



**TESIS DOCTORAL**

**EFICACIA DE UNA INTERVENCIÓN NUTRICIONAL BASADA  
EN SUPLEMENTOS DE TRIPTÓFANO SOBRE LA COGNICIÓN  
SOCIAL Y LA DEPRESIÓN ASOCIADAS AL ENVEJECIMIENTO  
HUMANO, EN BASE A LOS GENES SLC6A4 y BDNF**

**LIERNI UGARTEMENDIA UGALDE**

**PROGRAMA DE DOCTORADO EN BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR,  
BIOMEDICINA Y BIOTECNOLOGÍA**

**2021**





## **TESIS DOCTORAL**

# **EFICACIA DE UNA INTERVENCIÓN NUTRICIONAL BASADA EN SUPLEMENTOS DE TRIPTÓFANO SOBRE LA COGNICIÓN SOCIAL Y LA DEPRESIÓN ASOCIADAS AL ENVEJECIMIENTO HUMANO, EN BASE A LOS GENES SLC6A4 y BDNF**

**LIERNI UGARTEMENDIA UGALDE**

**PROGRAMA DE DOCTORADO EN BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR,  
BIOMEDICINA Y BIOTECNOLOGÍA**

**2021**

Conformidad de los directores:

Fdo.: Dr. Ana Beatriz Rodríguez Moratinos

Fdo.: Dr. Rafael Bravo Santos





UNIVERSIDAD DE EXTREMADURA

FACULTAD DE CIENCIAS

DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA

Dr. ANA BEATRIZ RODRÍGUEZ MORATINOS, Catedrática de Universidad del Departamento de Fisiología de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Extremadura, Dr. RAFAEL BRAVO SANTOS, Investigador Postdoctoral del Departamento de Enfermedades Metabólicas y Neurodegenerativas de la Universidad de Texas.

CERTIFICAN:

Que la presente Tesis Doctoral, presentada por D<sup>a</sup>. Lierni Ugartemendia Ugalde, con el título: **“Eficacia de una intervención nutricional basada en suplementos de triptófano sobre la cognición social y la depresión asociadas al envejecimiento humano, en base a los genes SLC6A4 y BDNF (*Tryptophan-based nutritional intervention effectiveness on age-related depression and social cognition in humans, base don SLC6A4 and BDNF genes*)”**, ha sido realizada bajo nuestra dirección, en el Departamento de Fisiología de la Universidad de Extremadura, y entendiendo que se encuentra finalizada y que reúne los requisitos de originalidad, autorizan su presentación para ser juzgada ante el tribunal correspondiente.

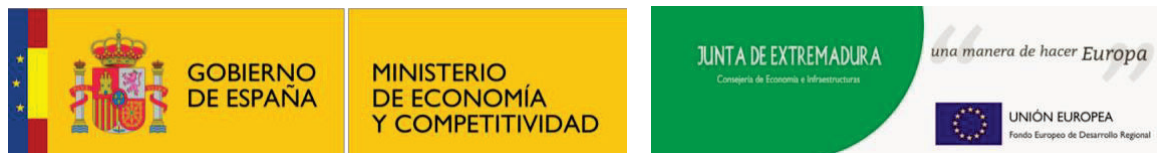
Y para que conste a los efectos oportunos, firman la presente en Badajoz, a 24 de Mayo de 2021.

Fdo.: Dr. Ana Beatriz Rodríguez Moratinos

Fdo.: Dr. Rafael Bravo Santos



La realización de esta Tesis Doctoral se ha llevado a cabo gracias a la convocatoria “*Joint Programming Initiative a Healthy Diet for a Healthy Life (JPI-HDHL)*”, y la financiación del Ministerio de Economía y Competitividad de España (MINECO, subvención PCIN-2015-228), de la Junta de Extremadura (NIFCRON BB021: FEDER-GR18040), de laboratorios YSONUT. Así como por la colaboración con laboratorio de Neurogenética del departamento de Psicología Diferencial y Biológica de la Universidad de Bonn dirigido por el Profesor Martin Reuter (*German Federal Ministry of Education and Research, BMBF, subvención 01EA1606*) y del departamento de Psicología Clínica del Instituto Central de Salud Mental de Mannheim, dirigido por el Profesor Peter Kirsch (*German Federal Ministry of Education and Research, BMBF, subvención 01EA1605* ).







# Agradecimientos •••

---

“Stay positive, work hard and make it happen”. Este ha sido el lema que he intentado seguir a lo largo de todos estos años, y parece que ya estamos dando otro pasito para adelante.

En primer lugar, me gustaría dar las gracias a mis directores, la Dra. Ana Beatriz Rodríguez Moratinos y el Dr. Rafael Bravo Santos. Gracias, gracias por enseñarme y guiarme con vuestra sabiduría a lo largo de todos estos años, así como por todo vuestro tiempo y esfuerzo dedicado. Gracias Ana, por la confianza depositada en mí y por estar ahí en todos los momentos, independientemente del momento en el que fuera (cambios de hora incluidos). Y Rafa, gracias por compartir todas tus herramientas conmigo y ayudarme siempre a dar lo mejor de mí.

Al Dr. José Antonio Pariente y al Dr. Javier Cubero, porque desde un segundo plano, también me habéis guiado y ayudado en todo momento, siendo mis segundos pilares.

A Elena, la vecina de la izquierda, en la que se convirtió nuestra segunda casa durante todos estos años. Gracias por toda tu ayuda y apoyo. Y gracias a mis compañeros, Yoli, Elena, Ana, Iñaki, Cristina, Sergio, Roberto, Javi, María, Carmen y Lourdes. Pero también, gracias a Simge y Fatih, que, compartiendo sólo unos meses, habéis formado parte de esta gran familia. Cada uno de vosotros me habéis enseñado mucho tanto profesional como personalmente. Pero no puedo terminar este apartado sin destacar la aportación de Yoli y Yolanda. Muchas gracias por vuestra dedicación, y por compartir con nosotros muchas de esas tardes entre participante y participante. Porque sin vuestra ayuda y esfuerzo este proyecto no hubiera salido adelante tan bien. Me quedo con todos esos momentos compartidos entre la biblioteca y el laboratorio de prácticas de Fisiología.

Thank you very much to all members of the iCASE consortium, specially to Dr. Martin Reuter, Dr. Vera Zamoscik and Dr. Peter Kirsch. Thanks, for your patience and for helping me to understand science from the psychological side. It was amazing sharing with you all, the effort and work. Particularly, I want to highlight my gratitude to Dr. Martin Reuter. Thanks for giving me the opportunity to share those 3 months with you. I really enjoyed being there. It seems like it was yesterday, but already 2 years have gone since I was there in Bonn with all of you. Thanks to Jessie, for being so patient and for being an amazing teacher. But of course, I also miss those lunches at the Bakery and/or

the Thai Restaurant with all of you, but specially with Thomas Plieger. Thanks also, to the other Thomas for your patience and for sharing office with us, and thanks also to Andrea, Julia, Kristina and Jonas.

I also want to express my gratitude to Dr. Nicholas Justice, because of the opportunity he gave me in the final stage of my PhD. Thank you for letting me to complete my background in mood disorders, from the neuroscience perspective. Thanks also, Dr. Shivakumar Rajamanickam (Shiva), for being so patient with me and for all the knowledge you shared with me.

También me gustaría destacar a mi familia. En primer lugar, gracias Rafa por toda la paciencia que has tenido conmigo a lo largo de todos estos años. Sabes que eres el mejor compañero de viaje. Gracias por ayudar a que todos los días brille el sol. Alexander, has hecho que el 2020 se haya convertido en uno de los mejores años de nuestras vidas. Gracias por esas sonrisas infinitas y por enseñarme a conocer la vida desde una nueva perspectiva. Eskerrik asko Ama, Aita, eta Jon. Gracias por toda la confianza depositada en mí, y por ser mi otro gran apoyo. No sé qué hubiera sido de mí sin esas videoconferencias y charlas matutinas. A ver si va mejorando la situación y pronto podemos celebrar el estar todos juntos. Gracias a José Carlos, por estar siempre ahí y ayudarme con los trámites administrativos durante este último año y medio. Y también gracias a Pili, Rafa y Ángela, por haberme acompañado a lo largo de esta aventura.

A mi otro gran apoyo a lo largo de esta aventura, gracias a mi prima Monika, y también a Elena, Patricia, Mercedes, Sergio, Nerea, Kris, Simge, Jessie y demás amigos que habéis estado ahí, incluso en los momentos más complicados. Pero también a los que estáis al otro lado del charco, Alejandro, Andrés, Arko, Tithi y Sara. Ha sido un placer haber podido compartir parte de esta gran aventura con todos vosotros.

Por último, me gustaría agradecer a todos los que voluntariamente quisieron participar en el estudio. Muchas gracias, ya que, sin vosotros y sin vuestra dedicación, nada de esto hubiera sido posible.

