efectos antitiroideos por inhibición de la peroxidasa tiroidea (129), principalmente por el incremento de dopamina observado tras la ingesta de plátano (168).

Sin embargo y en otro sentido, otros autores destacan la naturaleza tiroestimulante de otras frutas y verduras. Así, el consumo de melón, sandía o mango, supone una estimulación de las hormonas T₃ y T₄ (169).

1.4.6. IL-6, FNT α , Proteína C Reactiva

La IL-6 es una citocina con actividad proinflamatoria secretada por macrófagos y muy presente en enfermedades inflamatorias crónicas, que se secreta en respuesta a factor de necrosis tumoral (FNT α), otra citocina que también activa la síntesis de la Proteína C Reactiva.

Diferentes estudios de intervención relacionan estos marcadores de inflamación con el consumo de polifenoles mediante vino tinto (170), preparado de grosella negra (171) o fresas (172).

Los niveles de estos marcadores se encuentran elevados en enfermedades inflamatorias crónicas y en pacientes con riesgo cardiovascular (74, 173), asociándose al estado inmunitario (174) y en situaciones de estrés psicológico (33), disminuyendo en todos estos casos con el consumo de diferentes extractos de polifenoles

También se han asociado por otro lado estos marcadores como FNT α y proteína C-reactiva (PCR) con enfermedades neurodegenerativas como EA (49) donde se evidencia un deterioro cognitivo, enfatizando la relación entre inflamación y daño neuronal (58).

En este mismo sentido diversos autores han establecido una fuerte relación entre inflamación y cognición a través de los niveles del receptor 1 del factor de necrosis tumoral soluble (sRFNT1) (90), estando todos los marcadores descritos anteriormente muy relacionados (175), en pacientes oncológicos (176), con enfermedad de Parkinson (177) o en el deterioro cognitivo mediado por hepatitis C (178), asociándose incluso al desarrollo de demencia (179).

1.4.7. Catecolaminas (Cortisol, Epinefrina, Noradrenalina y Dopamina)

El cortisol es una hormona esteroidea, producida por la glándula suprarrenal, que se libera en situaciones de estrés. Numerosos estudios han relacionado el nivel de cortisol con el consumo de diferentes alimentos (180) afirmando algunos autores que dietas pobres en frutas y verduras se relacionan con desarrollo de enfermedades como la EA, al perturbar el ciclo circadiano de secreción de cortisol y la pobre calidad del sueño (105), estrés y depresión (101, 110) o relacionado con estrés oxidativo en deportistas (156).

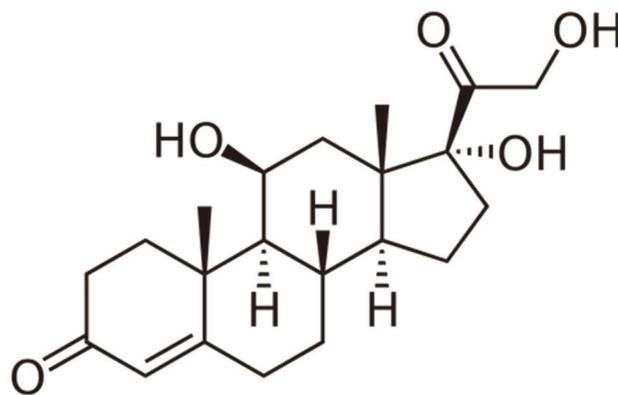


Figura 7. Estructura química del cortisol (181).

La norepinefrina o Noradrenalina es una catecolamina vinculada al estrés como sucede con el cortisol y funciona como neurotransmisor como el resto de catecolaminas o como hormona. Las antocianinas actúan como moduladores de las catecolaminas que se ven aumentadas en situaciones de estrés (182). La norepinefrina mejora la atención o percepción selectiva, alerta, despertar y se ve aumentada en estas situaciones (183).

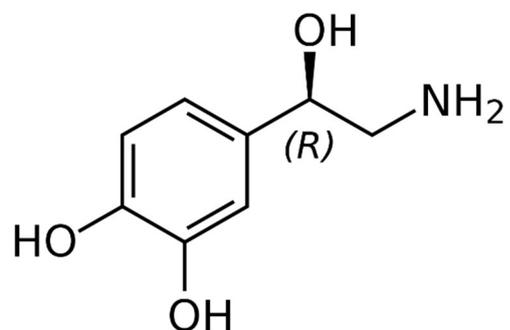


Figura 8. estructura química de la Norepinefrina (184).

En estudios en los que se suministra extractos con alto contenido en polifenoles se relaciona la disminución de marcadores de estrés oxidativo y la excreción de catecolaminas en niños con TDA, que anteriormente al consumo de estas sustancias eran superiores (185).

Además, el metabolismo de las catecolaminas supone una fuente importante de generación de estrés oxidativo porque promueve la formación de gran cantidad de radicales superóxido que pueden causar daño a proteínas y lípidos de membrana (186), viéndose reducidos en aquellos sujetos a los que se les suministran antocianinas como (182).

A nivel nutricional, se han comparado patrones dietéticos ricos en frutas y verduras con otros con elevado consumo de sal, azúcares, alcohol, relacionando factores de riesgo cardiovascular y niveles de cortisol y norepinefrina, siendo esta relación inversa (24).

Por otro lado, las antocianinas inhiben la monoaminoxidasa (MAO), enzima que oxida la norepinefrina y da lugar a enfermedad neurológicas a través de esta vía (73, 187).

También se ha demostrado la disminución de los efectos del deterioro cognitivo provocado en EA en el consumo de una dieta rica en polifenoles y la

modulación de los niveles de catecolaminas y su función como neurotransmisores (188).

Por último, los polifenoles del té verde presentan efecto inhibitorio sobre la absorción de dopamina, otro neurotransmisor precursor de la adrenalina y noradrenalina (189), quedando demostrado que se incrementan, al suministrarse preparados con alta concentración de determinados flavonoides como quercetina o kaempferol (101, 190).

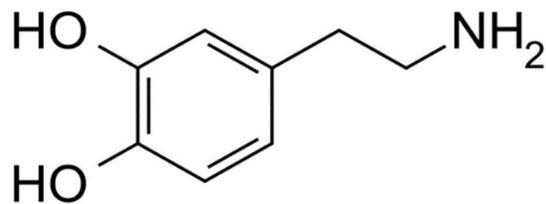


Figura 9. Estructura química de la dopamina (184).

II - JUSTIFICACIÓN

II - JUSTIFICACIÓN

En muchos casos, la población no sigue las recomendaciones sugeridas por la OMS y la comunidad científica en cuanto a hábitos de vida y nutricionales, sobre todo en cuanto al consumo de fruta y verdura y es una de las causas del aumento de enfermedades que podían prevenirse cambiando estos hábitos (191). Los polifenoles de la fruta y la verdura constituyen una fuente fundamental de aporte de antioxidantes que neutralizan ERO disminuyendo por tanto el estrés oxidativo (60, 72).

Además, debido al envejecimiento progresivo de la población en países desarrollados y otros factores como los alimentarios y hábitos de vida, se está produciendo un aumento acelerado de enfermedades neurodegenerativas, teniendo como principal exponente la EA, cuya prevalencia se dobla cada 20 años. Debido al impacto y al coste social que genera la EA y otras demencias, se han realizado muchos estudios y trabajos de investigación en torno a la relación entre el consumo de fruta y verdura como aporte de antioxidantes que disminuya el daño oxidativo a nivel cerebral, estableciéndolo como medio de intervención no farmacológica de la enfermedad (127, 192).

El aumento del consumo de fruta y verdura, provoca un aumento del flujo cerebrovascular mejorando la plasticidad sináptica y la síntesis de proteínas que intervienen en los procesos de transcripción de un gen que está implicado en los procesos de memoria (193).

La población sana no anciana ha sido objeto de pocos estudios de intervención que relacionen el consumo de fruta y verdura y las funciones cognitivas en comparación con población enferma, siendo este grupo de población quien tiene mayores necesidades cognitivas debido a su etapa de desarrollo (121, 122, 128).

Por otro lado, existe la necesidad en el mercado de complementos alimenticios que de una manera rápida y sencilla puedan aportar gran cantidad de antioxidantes además de para mejorar las funciones cognitivas en la población,

reducir el coste en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas en un futuro (102).

Aunque hay evidencia científica de efecto positivo de determinados polifenoles en la cognición, no hay estudios suficientes que evalúen el efecto sinérgico de la combinación de múltiples de ellos.

III - OBJETIVOS

III - OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la eficacia de un extracto a base de frutas y verduras frente a placebo en la función cognitiva y su relación con marcadores biológicos y capacidad cognitiva en voluntarios sanos.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar el efecto del consumo del extracto en el estudio sobre la función ejecutiva (planificación, velocidad de procesamiento y fluidez en respuesta motora).

Determinar del efecto del extracto sobre memoria de trabajo.

Evaluar el efecto del consumo crónico del extracto sobre la atención sostenida.

Evaluar la variación plasmática de los marcadores de estrés oxidativo.

Evaluar la variación en la concentración plasmática de neurotransmisores relacionados con la función cognitiva.

Evaluar la variación de los niveles plasmáticos de vitaminas con función antioxidante, así como el efecto protector de la homocisteína.

Evaluar posibles variaciones en marcadores de estado inmunitario.

Evaluar la posible variación en la concentración plasmática de hormonas tiroideas.

IV - MATERIAL Y MÉTODOS

IV - MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. SELECCIÓN VOLUNTARIOS

4.1.1. Fase de reclutamiento

Para la realización del estudio, se realizó una difusión a través de los medios existentes en la Universidad Católica San Antonio de Murcia, como son carteles informativos (Anexo I), difusión a través de los departamentos de enfermería, farmacia y medicina, correos electrónicos de participantes en estudios anteriores, donde se realizan los test y las extracciones de sangre para la realización de la bioquímica. Esta fase se inicia un mes antes del inicio de la fase experimental.

4.1.2. Fase de selección

Los voluntarios interesados cumplimenten una encuesta de hábitos dietéticos y de vida (Anexo I). Los sujetos fueron examinados y entrevistados previamente al comienzo del estudio para determinar su idoneidad con los criterios de inclusión/exclusión.

4.1.3. Criterios de inclusión

- Haber firmado consentimiento informado.
- Índice de masa corporal ≥ 18.5 y ≤ 35 Kg / m².
- No padecer enfermedad crónica.
- No consumir más de 3 piezas de fruta o verdura al día.
- ≥ 18 años y ≤ 65 años.

4.1.4. Criterios de exclusión

Fue motivo de exclusión del ensayo clínico la presencia, de al menos uno, de los siguientes criterios:

- Estar bajo tratamiento médico o farmacológico (multivitamínicos o cualquier otro).
- Alergia a la fruta y/o la verdura.
- Estar bajo dieta, Vegetarianos o veganos.
- Ser fumador.
- Consumir más de 3 vasos de alcohol (vino o cerveza) al día.
- Embarazo.
- Haber sido sometido a cirugía mayor en los últimos 3 meses.
- Sueño irregular o insuficiente.
- Haber donado más de 0,5 L de sangre en el último mes.

4.2. FASE PREVIA DE ESTUDIO

4.2.1. Descripción de la muestra a estudio

Inicialmente se seleccionó un total de 117 voluntarios, de los cuales cumplían los criterios de inclusión un total de 108. De los 108 que iniciaron el estudio causaron baja durante el mismo 16, con lo que el número final de sujetos fue de 92. La distribución por sexo de la misma fue de un 51,09% hombres (47) y 48,91% mujeres (45). En cuanto a las edades, el menor de 19 años y el mayor de 63 y el promedio de 32,74 años.

4.2.2. Diseño del estudio

El tiempo de consumo de producto fue de dos periodos de 16 semanas cada uno de toma interrumpida de cada uno de los productos asignados de manera aleatoria (producto o placebo) con un periodo de lavado entre ambas de 4 semanas.

Durante la fase experimental cada sujeto realizó un total de 4 visitas durante todo el periodo de investigación, siempre de 8:40 a 9:30 en ayunas de 12 h y sin haber consumido ningún tipo de antiinflamatorio ni haber realizado actividad física en las 24 h anteriores.



Figura 10. Visita a la unidad para la extracción de sangre

Para la realización de las visitas se establecieron 5 grupos de manera aleatoria correspondientes a los 5 días laborables de la semana, en la que se realizaron todas las extracciones y los voluntarios realizan los test cognitivos en el

mismo día de la visita a la unidad para la extracción de sangre para las determinaciones bioquímicas.

La organización personal, cronológica y emocional de los test realizados fue determinante, habiéndose realizado en orden, siempre el mismo test a la misma hora, en cada repetición y aplicado a todos los individuos. Además, las mujeres se encontraban en las mismas condiciones estrogénicas.

Dada la naturaleza del producto y del estudio, no se requirió el establecimiento de una medicación de rescate. Cualquier tratamiento farmacológico o no, que se realizó durante el periodo de seguimiento se registró en el cuaderno de recogida de datos (CRD9).

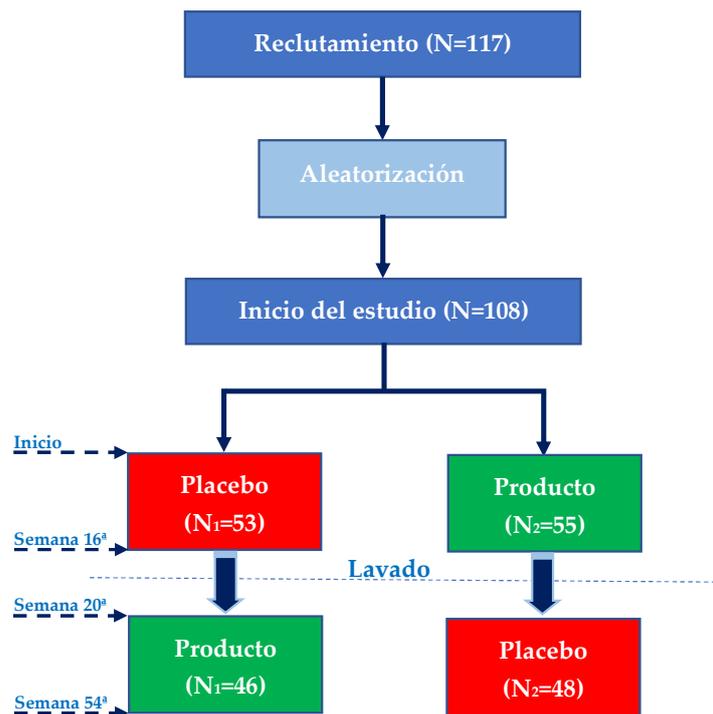


Figura 11. Esquema de diseño del estudio

4.2.3. Método de aleatorización

A cada sujeto que participó en el estudio se le asignó un código que le hizo pertenecer a uno de los dos grupos de estudio.

Tanto los investigadores como el propio participante desconocieron el grupo al que pertenecieron. Para ello se preparó una hoja de aleatorización marcada como A o B, con la que se determinaba a cada una de ellas un producto experimental o un producto placebo.

4.2.4. Técnica de enmascaramiento y ciego

Como control, se seleccionó un placebo de idénticas características organolépticas, y del mismo aspecto que el producto en investigación. Ambos elaborados por el promotor.

Puesto que los productos fueron idénticos y la asignación al grupo de seguimiento también fue ciega, no fue necesario ningún tipo de mecanismo de enmascaramiento. Los envases del producto del estudio fueron marcados con una etiqueta que los identificó como pertenecientes al grupo A o al grupo B y el código de cada voluntario.

La aleatorización se realizó por un investigador, ajeno a la unidad de investigación, de manera ciega, de forma que cada uno de los participantes y el investigador desconocía cuál fue el producto (experimental o placebo) que recibió.

Siguiendo el plan de aleatorización, el tratamiento correspondiente se proporcionó al participante bajo la supervisión del personal investigador, quien anotó en el apartado pertinente del CRD el tratamiento asignado. Puesto que el tratamiento lo tomaron los voluntarios en su domicilio, el control del cumplimiento

se realizó mediante la devolución de todos los envases llenos, de esta forma el cumplimiento del tratamiento fue verificado por el equipo de investigación mediante la contabilidad del producto en investigación/placebo, sin usar, que fue devuelto.

El investigador principal mantuvo un archivo con las fechas, cantidades, código de lotes del producto en investigación /placebo entregado y sobrante recogido en cada fase.

4.2.5. Criterios de retirada y análisis de los mismos

La participación en el estudio ha sido en todo momento voluntaria, los sujetos pudieron abandonar el mismo sin que fuese necesario especificar las razones para hacerlo y sin sufrir ninguna desventaja personal.

Así mismo, se pudo retirar a un sujeto del estudio si se consideraba que no podía cumplir con la totalidad de los requisitos del mismo o si alguno de los procedimientos se considera nocivo para el sujeto. Algunos de los acontecimientos a tener en cuenta fueron: violaciones del protocolo, decisión facultativa, renuncia del individuo a continuar en el estudio, pérdida del seguimiento.

En el momento en el que se produjo un abandono, quedó debidamente recogido en su CRD. Los sujetos que abandonaron el estudio quedan reflejados en el diagrama de flujo de los resultados.

4.2.6. Pérdidas pre-aleatorización

Se consideraron pérdidas pre-aleatorización aquellas que ocurrieron en los sujetos antes del comienzo del consumo del producto, pero que previamente

fueron seleccionadas para llevar a cabo el ensayo. Estas pérdidas pueden ser por decisión del investigador o por el abandono del sujeto de forma voluntaria.

También han quedado registradas convenientemente en el correspondiente CRD y detalladas en el diagrama de flujo.

4.2.7. Comité de ética

Una vez elaborado el protocolo del presente estudio de investigación, fue enviado al Comité de Ética de la Universidad Católica de Murcia para su aprobación.

4.3. CONFIDENCIALIDAD

El estudio se realizó siguiendo las Normas de Buena Práctica Clínica y las condiciones que deben regir los estudios de investigación con humanos que se delimitan en la Declaración de Helsinki.

Se mantuvo en todo momento los niveles más altos de conducta profesional y confidencialidad de todos los datos recogidos concernientes al estudio. Se cumplió con la legislación nacional y europea vigente sobre protección de datos de carácter personal (Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales y Reglamento (UE) 2016/679 del Parlamento Europeo y del Consejo de 27 de abril de 2016 relativo a la protección de las personas físicas en lo que respecta al tratamiento de datos personales y a la libre circulación de estos datos). De acuerdo a lo que establece la legislación mencionada, el participante pudo ejercer los derechos de acceso, modificación, oposición y cancelación de datos, para lo cual únicamente debió dirigirse a su médico del estudio.

La identidad de los sujetos se codificó en los documentos del estudio y sólo personal debidamente autorizado tuvo acceso a los datos personales identificables en momentos donde los procedimientos de verificación de datos exigían la inspección de dicha información. Todos los datos consignados en los CRD fueron tratados de forma confidencial y siempre con el código del paciente, al igual que en los resultados del estudio y en las publicaciones derivadas del mismo, donde no aparecerán nunca sus datos personales.

4.4. FASE EXPERIMENTAL

4.4.1. Extracciones de sangre para bioquímica

A los voluntarios se les practicó una extracción de sangre de la vena antecubital en diferentes tubos, con EDTA o heparina. La sangre fue centrifugada a 3500 r.p.m. durante 10 min. a temperatura ambiente para obtener plasma.

Las muestras de plasma fueron recogidas en la misma mañana en cada extracción y eran procesadas por el laboratorio en Laboratorios Munuera S.L.

Tabla 2. Acciones de seguimiento en cada visita a la unidad					
Seguimiento	VP	V1	V2	V3	V4
Consentimiento informado	x				
Criterios de inclusión y exclusión incluido IMC (índice de masa corporal)	x				
Anamnesis detallada. Encuesta dietética	x				
Aleatorización	x				
Entrega de producto/placebo		x		x	
Extracción de sangre		x	x	x	x
Bioquímica en plasma sanguíneo		x	x	x	x
Tests		x	x	x	x
Adherencia a la investigación		x	x	x	x
Efectos adversos		x	x	x	x

V: Visita. VP: Visita previa



Figura 12. Extracción de plasma centrifugado en alícuotas para determinaciones bioquímicas

4.4.2. Producto

El producto sometido a ensayo contiene mezcla homogeneizada de zumo y pulpas deshidratados de uva y bayas, frutas y verduras (56 %) en proporciones variables de manzana, zanahoria, uva concord, granada, naranja, piña, arándano azul, arándano rojo, arándano rojo americano, mora, col, ajo, mirtilo, cítricos, mango, frambuesa, acerola, melocotón, dátil, perejil, brócoli, espinacas, col rizada, tomate, baya de saúco, grosella negra, ciruela, remolacha, agente de recubrimiento (pululano), cacao en polvo, extracto de té verde, mezcla de tocoferoles, raíz de jengibre en polvo, ascorbato de calcio, extracto de hoja de alcachofa, extracto de semillas de uva, salvado de arroz, espirulina en polvo, antiaglomerante: dióxido de silicio, sales magnésicas de ácidos grasos, extracto de cítricos, luteína, beta-caroteno, licopeno, astaxantina y maltodextrina.

La mezcla está encapsulada en una cápsula de gelatina de color blanco. Cada envase presenta un mínimo de capsulas para consumo de cuatro meses (cada periodo de consumo), con una dosis de 6 cápsulas diarias, 3 por la mañana antes del desayuno y 3 por la tarde antes de la cena.

El producto se ha desarrollado en la planta central de *Juice Plus company, LTD* ubicada en Collierville, TN 38017, Estados Unidos.

Este producto comercial es uno de los nutraceuticos disponibles en el mercado desde hace más de 30 años que ha demostrado su eficacia y biodisponibilidad en numerosos estudios realizados (194), a nivel de mujeres obesas premenopáusicas (5) cirugía periodontal (47) y en inflamación (140) o con niveles de homocisteína en plasma y su relación con otros marcadores plasmáticos (149). También se ha relacionado el estrés oxidativo y la inmunidad (174).

En caracterización polifenólica realizada con cromatografía líquida y espectrometría de masas, el producto presenta un total de 119 compuestos

polifenólicos que pertenecen a diferentes clases fenólicas, flavonoles como kaempferol y quercetina y antocianinas y flavonoles (194).

El consumo de 6 cápsulas diarias en este estudio es el consumo habitual en otros estudios de intervención que se han realizado con anterioridad (195) y supone una cantidad de 600 mg de compuestos fenólicos diarios.

4.4.3. Placebo

El placebo tiene la misma presentación y posología que el producto, siendo el encapsulado idéntico y aspecto similar para evitar su diferenciación por parte de los sujetos y el personal investigado y fue compuesto de colorante verde, sacarosa.

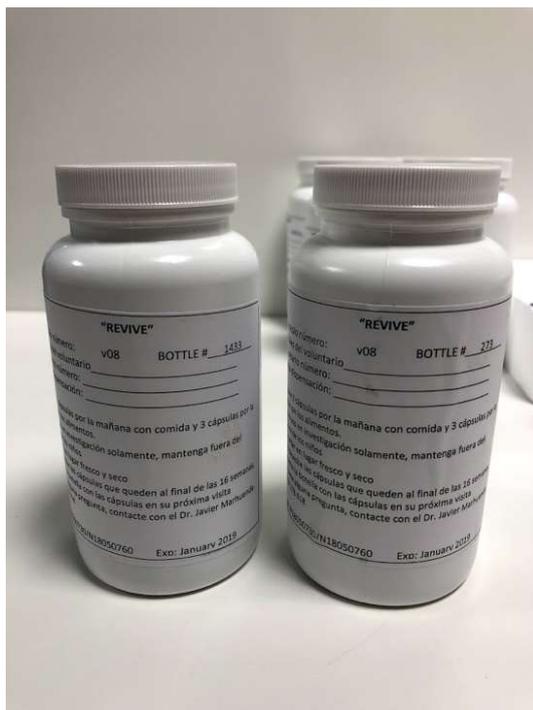


Figura 13. Envases de producto y placebo identificados para voluntario, previo a su entrega.

4.5. TEST

4.5.1 Test Stroop

El *test Stroop de Colores y Palabras* se desarrolló a partir de investigaciones de varios psicólogos de la escuela experimental que observaron ante la capacidad de nombrar los colores, una mayor rapidez que en la identificación de los mismos. Ligon (1932), consideró que este suceso era debido a elementos orgánicos. Por su parte, Stroop (1935), consideró que la diferencia entre la realización de ambas tareas, era consecuencia de una asociación entre los colores y una cantidad de respuestas conductuales variadas, mientras que las palabras, sólo tienen asociación con la lectura, por lo tanto, con una única respuesta conductual.

Se trata de una de las pruebas clásicas más utilizadas en investigación y evaluación neuropsicológica como medida de la función ejecutiva y atencional, de aplicación individual. Desde un punto de vista clínico, tiene como finalidad la detección de problemas neurológicos y cerebrales.

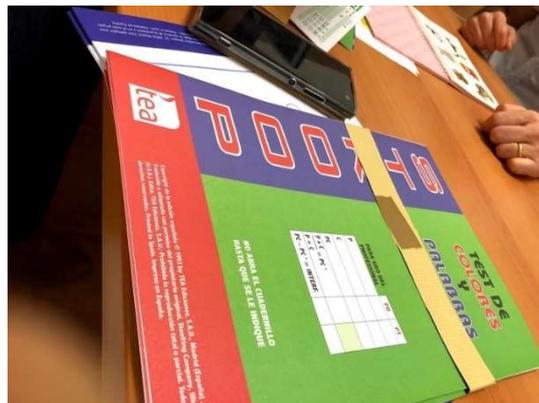


Figura 14. Test de Stroop antes de ser realizado por un voluntario

La versión empleada actualmente es la normalizada por Golden en 1975 (80). Para la corrección se emplean dos métodos principales de puntuación: 1) tiempo que tarda el sujeto en completar 100 elementos, y número de elementos realizados en un lapso de tiempo (45 segundos). En el test se obtienen tres puntuaciones principales:

- Puntuaciones de P: número de palabras leídas en la 1ª página del test (página de leer palabras).
- Puntuaciones C: Número de elementos realizados en la 2ª página (página de nombrar colores).
- Puntuaciones PC: Número de elementos realizados en la 3ª página (página de color-palabras)

Los errores no se puntúan, pero conllevan a puntuaciones más bajas puesto que el sujeto tiene que repetir el elemento en el que se ha equivocado.

Una vez obtenidas las puntuaciones directas de cada parte (P, C y PC), hay que transformarlas a PT usando la correspondiente tabla de baremos.

4.5.2. Tesen (Test de los senderos)

Se trata de una prueba de aplicación individual para evaluar el funcionamiento ejecutivo de jóvenes y adultos mediante una tarea de planificación visomotora. Está compuesto por 4 pruebas que permite evaluar una amplia variedad de funciones ejecutivas, como son, la capacidad para planificar, la memoria de trabajo, la flexibilidad mental, la alternancia, la atención sostenida, la memoria prospectiva, la velocidad del procesamiento perceptivo y la fluidez de la respuesta motora.

Dadas sus características, el TESEN puede ser utilizado con algunas de las siguientes finalidades:

- Determinación de la eficiencia del funcionamiento ejecutivo en ámbitos laborales, educativos, sociales, etc.
- Determinación de la eficiencia del funcionamiento ejecutivo en muestras clínicas que presenten algún tipo de alteración neurocognitiva.
- Investigación de las diferencias individuales en muestras de población normal.
- Determinación de la existencia de posibles perfiles que definan cada una de las patologías neuropsiquiátricas.
- Control evolutivo de las personas que recibiendo tratamiento de rehabilitación neuropsiquiátrica.

Para las correcciones el TESEN está compuesto por 4 pruebas (senderos) de dificultad creciente. En el sendero 1, el sujeto debe unir consecutivamente los números numerados del 1 al 25 siguiendo un orden ascendente. En el sendero 2, debe realizar el mismo proceso que en el 1 pero siguiendo un orden descendente (del 25 al 1). En el sendero 3, debe unir consecutivamente los círculos numerados en un orden creciente (del 1 al 20), alternando el color de los mismos (azul-amarillo). En el sendero 4, debe hacer lo mismo que en el 3, pero en este caso alternando figura geométrica (círculo-cuadrado).

En cada uno de los senderos, se registran 3 parámetros diferentes:

1. Tiempo de ejecución.
2. Uniones correctas.
3. Errores cometidos de secuencia de figuras atravesadas y de alternancia.

Con respecto a la corrección, el test consta de 3 puntuaciones para cada uno de los senderos:

1. Puntuación de velocidad: refleja la capacidad de resolver tareas que requieren un control atencional y ejecutivo creciente.

2. Puntuación de precisión: refleja el número de aciertos y errores que comete el sujeto durante la realización de cada sendero.
3. Puntuación de ejecución: refleja la eficiencia con la que la persona evaluada ha realizado la tarea tomando en consideración la velocidad y la precisión. En este caso, permite apreciar los diferentes patrones de respuesta teniendo en cuenta estas dos variables.

Por último, se obtiene una puntuación total de ejecución que se resume el rendimiento del sujeto en las diferentes pruebas realizadas que demandan la puesta en marcha de los procesos atencionales y ejecutivos de dificultad creciente. Las puntuaciones directas de cada parámetro, son transformadas a decatipos y percentiles, los cuales vienen recogidos en los correspondientes baremos.

4.5.3. Test RIST

El test RIST aparece ante la necesidad de utilizar pruebas de screening de inteligencia general para la identificación de sujetos que puedan necesitar una evaluación más completa de aspectos intelectuales y cognitivos. Son múltiples y variadas las situaciones en las que es necesario aplicar pruebas de inteligencia breves para valorar déficits, problemas intelectuales, patologías comórbidas que pueden conllevar dificultades en el aprendizaje o, por el contrario, detección de altas capacidades y sobredotación. El RIST no permite obtener diagnósticos clasificatorios, sino indicadores de riesgo de deterioro intelectual, para, a partir de ahí, valorar la necesidad de seguir o no con los protocolos de actuación, debido a la presencia de niveles bajos de desarrollo cognitivo.

El test de RIST mide riesgo de problemas de inteligencia debido a un bajo nivel de desarrollo cognitivo, así como posibles rasgos de sujetos con altas

capacidades y superdotados y consta de dos pruebas (Adivinanzas y Categorías) que se aplican de manera sucesiva al sujeto evaluado.

Para su corrección las puntuaciones directas obtenidas en las pruebas, se trasladan a PT de acuerdo con la tabla de baremos correspondiente al test. Las PT se suman y se calcula el índice RIST, empleando igualmente el baremo correspondiente. Esta puntuación global es la que se tomará en consideración para tomar la decisión del screening. Por último, también pueden obtenerse los intervalos de confianza al 90% y al 95% del percentil.

4.6. DETERMINACIONES BIOQUÍMICAS EN PLASMA

Se realizaron las siguientes determinaciones bioquímicas de marcadores de estrés oxidativo: FNT (pg/ml), sRFNT1 (ng/ml), PCR (mg/l), LDL Oxidada (ng/ml) y Homocisteína (mcm/l); de vitaminas: Vitamina E (mcg/ml) y Vitamina B12 (pg/ml); de catecolaminas: Cortisol (mcg/L), Noradrenalina (pg/ml), Adrenalina (pg/ml) y Dopamina (pg/ml); hormonas tiroideas: T3 (mcg/L), T4 (mcg/ml) y TSH (mU/l); y como indicador de estado inmunitario la Ig A (mg/dl).

El factor de necrosis tumoral y su receptor se determinaron mediante ELISA competitivo (marca DRG diagnostics) con placa de micropocillos con anticuerpos monoclonales de anti-FNT α humano.

La Proteína C-Reactiva se analizó mediante inmunoensayo turbidimétrico (PETIA) medido a 340 nm.

La LDL oxidada se determinó mediante ELISA de alta sensibilidad, con lecturas en espectrofotómetro a 450 nm. Los niveles de homocisteína se midieron en un analizador BN ProSpec[®] (de acuerdo con el protocolo suministrado en el kit de Siemens N Latex HCYOPAX 03).

El contenido en vitamina E se determinó por HPLC, empleando un cromatógrafo marca JASCO (PU-980 Intelligent HPLC-Plus) con una columna Betasil-C18, tamaño de partícula 5 μm , 250 mm X 4,6 mm, conectada a un detector de fluorescencia marca JASCO (FP-920 Intelligent Fluorescence Detector). Se utilizó como fase móvil metanol: acetonitrilo (60:40) con un flujo de 0,7 ml/min.

La determinación de vitamina B12 y las hormonas T3, T4 y TSH se realizaron mediante inmunoensayos comerciales mediante equipo automatizado Centaur XP Siemens Diagnostics (Siemens Healthcare S.A.)

La cuantificación del cortisol en plasma se realizó mediante Técnica de quimioluminiscencia con inmunoensayo Immulite 2000 (DPC, Gwynedd, R.U.

Las catecolaminas fraccionadas fueron determinadas mediante HPLC con flujo: 0.5mL/min, T° 35°C, sensibilidad: 20, potencial: 0.7, fase móvil: acetonitrilo-agua, fase reversa C18.

Para la cuantificación de los niveles de IgA se empleó técnica de turbidimetría con Monolab test.

4.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se nombró un técnico de apoyo a la investigación cuya principal función fue asegurarse de que el estudio se hubiera realizado conforme a lo exigido en el protocolo. Revisó los datos recepcionados del laboratorio y obtenido de la corrección de los test y se comprobaron que todos los datos eran correctos.

Los datos de todas las variables bioquímicas y de test fueron introducidos en una base de datos creada a tal fin y dotada de márgenes de seguridad y normas de coherencia interna, tras lo cual se repasaron los casos que presentaron valores anómalos o incoherentes. Al finalizar del estudio se procedió a su análisis estadístico.

Todos los análisis se realizaron a partir de una única muestra de pacientes valorables que incluyó todos aquellos pacientes que cumplían los criterios de selección.

4.7.1. Metodología estadística

4.7.1.1. Estudio descriptivo de las variables

Se realizó un análisis descriptivo (media y desviación estándar) de todas las variables en estudio, tanto de las condiciones basales de cada una de ellas como de su evolución. Este análisis se realizó para el grupo total de individuos que participaron en el estudio tanto en periodo de consumo de placebo como de producto.

4.7.1.2. Estudio comparativo entre grupos en estado basal

La homogeneidad de la población en el estado basal con respecto a variables demográficas, antecedentes médicos y otros parámetros clínicos también fueron analizados. Para las variables cuantitativas se desarrollaron comparaciones de t-Student entre las dos ramas del estudio. Las variables cualitativas fueron analizadas mediante test de homogeneidad basados en la distribución Chi-cuadrado cuando los valores esperados lo hicieron posible y mediante test exactos de Fisher en caso contrario.

4.7.1.3. Evolución de las variables

Para analizar las diferencias entre los grupos (experimental y control) en la evolución de las distintas variables se ha realizado un análisis de varianza para medidas repetidas con un factor intrasujeto (tiempo: basal y al final para cada rama a estudio) y un factor intersujeto (producto: producto experimental y producto

placebo). De esta manera establecimos diferencias en cada una de las variables analizadas, atendiendo a estos factores. Para el análisis post-hoc se realizó test de Bonferroni. Se realizaron las comparaciones para aquellos efectos significativos con la opción de asumir o no igualdad de varianzas.

En el conjunto de pruebas estadísticas el nivel de significación utilizado fue de 0,05. El análisis estadístico se llevó a cabo con el software informático SPSS 24.

V – RESULTADOS Y DISCUSIÓN

V – RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. EVOLUCIÓN DE LAS PUNTUACIONES EN EL TEST STROOP

Se compararon los resultados en puntuaciones típicas (PT) de cada variable (P, C y PC) realizada en test de Stroop para cada grupo a estudio (placebo y producto) en cada tiempo inicial y final: PI (placebo inicial), PF (placebo final), PDI (producto inicial) y PDF (producto final). En la tabla 3 se expresan los resultados junto a las desviaciones estándar de número de palabras leídas (P), número de elementos realizados en la página de nombrar colores (C) y la combinación de palabras y colores (PC).

Tabla 3. Evolución de resultados obtenidos en el tiempo en test Stroop con producto y placebo

	TEST STROOP P (PT)	TEST STROOP C (PT)	TEST STROOP PC (PT)
PI	46,12 ± 7,60	49,39 ± 8,66	49,40 ± 8,68
PF	45,86 ± 6,06	49,74 ± 6,03	50,96 ± 6,61
PDI	45,71 ± 7,81	49,07 ± 8,63	49,11 ± 8,57
PDF	49,91 ± 7,05	52,63 ± 9,41	53,78 ± 7,79

Resultados expresados en puntuación típica (PT).

En primer lugar, los resultados obtenidos en las tres variables mostraron valores por encima de 30 en las PT, evidenciando valores normales para funciones ejecutivas y flexibilidad cognitiva atencional, no existiendo daño neurológico en ninguno los voluntarios que se sometieron a los test.

Al realizar la comparación entre las fases iniciales y finales en el consumo de producto se comprobó que hay diferencias en las tres variables y que los sujetos

fueron capaces de leer más palabras en la primera prueba de leer palabras, concretamente 4,2 de leer más palabras cuando se trataba de leer colores (3,56 en este caso) y también cuando había interferencia semántica en la variable PC (4,67), y que éstas son estadísticamente significativas ($p < 0,01$ para P y para C y $p < 0,06$ para PC), no siendo así en el consumo de placebo ($p = 0,783$ para P, $p = 0,744$ para C y para $p = 0,166$ PC).

Sin embargo, al realizar la comparativa diferenciada por sexos no se evidenciaron diferencias entre dichos grupos. En trabajos clínicos desarrollados por numerosos autores con test de Stroop, las diferencias entre sexos no son significativas, coincidiendo con nuestros resultados (196, 197).

Estos resultados obtenidos prueban que en el caso del consumo de producto hay una mejora en la velocidad de procesamiento y en la capacidad atencional de los sujetos. También se produce por tanto una mejora en la inhibición, siendo ésta la supresión de respuestas automáticas que resultan inapropiadas para llevar a cabo una tarea. Otros autores han obtenido resultados similares con anterioridad con un extracto de melón (82), isoflavonas de soja (198) o con un extracto de Ginkgo biloba (199).

Asimismo, en un estudio de cohortes publicado en 2015, las personas con un patrón dietético saludable con alto contenido en frutas y verduras, mostraron mejores resultados que los que tenían otro patrón dietético menos saludable (81). En el mismo sentido, otro estudio de cohortes similar en Estados Unidos,

recientemente llegó a conclusiones similares (200). Por el contrario, según indican Bleiweiss-Sand y colaboradores (2019), aunque los patrones dietéticos saludables se traducen en mejores rendimientos académicos, éstos no se pueden relacionar con mejores resultados en el test de Stroop, según pruebas realizadas en población escolar (201).

5.2. EVOLUCIÓN DE LAS PUNTUACIONES EN EL TEST TESEN

Se compararon los resultados en PD de cada variable (velocidad, precisión y ejecución) realizada en test de senderos (TESEN) para cada grupo a estudio (placebo y producto) en cada tiempo inicial y final: para PI, PF, PDI y PDF. En la tabla 4 se expresan los resultados junto a las desviaciones estándar en velocidad de ejecución (V), números de aciertos y errores (PR) y la combinación de velocidad y precisión con la ejecución (E).