# Índice de Contenidos •••

---

<b>Lista de abreviaturas.....</b>	<b>5</b>
<b>Resumen / Abstract .....</b>	<b>9</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>13</b>
1.1. COGNICIÓN.....	15
1.1.1. ¿Qué es la cognición social? .....	16
1.1.2. Principales componentes de la cognición social.....	16
1.1.3. Emociones, afectividad y cognición social.....	17
1.2. ENVEJECIMIENTO .....	18
1.2.1. Cambios fisiológicos asociados al envejecimiento.....	19
1.2.1.1. Sistema digestivo durante el envejecimiento .....	20
1.2.1.2. Sistema nervioso durante el envejecimiento.....	21
1.2.2. Cambios psicosociales asociados al envejecimiento.....	22
1.2.3. Enfermedades asociadas al envejecimiento .....	23
1.2.3.1. Deterioro Cognitivo .....	23
1.2.3.2. Depresión .....	26
1.2.4. Indicadores demográficos del envejecimiento en España.....	28
1.3. MOLÉCULAS Y GENES IMPLICADOS EN LA DEPRESIÓN Y EL DETERIORO COGNITIVO.....	30
1.3.1. Serotonina .....	30
1.3.1.1. Triptófano, precursor de la serotonina .....	31
1.3.1.2. Metabolismo del triptófano .....	32
1.3.1.3. Función de la Serotonina.....	34
1.3.2. Gen del Transportador de la Serotonina ( <i>SLC6A4</i> ) .....	35
1.3.2.1. Localización y estructura .....	35
1.3.2.2. Polimorfismos.....	36
1.3.2.3. Funciones y papel fisiológico .....	37
1.3.3. Factor Neurotrófico Derivado del Cerebro .....	38
1.3.3.1. Metabolismo del BDNF.....	38
1.3.3.2. Función del BDNF .....	39
1.3.4. Gen del Factor Neurotrófico Derivado del Cerebro.....	41
1.3.4.1. Localización y estructura .....	41
1.3.4.2. Polimorfismos.....	42
1.3.4.3. Funciones y papel fisiológico .....	42
1.4. NUTRICIÓN HUMANA.....	43
1.4.1 Los nutrientes, principales componentes alimentarios .....	43
1.4.1.1. Glúcidos .....	44
1.4.1.2. Lípidos.....	46
1.4.1.3. Proteínas.....	48

1.4.1.4. Vitaminas .....	49
1.4.1.5. Minerales .....	50
1.4.1.6. Agua .....	50
1.4.2. Genómica Nutricional, nutrición en el siglo XXI .....	51
1.4.3. Dieta personalizada, la dieta del siglo XXI .....	52
1.4.4. Tratamiento nutricional frente a la depresión y el deterioro cognitivo .....	55
<b>2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS / RATIONALE AND OBJECTIVES .....</b>	<b>57</b>
<b>3. MATERIAL Y MÉTODOS / MATERIALS AND METHODS .....</b>	<b>69</b>
3.1. PARTICIPANTES .....	71
3.2. DISEÑO EXPERIMENTAL .....	72
3.3. VALORACIÓN NUTRICIONAL DE LA DIETA .....	74
3.3.1. Valoración dietética .....	74
3.3.2. Evaluación del patrón dietético .....	74
3.4. ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS BIOLÓGICAS .....	75
3.4.1. Análisis de muestras sanguíneas .....	75
3.4.1.1. Recogida y tratamiento de las muestras .....	75
3.4.2. Genotipado de los polimorfismos de <i>SLC6A4</i> (5-HTTLPR y rs25531) .....	76
3.4.3. Genotipado del polimorfismo rs6265 de <i>BDNF</i> .....	77
3.4.4. Análisis de los metabolitos de excreción urinarios .....	77
3.4.4.1. Recogida y tratamiento de las muestras .....	77
3.4.4.2. Cuantificación de los niveles de creatinina .....	78
3.4.4.3. Cuantificación de los niveles de 5-HIAA .....	78
3.4.4.4. Cuantificación de los niveles de BDNF .....	79
3.5. EVALUACIÓN DEL ESTADO ANÍMICO Y LA COGNICIÓN .....	79
3.5.1. Cuestionarios relacionados con la tendencia a padecer depresión .....	79
3.5.1.1. Escala de Respuestas Rumiativas .....	79
3.5.1.2. Inventario de Depresión de Beck- II .....	80
3.5.1.3. Inventario de Ansiedad de Beck .....	80
3.5.1.4. OMS-5 Índice de Bienestar .....	80
3.5.2. Cuestionarios relacionados con la cognición social .....	81
3.5.2.1. Índice de Reactividad Interpersonal .....	81
3.5.2.2. Coeficiente Empático .....	81
3.5.2.3. Escala de Juicios Morales .....	82
3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS .....	82
<b>4. RESULTADOS / RESULTS .....</b>	<b>99</b>
4.1. EVALUACIÓN NUTRICIONAL DE LA DIETA .....	101
4.1.1. Evaluación del patrón dietético .....	101
4.1.2. Calidad de la dieta .....	102
4.2. INFLUENCIA DE LOS POLIMORFISMOS 5-HTTLPR Y RS25531 ( <i>SLC6A4</i> ) SOBRE LA RECAPTACIÓN DE LA SEROTONINA .....	105
4.2.1. Frecuencia alélica y genotípica del gen <i>SLC6A4</i> .....	105

4.2.2. Ingesta del aminoácido triptófano.....	106
4.2.3. Excreción del metabolito urinario de la serotonina .....	107
4.2.4. Relación entre el consumo de triptófano y la excreción de 5-HIAA.....	108
<b>4.3. EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL TRIPTÓFANO SOBRE LA TENDENCIA A LA DEPRESIÓN Y LA COGNICIÓN SOCIAL.....</b>	<b>110</b>
4.3.1. Triptófano como modulador de la tendencia a la depresión. ....	110
4.3.2. Triptófano como modulador de la cognición social.....	111
<b>4.4. RESPUESTA AL TRATAMIENTO EN PERSONAS MAYORES MODULADA POR <i>SLC6A4</i> Y <i>BDNF</i> .....</b>	<b>116</b>
4.4.1. Frecuencia alélica y genotípica de los polimorfismos de <i>BDNF</i> y <i>SLC6A4</i> .....	116
4.4.2. Adherencia a la Dieta MIND, influenciada por los polimorfismos rs6265 y 5-HTTLPR/rs25531.....	117
4.4.3. Excreción del factor neurotrófico derivado del cerebro.....	118
4.4.4. Mejora de la tendencia a la depresión y la cognición social, mediada por la interacción de los genes <i>SLC6A4</i> y <i>BDNF</i> . ....	119
<b>5. DISCUSIÓN.....</b>	<b>149</b>
5.1. Evaluación nutricional .....	151
5.2. Influencia de los polimorfismos 5-HTTLPR, rs25531 y rs6265 .....	154
5.3. Eficacia de la intervención nutricional sobre la depresión .....	155
5.4. Eficacia de la intervención nutricional sobre la cognición social.....	158
<b>6. CONCLUSIONES /CONCLUSIONS .....</b>	<b>163</b>
<b>7. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>171</b>
<b>Anexos .....</b>	<b>203</b>
ANEXO I .....	205
ANEXO II .....	206



## Lista de abreviaturas •••

---

<b>5-HIAA</b>	Ácido 5-hidroxiindolacético ( <i>5-hydroxyindolacetic acid</i> )
<b>5-HT</b>	Serotonina o 5-hidroxitriptamina ( <i>Serotonin or 5-hydroxytryptamine</i> )
<b>5-HTTLPR</b>	Polimorfismo de la región promotora del transportador de serotonina ( <i>Serotonin Transporter-Linked Promoter Region polymorphism</i> ).
<b>AANAT</b>	Aril-alquil-amina-N-acetil transferasa
<b>AGM</b>	Ácidos grasos monoinsaturados
<b>AGP</b>	Ácidos grasos poliinsaturados
<b>AGS</b>	Ácidos grasos saturados
<b>APOE</b>	Apolipoproteína E ( <i>Apolipoprotein E</i> )
<b>BAI</b>	Inventario de Ansiedad de Beck ( <i>Beck's Anxiety Inventory</i> )
<b>BDI-II</b>	Inventario de Depresión de Beck ( <i>Beck's Depression Inventory</i> )
<b>BDNF</b>	Factor Neurotrófico derivado del cerebro ( <i>Brain Derived Neurotrophic factor</i> )
<b>CDR</b>	Cantidad Diaria Recomendada
<b>DASH</b>	Enfoques alimentarios para detener la hipertensión ( <i>Dietary Approaches to Stop hypertension</i> )
<b>DNA</b>	Ácido desoxirribonucleico ( <i>Desoxirribonucleic acid</i> )
<b>EDTA</b>	Ácido etilendiaminetetraacético ( <i>Ethylenediaminetetraacetic acid</i> )
<b>EGF</b>	Factor de crecimiento epidérmico ( <i>Epidermal Growth Factor</i> )
<b>ELISA</b>	Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas ( <i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i> )
<b>HDL</b>	Lipoproteínas de alta densidad ( <i>High density lipoprotein</i> )
<b>HGF</b>	Factor de crecimiento de hepatocitos ( <i>Hepatocyte Growth Factor</i> )
<b>HIOMT</b>	Hidroxil-O-metiltransferasa
<b>IA</b>	Ingesta Adecuada
<b>IASE</b>	Índice de Alimentación Saludable
<b>IDR</b>	Ingestas Dietéticas de Referencia
<b>IL-10</b>	Interleuquina-10
<b>IL-13</b>	Interleuquina-13
<b>IL-6</b>	Interleuquina-6
<b>IL-7</b>	Interleuquina-7
<b>INE</b>	Instituto Nacional de Estadística.
<b>IRI</b>	Índice de Reactividad Interpersonal ( <i>Interpersonal Reactivity Index</i> )