Tabla 4. Evolución de resultados obtenidos en el test TESEN en el tiempo con producto y placebo.

	TEST TESEN V (PD)	TEST TESEN P (PD)	TEST TESEN E (PD)
PI	402,28 ± 53,32	97,74 ± 6,27	19,88 ± 4,18
PF	393,85 ± 42,77	98,25 ± 9,03	21,38 ± 2,28
PDI	406,83 ± 54,05	97,26 ± 6,43	19,69 ± 4,10
PDF	355,68 ± 88,92	99,22 ± 1,55	25,62 ± 5,86
Resultados expresados en PD.			

Al comparar los resultados obtenidos en las 3 variables del test de TESEN por separado, éstos mostraron que había diferencias entre las fases iniciales y finales en cuanto al consumo de producto.

Estas diferencias fueron estadísticamente significativas ($p < 0,01$) en el caso de la variable V, no siendo así en cuanto al consumo de placebo puesto que había diferencias, pero éstas no eran estadísticamente significativas ($p = 0,25$). La disminución de tiempo en velocidad en la variable V mostró una disminución muy acusada (51 segundos) en el consumo de producto frente a placebo, mejorando claramente la velocidad del procesamiento perceptivo y la fluidez de la respuesta motora.

En el caso de la variable P que valora la precisión de esta ejecución también existía una diferencia importante de casi dos puntos (1,96) y estadísticamente significativa cuando comparamos el consumo de producto ($p < 0,01$) y placebo ($p = 0,68$).

Por último, cuando valoramos la diferencia entre producto y placebo entre las fases finales e iniciales en cuanto a ejecución, las diferencias fueron muy importantes. Al ser un producto de las variables anteriores, los resultados fueron los mismos, aunque más acusados, existiendo una diferencia de casi 6 puntos (5,93), siendo estas diferencias estadísticamente significativas para producto ($p < 0,01$), no siendo así para placebo ($p > 0,05$).

Al realizar la comparativa diferenciada por sexos no existen diferencias entre dichos grupos en los resultados.

Los resultados obtenidos en la aplicación de este test en el estudio de intervención han sido en consonancia con los realizados por otros autores

anteriormente en estudios de intervención en personas con deterioro cognitivo leve, donde se ha obtenido una mejora de las funciones cognitivas (202) con diversos alimentos ricos en flavonoides donde además de demostrarse que el grupo que había consumido éstos alimentos no sólo mejoraba las puntuaciones de las pruebas en los test, ésta mejoría era dependiente de la dosis y el tipo de flavonoide (203).

5.3. EVOLUCIÓN DE LAS PUNTUACIONES EN EL TEST RIST

Se compararon los resultados en PT índice RIST obtenidos en test de inteligencia RIST para cada grupo a estudio (placebo y producto) en cada tiempo inicial y final: PI, PF, PDI y PDF. En la siguiente tabla (Tabla 5), se expresan los resultados junto a las desviaciones estándar del índice RIST final obtenido tras el cálculo.

Tabla 5. Evolución de resultados obtenidos en el tiempo con producto y placebo en el test RIST.	
	TEST RIST (PT)
PT PI	95,91 ± 16,24
PT PF	98,19 ± 13,82
PT PDI	95,59 ± 16,35
PT PDF	110,86 ± 10,01
Resultados expresados en PT.	

Al comparar los resultados obtenidos en las puntuaciones del test RIST, éstos mostraron que hay diferencias entre las fases iniciales y finales en cuanto al

consumo de producto, y que éstas son estadísticamente significativas ($p < 0,01$), no siendo así en cuanto al consumo de placebo ($p = 0,30$). Además, en el caso del consumo de producto, las diferencias entre la fase final y la inicial fueron bastante acusadas (15,27 puntos de diferencia en índice RIST) demostrando que el efecto de éste mejora sensiblemente la memoria de trabajo.

Al realizar la comparativa diferenciada por sexos no existen diferencias entre dichos grupos en los resultados.

Estos resultados, del mismo modo que en los test anteriores, han sido coincidentes con los obtenidos por otros autores en estudios de intervención similares para la evaluación de memoria de trabajo, empleando test de RIST (93), RVIP (88) o similares (204, 205).

Cuando comparamos los resultados entre los grupos placebo y producto las diferencias son similares en todas las variables de los distintos test realizados, siendo además estadísticamente significativas ($p < 0,05$), excepto en la variable P del test TESEN, donde esa diferencia no lo es ($p = 0,347$). Estas diferencias son especialmente acusadas en las variables de velocidad y ejecución del test TESEN entre los dos grupos a estudio, mostrando una clara mejora en la eficiencia del funcionamiento ejecutivo reflejando una capacidad creciente a la hora de resolver tareas que requieren un control atencional y aunque no varíe tan claramente la variable de precisión (P), en la ejecución también se muestra esta diferencia tan evidente.

La diferencia entre grupos muestra también una diferencia en los test Stroop y RSIT que en el mismo sentido establecen diferencias no solo en mejora de las funciones ejecutivas sino también en la atención y velocidad de procesamiento.

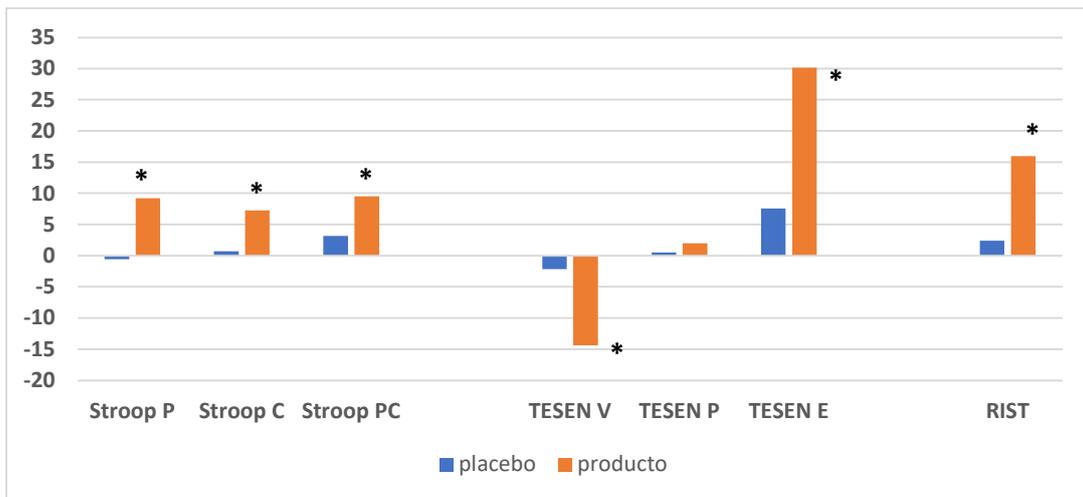


Figura 15. Evolución de resultados en las distintas variables de los test entre grupos placebo y producto en porcentajes de aumento o disminución. Los asteriscos indican diferencias significativas.

5.4. EVOLUCIÓN DE LAS VITAMINAS Y HOMOCISTEÍNA

Al comparar la evolución de los niveles plasmáticos de vitaminas E y B12 y el de homocisteína desde el nivel basal al final tanto en la fase de consumo de placebo como la de producto (Tabla 6), éstos han mostrado en el caso de producto un importante descenso de 1,32 mcm/L para la homocisteína, un aumento poco relevante en la Vitamina B12 y pequeñas variaciones en los niveles de Vitamina E,

siendo el aumento en el caso del placebo entre la fase final con respecto a la inicial despreciable y poco significativo en todos los casos.

Tabla 6. Evolución de resultados obtenidos en el tiempo con producto y placebo en niveles plasmáticos de vitamina E, vitamina B12 y homocisteína.

	VITAMINA E ($\mu\text{g/ml}$)	VITAMINA B12 (pg/ml)	HOMOCISTEÍNA ($\mu\text{m/L}$)
PI	13,20 \pm 3,33	309,11 \pm 85,51	11,75 \pm 2,21
PF	13,21 \pm 3,53	314,99 \pm 82,20	11,07 \pm 2,92
PDI	13,15 \pm 3,68	308,41 \pm 123,51	11,65 \pm 2,30
PDF	13,20 \pm 3,37	333,45 \pm 115	10,33 \pm 2,17

Niveles expresados en $\mu\text{g/ml}$ para Vitamina E y homocisteína y en pg/ml para Vitamina B12

Así, la variación de niveles ha sido estadísticamente significativa, en este caso mostrando descenso para homocisteína ($p < 0,05$), comparada con placebo ($p = 0,74$). Las variaciones en los niveles de Vitamina E han sido muy poco relevantes tanto para placebo ($p = 0,98$), como para producto ($p = 0,90$) y los de Vitamina B12 han experimentado cambios, pero no con un nivel de significancia estadística en el caso de producto ($p = 0,09$), ni para placebo ($p = 0,43$) al ser de 25 pg/ml de media para producto.

En este caso, estudios previos han demostrado un patrón similar al observado en la presente Tesis Doctoral en cuanto a la variación de homocisteína plasmática, mostrando una reducción al proporcionar preparado con alto contenido en polifenoles (149, 206), con un elevado efecto neuroprotector (207-209).

Dado que el extracto a estudio contiene un alto contenido en vitamina E (26 mg / dosis diaria), se podía suponer un incremento de los niveles plasmáticos de esta vitamina, no siendo así en nuestro caso. Este hecho ha sido descrito recientemente en una intervención con pacientes oncológicos (210), donde los niveles de Vitamina E tuvieron un incremento estadísticamente no significativo, así como en pacientes de edad avanzada con otros productos de origen vegetal (211). Los niveles de vitamina E dependen mucho del origen de la misma en la dieta. Así, las conclusiones de este estudio transversal con población irlandesa muestran que un consumo en la dieta con determinados suplementos puede incidir en un aumento plasmático de vitamina E (212).

En cuanto a la vitamina B12, debido a su escasa presencia en productos de origen vegetal era de esperar que el incremento plasmático en la fase de consumo de producto no fuese elevado, sin embargo y debido a la relación entre esta vitamina y la homocisteína, sí que se ha producido cierto incremento relativo que hace explicar esta variación comparado con placebo (213), sobre todo influenciado por el genotipo del individuo.

5.5. EVOLUCIÓN DE MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO

Una vez obtenidos los resultados de los niveles iniciales y finales de marcadores de estrés oxidativo en plasma, tanto para consumo de producto como placebo (Tabla 7), en general estos han mostrado una disminución importante y marcada para producto en todos los casos, siendo estadísticamente significativa ($p < 0.05$) en LDL Oxidada (9,46 ng/ml), FNT (0,6 pg/ml), sRFNT1 (0,13 ng/ml) y PCR (0,11 mg/L), no siendo estadísticamente significativa para placebo ($p > 0.05$).

Tabla 7. Evolución de resultados obtenidos en el tiempo con producto y placebo en niveles plasmáticos de marcadores de estrés oxidativo: LDL Oxidada, FNT, sRFNT1 y PCR

	LDL OXIDADA (ng/ml)	FNTα (pg/ml)	sRFNT1 (ng/ml)	PROT C REACTIVA (mg/L)
PI	88,16 \pm 30,14	5,69 \pm 1,02	1,43 \pm 0,32	1,84 \pm 0,64
PF	88,08 \pm 32,56	5,30 \pm 0,87	1,43 \pm 0,33	1,71 \pm 0,41
PDI	78,98 \pm 24,48	5,82 \pm 1,14	1,49 \pm 0,37	1,50 \pm 0,33
PDF	69,52 \pm 15,63	5,22 \pm 1,21	1,36 \pm 0,26	1,39 \pm 0,37

Niveles expresados en ng/ml para LDL Oxidada y sRFNT1, pg/ml para FNT α y mg/L para PCR

Estos resultados han confirmado lo mismo que otros autores han encontrado en publicaciones anteriores cuando se han realizado estudios de intervención con preparados y alimentos ricos en polifenoles y antioxidantes procedentes de productos de origen vegetal o bien con patrones dietéticos con alto contenido en frutas y verduras y en todos los marcadores de estrés oxidativo (155, 156, 170, 171, 179, 214-216).

Cuando comparamos los grupos placebo y producto de la misma manera que ocurre al comparar la evolución dentro de cada grupo, las diferencias son importantes en todos los casos excepto en vitamina E aunque estas diferencias no son significativas para vitaminas y homocisteína ($p > 0,05$), ocurriendo lo mismo para FNT α y el receptor soluble, sRFNT1 y si lo son para LDL oxidada y PCR ($p < 0,05$).

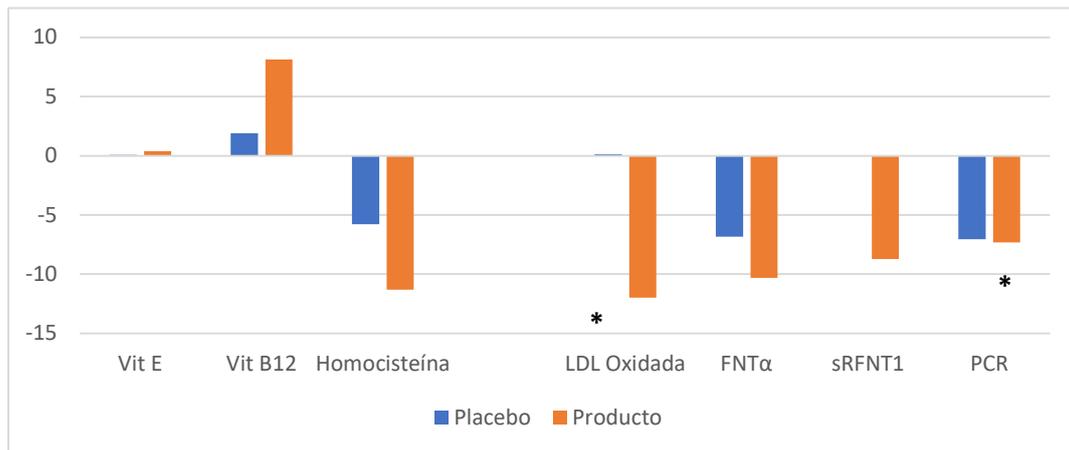


Figura 16. Evolución de resultados en las distintas variables de variables bioquímicas de vitaminas, homocisteína y marcadores de estrés oxidativo entre grupos placebo y producto en porcentajes de aumento o disminución. Los asteriscos indican diferencias significativas.

5.6. EVOLUCIÓN DE HORMONAS TIROIDEAS

Al revisar los niveles en plasma de la evolución en las diferentes fases finales con respecto a iniciales para producto y placebo con respecto a las hormonas TSH, T3 y T4 (Tabla 8), comprobamos que éstas mostraron pequeñas variaciones mínimas en torno a 0,01 mU/L para TSH, no siendo significativa estadísticamente para esta hormona tanto en placebo como producto ($p>0,05$), con lo que el consumo del nutraceutico en estudio a base de fruta y verdura con alta carga de polifenoles, no ha afectado a esta hormona en sangre. Cuando comparamos los niveles de T3 y T4 ocurrió algo similar, ya que los niveles han mostrado variaciones de concentración en plasma, en este caso algo mayores para producto y placebo (0,06

$\mu\text{g/L}$ 0,07 $\mu\text{g/L}$ en T3 y 0,57 $\mu\text{g/L}$ y 0,47 $\mu\text{g/L}$ para T4 respectivamente) no siendo estadísticamente significativas en ambos casos para ambas hormonas ($p>0,05$).

Tabla 8. Evolución de resultados obtenidos en el tiempo con producto y placebo en niveles plasmáticos de hormonas tiroideas.

	TSH (mU/L)	T3 (mcg/L)	T4 (mcg/L)
PI	2,28 ± 1,03	1,13 ± 0,23	7,64 ± 1,31
PF	2,27 ± 1,06	1,07 ± 0,18	8,21 ± 1,30
PDI	2,23 ± 1,11	1,1 ± 0,23	8,74 ± 0,75
PDF	2,2 ± 1,03	1,03 ± 0,16	8,27 ± 1,53
Niveles expresados en mU/L para TSH y $\mu\text{g/L}$ para T3 y T4			

Si analizamos estos resultados comparándolos con resultados de otros autores, contradicen en algunos casos y van en el mismo sentido en otros, ya que la TSH parece no verse influida por el contenido en la dieta (165) como ha ocurrido en nuestro caso, mostrando un descenso de hormonas tiroideas como se evidencia por diversos autores, siendo los compuestos fenólicos posibles disruptores de la función tiroidea (129, 166, 217). Estas concentraciones de las diversas hormonas tiroideas pueden ser muy cambiantes y rápidas como se demostró hace muchos años en un modelo animal (218).

5.7. EVOLUCIÓN DE MARCADOR DE INMUNIDAD

En el estudio de intervención que nos ocupa, se ha realizado como indicador del nivel de inmunidad una inmunoglobulina: la IgA. Al comparar los niveles en plasma iniciales y finales, se concluye que no ha habido diferencias

estadísticamente significativas entre ambos grupos tanto producto ($p=0,92$), como para placebo ($p=0,99$), siendo éstas alrededor de los 15 mg/dl en ambos casos (Tabla 9).

Tabla 9. Evolución de resultados obtenidos en el tiempo con producto y placebo en niveles plasmáticos de IgA.	
	IgA (mg/dl)
PI	203,41 ± 87,58
PF	218,86 ± 81,97
PDI	203,36 ± 108,68
PDF	217,76 ± 71,09
Resultados expresados en (mg/dl).	

Los resultados obtenidos para Ig A en esta intervención como indicador del nivel de inmunidad han sido contradictorios con los obtenidos en estudios anteriores por otros autores en concentraciones de IgA en saliva (23, 219), en heces (158) o también como en nuestro caso en plasma (161).

5.8. EVOLUCIÓN DE CATECOLAMINAS

Cuando se han sometido a comparativa los niveles plasmáticos de las diferentes catecolaminas a estudio en las fases iniciales y finales en ambas ramas a estudio (producto y placebo) se comprobó que éstas presentaban comportamientos diferentes. (Tabla 10).

En el caso de la adrenalina, no ha habido variaciones importantes, mostrando un ligero aumento en torno a 1 pg/ml, nada significativo estadísticamente para producto ($p=0,70$), y placebo ($p=0,62$). Algo similar, aunque

menos pronunciado ha ocurrido con el cortisol, ya que se produjo un ligero descenso de los niveles plasmáticos en placebo (0,4 µg/L) y un aumento en producto (0,45 µg/L) en ambos casos sin significancia estadística ($p>0,05$).

Por otro lado, ocurre totalmente al contrario con la noradrenalina, que exactamente mostró un aumento de casi 40 pg por ml de plasma que representa un poco más del 10%, y la dopamina con algo más del 27% de incremento (4 pg por ml). En estos casos la diferencia es fue muy acusada y estadísticamente significativa en la diferencia de los valores finales con respecto a los basales en el periodo de consumo de producto ($p<0.01$), no siendo así en el caso del placebo en ambos casos para noradrenalina ($p=0.72$) y dopamina ($p=0.22$) (Figura 24).

Tabla 10. Evolución de resultados obtenidos en el tiempo con producto y placebo en niveles plasmáticos de catecolaminas.				
	CORTISOL (mcg/L)	ADRENALINA (pg/ml)	NORADREN ALINA (pg/ml)	DOPAMINA (pg/ml)
PI	14,32 ± 5,22	22,05 ± 8,03	361,86 ± 110,58	15,50 ± 3,09
PF	13,92 ± 3,72	23,50 ± 6,98	367,06 ± 102,28	16,25 ± 4,60
PDI	13,42 ± 4,07	22,67 ± 8,61	343,64 ± 96,38	15,43 ± 2,66
PDF	13,87 ± 4,03	23,91 ± 6,97	382,85 ± 83,88	19,61 ± 5,73
Resultados expresados en µg/L para cortisol, pg/ml para adrenalina, noradrenalina y dopamina.				

Si se comparan los resultados obtenidos en el presente estudio de intervención en cuanto a concentraciones plasmáticas de catecolaminas cuando se sometieron los voluntarios a consumos de diferentes preparados o alimentos con

alto contenido en polifenoles de estudios de intervención realizados por otros autores, son similares.

En el caso del cortisol, debido a que los niveles de cortisol en plasma pueden variar a las horas de haber consumido los productos con alto contenido en polifenoles, estos valores no han sido significativos estadísticamente, como indicó este grupo en 2015 evaluando el cortisol como indicador de estrés muscular (220). Otros autores han reportado descensos de los niveles en plasma (221) o en saliva (222) o no variación de estos niveles (156, 180), como ha sido nuestro caso.

Cuando se ha analizado la evolución de la adrenalina, en la que no se observa ninguna variación reseñable, se ha puesto de manifiesto en recientes revisiones en la que no se resalta cambio alguno en este neurotransmisor, algo que si ocurre en otros como acetilcolina, dopamina o noradrenalina (223), como veremos posteriormente.

A pesar de que tanto adrenalina como noradrenalina se liberen en sangre y por tanto aparezcan en condiciones por ejemplo de estímulos como el estrés en una respuesta adrenérgica, el suministro de polifenoles en la dieta provoca aumentos la segunda de ellas. Algo similar han puesto de manifiesto diversos autores en este sentido, siendo una respuesta similar tanto para noradrenalina como dopamina en pacientes de edad avanzada con enfermedades neurodegenerativas (224, 225), relacionado con la ansiedad (226), con la mejora cognitiva (190) o en estudios relacionados con la depresión o el tratamiento de la misma al inhibir en este caso la recaptación de ambos neurotransmisores (227-229).

La noradrenalina tiene un significado especial relacionado con la atención y el estado de alerta y es especialmente significativo en este caso como exponen diversos autores (230, 231), mostrando especial importancia el incremento experimentado cuando se suministra producto contra placebo.

Al realizar la comparación entre grupos, las variaciones son similares a lo que ocurría dentro de los grupos entre periodo inicial y final. Las hormonas tiroideas experimentan muy pocas diferencias en el caso de T3 y TSH, habiendo un aumento para placebo y una disminución de este valor en porcentaje para consumo de producto para T4. La IgA experimenta una variación muy poco acusada. Todas estas variaciones no son estadísticamente significativas.

En el caso de las catecolaminas, el cortisol experimenta un descenso en porcentaje y un aumento en el consumo de producto, aunque estas variaciones son escasas. Las diferencias entre placebo y producto en la adrenalina son muy bajas y estadísticamente no significativas. La diferencia en el caso de la noradrenalina si es importante, aunque no es estadísticamente significativa ($p > 0,05$). La diferencia más relevante se da en la dopamina donde hay una diferencia muy relevante y estadísticamente significativa ($p = 0,00$).

Estos resultados se correlacionan con los obtenidos en los test, especialmente es el test TESEN y RIST donde se obtienen resultados con diferencias estadísticamente significativas que expresan mejoras en las funciones ejecutivas. Desde el punto de vista neuroquímico, estas funciones cognitivas de alto nivel como la secuenciación, resolución de problemas y atención selectiva, se relacionan con cambios en los sistemas dopaminérgicos (232).

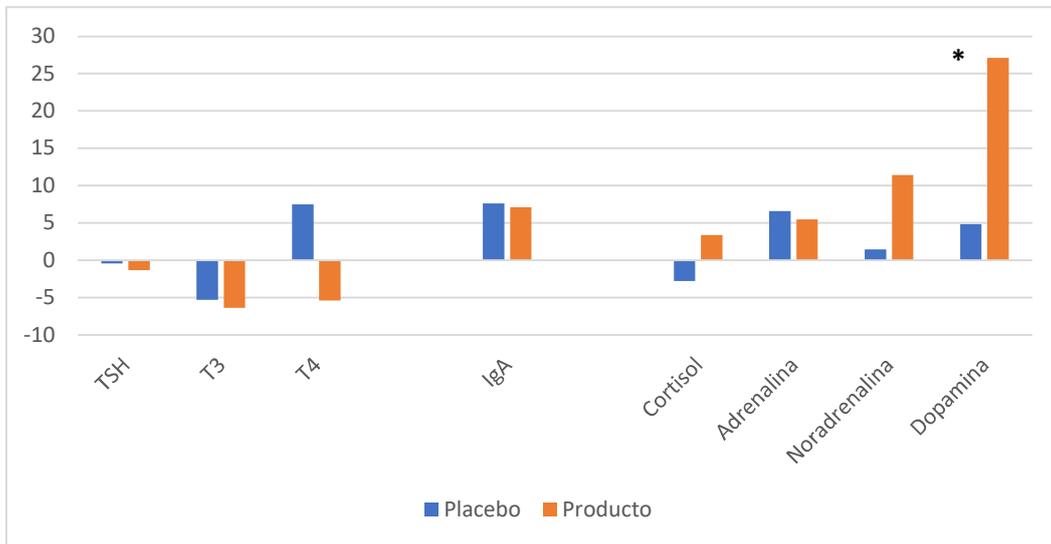


Figura 17. Evolución de resultados en las distintas variables de variables bioquímicas de hormonas tiroideas, IgA y catecolaminas entre grupos placebo y producto en porcentajes de aumento o disminución. Los asteriscos indican diferencias significativas.

VI - CONCLUSIONES

VI - CONCLUSIONES

1.- El consumo del producto a estudio mejora frente a placebo, tal y como indican todas las variables de los test de Stroop y TESEN, mejorando la función ejecutiva en cuanto a memoria de trabajo (capacidad para planificar, alternancia y fluidez de la respuesta motora), dado que sobre todo las puntuaciones finales de E en test TESEN han sido significativamente más elevadas que las comparadas con placebo, además de la velocidad de procesamiento incluso cuando se presentan interferencias semánticas (PC). Por otro lado, según los resultados obtenidos en la realización del test RIST, el consumo del producto mejora claramente la memoria a corto plazo ya sea verbal o no verbal.

2- De acuerdo a los valores obtenidos en las pruebas bioquímicas, no se experimentan cambios en IgA en plasma en consumo de producto que se traduzca en mejora de la inmunidad.

3.- Los niveles de vitaminas en sangre con el consumo de producto no experimentan aumento a pesar del alto contenido en vitamina E en el mismo. Los niveles de vitamina B12 tampoco experimentan cambios significativos. Un elevado contenido en vitaminas en producto a estudio no se traduce en un elevado contenido en plasma sanguíneo.

4.- El consumo de producto a estudio reduce homocisteinemia, reduciendo así el riesgo de padecer enfermedades isquémicas y otros accidentes cardiovasculares en los que aminoácido está correlacionado.

5.- El consumo de producto muestra una fuerte disminución de los marcadores de estrés oxidativo, mostrando como en el caso anterior una relación positiva entre el consumo de producto a estudio y los niveles de oxidación celular, reduciendo las especies reactivas de oxígeno y ejerciendo una elevada capacidad

antioxidante en los tejidos, que previenen diversas enfermedades degenerativas y enlentece el envejecimiento y sus signos.

6.- No se muestra una relación directa entre el consumo de producto y los niveles de hormonas tiroideas en el organismo. Los resultados contradictorios demuestran que el consumo de producto no influye en los niveles de estas hormonas tanto en T4 como sus precursores o prohormonas.

7.- Los niveles de catecolaminas, especialmente dopamina cuando se consume producto, muestran un efecto de clara mejora de las funciones cognitivas, especialmente la atención y otras funciones ejecutivas correlacionado con los resultados de los test anteriormente descritos. Este incremento sanguíneo de estos neurotransmisores, sobre todo en el caso de la noradrenalina actúa como en el caso de la dopamina mejorando las funciones ejecutivas incrementando el flujo sanguíneo cerebrovascular y mejorando la plasticidad sináptica y la síntesis de proteína CREB afectando a la síntesis de proteína de un gen que interviene en los procesos de memoria. Aunque los niveles de dopamina y noradrenalina, si relacionadas con el sistema nervioso central sufren un importante incremento, no ocurre así con la adrenalina y el cortisol. Este efecto muestra que el consumo de producto no produce respuesta adrenérgica vinculada al estrés, a pesar del incremento de otras catecolaminas.

8.- En resumen, el producto a estudio puede suponer un sistema alternativo en la prevención mediante el consumo de fruta y verdura en población joven del deterioro cognitivo normal provocado por la edad y signos de envejecimiento celular en asociación con un adecuado estilo de vida además de una mejora de las funciones cognitivas (memoria inmediata y de trabajo, atención sostenida y selectiva).

VII - REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

VII- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Nishida C, Uauy R, Kumanyika S, Shetty P. The joint WHO/FAO expert consultation on diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: process, product and policy implications. *Public health nutrition*. 2004;7(1a):245-50.
2. Organization WH. Fruit and vegetables for health: report of the Joint FAO. 2005.
3. Proposed Second W. European Action Plan for Food and Nutrition Policy 2007–2012. World health organisation. 2007.
4. Health UDo, Services H. Dietary guidelines for Americans 2015-2020: Skyhorse Publishing Inc.; 2017.
5. Lamprecht M, Obermayer G, Steinbauer K, Cvirn G, Hofmann L, Ledinski G, et al. Supplementation with a juice powder concentrate and exercise decrease oxidation and inflammation, and improve the microcirculation in obese women: randomised controlled trial data. *British Journal of Nutrition*. 2013;110(9):1685-95.
6. Dreiseitel A, Schreier P, Oehme A, Locher S, Rogler G, Piberger H, et al. Inhibition of proteasome activity by anthocyanins and anthocyanidins. *Biochemical and biophysical research communications*. 2008;372(1):57-61.
7. Traustadóttir T, Davies SS, Stock AA, Su Y, Heward CB, Roberts LJ, et al. Tart cherry juice decreases oxidative stress in healthy older men and women. *The Journal of nutrition*. 2009;139(10):1896-900.
8. Dragsted LO, Krath B, Ravn-Haren G, Vogel UB, Vinggaard AM, Jensen PB, et al. Biological effects of fruit and vegetables. *Proceedings of the Nutrition Society*. 2006;65(1):61-7.
9. MAPA. La alimentación en España, 2000. Secretaría General de Agricultura y Alimentación Madrid,, Spain; 2001.
10. Zamora-Ros R, Andres-Lacueva C, Lamuela-Raventós RM, Berenguer T, Jakszyn P, Barricarte A, et al. Estimation of dietary sources and flavonoid intake in a Spanish adult population (EPIC-Spain). *Journal of the American Dietetic Association*. 2010;110(3):390-8.

11. Kozłowska A, Przekop D, Szostak-Wegierek D. Flavonoids intake among Polish and Spanish students. *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny*. 2015;66(4).
12. Saura-Calixto F, Goni I. Definition of the Mediterranean diet based on bioactive compounds. *Critical reviews in food science and nutrition*. 2009;49(2):145-52.
13. Meyer KA, Sijtsma FP, Nettleton JA, Steffen LM, Van Horn L, Shikany JM, et al. Dietary patterns are associated with plasma F2-isoprostanes in an observational cohort study of adults. *Free Radical Biology and Medicine*. 2013;57:201-9.
14. Sofi F, Macchi C, Abbate R, Gensini GF, Casini A. Mediterranean diet and health status: an updated meta-analysis and a proposal for a literature-based adherence score. *Public health nutrition*. 2014;17(12):2769-82.
15. Pérez-Jiménez J, Díaz-Rubio ME, Saura-Calixto F. Contribution of macromolecular antioxidants to dietary antioxidant capacity: a study in the Spanish Mediterranean diet. *Plant foods for human nutrition*. 2015;70(4):365-70.
16. McEvoy L, Land G. Life-style and death patterns of the Missouri RLDS church members. *American journal of public health*. 1981;71(12):1350-7.
17. Miller AB, Bulbrook R. UICC multidisciplinary project on breast cancer: the epidemiology aetiology and prevention of breast cancer. *International journal of cancer*. 1986;37(2):173-7.
18. Grosso G, Bella F, Godos J, Sciacca S, Del Rio D, Ray S, et al. Possible role of diet in cancer: Systematic review and multiple meta-analyses of dietary patterns, lifestyle factors, and cancer risk. *Nutrition reviews*. 2017;75(6):405-19.
19. Wang J, Tang L, Wang J-S. Biomarkers of dietary polyphenols in cancer studies: current evidence and beyond. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2015;2015.
20. Kim Y, Keogh JB, Clifton PM. Polyphenols and glycemic control. *Nutrients*. 2016;8(1):17.
21. Heistad DD, Wakisaka Y, Miller J, Chu Y, Pena-Silva R. Novel aspects of oxidative stress in cardiovascular diseases. *Circulation Journal*. 2009;73(2):201-7.
22. Liu S, Manson JE, Lee I-M, Cole SR, Hennekens CH, Willett WC, et al. Fruit and vegetable intake and risk of cardiovascular disease: the Women's Health Study. *The American journal of clinical nutrition*. 2000;72(4):922-8.

23. Henson D, Nieman D, Davis J, Dumke C, Gross S, Murphy A, et al. Post-160-km race illness rates and decreases in granulocyte respiratory burst and salivary IgA output are not countered by quercetin ingestion. *International journal of sports medicine*. 2008;29(10):856-63.
24. Mattei J, Bhupathiraju S, Tucker KL. Higher adherence to a diet score based on American Heart Association recommendations is associated with lower odds of allostatic load and metabolic syndrome in Puerto Rican adults. *The Journal of nutrition*. 2013;143(11):1753-9.
25. Mancini A, Martorana GE, Magini M, Festa R, Raimondo S, Silvestrini A, et al. Oxidative stress and metabolic syndrome: effects of a natural antioxidants enriched diet on insulin resistance. *Clinical nutrition ESPEN*. 2015;10(2):e52-e60.
26. Almoosawi S, Tsang C, Ostertag LM, Fyfe L, Al-Dujaili EA. Differential effect of polyphenol-rich dark chocolate on biomarkers of glucose metabolism and cardiovascular risk factors in healthy, overweight and obese subjects: a randomized clinical trial. *Food & function*. 2012;3(10):1035-43.
27. Tsao R. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*. 2010;2(12):1231-46.
28. Del Rio D, Rodriguez-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. *Antioxidants & redox signaling*. 2013;18(14):1818-92.
29. Veitch NC, Grayer RJ. Flavonoids and their glycosides, including anthocyanins. *Natural product reports*. 2008;25(3):555-611.
30. Veitch NC, Grayer RJ. Flavonoids and their glycosides, including anthocyanins. *Natural product reports*. 2011;28(10):1626-95.
31. Nile SH, Park SW. Edible berries: Bioactive components and their effect on human health. *Nutrition*. 2014;30(2):134-44.
32. Joseph JA, Shukitt-Hale B, Willis LM. Grape juice, berries, and walnuts affect brain aging and behavior. *The Journal of nutrition*. 2009;139(9):1813S-7S.
33. Chen WQ, Zhao XL, Hou Y, Li ST, Hong Y, Wang DL, et al. Protective effects of green tea polyphenols on cognitive impairments induced by psychological stress in rats. *Behav Brain Res*. 2009;202(1):71-6.

34. Manach C, Williamson G, Morand C, Scalbert A, Rémésy C. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *The American journal of clinical nutrition*. 2005;81(1):230S-42S.
35. Pabich M, Materska M. Biological Effect of Soy Isoflavones in the Prevention of Civilization Diseases. *Nutrients*. 2019;11(7):1660.
36. Williams CA, Grayer RJ. Anthocyanins and other flavonoids. *Natural product reports*. 2004;21(4):539-73.
37. Khan I, Yousif AM, Johnson SK, Gamlath S. Acute effect of sorghum flour-containing pasta on plasma total polyphenols, antioxidant capacity and oxidative stress markers in healthy subjects: A randomised controlled trial. *Clinical nutrition*. 2015;34(3):415-21.
38. Koushki M, Lakzaei M, Khodabandehloo H, Hosseini H, Meshkani R, Panahi G. Therapeutic effect of resveratrol supplementation on oxidative stress: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *Postgraduate Medical Journal*. 2019;postgradmedj-2019-136415.
39. Panche A, Diwan A, Chandra S. Flavonoids: an overview. *Journal of nutritional science*. 2016;5.
40. Limón D, Díaz A, Mendieta L, Luna F, Zenteno E, Guevara J. Los flavonoides: mecanismo de acción, neuroprotección y efectos farmacológicos. *Mensaje bioquímico*. 2010;34(1):143-55.
41. Sand PG, Dreiseitel A, Stang M, Schreier P, Oehme A, Locher S, et al. Cytochrome P450 2C19 inhibitory activity of common berry constituents. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*. 2010;24(2):304-7.
42. Weisel T, Baum M, Eisenbrand G, Dietrich H, Will F, Stockis JP, et al. An anthocyanin/polyphenolic-rich fruit juice reduces oxidative DNA damage and increases glutathione level in healthy probands. *Biotechnology Journal: Healthcare Nutrition Technology*. 2006;1(4):388-97.
43. Dulebohn RV, Yi W, Srivastava A, Akoh CC, Krewer G, Fischer JG. Effects of blueberry (*Vaccinium ashei*) on DNA damage, lipid peroxidation, and phase II enzyme activities in rats. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2008;56(24):11700-6.
44. Afzal M, Redha A, AlHasan R. Anthocyanins Potentially Contribute to Defense against Alzheimer's Disease. *Molecules*. 2019;24(23):4255.

45. Péter S, Holguin F, Wood LG, Clougherty JE, Raederstorff D, Antal M, et al. Nutritional solutions to reduce risks of negative health impacts of air pollution. *Nutrients*. 2015;7(12):10398-416.
46. Davalos A, de la Pena G, Sanchez-Martin CC, Teresa Guerra M, Bartolome B, Lasuncion MA. Effects of red grape juice polyphenols in NADPH oxidase subunit expression in human neutrophils and mononuclear blood cells. *Br J Nutr*. 2009;102(8):1125-35.
47. Gorecki P, Burke DL, Chapple IL, Hemming K, Saund D, Pearson D, et al. Perioperative supplementation with a fruit and vegetable juice powder concentrate and postsurgical morbidity: A double-blind, randomised, placebo-controlled clinical trial. *Clinical Nutrition*. 2018;37(5):1448-55.
48. García-Flores LA, Medina S, Oger C, Galano J-M, Durand T, Cejuela R, et al. Lipidomic approach in young adult triathletes: effect of supplementation with a polyphenols-rich juice on neuroprostane and F 2-dihomo-isoprostane markers. *Food & function*. 2016;7(10):4343-55.
49. Joseph JA, Shukitt-Hale B, Willis LM. Grape juice, berries, and walnuts affect brain aging and behavior. *J Nutr*. 2009;139(9):1813S-7S.
50. Sarubbo F, Moranta D, Pani G. Dietary polyphenols and neurogenesis: Molecular interactions and implication for brain ageing and cognition. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2018;90:456-70.
51. Miller MG, Shukitt-Hale B. Berry fruit enhances beneficial signaling in the brain. *J Agric Food Chem*. 2012;60(23):5709-15.
52. Castilla P, Dávalos A, Teruel JL, Cerrato F, Fernández-Lucas M, Merino JL, et al. Comparative effects of dietary supplementation with red grape juice and vitamin E on production of superoxide by circulating neutrophil NADPH oxidase in hemodialysis patients. *The American journal of clinical nutrition*. 2008;87(4):1053-61.
53. Guo C, Wei J, Yang J, Xu J, Pang W, Jiang Y. Pomegranate juice is potentially better than apple juice in improving antioxidant function in elderly subjects. *Nutrition Research*. 2008;28(2):72-7.
54. Battino M, Beekwilder J, Denoyes-Rothan B, Laimer M, McDougall GJ, Mezzetti B. Bioactive compounds in berries relevant to human health. *Nutrition Reviews*. 2009;67(suppl_1):S145-S50.