<b>ISRS</b>	Inhibidores Selectivos de la Recaptación de la Serotonina.
<b>Kcal</b>	Kilocalorías
<b>L</b>	Largo ( <i>Long</i> )
<b>LNAAs</b>	Aminoácidos neutros grandes ( <i>Large Neutral Amino Acid</i> )
<b>MAO-A</b>	Monoamino oxidasa A ( <i>Monoamine oxidase A</i> )
<b>MAPK</b>	Proteína quinasas activadas por mitógenos ( <i>Mitogen-Activated Protein Kinases</i> )
<b>MCI</b>	Deterioro cognitivo leve ( <i>Mild Cognitive Impairment</i> )
<b>Met</b>	Metionina
<b>MIND</b>	Intervención Mediterráneo-DASH para el retraso neurodegenerativo ( <i>Mediterranean-DASH diet Intervention for Neurodegenerative Delay</i> )
<b>miRNA</b>	microRNA
<b>MMP1</b>	Metaloproteinasa-1 de la matriz extracelular ( <i>Matrix metalloproteinase 1</i> )
<b>NAD<sup>+</sup></b>	Nicotinamida adenina dinucleótido ( <i>Nicotinamide adenine dinucleotide</i> )
<b>NMDA</b>	N-metil-D-aspartato ( <i>N-methyl-D-aspartate</i> )
<b>NTRK2</b>	Receptor neurotrófico de tirosina quinasa, tipo 2 ( <i>Neurotrophic tyrosin kinase receptor, type 2</i> )
<b>O<sub>2</sub></b>	Oxígeno
<b>OMS</b>	Organización Mundial de la salud
<b>p75NTR</b>	Receptor de las neurotrofinas p75 ( <i>p75 neurotrophin receptor</i> )
<b>PGH</b>	Proyecto Genoma Humano
<b>PI3K</b>	Fosfoinositol 3- quinasas ( <i>Phosphatidylinositol-3 kinases</i> )
<b>PLC<math>\gamma</math></b>	Fosfolipasa C-gamma ( <i>Phospholipase C gamma</i> )
<b>RNA<sub>m</sub></b>	Ácido ribonucleico mensajero (messenger ribonucleic acid)
<b>ROS</b>	Especies reactivas del oxígeno ( <i>Reactive oxygen species</i> )
<b>RRS</b>	Escala de Respuestas Rumiativas ( <i>Ruminative Response Scale</i> )
<b>S</b>	Corto ( <i>Short</i> )
<b>SERT</b>	Transportador de serotonina ( <i>Serotonin Transporter</i> )
<b>SLC6A4</b>	Transportador de serotonina ( <i>Solute carrier family 6 member 4</i> )
<b>SNC</b>	Sistema nervioso central
<b>SNP</b>	Sistema nervioso periférico
<b>SNPs</b>	Polimorfismo de nucleótido sencillo ( <i>Single Nucleotide Polimorphism</i> )
<b>T<sub>m</sub></b>	Temperatura de fusión ( <i>Melting temperature</i> )
<b>TPH1</b>	Triptófano hidroxilasa ( <i>Tryptophan hydroxylase 1</i> )
<b>TrkB</b>	Receptor tirosina quinasa B ( <i>Tropomyosin related kinase B</i> )



**UL** Niveles máximos de ingesta admisible (*Tolerable Upper Intake Level*):  
**Val** Valina  
**VLDL** Lipoproteínas de muy baja densidad (*Very low-density lipoprotein*)



El envejecimiento es un proceso multifactorial que está asociado a la aparición de numerosas patologías, entre las que se encuentra la depresión (enfermedad que compromete seriamente la salud y el bienestar de los individuos). Además, es uno de los grandes retos en las sociedades desarrolladas, ya que se espera que continúe el incremento en la proporción de personas mayores de 65 años. A lo largo del envejecimiento, la cognición social también suele verse alterada, contribuyendo a la disminución de la calidad de vida de los individuos. A nivel molecular, el envejecimiento está acompañado por el descenso en los niveles de la serotonina, neurotransmisor involucrado en el procesamiento de la información afectiva y social.

Estudios previos demuestran que una parte de la población no responde bien a los fármacos utilizados para tratar la depresión y el deterioro de la cognición social, y tampoco existe un tratamiento nutricional eficaz para estos pacientes.

Por ello, la presente Tesis Doctoral pretende evaluar la eficacia de suplementos alimenticios enriquecidos en L-triptófano, aminoácido esencial, para tratar de disminuir los síntomas depresivos y el deterioro cognitivo social asociados al envejecimiento en individuos sanos. Para ello, se ha realizado el estudio en dos poblaciones distintas: una población joven de estudiantes universitarios y otra de personas mayores de 50 años. Asimismo, se han estudiado los polimorfismos 5-HTTLPR y rs25531 del gen *SLC6A4*, así como la interacción de ambos con el polimorfismo rs6265 del gen *BDNF*, todos ellos asociados previamente a la depresión y/o al deterioro de la cognición social.



Aging is a multifactorial process which is related to several diseases, like depression. (which compromise the health and well-being of humans). It is expected that the proportion of people aged 65 and over, is going to continue growing during the next years. Social cognition, usually get compromised through the aging process, and decrease significantly the quality of life. Once it is impaired, individuals are not able to continue having a healthy and a plenty life. From a molecular point of view, aging is accompanied by a decrease in serotonin (neurotransmitter involved in the processing of affective and social information) levels.

Previous research suggests that despite of the drugs used to treat depression and social cognitive impairment, there is a proportion of people who does not respond properly to the treatment, and there is not yet any effective nutritional treatment for these patients.

Therefore, this PhD work assess the efficacy of food supplements enriched with L-tryptophan, an essential amino acid, on the reduction of age-related depressive symptoms and social cognitive impairment in healthy subjects. The trial was conducted in two different populations, a young population with undergraduate students, and an older population with subjects aged 50 and over. Due to the latest advances in the field of nutrition and nutritional genomics, 5-HTTLPR and rs25531 polymorphisms of the *SLC6A4* gene were studied. As well as the interaction both polymorphisms had with rs6265 polymorphism of the *BDNF* gene, all of them were previously associated with depression and/or social cognitive impairment.



## 1. Introducción ...

---





## 1.1. COGNICIÓN

El término cognición deriva del latín, *cognitio*, que significa conocimiento o acción de conocer (RAE, 2018). Así, incluye todos los procesos que están relacionados con el pensamiento, entre los que destacan el desarrollo del lenguaje, el razonamiento, la resolución de conflictos, la memoria o la toma de decisiones. Por lo tanto, la habilidad cognitiva será la capacidad que tenga el individuo para evaluar y resolver problemas, lo cual afectará a la productividad de diversas formas, ya sea en el trabajo, en el cuidado de los niños, o a la hora de mejorar la salud de uno mismo y de los demás. Estudios realizados hasta la fecha sobre desarrollo cognitivo, se han centrado en estudiar la velocidad de procesamiento, la memoria de trabajo y el razonamiento fluido como habilidades cognitivas interrelacionadas que se desarrollan desde la infancia hasta la edad adulta, y que predicen diferencias individuales en el rendimiento (Finn y cols., 2014).

Hoy en día, la salud cognitiva es un factor muy importante para preservar la calidad de vida en las personas mayores, manteniendo su independencia intacta. Ya que les permite mantener una conexión social, junto con un propósito continuo. Ello les permite actuar de forma independiente, permitiendo a la vez recuperarse funcionalmente de una enfermedad o lesión y superar los déficits funcionales que puedan surgir (Clare y cols., 2017). En este caso, también las capacidades mentales, las habilidades adquiridas a lo largo de la vida, y la capacidad de poder aplicarlas a actividades específicas, serán los componentes principales que resultarán esenciales.