55. Skrovankova S, Sumczynski D, Mlcek J, Jurikova T, Sochor J. Bioactive compounds and antioxidant activity in different types of berries. *International journal of molecular sciences*. 2015;16(10):24673-706.
56. Hollman PC, Cassidy A, Comte B, Heinonen M, Richelle M, Richling E, et al. The biological relevance of direct antioxidant effects of polyphenols for cardiovascular health in humans is not established. *The Journal of nutrition*. 2011;141(5):989S-1009S.
57. Lamport DJ, Lawton CL, Merat N, Jamson H, Myrissa K, Hofman D, et al. Concord grape juice, cognitive function, and driving performance: a 12-wk, placebo-controlled, randomized crossover trial in mothers of preteen children. *Am J Clin Nutr*. 2016;103(3):775-83.
58. Rodriguez-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.
59. Verhagen H, Coolen S, Duchateau G, Hamer M, Kyle J, Rechner A. Assessment of the efficacy of functional food ingredients—introducing the concept “kinetics of biomarkers”. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 2004;551(1-2):65-78.
60. Vauzour D, Rodriguez-Mateos A, Corona G, Oruna-Concha MJ, Spencer JP. Polyphenols and human health: prevention of disease and mechanisms of action. *Nutrients*. 2010;2(11):1106-31.
61. Marrazzo G, Bosco P, La Delia F, Scapagnini G, Di Giacomo C, Malaguarnera M, et al. Neuroprotective effect of silibinin in diabetic mice. *Neurosci Lett*. 2011;504(3):252-6.
62. Afshari K, Haddadi NS, Haj-Mirzaian A, Farzaei MH, Rohani MM, Akramian F, et al. Natural flavonoids for the prevention of colon cancer: A comprehensive review of preclinical and clinical studies. *Journal of cellular physiology*. 2019;234(12):21519-46.
63. Marhuenda J, Medina S, Martínez-Hernández P, Arina S, Zafrilla P, Mulero J, et al. Melatonin and hydroxytyrosol protect against oxidative stress related to the central nervous system after the ingestion of three types of wine by healthy volunteers. *Food & function*. 2017;8(1):64-74.
64. Sies H, Stahl W, Sevanian A. Nutritional, dietary and postprandial oxidative stress. *The Journal of nutrition*. 2005;135(5):969-72.

65. Basu A, Newman ED, Bryant AL, Lyons TJ, Betts NM. Pomegranate polyphenols lower lipid peroxidation in adults with type 2 diabetes but have no effects in healthy volunteers: a pilot study. *Journal of nutrition and metabolism*. 2013;2013.
66. Ward NC, Hodgson JM, Croft KD, Burke V, Beilin LJ, Puddey IB. The combination of vitamin C and grape-seed polyphenols increases blood pressure: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Journal of hypertension*. 2005;23(2):427-34.
67. Oboh G, Ademiluyi AO, Agunloye OM, Ademosun AO, Ogunsakin BG. Inhibitory effect of garlic, purple onion, and white onion on key enzymes linked with type 2 diabetes and hypertension. *Journal of dietary supplements*. 2019;16(1):105-18.
68. Ward NC, Hodgson JM, Croft KD, Burke V, Beilin LJ, Puddey IB. The combination of vitamin C and grape-seed polyphenols increases blood pressure: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Hypertens*. 2005;23(2):427-34.
69. Odai T, Terauchi M, Kato K, Hirose A, Miyasaka N. Effects of Grape Seed Proanthocyanidin Extract on Vascular Endothelial Function in Participants with Prehypertension: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study. *Nutrients*. 2019;11(12):2844.
70. Meyer KA, Sijtsma FP, Nettleton JA, Steffen LM, Van Horn L, Shikany JM, et al. Dietary patterns are associated with plasma F(2)-isoprostanes in an observational cohort study of adults. *Free Radic Biol Med*. 2013;57:201-9.
71. Stedile N, Canuto R, de Col CD, de Sene JS, Stolfo A, Wisintainer GNdS, et al. Dietary total antioxidant capacity is associated with plasmatic antioxidant capacity, nutrient intake and lipid and DNA damage in healthy women. *International journal of food sciences and nutrition*. 2016;67(4):479-88.
72. Ávila-Escalante ML, Coop-Gamas F, Cervantes-Rodríguez M, Méndez-Iturbide D, Aranda-González II. The effect of diet on oxidative stress and metabolic diseases—Clinically controlled trials. *Journal of Food Biochemistry*. 2020:e13191.
73. Miller MG, Shukitt-Hale B. Berry fruit enhances beneficial signaling in the brain. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2012;60(23):5709-15.
74. Calder PC, Albers R, Antoine J-M, Blum S, Bourdet-Sicard R, Ferns G, et al. Inflammatory disease processes and interactions with nutrition. *British Journal of Nutrition*. 2009;101(S1):1-45.

75. Grabs V, Nieman DC, Haller B, Halle M, Scherr J. The effects of oral hydrolytic enzymes and flavonoids on inflammatory markers and coagulation after marathon running: study protocol for a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *BMC Sports Sci Med Rehabil.* 2014;6(1):8.
76. Hermsdorff HHM, Barbosa KB, Volp ACP, Puchau B, Bressan J, Zulet MA, et al. Vitamin C and fibre consumption from fruits and vegetables improves oxidative stress markers in healthy young adults. *British Journal of Nutrition.* 2012;107(8):1119-27.
77. de Jager CA, Dye L, de Bruin EA, Butler L, Fletcher J, Lamport DJ, et al. Criteria for validation and selection of cognitive tests for investigating the effects of foods and nutrients. *Nutrition reviews.* 2014;72(3):162-79.
78. Gilsean M. Nutrition & health claims in the European Union: a regulatory overview. *Trends in Food Science & Technology.* 2011;22(10):536-42.
79. Bytoft B, Knorr S, Vlachova Z, Jensen RB, Mathiesen ER, Beck-Nielsen H, et al. Long-term cognitive implications of intrauterine hyperglycemia in adolescent offspring of women with type 1 diabetes (the EPICOM Study). *Diabetes Care.* 2016;39(8):1356-63.
80. Golden CJ, Freshwater SM. Stroop color and word test. 1978.
81. Zhu N, Jacobs DR, Meyer K, He K, Launer L, Reis J, et al. Cognitive function in a middle aged cohort is related to higher quality dietary pattern 5 and 25 years earlier: the CARDIA study. *The journal of nutrition, health & aging.* 2015;19(1):33-8.
82. Carillon J, Notin C, Schmitt K, Simoneau G, Lacan D. Dietary supplementation with a superoxide dismutase-melon concentrate reduces stress, physical and mental fatigue in healthy people: A randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Nutrients.* 2014;6(6):2348-59.
83. Whyte AR, Williams CM. Effects of a single dose of a flavonoid-rich blueberry drink on memory in 8 to 10 y old children. *Nutrition.* 2015;31(3):531-4.
84. Macready AL, Butler LT, Kennedy OB, Ellis JA, Williams CM, Spencer JP. Cognitive tests used in chronic adult human randomised controlled trial micronutrient and phytochemical intervention studies. *Nutrition research reviews.* 2010;23(2):200-29.
85. Lamport DJ, Lawton CL, Merat N, Jamson H, Myrissa K, Hofman D, et al. Concord grape juice, cognitive function, and driving performance: a 12-wk,

placebo-controlled, randomized crossover trial in mothers of preteen children. *The American journal of clinical nutrition*. 2016;103(3):775-83.

86. Wightman EL, Haskell-Ramsay CF, Reay JL, Williamson G, Dew T, Zhang W, et al. The effects of chronic trans-resveratrol supplementation on aspects of cognitive function, mood, sleep, health and cerebral blood flow in healthy, young humans. *British Journal of Nutrition*. 2015;114(9):1427-37.

87. Scholey AB, French SJ, Morris PJ, Kennedy DO, Milne AL, Haskell CF. Consumption of cocoa flavanols results in acute improvements in mood and cognitive performance during sustained mental effort. *Journal of psychopharmacology*. 2010;24(10):1505-14.

88. Philip P, Sagaspe P, Taillard J, Mandon C, Constans J, Pourtau L, et al. Acute Intake of a Grape and Blueberry Polyphenol-Rich Extract Ameliorates Cognitive Performance in Healthy Young Adults During a Sustained Cognitive Effort. *Antioxidants*. 2019;8(12):650.

89. Macready AL, Butler LT, Kennedy OB, Ellis JA, Williams CM, Spencer JP. Cognitive tests used in chronic adult human randomised controlled trial micronutrient and phytochemical intervention studies. *Nutrition research reviews*. 2010;23(2):200-29.

90. Windham BG, Simpson BN, Lirette S, Bridges J, Bielak L, Peyser PA, et al. Associations between inflammation and cognitive function in African Americans and European Americans. *Journal of the American Geriatrics Society*. 2014;62(12):2303-10.

91. Portellano J, Martínez Arias RT. *Test de los Senderos*. Madrid, España: TEA Ediciones; 2014.

92. Raines TC, Reynolds CR, Kamphaus RW. *The Reynolds Intellectual Assessment Scales, and the Reynolds Intellectual Screening Test*. 2018.

93. Greve A, Jepsen JRM, Mortensen EL, Uher R, Mackenzie L, Foldager L, et al. F84. ASSOCIATIONS BETWEEN INTELLIGENCE, VERBAL WORKING MEMORY AND PROCESSING SPEED IN PARENTS WITH SCHIZOPHRENIA OR BIPOLAR DISORDER AND THEIR 7-YEAR OLD OFFSPRING. *Schizophrenia bulletin*. 2018;44(suppl_1):S252-S.

94. Polidori MC, Praticó D, Mangialasche F, Mariani E, Aust O, Anlasik T, et al. High fruit and vegetable intake is positively correlated with antioxidant status and

- cognitive performance in healthy subjects. *Journal of Alzheimer's disease*. 2009;17(4):921-7.
95. Gu Y, Scarmeas N. Dietary patterns in Alzheimer's disease and cognitive aging. *Current Alzheimer Research*. 2011;8(5):510-9.
96. Chen W-Q, Zhao X-L, Hou Y, Li S-T, Hong Y, Wang D-L, et al. Protective effects of green tea polyphenols on cognitive impairments induced by psychological stress in rats. *Behavioural brain research*. 2009;202(1):71-6.
97. Rodriguez-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. *Archives of toxicology*. 2014;88(10):1803-53.
98. Thapa A, Carroll NJ. Dietary modulation of oxidative stress in Alzheimer's disease. *International journal of molecular sciences*. 2017;18(7):1583.
99. Lefèvre-Arbogast S, Gaudout D, Bensalem J, Letenneur L, Dartigues J-F, Hejblum BP, et al. Pattern of polyphenol intake and the long-term risk of dementia in older persons. *Neurology*. 2018;90(22):e1979-e88.
100. Beking K, Vieira A. Flavonoid intake and disability-adjusted life years due to Alzheimer's and related dementias: a population-based study involving twenty-three developed countries. *Public health nutrition*. 2010;13(9):1403-9.
101. Calapai G, Crupi A, Firenzuoli F, Inferrera G, Squadrito F, Parisi A, et al. Serotonin, norepinephrine and dopamine involvement in the antidepressant action of hypericum perforatum. *Pharmacopsychiatry*. 2001;34(02):45-9.
102. Spencer JP. The impact of fruit flavonoids on memory and cognition. *British Journal of Nutrition*. 2010;104(S3):S40-S7.
103. Farzaei MH, Bahramsoltani R, Abbasabadi Z, Braidly N, Nabavi SM. Role of green tea catechins in prevention of age-related cognitive decline: Pharmacological targets and clinical perspective. *Journal of cellular physiology*. 2019;234(3):2447-59.
104. FÚart C, Samieri C, Rondeau V, Amieva H, Portet F, Dartigues J-F, et al. Adherence to a Mediterranean diet, cognitive decline, and risk of dementia. *Jama*. 2009;302(6):638-48.
105. Pistollato F, Sumalla Cano S, Elio I, Masias Vergara M, Giampieri F, Battino M. Associations between sleep, cortisol regulation, and diet: possible implications for the risk of Alzheimer disease. *Advances in Nutrition*. 2016;7(4):679-89.

106. Sabia S, Nabi H, Kivimaki M, Shipley MJ, Marmot MG, Singh-Manoux A. Health behaviors from early to late midlife as predictors of cognitive function: The Whitehall II study. *American journal of epidemiology*. 2009;170(4):428-37.
107. Khalid S, Barfoot K, May G, Lamport D, Reynolds S, Williams C. Effects of acute blueberry flavonoids on mood in children and young adults. *Nutrients*. 2017;9(2):158.
108. Holt EM, Steffen LM, Moran A, Basu S, Steinberger J, Ross JA, et al. Fruit and vegetable consumption and its relation to markers of inflammation and oxidative stress in adolescents. *J Am Diet Assoc*. 2009;109(3):414-21.
109. Smith C, Walton A, Loveland A, Umberger G, Kryscio R, Gash D. Memories that last in old age: motor skill learning and memory preservation. *Neurobiology of aging*. 2005;26(6):883-90.
110. Takeda E, Terao J, Nakaya Y, Miyamoto K-i, Baba Y, Chuman H, et al. Stress control and human nutrition. *The Journal of Medical Investigation*. 2004;51(3, 4):139-45.
111. Spencer JP. The impact of fruit flavonoids on memory and cognition. *Br J Nutr*. 2010;104 Suppl 3:S40-7.
112. Swaab DF, Bao A-M, Lucassen PJ. The stress system in the human brain in depression and neurodegeneration. *Ageing research reviews*. 2005;4(2):141-94.
113. Francis S, Head K, Morris P, Macdonald I. The effect of flavanol-rich cocoa on the fMRI response to a cognitive task in healthy young people. *Journal of cardiovascular pharmacology*. 2006;47:S215-S20.
114. Lamport DJ, Pal D, Macready AL, Barbosa-Boucas S, Fletcher JM, Williams CM, et al. The effects of flavanone-rich citrus juice on cognitive function and cerebral blood flow: an acute, randomised, placebo-controlled cross-over trial in healthy, young adults. *British journal of nutrition*. 2016;116(12):2160-8.
115. Rendeiro C, Rhodes JS, Spencer JP. The mechanisms of action of flavonoids in the brain: direct versus indirect effects. *Neurochemistry international*. 2015;89:126-39.
116. Wiedemann AU, Lippke S, Schwarzer R. Multiple plans and memory performance: Results of a randomized controlled trial targeting fruit and vegetable intake. *Journal of Behavioral Medicine*. 2012;35(4):387-92.

117. Nemetchek MD, Stierle AA, Stierle DB, Lurie DI. The Ayurvedic plant *Bacopa monnieri* inhibits inflammatory pathways in the brain. *Journal of ethnopharmacology*. 2017;197:92-100.
118. Bell L, Lamport DJ, Butler LT, Williams CM. A Review of the Cognitive Effects Observed in Humans Following Acute Supplementation with Flavonoids, and Their Associated Mechanisms of Action. *Nutrients*. 2015;7(12):10290-306.
119. Péneau S, Galan P, Jeandel C, Ferry M, Andreeva V, Hercberg S, et al. Fruit and vegetable intake and cognitive function in the SU. VI. MAX 2 prospective study. *The American journal of clinical nutrition*. 2011;94(5):1295-303.
120. Allom V, Mullan B. Individual differences in executive function predict distinct eating behaviours. *Appetite*. 2014;80:123-30.
121. Macready AL, Kennedy OB, Ellis JA, Williams CM, Spencer JP, Butler LT. Flavonoids and cognitive function: a review of human randomized controlled trial studies and recommendations for future studies. *Genes & nutrition*. 2009;4(4):227-42.
122. Rendeiro C, Guerreiro JD, Williams CM, Spencer JP. Flavonoids as modulators of memory and learning: molecular interactions resulting in behavioural effects. *Proceedings of the Nutrition Society*. 2012;71(2):246-62.
123. Kesse-Guyot E, Andreeva VA, Lassale C, Hercberg S, Galan P. Clustering of midlife lifestyle behaviors and subsequent cognitive function: a longitudinal study. *American journal of public health*. 2014;104(11):e170-e7.
124. Joseph JA, Shukitt-Hale B, Denisova NA, Bielinski D, Martin A, McEwen JJ, et al. Reversals of age-related declines in neuronal signal transduction, cognitive, and motor behavioral deficits with blueberry, spinach, or strawberry dietary supplementation. *Journal of Neuroscience*. 1999;19(18):8114-21.
125. Joseph JA, Shukitt-Hale B, Casadesus G. Reversing the deleterious effects of aging on neuronal communication and behavior: beneficial properties of fruit polyphenolic compounds. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2005;81(1):313S-6S.
126. Airoidi C, La Ferla B, D'Orazio G, Ciaramelli C, Palmioli A. Flavonoids in the treatment of Alzheimer's and other neurodegenerative diseases. *Current medicinal chemistry*. 2018;25(27):3228-46.

127. Wang J, Ferruzzi MG, Ho L, Blount J, Janle EM, Gong B, et al. Brain-targeted proanthocyanidin metabolites for Alzheimer's disease treatment. *Journal of Neuroscience*. 2012;32(15):5144-50.
128. Lamport DJ, Saunders C, Butler LT, Spencer JP. Fruits, vegetables, 100% juices, and cognitive function. *Nutrition reviews*. 2014;72(12):774-89.
129. Parmar HS, Dixit Y, Kar A. Fruit and vegetable peels: Paving the way towards the development of new generation therapeutics. *Drug discoveries & therapeutics*. 2010;4(5).
130. Houghton CA. Sulforaphane: Its "Coming of Age" as a Clinically Relevant Nutraceutical in the Prevention and Treatment of Chronic Disease. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2019;2019.
131. Poddar J, Pradhan M, Ganguly G, Chakrabarti S. Biochemical deficits and cognitive decline in brain aging: Intervention by dietary supplements. *Journal of chemical neuroanatomy*. 2019;95:70-80.
132. Yates AA, Erdman Jr JW, Shao A, Dolan LC, Griffiths JC. Bioactive nutrients-time for tolerable upper intake levels to address safety. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2017;84:94-101.
133. Dugo L, Tripodo G, Santi L, Fanali C. Cocoa Polyphenols: Chemistry, Bioavailability and Effects on Cardiovascular Performance. *Current medicinal chemistry*. 2018;25(37):4903.
134. Robinson JL, Hunter JM, Reyes-Izquierdo T, Argumedo R, Brizuela-Bastien J, Keller R, et al. Cognitive short-and long-term effects of coffee cherry extract in older adults with mild cognitive decline. *Aging, Neuropsychology, and Cognition*. 2019:1-17.
135. Wu X, Beecher GR, Holden JM, Haytowitz DB, Gebhardt SE, Prior RL. Concentrations of anthocyanins in common foods in the United States and estimation of normal consumption. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2006;54(11):4069-75.
136. Mennen LI, Walker R, Bennetau-Pelissero C, Scalbert A. Risks and safety of polyphenol consumption. *The American journal of clinical nutrition*. 2005;81(1):326S-9S.
137. Welch RW, Antoine J-M, Berta J-L, Bub A, de Vries J, Guarner F, et al. Guidelines for the design, conduct and reporting of human intervention studies to

- evaluate the health benefits of foods. *British Journal of Nutrition*. 2011;106(S2):S3-S15.
138. EFSA Panel on Dietetic Products N, Allergies. Guidance on the scientific requirements for health claims related to antioxidants, oxidative damage and cardiovascular health. *EFSA Journal*. 2011;9(12):2474.
139. Martini D, Rossi S, Biasini B, Zavaroni I, Bedogni G, Musci M, et al. Claimed effects, outcome variables and methods of measurement for health claims proposed under European Community Regulation 1924/2006 in the framework of protection against oxidative damage and cardiovascular health. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 2017;27(6):473-503.
140. Chapple IL, Milward MR, Ling-Mountford N, Weston P, Carter K, Askey K, et al. Adjunctive daily supplementation with encapsulated fruit, vegetable and berry juice powder concentrates and clinical periodontal outcomes: a double-blind RCT. *Journal of clinical periodontology*. 2012;39(1):62-72.
141. Sayago A, Marín M, Aparicio López R, Morales MT. Vitamina E y aceites vegetales. 2007.
142. Brito A, Hertrampf E, Olivares M, Gaitán D, Sánchez H, Allen LH, et al. Folatos y vitamina B12 en la salud humana. *Revista médica de Chile*. 2012;140(11):1464-75.
143. Dorjgochoo T, Gao Y-T, Chow W-H, Shu X-o, Yang G, Cai Q, et al. Major metabolite of F2-isoprostane in urine may be a more sensitive biomarker of oxidative stress than isoprostane itself. *The American journal of clinical nutrition*. 2012;96(2):405-14.
144. Santilli F, D'Ardes D, Davi G. Oxidative stress in chronic vascular disease: from prediction to prevention. *Vascular pharmacology*. 2015;74:23-37.
145. McGuire S. US department of agriculture and US department of health and human services, dietary guidelines for americans, 2010. Washington, DC: US government printing office, January 2011. Oxford University Press; 2011.
146. Meng H, Li Y, Zhang W, Zhao Y, Niu X, Guo J. The relationship between cognitive impairment and homocysteine in a B12 and folate deficient population in China: A cross-sectional study. *Medicine*. 2019;98(47):e17970.
147. Baroni L, Bonetto C, Rizzo G, Bertola C, Caberlotto L, Bazzera G. Association Between Cognitive Impairment and Vitamin B12, Folate, and

Homocysteine Status in Elderly Adults: A Retrospective Study. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2019(Preprint):1-11.

148. McCULLY KS. Chemical pathology of homocysteine. II. Carcinogenesis and homocysteine thiolactone metabolism. *Annals of Clinical & Laboratory Science*. 1994;24(1):27-59.

149. Samman S, Sivarajah G, Man JC, Ahmad ZI, Petocz P, Caterson ID. A mixed fruit and vegetable concentrate increases plasma antioxidant vitamins and folate and lowers plasma homocysteine in men. *The Journal of nutrition*. 2003;133(7):2188-93.

150. Morel DW, Hessler JR, Chisolm GM. Low density lipoprotein cytotoxicity induced by free radical peroxidation of lipid. *Journal of lipid research*. 1983;24(8):1070-6.

151. Lin F, Pei L, Zhang Q, Han W, Jiang S, Lin Y, et al. Ox-LDL induces endothelial cell apoptosis and macrophage migration by regulating caveolin-1 phosphorylation. *Journal of cellular physiology*. 2018;233(10):6683-92.

152. Hollman PC, Cassidy A, Comte B, Heinonen M, Richelle M, Richling E, et al. The biological relevance of direct antioxidant effects of polyphenols for cardiovascular health in humans is not established. *J Nutr*. 2011;141(5):989S-1009S.

153. Castañer O, Fitó M, López-Sabater MC, Poulsen HE, Nyssönen K, Schröder H, et al. The effect of olive oil polyphenols on antibodies against oxidized LDL. A randomized clinical trial. *Clinical nutrition*. 2011;30(4):490-3.

154. Aviram M, Rosenblat M, Gaitini D, Nitecki S, Hoffman A, Dornfeld L, et al. Pomegranate juice consumption for 3 years by patients with carotid artery stenosis reduces common carotid intima-media thickness, blood pressure and LDL oxidation. *Clinical Nutrition*. 2004;23(3):423-33.

155. Ibero-Baraibar I, Abete I, Navas-Carretero S, Massis-Zaid A, Martinez JA, Zulet M. Oxidised LDL levels decreases after the consumption of ready-to-eat meals supplemented with cocoa extract within a hypocaloric diet. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 2014;24(4):416-22.

156. Allgrove J, Farrell E, Gleeson M, Williamson G, Cooper K. Regular dark chocolate consumption's reduction of oxidative stress and increase of free-fatty-acid mobilization in response to prolonged cycling. *International journal of sport nutrition and exercise metabolism*. 2011;21(2):113-23.

157. Vari R, Scazzocchio B, Santangelo C, Filesi C, Galvano F, D'Archivio M, et al. Protocatechuic acid prevents oxLDL-induced apoptosis by activating JNK/Nrf2 survival signals in macrophages. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2015;2015.
158. Okazaki Y, Han Y, Kayahara M, Watanabe T, Arishige H, Kato N. Consumption of curcumin elevates fecal immunoglobulin A, an index of intestinal immune function, in rats fed a high-fat diet. *Journal of nutritional science and vitaminology*. 2010;56(1):68-71.
159. Massot-Cladera M, Abril-Gil M, Torres S, Franch A, Castell M, Perez-Cano FJ. Impact of cocoa polyphenol extracts on the immune system and microbiota in two strains of young rats. *Br J Nutr*. 2014;112(12):1944-54.
160. Johansson G, Widerström L. Change from mixed diet to lactovegetarian diet: influence on IgA levels in blood and saliva. *European Journal of Oral Sciences*. 1994;102(6):350-4.
161. Yamada K, Tachibana H. Recent topics in anti-oxidative factors. *BioFactors*. 2000;13(1-4):167-72.
162. Pierre JF, Heneghan AF, Feliciano RP, Shanmuganayagam D, Krueger CG, Reed JD, et al. Cranberry proanthocyanidins improve intestinal sIgA during elemental enteral nutrition. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*. 2014;38(1):107-14.
163. Boulpaep EL, Boron WF, Caplan MJ, Cantley L, Igarashi P, Aronson PS, et al. *Medical physiology a cellular and molecular approach*. Signal Transduct. 2009;48:27.
164. Ojule A, Osotimehin B. The influence of iodine deficiency on the cognitive performance of school children in Saki, south-west Nigeria. *African journal of medicine and medical sciences*. 1998;27(1-2):95-9.
165. Gonçalves CFL, dos Santos MCdS, Ginabreda MG, Fortunato RS, de Carvalho DP, Ferreira ACF. Flavonoid rutin increases thyroid iodide uptake in rats. *PloS one*. 2013;8(9):e73908.
166. Giuliani C, Noguchi Y, Harii N, Napolitano G, Tatone D, Bucci I, et al. The flavonoid quercetin regulates growth and gene expression in rat FRTL-5 thyroid cells. *Endocrinology*. 2007;149(1):84-92.

167. Danilo Q, Gloger S, Valdivieso S, Ivelic J, Fardella C. Mood disorders, psychopharmacology and thyroid hormones. *Revista medica de Chile*. 2004;132(11):1413-24.
168. Kanazawa K, Sakakibara H. High content of dopamine, a strong antioxidant, in cavendish banana. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2000;48(3):844-8.
169. Parmar HS, Kar A. Protective role of *Mangifera indica*, *Cucumis melo* and *Citrullus vulgaris* peel extracts in chemically induced hypothyroidism. *Chemico-biological interactions*. 2009;177(3):254-8.
170. Magrone T, Tafaro A, Jirillo F, Amati L, Jirillo E, Covelli V. Elicitation of immune responsiveness against antigenic challenge in age-related diseases: effects of red wine polyphenols. *Current pharmaceutical design*. 2008;14(26):2749.
171. Huebbe P, Giller K, de Pascual-Teresa S, Arkenau A, Adolphi B, Portius S, et al. Effects of blackcurrant-based juice on atherosclerosis-related biomarkers in cultured macrophages and in human subjects after consumption of a high-energy meal. *British Journal of Nutrition*. 2012;108(2):234-44.
172. Molinett S, Nuñez F, Moya-León MA, Zúñiga-Hernández J. Chilean strawberry consumption protects against LPS-induced liver injury by anti-inflammatory and antioxidant capability in Sprague-Dawley rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2015;2015.
173. Karlsen A, Paur I, Bøhn SK, Sakhi AK, Borge GI, Serafini M, et al. Bilberry juice modulates plasma concentration of NF- κ B related inflammatory markers in subjects at increased risk of CVD. *European journal of nutrition*. 2010;49(6):345-55.
174. Lamprecht M, Oettl K, Schwaberg G, Hofmann P, Greilberger JF. Several indicators of oxidative stress, immunity, and illness improved in trained men consuming an encapsulated juice powder concentrate for 28 weeks. *The Journal of nutrition*. 2007;137(12):2737-41.
175. Marioni RE, Stewart MC, Murray GD, Deary IJ, Fowkes FGR, Lowe GD, et al. Peripheral levels of fibrinogen, C-reactive protein, and plasma viscosity predict future cognitive decline in individuals without dementia. *Psychosomatic medicine*. 2009;71(8):901.
176. Zuniga K, Moran N. Low serum carotenoids are associated with self-reported cognitive dysfunction and inflammatory markers in breast cancer survivors. *Nutrients*. 2018;10(8):1111.

177. Rocha NP, Teixeira AL, Scalzo PL, Barbosa IG, de Sousa MS, Morato IB, et al. Plasma levels of soluble tumor necrosis factor receptors are associated with cognitive performance in Parkinson's disease. *Movement Disorders*. 2014;29(4):527-31.
178. Farag NH, Rashed HA, Hassan M, Darweesh A, Shehata M, Hassanein T, et al. Hepatitis C infection, cognition, and inflammation in an Egyptian sample. *Journal of medical virology*. 2011;83(2):261-6.
179. Buchhave P, Zetterberg H, Blennow K, Minthon L, Janciauskiene S, Hansson O. Soluble TNF receptors are associated with A β metabolism and conversion to dementia in subjects with mild cognitive impairment. *Neurobiology of aging*. 2010;31(11):1877-84.
180. Michels N, Sioen I, Braet C, Huybrechts I, Vanaelst B, Wolters M, et al. Relation between salivary cortisol as stress biomarker and dietary pattern in children. *Psychoneuroendocrinology*. 2013;38(9):1512-20.
181. He Y, Yi W, Suino-Powell K, Zhou XE, Tolbert WD, Tang X, et al. Structures and mechanism for the design of highly potent glucocorticoids. *Cell research*. 2014;24(6):713-26.
182. Rahman MM, Ichiyanagi T, Komiyama T, Sato S, Konishi T. Effects of anthocyanins on psychological stress-induced oxidative stress and neurotransmitter status. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2008;56(16):7545-50.
183. Konrad K, Gauggel S, Schurek J. Catecholamine functioning in children with traumatic brain injuries and children with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Cognitive Brain Research*. 2003;16(3):425-33.
184. Mathews CK, Ahern KG. *Bioquímica*: Pearson Education; 2002.
185. Dvořáková M, Ježová D, Blažíček P, Trebatická J, Škodáček I, Šuba J, et al. Urinary catecholamines in children with attention deficit hyperactivity disorder (ADHD): modulation by a polyphenolic extract from pine bark (Pycnogenol®). *Nutritional neuroscience*. 2007;10(3-4):151-7.
186. Graumann R, Paris I, Martinez-Alvarado P, Rumanque P, Perez-Pastene C, Cardenas SP, et al. Oxidation of dopamine to aminochrome as a mechanism for neurodegeneration of dopaminergic systems in Parkinson's disease. Possible neuroprotective role of DT-diaphorase. *Polish journal of pharmacology*. 2002;54(6):573-80.

187. Lomiwes D, Ha B, Ngametua N, Burr NS, Cooney JM, Trower TM, et al. Timed consumption of a New Zealand blackcurrant juice support positive affective responses during a self-motivated moderate walking exercise in healthy sedentary adults. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*. 2019;16(1):1-14.
188. Fernández-Fernández L, Esteban G, Giralt M, Valente T, Bolea I, Solé M, et al. Catecholaminergic and cholinergic systems of mouse brain are modulated by LMN diet, rich in theobromine, polyphenols and polyunsaturated fatty acids. *Food & function*. 2015;6(4):1251-60.
189. Li R, Peng N, Li X-p, Le W-d. (-)-Epigallocatechin gallate regulates dopamine transporter internalization via protein kinase C-dependent pathway. *Brain research*. 2006;1097(1):85-9.
190. Kehr J, Yoshitake S, Ijiri S, Koch E, Nöldner M, Yoshitake T. Ginkgo biloba leaf extract (EGb 761®) and its specific acylated flavonol constituents increase dopamine and acetylcholine levels in the rat medial prefrontal cortex: possible implications for the cognitive enhancing properties of EGb 761®. *International psychogeriatrics*. 2012;24(S1):S25-S34.
191. Aune D, Giovannucci E, Boffetta P, Fadnes LT, Keum N, Norat T, et al. Fruit and vegetable intake and the risk of cardiovascular disease, total cancer and all-cause mortality—a systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. *International journal of epidemiology*. 2017;46(3):1029-56.
192. Roman G, Jackson R, Gadhia R, Roman A, Reis J. Mediterranean diet: The role of long-chain ω -3 fatty acids in fish; polyphenols in fruits, vegetables, cereals, coffee, tea, cacao and wine; probiotics and vitamins in prevention of stroke, age-related cognitive decline, and Alzheimer disease. *Revue neurologique*. 2019.
193. Spencer JP, Vauzour D, Rendeiro C. Flavonoids and cognition: the molecular mechanisms underlying their behavioural effects. *Archives of biochemistry and biophysics*. 2009;492(1-2):1-9.
194. Bresciani L, Martini D, Mena P, Tassotti M, Calani L, Brigati G, et al. Absorption profile of (poly) phenolic compounds after consumption of three food supplements containing 36 different fruits, vegetables, and berries. *Nutrients*. 2017;9(3):194.
195. Novembrino C, Cighetti G, De Giuseppe R, Vigna L, de Liso F, Pellegatta M, et al. Effects of encapsulated fruit and vegetable juice powder concentrates on

- oxidative status in heavy smokers. *Journal of the American College of Nutrition*. 2011;30(1):49-56.
196. Golden CJ. Sex differences in performance on the Stroop Color and Word Test. *Perceptual and Motor Skills*. 1974;39(3):1067-70.
197. Peretti PO. Cross-sex and cross-educational level performance in a color-word interference task. *Psychonomic Science*. 1969;16(6):321-3.
198. Gleason CE, Carlsson CM, Barnet JH, Meade SA, Setchell KD, Atwood CS, et al. A preliminary study of the safety, feasibility and cognitive efficacy of soy isoflavone supplements in older men and women. *Age and ageing*. 2009;38(1):86-93.
199. Mix JA, Crews Jr WD. An examination of the efficacy of Ginkgo biloba extract EGb 761 on the neuropsychologic functioning of cognitively intact older adults. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*. 2000;6(3):219-29.
200. Mao X, Chen C, Xun P, Daviglius ML, Steffen LM, Jacobs Jr DR, et al. Intake of Vegetables and Fruits Through Young Adulthood Is Associated with Better Cognitive Function in Midlife in the US General Population. *The Journal of nutrition*. 2019;149(8):1424-33.
201. Bleiweiss-Sande R, Chui K, Wright C, Amin S, Anzman-Frasca S, Satchek JM. Associations between Food Group Intake, Cognition, and Academic Achievement in Elementary Schoolchildren. *Nutrients*. 2019;11(11):2722.
202. Rabassa M, Cherubini A, Zamora-Ros R, Urpi-Sarda M, Bandinelli S, Ferrucci L, et al. Low Levels of a Urinary Biomarker of Dietary Polyphenol Are Associated with Substantial Cognitive Decline over a 3-Year Period in Older Adults: The Invecchiare in Chianti Study. *Journal of the American Geriatrics Society*. 2015;63(5):938-46.
203. Nurk E, Refsum H, Drevon CA, Tell GS, Nygaard HA, Engedal K, et al. Intake of flavonoid-rich wine, tea, and chocolate by elderly men and women is associated with better cognitive test performance. *The Journal of nutrition*. 2009;139(1):120-7.
204. Best T, Clarke C, Nuzum N, Teo W-P. Acute effects of combined Bacopa, American ginseng and whole coffee fruit on working memory and cerebral haemodynamic response of the prefrontal cortex: a double-blind, placebo-controlled study. *Nutritional neuroscience*. 2019:1-12.

205. Nilsson A, Salo I, Plaza M, Björck I. Effects of a mixed berry beverage on cognitive functions and cardiometabolic risk markers; A randomized cross-over study in healthy older adults. *PloS one*. 2017;12(11).
206. Upadya H, Prabhu S, Prasad A, Subramanian D, Gupta S, Goel A. A randomized, double blind, placebo controlled, multicenter clinical trial to assess the efficacy and safety of *Embllica officinalis* extract in patients with dyslipidemia. *BMC complementary and alternative medicine*. 2019;19(1):27.
207. El-Missiry MA, Othman AI, El-Sawy MR, Lebede MF. Neuroprotective effect of epigallocatechin-3-gallate (EGCG) on radiation-induced damage and apoptosis in the rat hippocampus. *International journal of radiation biology*. 2018;94(9):798-808.
208. Borai IH, Ezz MK, Rizk MZ, Aly HF, El-Sherbiny M, Matloub AA, et al. Therapeutic impact of grape leaves polyphenols on certain biochemical and neurological markers in AlCl₃-induced Alzheimer's disease. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2017;93:837-51.
209. Morillas-Ruiz J, Rubio-Perez J, Albaladejo M, Zafrilla P, Parra S, Vidal-Guevara M. Effect of an antioxidant drink on homocysteine levels in Alzheimer's patients. *Journal of the neurological sciences*. 2010;299(1-2):175-8.
210. Buckland G, Travier N, Arribas L, Del Barco S, Pernas S, Zamora E, et al. Changes in dietary intake, plasma carotenoids and erythrocyte membrane fatty acids in breast cancer survivors after a lifestyle intervention: results from a single-arm trial. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*. 2019;32(4):468-79.
211. Ji L, Gao W, Wei J, Pu L, Yang J, Guo C. In vivo antioxidant properties of lotus root and cucumber: A pilot comparative study in aged subjects. *The journal of nutrition, health & aging*. 2015;19(7):765-70.
212. Zhao Y, Monahan FJ, McNulty BA, Gibney MJ, Gibney ER. Effect of vitamin E intake from food and supplement sources on plasma α - and γ -tocopherol concentrations in a healthy Irish adult population. *British journal of nutrition*. 2014;112(9):1575-85.
213. Zeng Q, Li F, Xiang T, Wang W, Ma C, Yang C, et al. Influence of food groups on plasma total homocysteine for specific MTHFR C677T genotypes in Chinese population. *Molecular nutrition & food research*. 2017;61(2):1600351.
214. Folchetti LD, Monfort-Pires M, de Barros CR, Martini LA, Ferreira SRG. Association of fruits and vegetables consumption and related-vitamins with

- inflammatory and oxidative stress markers in prediabetic individuals. *Diabetology & metabolic syndrome*. 2014;6(1):22.
215. Holt EM, Steffen LM, Moran A, Basu S, Steinberger J, Ross JA, et al. Fruit and vegetable consumption and its relation to markers of inflammation and oxidative stress in adolescents. *Journal of the American Dietetic Association*. 2009;109(3):414-21.
216. Jiang Q, Zhang H, Yang R, Hui Q, Chen Y, Mats L, et al. Red-Osier Dogwood Extracts Prevent Inflammatory Responses in Caco-2 Cells and a Caco-2 BBe1/EA.hy926 Cell Co-Culture Model. *Antioxidants*. 2019;8(10):428.
217. Chandra AK, Mondal C, Sinha S, Chakraborty A, Pearce EN. Synergic actions of polyphenols and cyanogens of peanut seed coat (*Arachis hypogaea*) on cytological, biochemical and functional changes in thyroid. 2015.
218. LUEPRASITSAKUL W, ALEX S, FANG SL, PINO S, Irmischer K, KOHRLE J, et al. Flavonoid administration immediately displaces thyroxine (T4) from serum transthyretin, increases serum free T4, and decreases serum thyrotropin in the rat. *Endocrinology*. 1990;126(6):2890-5.
219. Chen C-M, Li S-C, Lin Y-L, Hsu C-Y, Shieh M-J, Liu J-F. Consumption of purple sweet potato leaves modulates human immune response: T-lymphocyte functions, lytic activity of natural killer cell and antibody production. *World Journal of Gastroenterology: WJG*. 2005;11(37):5777.
220. Herrlinger KA, Chirouzes DM, Ceddia MA. Supplementation with a polyphenolic blend improves post-exercise strength recovery and muscle soreness. *Food & nutrition research*. 2015;59(1):30034.
221. Beltrán-Debón R, Rodríguez-Gallego E, Fernández-Arroyo S, Senan-Campos O, Massucci FA, Hernández-Aguilera A, et al. The acute impact of polyphenols from *Hibiscus sabdariffa* in metabolic homeostasis: an approach combining metabolomics and gene-expression analyses. *Food & function*. 2015;6(9):2957-66.
222. Tsang C, Hodgson L, Bussu A, Farhat G, Al-Dujaili E. Effect of Polyphenol-Rich Dark Chocolate on Salivary Cortisol and Mood in Adults. *Antioxidants*. 2019;8(6):149.
223. Sellami M, Slimeni O, Pokrywka A, Kuvačić G, Hayes LD, Milic M, et al. Herbal medicine for sports: a review. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*. 2018;15(1):14.