El perfil genético, el historial clínico (incluyendo las enfermedades crónicas), el género, las experiencias tempranas de la vida, así como la oportunidad educativa, son varios de los factores que afectan a la salud cognitiva y podrán modular la plasticidad cognitiva (Hendrie y cols., 2006). Siendo la plasticidad la capacidad de mejorar la función cognitiva en base a la respuesta del entorno. Así, se ha observado que, en el caso del Alzheimer, el realizar ejercicio físico regularmente o seguir una dieta equilibrada puede disminuir el riesgo de padecer la enfermedad, mientras que otros factores como el consumo de alcohol y el tabaquismo tienden a incrementar el riesgo (Clare y cols., 2017). El sueño promueve la integración y estabilización de la memoria, a la vez que elimina metabolitos cerebrales. Mientras que la pérdida de sueño disminuye el rendimiento en tareas de atención y control ejecutivo (Scullin y cols., 2015). Por ello, será esencial modificar los hábitos inadecuados que perjudiquen a la salud cognitiva a edades tempranas para así poder mejorar la salud cognitiva en etapas posteriores de la vida, y contrarrestar el riesgo genético, en caso de que este sea elevado.

### 1.1.1. ¿Qué es la cognición social?

El ser humano se caracteriza por ser un individuo social, que se mueve en entornos sociales, tratando de intuir las emociones y estados afectivos tras la observación constante de la expresión facial y corporal de quienes le rodean. Esta intuición de rasgos emocionales y afectivos tiene el fin de obtener conclusiones acerca de pensamientos o sentimientos de los demás y en base a ello poder actuar de un modo u otro, intentando adaptarse, en la medida de lo posible, a su entorno social. Cabe destacar que cada vez que un individuo sale a la calle se expone a una gran cantidad de estímulos que resultarán significativos socialmente (Brizio y cols., 2015), como pueden ser ver a un amigo o leer un anuncio publicitario. Esta información se almacena en el cerebro de manera inconsciente. De este modo al conocer a alguien, el cerebro utilizará directamente información almacenada previamente para crear asociaciones que faciliten la interacción social (González y Ruiz, 2015).

Por lo tanto, el término cognición social engloba las operaciones mentales que subyacen en las interacciones sociales, incluyendo a los procesos de percepción, interpretación, y producción de respuestas frente a intenciones, disposiciones o conductas de otros. Es decir, será el conjunto de procesos cognitivos implicados en el pensamiento sobre sí mismo, otras personas, situaciones e interacciones sociales. Es una disciplina que actúa como nexo de unión entre la neurocognición y el funcionamiento comunitario del individuo (Ruiz-Ruiz y cols., 2006).

### 1.1.2. Principales componentes de la cognición social

El **procesamiento emocional**, es el primero de los componentes, y suele hacer referencia a los aspectos relacionados con la percepción y el uso de las emociones. De hecho, el principal mecanismo para estudiar este componente han sido los estudios basados en el reconocimiento de la expresión facial. Para ello, las personas deben identificar la emoción que representa cada cara, pudiendo ser alegría, tristeza, enfado, miedo, sorpresa, disgusto o vergüenza, como ocurre en el cuestionario “*Reading the mind in the eyes*” (Baron-Cohen y cols., 2001).

La **Teoría de la mente** hace referencia a la capacidad que tienen los seres humanos para inferir sobre los estados mentales de otros, por ejemplo, será la capacidad para inferir sobre intenciones, disposiciones y creencias de terceros (Brüne, 2005).

La **percepción social**, se asocia con las capacidades del ser humano para valorar las reglas y roles sociales, y por ende valorar el contexto social. Todo ello se basa en procesos perceptivos que deben dirigir la atención hacia señales sociales clave, que ayudan a situar e interpretar adecuadamente las situaciones en las que pueda verse implicado el individuo. Se trataría de la percepción que requiere leer entre líneas. Para ello, en primer lugar, se debe saber identificar y categorizar la conducta observada, y a continuación se deberá decidir si la conducta responde a un estado estable o si por el contrario es consecuencia de algún factor situacional (Penn y Combs, 2000).

Otro de los componentes será el **conocimiento o esquema social**, definido como la capacidad que disponen los individuos para identificar las características predominantes en determinadas situaciones sociales, por lo que estará muy relacionada con la anterior. Para ello, se debe conocer previamente lo que es y lo que no es habitual en una determinada situación social. Así, el esquema social suele basarse en las acciones, reglas, metas y roles. Por ello, el conocimiento social, suele ser el marco de referencia que indica al sujeto cómo debe actuar, cuál es su papel o el de las personas implicadas, qué reglas suelen utilizarse por convicción en esa situación y por qué razones se ha visto implicado en esa situación social (Ruiz-Ruiz y cols., 2006).

El último componente lo constituye el **estilo atribucional**, que indica los motivos que una persona da a las causas de resultados positivos o negativos. Teniendo en cuenta que el significado de cualquier acontecimiento se basa siempre en la atribución que el individuo haga sobre su causa (Green y cols., 2005).

### 1.1.3. Emociones, afectividad y cognición social

Pese a que durante muchos años se han tratado los procesos cognitivos y emocionales por vías separadas, hoy en día, se ha demostrado que ambos están estrechamente relacionados. Así, a la hora de tratar de resolver conflictos, se busca que la persona tratada sea consciente de los procesos afectivos que le están perjudicando, y de este modo promover la auto-comprensión, incrementando la toma de perspectiva y mejorando la cognición social.

Se podrán así, definir las emociones como experiencias subjetivas que experimentan los seres humanos y están mediadas por diversos procesos, incluyendo los procesos expresivos, neurofisiológicos, así como anatómico-visceral. Al principio, dichos procesos ocurren de manera inconsciente, involuntaria y automática, tratando de favorecer la supervivencia del individuo, y una vez que sean capaces de procesarlos e identificarlos darán lugar a los sentimientos, que resultarán más complejos (Moneta,

2008). Además, debido a que los seres humanos poseen personalidades y opiniones muy dispares, la respuesta frente a un mismo estímulo podrá ser muy diferente. Así, cada individuo sigue sus propios esquemas mentales, y lo que para una persona puede resultar gracioso o divertido para otra puede resultar vergonzoso, siempre dependiendo de las circunstancias y experiencias vividas en el pasado (Yang, 2009, Maiese, 2016).

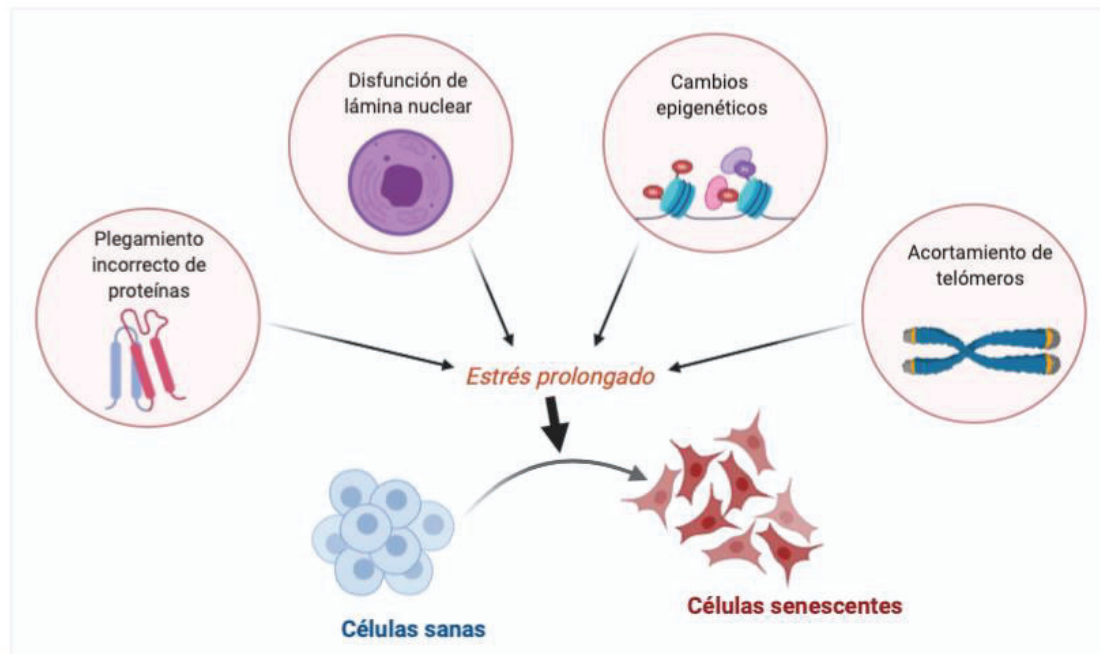
## 1.2. ENVEJECIMIENTO

El envejecimiento es un proceso fisiológico natural, presente a lo largo de la vida que inicia en el momento de la concepción y que concluye con la muerte. A lo largo del proceso, se producen numerosos cambios fisiológicos que limitan la adaptabilidad del organismo con respecto al medio (Alvarado-García y Salazar Maya, 2014). Es también un proceso heterogéneo ya que el ritmo de este proceso fisiológico varía entre individuos.