224. Sarubbo F, Ramis M, Kienzer C, Aparicio S, Esteban S, Miralles A, et al. Chronic silymarin, quercetin and naringenin treatments increase monoamines synthesis and hippocampal Sirt1 levels improving cognition in aged rats. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*. 2018;13(1):24-38.
225. Rebas E, Rzajew J, Radzik T, Zylinska L. Neuroprotective Polyphenols: A Modulatory Action on Neurotransmitter Pathways. *Current neuropharmacology*. 2020.
226. Kita M, Uchida S, Yamada K, Ano Y. Anxiolytic effects of theaflavins via dopaminergic activation in the frontal cortex. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*. 2019;83(6):1157-62.
227. Nabavi SM, Daglia M, Braidly N, Nabavi SF. Natural products, micronutrients, and nutraceuticals for the treatment of depression: A short review. *Nutritional neuroscience*. 2017;20(3):180-94.
228. Agrawal A, Mohan M, Kasture S, Foddis C, Frau MA, Loi MC, et al. Antidepressant activity of *Ceratonia siliqua* L. fruit extract, a source of polyphenols. *Natural product research*. 2011;25(4):450-6.
229. Ibero-Baraibar I, Perez-Cornago A, Ramirez MJ, Martínez JA, Zulet MA. An increase in plasma homovanillic acid with cocoa extract consumption is associated with the alleviation of depressive symptoms in overweight or obese adults on an energy restricted diet in a randomized controlled trial. *The Journal of nutrition*. 2015;146(4):897S-904S.
230. Chamberlain SR, Robbins TW. Noradrenergic modulation of cognition: therapeutic implications. *Journal of Psychopharmacology*. 2013;27(8):694-718.
231. Sara SJ. The locus coeruleus and noradrenergic modulation of cognition. *Nature reviews neuroscience*. 2009;10(3):211-23.
232. Madoz-Gúrpide A, Ochoa-Mangado E. Alteraciones de funciones cognitivas y ejecutivas en pacientes dependientes de cocaína: estudio de casos y controles. *Revista de Neurología*. 2012;54(4):199-208.

VIII - ANEXOS

VIII - ANEXOS

ANEXO I: Encuesta de hábitos alimentarios y de actividad física.

DEPARTAMENTO DE FARMACIA



ENCUESTA DE SALUD

Identificación (nombre y apellidos):

Sexo:

Peso: Talla:

IMC: % Grasa Corporal:

Perímetro de la cintura:

Talla de pantalón:

FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR

Fumador A sí
B no
C Exfumador

1. ¿Cuántos cigarrillos fuma al día??

A	Ninguno. Nunca fumo
B	Sólo fumo de forma ocasional
C	Menos de 5 cigarrillos al día
D	Entre 5-20 cigarrillos al día
E	Más de 20 cigarrillos al día

Tiempo en años.....

2. ¿Tiene el colesterol elevado?

A	Sí
B	No
C	No lo se

Tiempo en años.....

3. ¿Tiene elevados los triglicéridos?

A	Sí
B	No
C	No lo se

Tiempo en años.....

4. ¿Es diabético?

A	Sí
B	No
C	No lo se

Tiempo en años.....

5. ¿Tiene hipertensión?

A	Sí
B	No
C	No lo se

Tiempo en años.....

Medicamentos que habitualmente consume.....

Tiempo en años.....

ENCUESTA DE DIETA MEDITERRÁNEA

6. ¿Dedica un tiempo a realizar ejercicio físico, incluyendo actividades como caminar o subir y bajar escaleras?

A	Todos los días
B	4-5 veces por semana
C	2-3 veces por semana
D	No

7. Si realiza ejercicio físico ¿Cuántas horas al día hace ejercicio físico?

A	Más de 2 horas
B	2 horas
C	1 hora y media
D	Media hora
E	Menos de media hora

8. Cuanto tiempo al día dedica a ver la televisión

A	30 minutos o menos
B	Entre 1-2 horas
C	Entre 2-3 horas
D	Más de 3 horas

9. ¿Es vegetariano?

A	No
B	Sí

10. ¿Consumo suplementos nutricionales o vitamínicos?

A	No
B	Sí
C	Ocasionalmente

11. ¿Qué estudios ha cursado?

A	Estudios primarios
B	Bachiller
C	Estudios universitarios de grado medio
D	Estudios universitarios de grado superior

DEPARTAMENTO DE FARMACIA



1. ¿Consumes cereales (arroz, pasta, pan, galletas, cereales de desayuno, etc.....)?
- | | |
|---|--------------------------|
| A | Más de 7 raciones al día |
| B | 5-7 raciones al día |
| C | 3-4 raciones al día |
| D | 1-2 raciones al día |
| E | Nunca |
2. ¿Cuántas piezas de frutas consumes al día?
- | | |
|---|--------------------------|
| A | Más de 6 raciones al día |
| B | 5-6 raciones al día |
| C | 3-4 raciones al día |
| D | 1-2 raciones al día |
| E | Ninguna |
3. ¿Cuántas veces a la semana consumes legumbres?
- | | |
|---|------------------------------|
| A | Más de 4 veces a la semana |
| B | 3-4 veces por semana |
| C | 1-2 veces por semana |
| D | Menos de una vez a la semana |
| E | Nunca |
4. ¿Cuántas veces consumes verduras y hortalizas al día?
- | | |
|---|-------------------------|
| A | Más de 2 veces al día |
| B | 2 veces al día |
| C | 1 vez al día |
| D | Menos de una vez al día |
| E | Nunca |
5. ¿Cuántas veces a la semana consumes pescado?
- | | |
|---|------------------------------|
| A | Más de 4 veces a la semana |
| B | 3-4 veces por semana |
| C | 1-2 veces por semana |
| D | Menos de una vez a la semana |
| E | Nunca |
6. ¿Cuántas veces a la semana consumes carne de ave?
- | | |
|---|------------------------------|
| A | Más de 4 veces a la semana |
| B | 3-4 veces por semana |
| C | 1-2 veces por semana |
| D | Menos de una vez a la semana |
| E | Nunca |
7. ¿Cuántas veces a la semana consumes otro tipo de carne?
- | | |
|---|------------------------------|
| A | Más de 4 veces a la semana |
| B | 3-4 veces por semana |
| C | 1-2 veces por semana |
| D | Menos de una vez a la semana |
| E | Nunca |
8. ¿Cuántas veces al día consumes leche y derivados lácteos?
- | | |
|---|--------------------------|
| A | Más de 4 raciones al día |
| B | 3-4 raciones al día |
| C | 1-2 raciones al día |
| D | Nunca |
9. ¿Qué tipo de aceite consumes habitualmente?
- | | |
|---|-------------------------------|
| A | Aceite de oliva |
| B | Aceite de semillas |
| C | Aceite de oliva y de semillas |
10. ¿Utiliza aceite de oliva para cocinar?
- | | |
|---|----------------------------|
| A | Diariamente |
| B | 3-5 veces a la semana |
| C | 1-2 veces a la semana |
| D | Menos de 1 vez a la semana |
| E | Nunca |
11. ¿Consumes normalmente frutos secos?
- | | |
|---|------------------------------|
| A | Más de 5 veces a la semana |
| B | 3-4 veces a la semana |
| C | 1-2 veces a la semana |
| D | Menos de una vez a la semana |
| E | Nunca |
12. ¿Cuántos huevos consumes a la semana?
- | | |
|---|-------------------------------|
| A | Más de 5 huevos a la semana |
| B | 3-5 huevos a la semana |
| C | 1-2 huevos a la semana |
| D | Menos de un huevo a la semana |
| E | Nunca |
13. ¿Cuántas veces a la semana consumes embutido?
- | | |
|---|------------------------------|
| A | Todos los días |
| B | 3-5 veces por semana |
| C | 1-2 veces por semana |
| D | Menos de una vez a la semana |
| E | Nunca |
14. ¿Consumes normalmente vino tinto? (125 mL, un vasito de vino)
- | | |
|---|--------------------------------------|
| A | Más de 7 vasitos de vino a la semana |
| B | 4-7 vasitos de vino a la semana |
| C | 1-3 vasitos de vino a la semana |
| D | Menos de una vez a la semana |
| E | Nunca |
15. ¿Con qué frecuencia consumes productos de bollería industrial?
- | | |
|---|------------------------------|
| A | Diariamente |
| B | 3 o 4 veces a la semana |
| C | 1-2 veces a la semana |
| D | Menos de una vez a la semana |
| E | Nunca |

DEPARTAMENTO DE FARMACIA



1. ¿Prefiere el pescado azul o el blanco?
 - A El pescado azul
 - B El pescado blanco
 - C Ninguno
2. ¿Cuántas veces a la semana consume pescado azul?
 - A Más de 4 veces a la semana
 - B 3-4 veces por semana
 - C 1-2 veces por semana
 - D Menos de una vez a la semana
 - E Nunca
3. ¿Cuántas veces a la semana consume carne roja?
 - A Más de 4 veces a la semana
 - B 3-4 veces por semana
 - C 1-2 veces por semana
 - D Menos de una vez a la semana
 - E Nunca
4. ¿Consume más pescado que carne a lo largo de la semana?
 - A Si
 - B Igual
 - C No
5. ¿Los derivados lácteos que consume son desnatados?
 - A Nunca
 - B A veces
 - C Siempre
 - D Son semidesnatados
6. ¿Consume normalmente café?
 - A Nunca
 - B Ocasionalmente
 - C 1-2 veces al día
 - D 3-4 veces al día
 - E Más de 4 veces al día
7. ¿Consumes normalmente cerveza?
 - A Nunca
 - B Menos de una vez a la semana
 - C 1-2 veces a la semana
 - D 3-4 veces a la semana
 - E Más de 4 veces al día
8. ¿Consume normalmente bebidas alcohólicas?
 - A Nunca
 - B Menos de una vez a la semana
 - C 1-2 veces a la semana
 - D 3-4 veces a la semana
 - E Más de 4 veces a la semana
9. ¿Cuántas veces a la semana consume verduras de hoja verde?
 - A Nunca
 - B Menos de una vez a la semana
 - C 1-2 veces por semana
 - D 3-4 veces por semana
 - E Más de 4 veces a la semana
10. ¿Cuántas veces a la semana consume tomate?
 - A Nunca
 - B Menos de una vez a la semana
 - C 1-2 veces por semana
 - D 3-4 veces por semana
 - E Más de 4 veces a la semana
11. ¿Cuántas veces a la semana consume pimiento rojo?
 - A Nunca
 - B Menos de una vez a la semana
 - C 1-2 veces por semana
 - D 3-4 veces por semana
 - E Más de 4 veces a la semana
12. ¿Ha realizado alguna vez alguna dieta para adelgazar?
 - A No
 - B Si
13. ¿Está realizando en este momento algún tipo de dieta?
 - A No
 - B Si
14. ¿Consume alimentos funcionales generalmente en su dieta?
 - A No
 - B Si
 - C Sólo de forma ocasional

DEPARTAMENTO DE FARMACIA



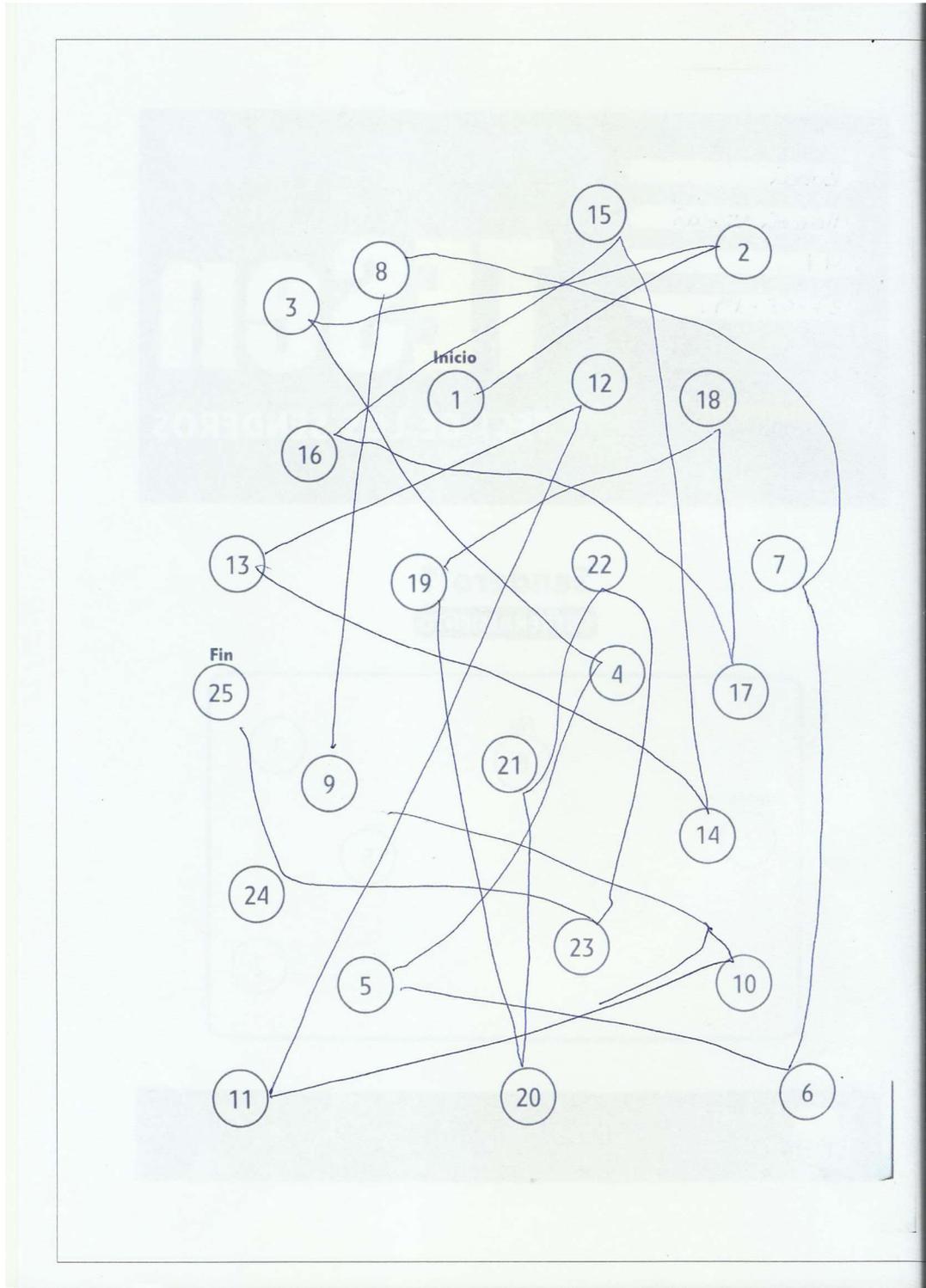
15. ¿Qué tipo de cereales consume en su dieta habitual?
- A Blanco
 - B Integral
16. ¿Cómo es una ración de carne para ti?
- A 1 filete
 - B 2 filetes
 - C Más de 2 filetes
17. Tipo de frutos secos que consume
- A Al natural o tostados sin sal
 - B Fritos y/o con sal
 - C No consumo
18. ¿Cuántos vasos de agua consumes al día?
- A Menos de 4 vasos
 - B Entre 5 u 8 vasos
 - C Más de 8 vasos
19. Consumo de refrescos a la semana
- A De forma ocasional (0 o 1 a la semana)
 - B Algunas veces (entre 2 y 5)
 - C Habitual (casi todos los días)
20. Tipo de zumos consumidos
- A Zumo natural con pulpa
 - B Zumo comercial o natural sin pulpa
 - C No consumo zumos

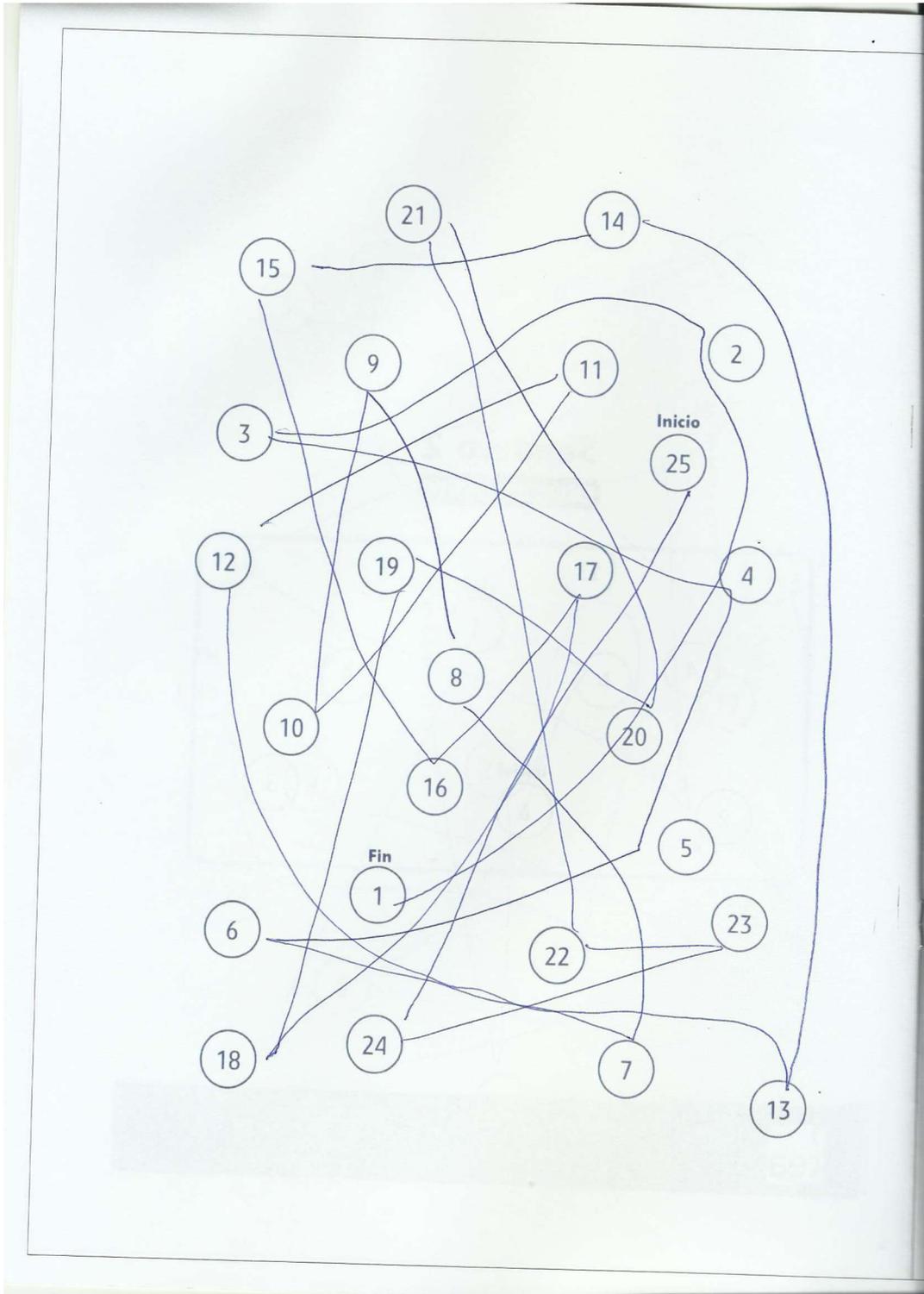
ANEXO II: Test de Stroop

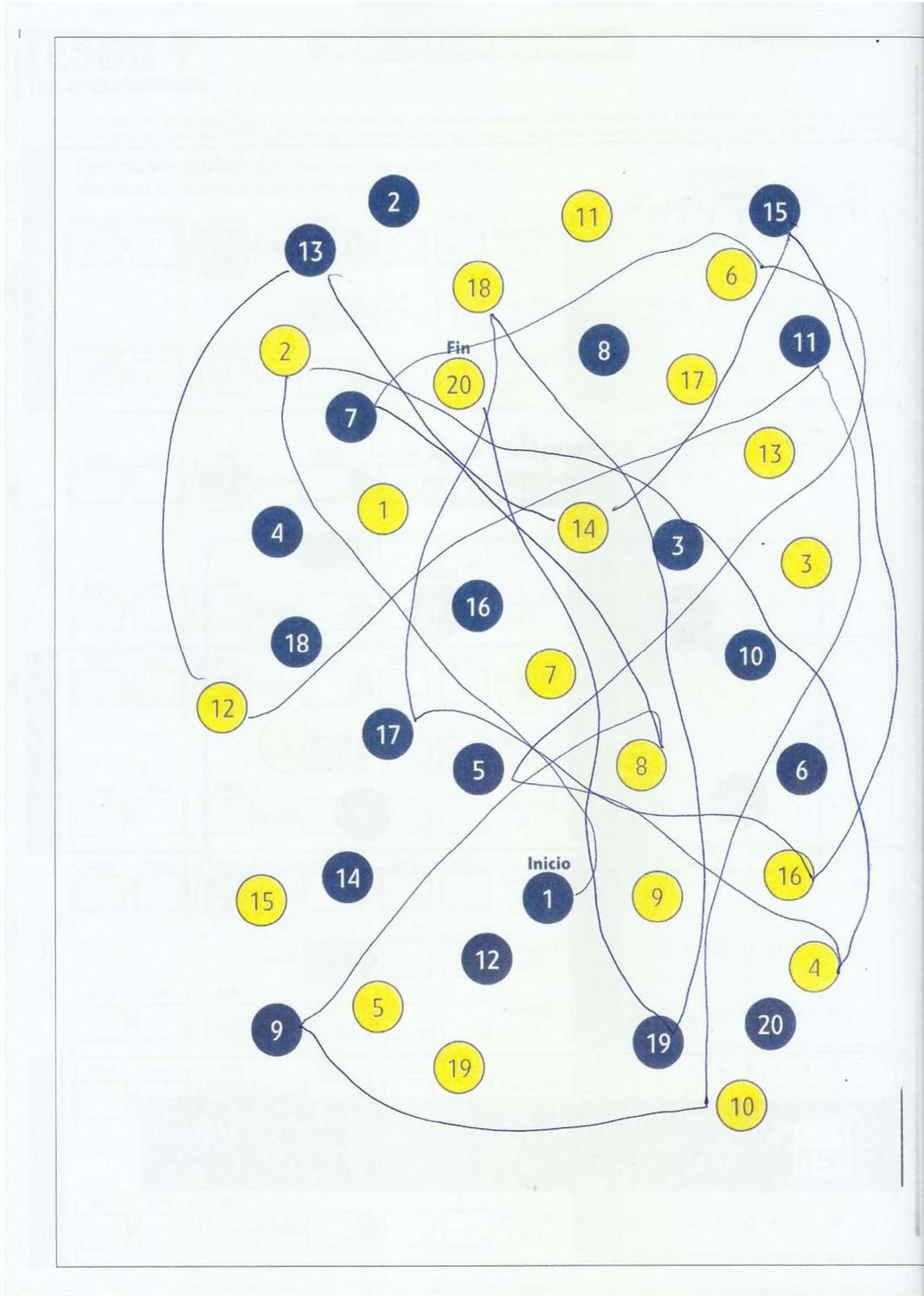
ROJO	AZUL	VERDE	ROJO	AZUL
VERDE	VERDE	ROJO	AZUL	VERDE
AZUL	ROJO	AZUL	VERDE	ROJO
VERDE	AZUL	ROJO	ROJO	AZUL
ROJO	ROJO	VERDE	AZUL	VERDE
AZUL	VERDE	AZUL	VERDE	ROJO
ROJO	AZUL	VERDE	AZUL	VERDE
AZUL	VERDE	ROJO	VERDE	ROJO
VERDE	ROJO	AZUL	ROJO	AZUL
AZUL	VERDE	VERDE	AZUL	VERDE
VERDE	ROJO	AZUL	ROJO	ROJO
ROJO	AZUL	ROJO	VERDE	AZUL
VERDE	ROJO	AZUL	ROJO	VERDE
AZUL	AZUL	ROJO	VERDE	ROJO
ROJO	VERDE	VERDE	AZUL	AZUL
AZUL	AZUL	ROJO	VERDE	ROJO
ROJO	VERDE	AZUL	ROJO	VERDE
VERDE	ROJO	VERDE	AZUL	AZUL
ROJO	AZUL	ROJO	VERDE	ROJO
VERDE	ROJO	VERDE	AZUL	VERDE

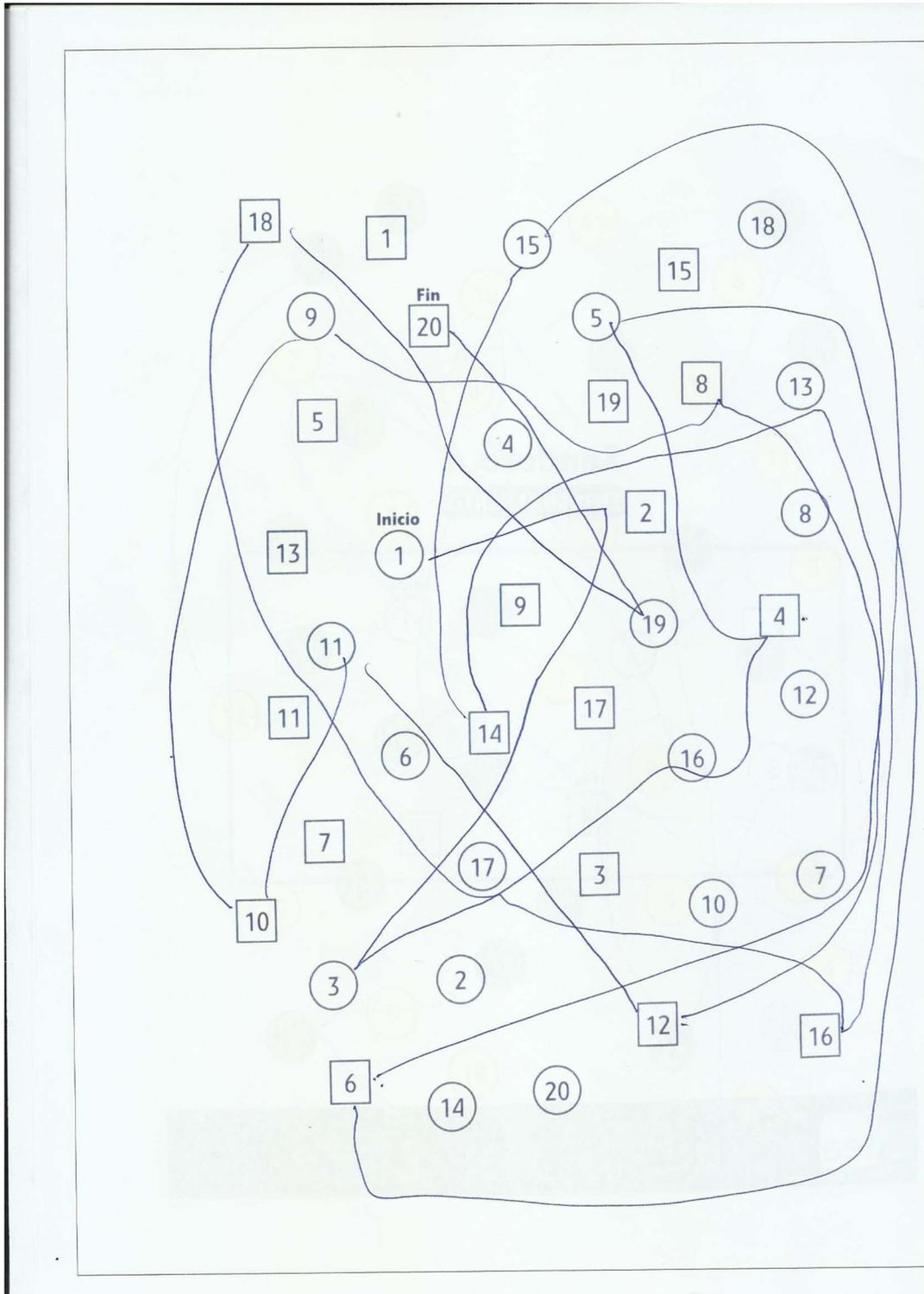
ROJO	AZUL	VERDE	ROJO	AZUL
VERDE	VERDE	ROJO	AZUL	VERDE
AZUL	ROJO	AZUL	VERDE	ROJO
VERDE	AZUL	ROJO	ROJO	AZUL
ROJO	ROJO	VERDE	AZUL	VERDE
AZUL	VERDE	AZUL	VERDE	ROJO
ROJO	AZUL	VERDE	AZUL	VERDE
AZUL	VERDE	ROJO	VERDE	ROJO
VERDE	ROJO	AZUL	ROJO	AZUL
AZUL	VERDE	VERDE	AZUL	VERDE
VERDE	ROJO	AZUL	ROJO	ROJO
ROJO	AZUL	ROJO	VERDE	AZUL
VERDE	ROJO	AZUL	ROJO	VERDE
AZUL	AZUL	ROJO	VERDE	ROJO
ROJO	VERDE	VERDE	AZUL	AZUL
AZUL	AZUL	ROJO	VERDE	ROJO
ROJO	VERDE	AZUL	ROJO	VERDE
VERDE	ROJO	VERDE	AZUL	AZUL
ROJO	AZUL	ROJO	VERDE	ROJO
VERDE	ROJO	VERDE	AZUL	VERDE

ANEXO III: Test TESEN









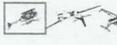
ANEXO IV: Test RIST

	Elemento	Respuesta correcta	Respuesta del sujeto	Punt. 0 ó 1
40	Está hecho fundamentalmente de madera, tiene cuerdas y se toca con un arco, ¿qué es?	Violín (violonchelo, contrabajo, viola)		1
41	Son 7 jugadores por equipo, uno de ellos un portero y no se puede tocar la pelota con los pies, ¿qué deporte es?	Balonmano (water polo)		1
42	Expresa por escrito una idea o pensamiento y tiene sujeto y predicado, ¿qué es?	Frase, oración		1
43	Es un ave que no vuela, parece llevar siempre un traje elegante y le encanta pescar, ¿qué ave es?	Pingüino		1
44	Se entrega como premio a aquellos esfuerzos que han supuesto "los mayores beneficios para la humanidad", comenzó en 1901 y tiene lugar en Estocolmo, Suecia, ¿qué es?	Premio Nobel		1
45	Tiene el techo en bóveda, se encargó por el papa Sixto IV y destaca mundialmente por sus frescos, ¿qué es?	Capilla Sixtina		1
46	Fluye de sur a norte, albergó la barca de una reina y es famoso por sus cocodrilos, ¿qué es?	Río Nilo		1
47	Fue actriz, segunda mujer de un presidente de Argentina y defensora de las mujeres y los pobres, ¿quién fue?	Eva Perón (Evita)		1
48	Está hecho de celulosa, arde fácilmente y puede perforarse, ¿qué es?	Papel (servilleta, hoja, cartón)		0
49	Mide distancias y suele formar parte del velocímetro, ¿qué es?	Cuentakilómetros		0
50	Va del polo norte al polo sur, mide la longitud y tiene su referente en Greenwich, ¿qué es?	Meridiano		1
51	Tiene un marco y unas cuentas que se deslizan y se usa para resolver operaciones matemáticas, ¿qué es?	Ábaco		1
52	Se pone en el pecho de una persona y se usa para escuchar los latidos del corazón o la respiración, ¿qué es?	Estetoscopio		1
53	Es una fuente importante de energía, resultado de la rotura del núcleo de un átomo, ¿qué es?	Energía nuclear (fisión nuclear, energía atómica)		1
54	Utiliza electrodos, mide los ritmos alfa y registra las ondas cerebrales, ¿qué es?	Electroencefalógrafo (EEG, electroencefalograma)		1
55	Es una hormona que se produce en las glándulas suprarrenales y es liberada en situaciones de alarma aumentando el ritmo cardíaco, ¿qué hormona es?	Adrenalina (epinefrina)		1
56	Está situado en Egipto y permite pasar en barco desde Europa a Asia sin bordear África, ¿qué es?	Canal de Suez		1
57	Contiene 114 suras, comienza por los más largos y se considera que representa las palabras reveladas a un profeta, ¿qué es?	Corán		1
58	Fue economista, se doctoró en filosofía y trabajó estrechamente con Friedrich Engels para desarrollar sus teorías, ¿quién fue?	Karl Heinrich Marx (Karl Marx, Marx)		1
59	Es una predicción, se necesita en los experimentos científicos y se puede poner a prueba, ¿qué es?	Hipótesis		1
60	Fue autor del libro <i>La riqueza de las naciones</i> y es considerado el padre del liberalismo económico, ¿quién fue?	Adam Smith		1

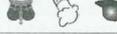
Elem.	Perspectiva del examinador	Tiempo	Punt.
11		1º 30 seg.	0 2
		2º 20 seg.	0 1

Comienzo
9 años

12		1º 30 seg.	0 2
		2º 20 seg.	0 1

13		1º 30 seg.	0 2
		2º 20 seg.	0 1

Comienzo
10-11 años

14		1º 30 seg.	0 2
		2º 20 seg.	0 1

15		1º 30 seg.	0 2
		2º 20 seg.	0 1

16		1º 30 seg.	0 2
		2º 20 seg.	0 1

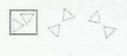
Comienzo
12-94 años

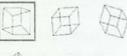
17		1º 30 seg.	0 2
		2º 20 seg.	0 1

18		1º 30 seg.	0 2
		2º 20 seg.	0 1

19		1º 30 seg.	0 2
		2º 20 seg.	0 1

20		1º 30 seg.	0 2
		2º 20 seg.	0 1

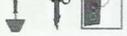
Elem.	Perspectiva del examinador	Tiempo	Punt.
21		1º 30 seg.	0 2
		2º 20 seg.	0 1

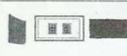
22		1º 30 seg.	0 2
		2º 20 seg.	0 1

23		1º 30 seg.	0 2
		2º 20 seg.	0 1

24		1º 30 seg.	0 2
		2º 20 seg.	0 1

25		1º 30 seg.	0 2
		2º 20 seg.	0 1

26		1º 30 seg.	0 2
		2º 20 seg.	0 1

27		1º 30 seg.	0 2
		2º 20 seg.	0 1

28		1º 30 seg.	0 2
		2º 20 seg.	0 1

29		1º 30 seg.	0 2
		2º 20 seg.	0 1

30		1º 30 seg.	0 2
		2º 20 seg.	0 1

Elem.	Perspectiva del examinador	Tiempo	Punt.
31		1º 30 seg.	0 <input type="checkbox"/>
		2º 20 seg.	0 <input type="checkbox"/> 1
32		1º 30 seg.	0 <input type="checkbox"/> 2
		2º 20 seg.	0 <input type="checkbox"/> 1
33		1º 30 seg.	0 <input type="checkbox"/> 2
		2º 20 seg.	0 <input type="checkbox"/> 1
34		1º 30 seg.	0 <input type="checkbox"/> 2
		2º 20 seg.	0 <input type="checkbox"/> 1
35		1º 30 seg.	0 <input type="checkbox"/> 2
		2º 20 seg.	0 <input type="checkbox"/> 1
36		1º 30 seg.	0 <input type="checkbox"/> 2
		2º 20 seg.	0 <input type="checkbox"/> 1
37		1º 30 seg.	0 <input type="checkbox"/> 2
		2º 20 seg.	0 <input type="checkbox"/> 1
38		1º 30 seg.	0 <input type="checkbox"/> 2
		2º 20 seg.	0 <input type="checkbox"/> 1
39		1º 30 seg.	0 <input type="checkbox"/> 2
		2º 20 seg.	0 <input type="checkbox"/> 1
40		1º 30 seg.	0 <input type="checkbox"/> 2
		2º 20 seg.	0 <input type="checkbox"/> 1

Elem.	Perspectiva del examinador	Tiempo	Punt.
41		1º 30 seg.	0 <input type="checkbox"/> 2
		2º 20 seg.	0 <input type="checkbox"/> 1
42		1º 30 seg.	0 <input type="checkbox"/> 2
		2º 20 seg.	0 <input type="checkbox"/> 1
43		1º 30 seg.	0 <input type="checkbox"/> 2
		2º 20 seg.	0 <input type="checkbox"/> 1
44		1º 30 seg.	0 <input type="checkbox"/> 2
		2º 20 seg.	0 <input type="checkbox"/> 1
45		1º 30 seg.	0 <input type="checkbox"/> 2
		2º 20 seg.	0 <input type="checkbox"/> 1
46		1º 30 seg.	0 <input type="checkbox"/> 2
		2º 20 seg.	0 <input type="checkbox"/> 1
47		1º 30 seg.	0 <input type="checkbox"/> 2
		2º 20 seg.	0 <input type="checkbox"/> 1

CATEGORÍAS Puntuación total **76 / 94**