Desde un punto de vista biológico, el envejecimiento es la consecuencia de la acumulación de daños moleculares y celulares producidos a lo largo del tiempo (OMS, 2015). Así, la senescencia celular resulta ser el principal responsable del envejecimiento biológico (Dang y cols., 2019). La senescencia celular es un fenómeno producido en respuesta al estrés que culmina con la pérdida de la capacidad proliferativa de las células. La erosión o el acortamiento de los telómeros, la activación de oncogenes, el estrés oxidativo, así como la exposición a dosis sub-letales de agentes que producen lesiones en el DNA son algunos de los inductores de la senescencia celular (Artan y cols., 2015).

Al estudiar la senescencia *in vivo*, se pueden llegar a diferenciar tres tipos principales de senescencia: la senescencia aguda, la senescencia embrionaria y la senescencia crónica (Figura 1). La primera se suele producir en respuesta a estrés agudo necesario para mantener la homeostasis en los tejidos, es el caso de la senescencia inducida por oncogenes producida en lesiones neoplásicas (Childs y cols., 2015). La senescencia embrionaria es necesaria para la correcta formación de tejidos y órganos durante el desarrollo embrionario. Sin embargo, todo apunta a que la senescencia crónica no resulta tan beneficiosa como las dos anteriores, ya que es el resultado del daño macromolecular lento producido a largo plazo como consecuencia de estrés prolongado. Dicho estrés está producido, principalmente, por el plegamiento incorrecto de las proteínas, disfunción de la lámina nuclear, cambios epigenéticos producidos, o lesiones diversas producidas en el DNA, incluyendo aquí el acortamiento de los telómeros (López-Otín y cols., 2013). Así, se podría concluir que, tanto la senescencia aguda como embrionaria resultan positivas para el organismo, ya que

ayudan a mantener el correcto funcionamiento del organismo, mientras que la senescencia crónica resultaría más perjudicial para el organismo, siendo la causante de numerosas enfermedades relacionadas con la edad.



**Figura 1.** Factores desencadenantes del estrés prolongado, causante de la senescencia celular crónica.

Por lo tanto, la senescencia en sí misma disminuye la capacidad de reparación de tejidos al detener el ciclo celular de las células progenitoras. Desencadenando el fenotipo secretor asociado a la senescencia, al liberar moléculas pro-inflamatorias como la IL-7 o IL-13, factores de crecimiento como EGF y HGF, y moléculas que degradan la matriz extracelular, como son algunas proteasas como MMP1 (Pawlikowski y cols., 2013).

### 1.2.1. Cambios fisiológicos asociados al envejecimiento.

Como consecuencia del envejecimiento se producen numerosos cambios en el organismo, tanto a nivel estructural como fisiológico, alterándose así la funcionalidad de diversos órganos, como el sistema cardiovascular, el sistema gastrointestinal, el sistema renal, el sistema nervioso central (SNC), el sistema musculo-esquelético, así como el metabolismo de la glucosa (Salech y cols., 2012). A continuación, se van a detallar las principales alteraciones producidas tanto en el sistema gastrointestinal como en el SNC.

### 1.2.1.1. Sistema digestivo durante el envejecimiento

El sistema digestivo o gastrointestinal es el responsable de que se produzca la absorción de los nutrientes. Tras ingerir los alimentos, en la boca comienza ya el proceso para el aprovechamiento de los nutrientes, que pasarán al torrente sanguíneo y a sus órganos diana. Con el paso de la edad, disminuye la capacidad para procesar los alimentos, ya que es común encontrar problemas de dentición y deglución. Pero además de limitar el consumo de ciertos nutrientes debido a las dificultades para procesarlos, la absorción de algunos nutrientes suele verse afectada. Así, la malabsorción intestinal surge como consecuencia de los cambios morfológicos producidos en el intestino y es una de las principales afecciones digestivas (Genua-Goena, 2001). De este modo, se caracteriza por la absorción inadecuada de nutrientes desde el intestino hasta el torrente circulatorio o la linfa. Por lo general suele producirse como consecuencia de las alteraciones producidas en el interior del intestino, en la pared intestinal o por las alteraciones producidas durante el transporte linfático. Así, la absorción intestinal se puede alterar como consecuencia de isquemia en el intestino delgado. Además, el borde en cepillo de la mucosa intestinal puede verse alterado parcial o totalmente, dificultando la hidrólisis de los hidratos de carbono. La superficie de absorción del intestino delgado también se ve disminuida, dificultando la absorción de agua, hierro o vitamina D (Álvarez-Guerra y cols., 2010). Por otro lado, la motilidad intestinal suele verse disminuida, produciendo estreñimiento y alteraciones en la digestión y la absorción de los nutrientes.

No obstante, la mayoría de individuos de avanzada edad, padecen alguna enfermedad, y como consecuencia necesitan tomar medicación regularmente. Se ha demostrado que el proceso de envejecimiento tiene impacto sobre la farmacocinética (Cañás y Buschiazzo, 2000), alterando la absorción, metabolismo y/o excreción del fármaco. Sin embargo, a pesar de que el proceso de envejecimiento pueda disminuir la eficacia del fármaco, se ha demostrado, que los fármacos también interactúan con los nutrientes, tanto potenciando el efecto del fármaco como produciendo un efecto antagónico. Además, la interacción fármaco-nutriente producida, puede conllevar a la dificultad en la absorción de determinados nutrientes.

Por otro lado, se produce la desregulación de la microbiota intestinal, promovida por los cambios producidos en el pH intestinal. Se estimula el incremento en cantidad y diversidad de especies de *Bacteroides*, y a la vez disminuye la diversidad de especies de *Bifidobacterium* (Beltrán y cols., 2017). Por ello, se genera un entorno favorable para el crecimiento de patógenos intestinales, disminuye la absorción de ciertos nutrientes

como minerales, vitaminas, y proteínas, y al mismo tiempo se produce una sensación de saciedad precoz (Escoriza y cols., 2014).

Como consecuencia de todos estos cambios producidos en el sistema digestivo, las personas de avanzada edad, suelen sufrir una pérdida considerable de peso, anemia y/o desnutrición.

#### 1.2.1.2. Sistema nervioso durante el envejecimiento

El sistema nervioso también sufre las consecuencias del envejecimiento. Por un lado, las poblaciones de células que constituyen el SNC se ven alteradas durante el envejecimiento. Por otro lado, la capacidad funcional del cerebro se ve alterada. A continuación, se detallará en profundidad cada uno de los procesos.

En cuanto a las poblaciones celulares, en las células de la microglía, se activa la señalización inflamatoria crónica, disminuye la actividad fagocítica y éstas se preparan para entrar en un estado permanente de activación, liberando factores de señalización inflamatorios como la IL-6 y disminuyendo la cantidad de factores anti-inflamatorios como la IL-10. En las neuronas, disminuye la señalización neuroprotectora y se incrementa la liberación de especies reactivas de oxígeno (ROS), las células son más propensas a sufrir lesiones, y a la vez las neuronas inducen la activación de las células gliales modificando la permeabilidad de la barrera hematoencefálica. En los astrocitos, también se estimula y se incrementa la señalización inflamatoria, disminuyendo la capacidad de procesar los iones extracelulares como el zinc, y las células se convierten más susceptibles frente a las ROS. Por último, en los oligodendrocitos, disminuye la eficiencia de la migración celular, las vainas de mielina se rompen o bien están incompletas, y disminuye el proceso de remielinización (Salech y cols., 2012).

Al analizar el cerebro humano, se observa que durante el envejecimiento su masa disminuye progresivamente. En concreto a partir de los 40 años, por cada década disminuye entorno al 5% de su peso. Además, se produce una pérdida de peso cerebral de un 10-20% del peso alcanzado al finalizar la segunda década de vida (Crespo-Santiago y Fernández-Viadero, 2011). Este cambio principalmente se produce porque, a pesar de que el contenido intra-craneano prácticamente se mantiene estable, el líquido cefalorraquídeo incrementa su volumen de manera progresiva (Salech y cols., 2012).

Además, se ha descrito la existencia de cambios en la expresión de genes y/o proteínas que resultan imprescindibles para la transmisión sináptica, pudiendo alterar así el equilibrio entre la neurotransmisión estimuladora y la inhibitoria, produciendo lesiones debidas a la excitotoxicidad (Bishop y cols., 2010). También se han observado alteraciones en la liberación de neurotransmisores, afectándose así la vía

serotoninérgica, la vía dopaminérgica, o la vía colinérgica. Alteraciones relacionadas con la patogenia de los trastornos de ánimo, la Enfermedad del Parkinson o la Enfermedad del Alzheimer, entre otras (Salech y cols., 2012).

Asimismo, la capacidad funcional del cerebro también se ve afectada con el envejecimiento, y se observa una aceleración del declive funcional tras superar los 50 años de edad (Mendonca y cols., 2017). Disminuyen la capacidad de aprendizaje y la memoria, la atención, la velocidad en la toma de decisiones, así como la percepción sensorial. Además, los principales sentidos se ven alterados, siendo estos la visión, la audición, el tacto, el gusto y el olfato. Por otro lado, suele ser también frecuente el deterioro de la coordinación motora (Mattson y cols., 2018). Por ello, a medida que avanza el proceso de envejecimiento, la ejecución cognitiva se suele ver disminuida. Así, el declive observado en el cerebro irá en concordancia con la disminución funcional del resto de órganos del organismo.

En última instancia, se ha observado que ciertas neurotrofinas como el Factor Neurotrófico Derivado del Cerebro (BDNF: *Brain Derived Neurotrophic Factor*) y el Factor de Crecimiento Nervioso son críticas en la regulación de diversos procesos celulares (Lippi y cols., 2019). Éstas neurotrofinas participan en la supresión apoptótica durante el proceso de diferenciación, regulan la plasticidad neuronal, y contribuyen al mantenimiento de la conectividad sináptica. No obstante, durante el envejecimiento, el transporte de estas neurotrofinas se ve afectado, al disminuir su transporte retrógrado axonal en las neuronas colinérgicas del prosencéfalo (Shekari y Fahnestock, 2019).

### **1.2.2. Cambios psicosociales asociados al envejecimiento.**

Los aspectos psicológicos de un individuo, como son los pensamientos, el comportamiento o las emociones, suelen estar determinados por la interacción que el individuo tiene con su entorno. El nivel de educación, la pérdida de trabajo, el estado civil, la pérdida de los seres queridos, y la interacción social de los mayores con el entorno que les rodea, tanto dentro como fuera de casa, son algunas de las características psicosociales que pueden afectar al bienestar del individuo (Zulfitri y cols., 2019). Además, las características físicas y sociales del lugar de residencia de la persona pueden influir en su bienestar psicosocial (Cazzuffi y López-Moreno, 2018). De hecho, se ha observado que la prevalencia de la depresión varía en función del lugar de residencia, siendo de un 10-20% en personas que viven en sus hogares o con familiares, un 11-45% en personas que viven en el hospital y de un 50% en personas que viven en una residencia de mayores (Zulfitri y cols., 2019).



Asimismo, el bienestar psicosocial y la salud mental poseen un valor intrínseco, ya que pueden afectar a la toma de decisiones o las creencias de la persona, siendo determinantes críticos de su comportamiento (Ramos-Esquivel y cols., 2009; Cazzuffi y López-Moreno, 2018). De hecho, la ausencia de apoyo social por parte de la persona mayor se ha asociado con la aparición de malestar y enfermedades, mientras que aquellas personas que reciben un buen apoyo social, tienen por lo general un mejor estado de salud y bienestar psicosocial (Marín-Sánchez y García-Gonzalez, 2004).

Debido a que el bienestar psicosocial tiende a disminuir con el paso de los años, resulta imprescindible mantener una participación y compromiso social activos para así poder lograr un envejecimiento saludable, mejorando la salud física y mental (Donoghue y cols., 2019). Las enfermedades crónicas presentes en la población de edad avanzada, suelen influir sobre la salud psicosocial. Siendo la ansiedad, la depresión, el sentimiento de inutilidad, la desesperación, el aislamiento social y la soledad, el alcoholismo, el miedo a convertirse en una carga para la familia o la sociedad, o el comportamiento suicida, los principales factores de riesgo (Zulfitri y cols., 2019).

Al parecer la capacidad de adaptación frente a los cambios y la capacidad de establecer objetivos alcanzables son buenos aliados para mantener el bienestar psicosocial. Para ello, la persona debe emplear las estrategias de afrontamiento y la resiliencia como recurso para reconocer sus fortalezas y así poder gestionar su día a día, cumpliendo los objetivos establecidos y mejorando su salud mental (Meléndez y cols., 2018).

### **1.2.3. Enfermedades asociadas al envejecimiento**

#### **1.2.3.1. Deterioro Cognitivo**

El deterioro cognitivo se define como el progreso a través del cual una función cognitiva intacta se va deteriorando hasta culminar en demencia pasando por una etapa intermedia en la que la cognición se va deteriorando y que es conocida como deterioro cognitivo leve (MCI: *Mild Cognitive Impairment*) (Aleksandrova y cols., 2019). Como el ser humano es una especie social, el deterioro de la cognición suele conllevar a la disminución de la calidad de vida y del funcionamiento social, al empeorar el estado físico y mental del individuo (González-Liencre y cols., 2014).

Además, al producirse el deterioro cognitivo al menos disminuye el rendimiento de alguna de las siguientes capacidades mentales, como la memoria, la orientación, el pensamiento abstracto, el lenguaje, la capacidad de juicio y razonamiento, la capacidad para el cálculo y la habilidad constructiva, la capacidad de aprendizaje y la habilidad

espacial-visual. Produciéndose así la pérdida parcial o global de las capacidades previamente adquiridas. Se diferencian dos subtipos de deterioro cognitivo. Aquel que está relacionado con el envejecimiento (alteración cognitiva del anciano que no alcanza la demencia y del mismo modo no repercutirá de manera significativa en sus tareas domésticas, ocupacionales o sociales. Mientras, por otro lado, se encuentran los problemas cognitivos no relacionados necesariamente con el proceso de envejecimiento. Aquí se incluyen los síndromes amnésicos estables y/o transitorios, el *delirium* y la afasia (Pérez-Martínez, 2005).

La etiología del deterioro cognitivo puede llegar a ser muy diversa. Entre las causas principales se encuentran el envejecimiento, las enfermedades psiquiátricas, los eventos o enfermedades cerebrovasculares, las enfermedades sistémicas y degenerativas como la demencia y la enfermedad del Parkinson. Pero este deterioro también puede producirse como consecuencia de determinadas sintomatologías, como ocurre en el caso de la depresión, o bien puede que la alteración de la cognición desencadene determinada enfermedad, como ocurre en la esquizofrenia (Chung y cols., 2014). No obstante, el envejecimiento en sí mismo, también es capaz de alterar el estado cognitivo, disminuyendo la vitalidad del individuo tras su aislamiento social.

A continuación, se resumen los criterios diagnósticos del deterioro cognitivo leve (Mora-Simón y cols., 2012):

- Referir evidencia de preocupación respecto a un cambio en la cognición, en comparación con el estado previo del paciente.
- Presentar alteración en una o más funciones cognitivas. Aquí se incluyen la pérdida de memoria, la función ejecutiva, pensamiento abstracto, atención, lenguaje y habilidades espacio-visuales.
- Preservar la independencia en las habilidades funcionales, aunque presente errores o le cueste más tiempo realizar las tareas más complejas (pagar las cuentas, comprar, etc.).
- No presentar evidencia de demencia.

Es decir, es común que una persona que posee cierto deterioro cognitivo tenga dificultades para recordar los nombres y los números de teléfono, en un diálogo tenga que sustituir las palabras debido a que tiene cierta dificultad para encontrar la palabra adecuada, tenga cierta dificultad para realizar tareas más complejas como pagar las cuentas, y que se desorienten en el tiempo y el espacio.

Así, para detectar el deterioro cognitivo generalmente se suelen emplear los test de rastreo cognitivo. Estos pueden ser generales, analizando el estado cognitivo general

del sujeto. Específicos, centrados en la exploración de una determinada función, aunque durante la realización del test también se analizan otras funciones. O pueden rastrear un subtipo de MCI, centrados en detectar un subtipo de MCI al tener en cuenta todas las funciones cognitivas superiores (Mora-Simón y cols., 2012).

El mejor tratamiento para el deterioro cognitivo es la prevención del mismo, mediante unos hábitos de vida saludables. Una de las estrategias a la hora de prevenir el deterioro cognitivo es la de seguir patrones dietéticos saludables como la dieta mediterránea. De hecho, se ha evidenciado que una elevada ingesta de verduras, hortalizas, frutas, pescado y aceite de oliva, conllevan un menor riesgo de suicidio (Logan y Jacka, 2014). Al estudiar la enfermedad del Alzheimer se ha observado que en individuos que siguen la dieta mediterránea se puede disminuir el riesgo de padecer deterioro cognitivo y la enfermedad propiamente dicha. Sin embargo, una vez diagnosticada la enfermedad, el hecho de tomar “nutrientes protectores” como suplementos dietéticos no aporta una clara mejoría. Este hecho puede deberse a que el efecto protector sea consecuencia de la variedad de nutrientes ingeridos y que sea la interacción de los mismos la responsable de la mejoría producida. O bien puede que sean los fitonutrientes presentes en los alimentos quienes produzcan el beneficio (Shlisky y cols., 2017).

La dieta MIND (*Mediterranean-DASH diet Intervention for Neurodegenerative Delay*) parece contener las propiedades preventivas de la dieta mediterránea como de la dieta DASH (*Dietary Approaches to Stop hypertension*), contribuyendo al mantenimiento de la salud cerebral y retrasando la aparición de las enfermedades neurodegenerativas (Aleksandrova y cols., 2019). Para evaluar la adherencia a la dieta MIND se tienen en cuenta los componentes dietéticos de ambas dietas, haciendo especial hincapié en los alimentos de origen vegetal. Además, estudia el consumo de los vegetales de hoja verde y los frutos rojos, ricos en antioxidantes. En el año 2015, se observó que aquellas personas con una mayor adherencia a la dieta MIND poseían una menor disminución en el estado cognitivo al cabo de 10 años (Morris y cols., 2015). Además, en un estudio reciente se ha observado que es la dieta MIND y no la dieta mediterránea, la que está asociada con la disminución en la probabilidad de padecer deterioro cognitivo al cabo de 12 años (Hosking y cols., 2019).

Una vez que el deterioro ha sido diagnosticado, se debe comenzar un tratamiento adecuado cuanto antes. El deterioro producido puede estar causado por alguna enfermedad, en cuyo caso habrá que tratar la enfermedad concreta para así poder revertir o al menos disminuir el daño producido a nivel cognitivo. Recientemente, los investigadores que están llevando a cabo el estudio ACHIEVE, han concluido que el

tratamiento por audiometría durante más de 6 meses de duración en ancianos con discapacidad auditiva periférica, podría paliar el deterioro cognitivo asociado. Al disminuir los niveles de discapacidad percibida y soledad, así como al conseguir que las personas puedan relacionarse mejor con su entorno social (Deal y cols., 2017; Deal y cols., 2018).

En cuanto a fármacos, la citicolina (que activa la síntesis de los fosfolípidos estructurales de la membrana neuronal), mejora la memoria junto con otras funciones cognitivas. Al disminuir el déficit motor y los trastornos amnésicos y cognitivos producidos en pacientes con traumatismo craneoencefálico (Abad-Santos y cols., 2002).

Diversos ensayos clínicos demostraron que el piracetam aporta cierta mejoría en el grado de alerta, astenia, irritabilidad, socialización y memoria a corto plazo relacionadas con la pérdida de memoria asociada a la edad. Sin embargo, parece no ser efectivo en pacientes con la enfermedad del Alzheimer (Abad-Santos y cols., 2002).

#### 1.2.3.2. Depresión

La depresión es una enfermedad con gran relevancia a nivel mundial. La Organización Mundial de la Salud (OMS) la define como un trastorno mental frecuente, caracterizado por la presencia de trastornos del sueño o apetito, sensación de cansancio persistente, pérdida de interés o placer en actividades que solían ser interesantes o placenteras, sentimientos de culpa o falta de autoestima, y dificultades para llevar a cabo tareas cotidianas, ya sea en el trabajo o en casa (OMS, 2012). Es una enfermedad crónica generalizada que afecta a la salud mental, emocional y física, y que anualmente afecta a 350 millones de personas a nivel mundial (Yu y cols., 2019).

La etiología de la depresión como la mayoría de enfermedades mentales, es parcialmente desconocida. No obstante, parece que la genética juega un papel relevante, ya que su heredabilidad es de un 31-42% (MDD working group of the PCG, 2013). Hasta la fecha se ha demostrado que 417 genes distintos están relacionados con la depresión, siendo algunos de ellos el gen que codifica para la Apolipoproteína E (APOE), el gen de la Triptófano Hidroxilasa 1 (*TPH1: Tryptophan hidroxilase 1*), el gen *BDNF*, el gen del Transportador de Serotonina (*SLC6A4: Solute Carrier Family 6 Member 4*) (OMIM, 2019). Asimismo, los cambios producidos en las concentraciones de ciertos neurotransmisores, como consecuencia de alteraciones en la vía colinérgica, catecolaminérgica, glutamatérgica y/o serotoninérgica parecen también inducir la aparición de la depresión (Ghasemi y cols., 2017).

Además de los factores genéticos, se ha observado que los factores ambientales (Teixeira y cols., 2010), como el sedentarismo, la alteración del ritmo circadiano sueño-

vigilia o seguir patrones dietéticos no saludables también influyen en la aparición de la depresión. El hecho de padecer alguna de las siguientes enfermedades también puede inducir la aparición de depresión: *diabetes mellitus*, hipotiroidismo, mononucleosis infecciosa, tumores cerebrales, esclerosis múltiple, la enfermedad del Parkinson, anemia perniciosa, insuficiencia renal, esquizofrenia o los trastornos de la ansiedad (Coryell, 2018).

Por otro lado, estudios recientes demuestran que la alteración de la microbiota intestinal también desempeña un rol importante en la etiología de la depresión y del dolor crónico. Se ha observado que bacterias como *Alistipes*, *Oscillibacter*, *Blautia* y *Faecalibacterium* están asociadas significativamente a la de severidad de la depresión. Y que los pacientes depresivos suelen poseer elevadas cantidades de *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* y *Verrumicrobia*, junto con niveles disminuidos de *Firmicutes* y *Proteobacteria* (Li y cols., 2019).

No obstante, la administración de determinados fármacos también puede dar lugar a la depresión, como ocurre con la reserpina (fármaco empleado para tratar la hipertensión), barbitúricos, corticosteroides, terapia estrogénica o la cicloserina (Ghasemi y cols., 2017).

La depresión mayor se diagnostica cuando al menos 5 de los siguientes síntomas están presentes en el paciente casi todos los días durante un período de 2 semanas, siendo uno de ellos el primer o segundo síntoma listado a continuación (Revuelta-Evrard y cols., 2010).

- Estado de ánimo depresivo la mayor parte del día.
- Marcada disminución del interés o placer al realizar todas o la mayoría de actividades cotidianas.
- Aumento o pérdida significativa de peso (este debe ser <5%) o bien se puede dar el incremento o la disminución del apetito.
- Insomnio o hipersomnia.
- Agitación o retardo psicomotor observado por otras personas, no por el propio paciente.
- Fatiga o pérdida de energía.
- Sentimientos de inutilidad o culpa excesiva o inapropiada.
- Capacidad de concentración disminuida, o aumento de la indecisión.
- Tener pensamientos recurrentes de muerte o suicidio, algún intento de suicidio o tener un plan específico para suicidarse.

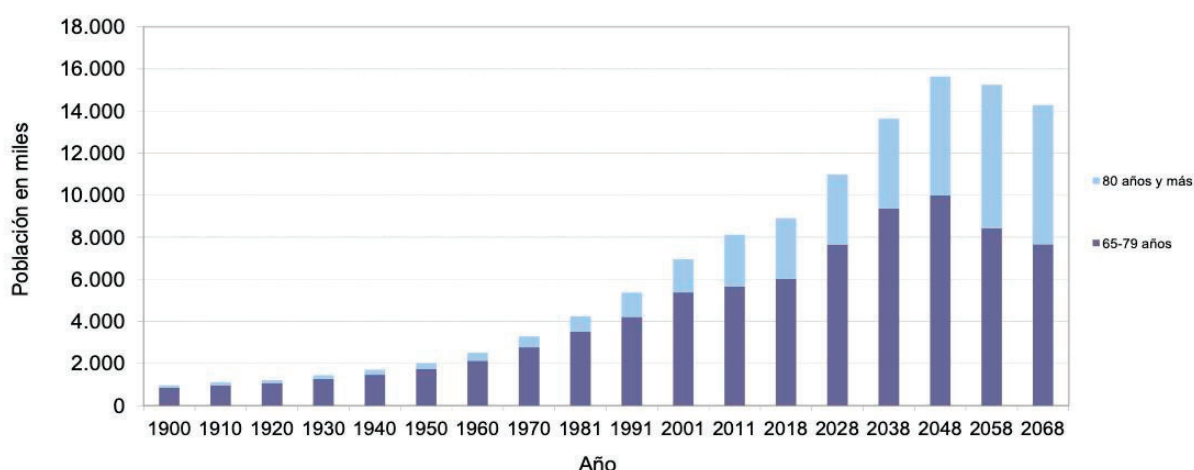
Para que los síntomas sean aplicables deben cumplir además los siguientes criterios (AAP, 2014).

- No cumplir los criterios para un episodio mixto.
- Provocar malestar clínicamente significativo o deterioro social.
- No deben ser debidos a los efectos fisiológicos directos de una sustancia u otra enfermedad.
- No se pueden explicar por la pérdida de un ser querido hace menos de 2 meses.

Al igual que en el caso del deterioro cognitivo y todas las enfermedades crónicas, el mejor tratamiento será la prevención a través de un estilo de vida saludable. Pero una vez diagnosticada la enfermedad, se suelen utilizar diversos fármacos como los antidepresivos heterocíclicos, los inhibidores selectivos de la recaptación de la serotonina (ISRS) o los inhibidores de la monoaminoxidasa. El hecho de acompañar el tratamiento farmacológico con psicoterapia ayuda a incrementar la eficacia del tratamiento (Cipriani y cols., 2014; HQO, 2017).

#### 1.2.4. Indicadores demográficos del envejecimiento en España

La pirámide de población española continúa su proceso de envejecimiento, constituyendo las personas mayores, según los datos estadísticos del Padrón Continuo del Instituto Nacional de Estadística (INE), un 19,1% sobre el total de la población (Abellán-García y cols., 2019). Además, se estima que en el año 2068 las personas mayores representarían el 29,4% del total de la población (Figura II).



**Figura II.** Evolución de la población a partir de 65 años en España, 1900-2068. \*De 1900 a 2018 los datos son reales; de 2028-2068 se trata de proyecciones. Fuente: INE: 1900-2011: Censos de Población y vivienda. 2018: Estadística del Padrón Continuo a 1 de enero de 2018. 2028-2068: Proyecciones de Población.

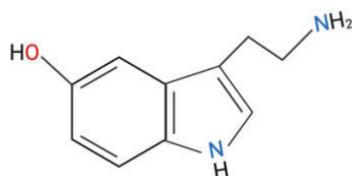
Además del incremento en la proporción poblacional, la esperanza de vida (uno de los principales indicadores que reflejan las consecuencias de las políticas sanitarias, sociales y económicas de un país) se ha incrementado de forma significativa a lo largo del siglo XX (Zheng, 2014). Así, en el año 2017, las mujeres españolas tenían una esperanza de vida al nacer de 85,7 años mientras que los hombres tenían una esperanza de vida algo inferior, de 80,4 años (Abellán-García y cols., 2019). Sin embargo, al analizar la esperanza de vida también se puede incluir la calidad de vida en estado de buena salud, obteniendo así la esperanza de vida en buena salud. Es decir, los años que los individuos pueden disfrutar libres de limitaciones por enfermedad o discapacidad, combinando la información de mortalidad y morbilidad. En esta ocasión los años de vida ganados disminuyen considerablemente, ya que una persona nacida en el año 2017 tendrá una esperanza de vida de buena salud de 69.9 en el caso de ser mujer y de 69,0 años en el caso de ser hombre. No obstante, estos datos superan a la esperanza de vida de buena salud obtenidos para la Unión Europea de 64 años en mujeres y 63,5 años en hombres (INE, 2019).

Es evidente que el envejecimiento resulta una preocupación a nivel mundial, debido al hecho de que el proceso de envejecimiento suele ir acompañado de numerosas comorbilidades (Belsky y cols., 2018). Generalmente, está asociado con numerosas enfermedades crónicas, suponiendo un elevado incremento del coste sanitario mundial. Siendo algunas de las enfermedades más comunes asociadas al envejecimiento el cáncer, la diabetes o las disfunciones cardíacas. (Artan y cols., 2015). En España, se han observado diferencias al tener en cuenta el género de los individuos. Se ha observado que en mujeres predominan la artrosis y la depresión como enfermedades asociadas a la edad. Mientras que en los hombres predominan la bronquitis crónica y la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, entre otras (Abellán-García y cols., 2019).

### 1.3. MOLÉCULAS Y GENES IMPLICADOS EN LA DEPRESIÓN Y EL DETERIORO COGNITIVO

#### 1.3.1. Serotonina

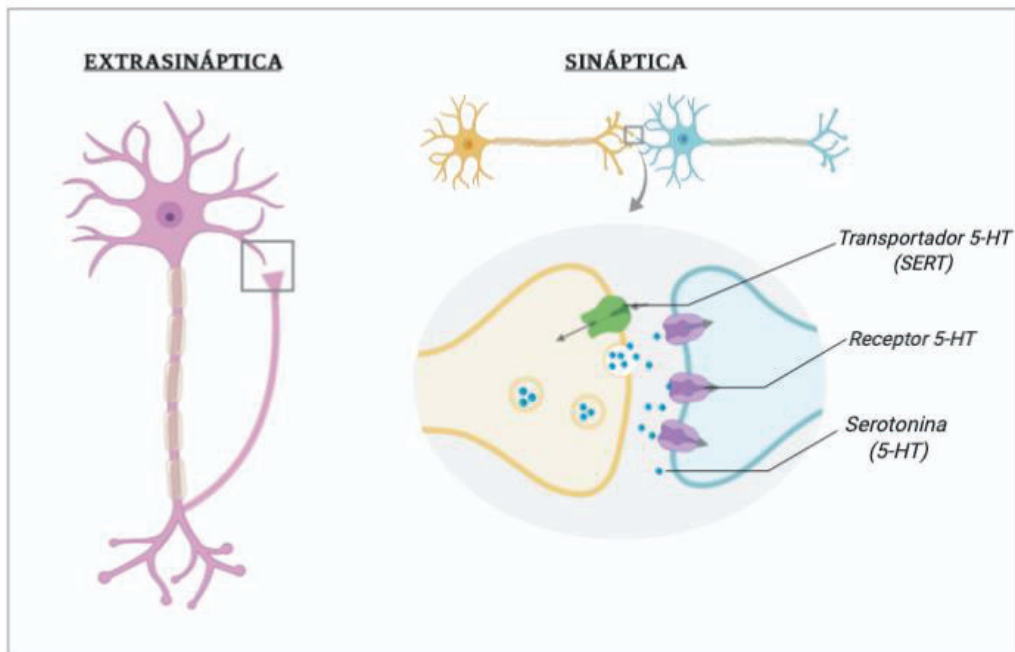
La serotonina o 5-hidroxitriptamina (5-HT) es una amina biógena que está presente en diversos órganos del organismo, como pueden ser el cerebro, el tracto gastrointestinal, los pulmones, el hígado, los riñones y las glándulas mamarias. Esta amina pertenece al grupo de las indolaminas, siendo a su vez el precursor del indol melatonina. Está compuesta por un anillo indólico hidroxilado en la posición 5 y una cadena lateral etilamínica, por lo que es una sustancia hidrofóbica. Su fórmula molecular es la siguiente:  $C_{10}H_{12}N_2O$  y su estructura molecular se presenta en la Figura III.



**Figura III.** Estructura química del neurotransmisor serotonina.

Las características del sistema serotoninérgico y sus funciones se conservan a lo largo de la escala evolutiva. En mamíferos, los somas de estas neuronas se encuentran agrupadas en los núcleos del rafe en el tallo cerebral invadiendo desde ahí a todo el SNC. La liberación de serotonina puede tener lugar de 2 maneras distintas, a partir de terminales sinápticas o a partir de sitios extrasinápticos, en el soma, en los axones o en las dendritas de las neuronas (Figura IV). En el primer caso, los efectos producidos suelen ser rápidos y localizados, al producirse sobre las terminales de neuronas serotoninérgicas post-sinápticas. Pero la serotonina liberada a partir de los sitios extrasinápticos, suele difundir al medio extracelular, pudiendo activar cualquier tipo de neuronas que posean receptores de 5-HT. Para activar dichos receptores debe existir una determinada concentración de 5-HT en el medio. En este caso, la difusión será paracrina, y los efectos serán más difusos (Trueta y Cercós, 2012). A través de este mecanismo de liberación se suele regular la actividad los circuitos neuronales que modulan la conducta y las emociones.

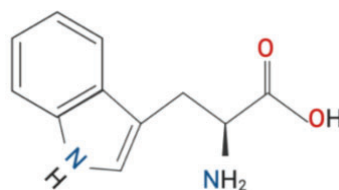




**Figura IV.** Esquema de la liberación de serotonina en sitios extrasinápticos (soma, axones o dendritas) y en el espacio sináptico. 5-HT: serotonina.

#### 1.3.1.1. Triptófano, precursor de la serotonina

La 5-HT se sintetiza a partir de su precursor, el triptófano (ácido 2-amino-3-(3-(3'-indolil)-propanoico) (Figura V). Este aminoácido hidrófobo, aromático y esencial se engloba dentro de los aminoácidos LNAA (*Large Neutral Amino Acid*). Además, el triptófano es también el precursor de la melatonina, quinurenina o niacina, moléculas que modulan el comportamiento, la percepción del dolor, el estrés oxidativo, el ciclo sueño-vigilia y el estado de ánimo, entre otros procesos fisiológicos (Firk y Markus, 2009; Myint y cols., 2012).



**Figura V.** Estructura química del aminoácido triptófano.

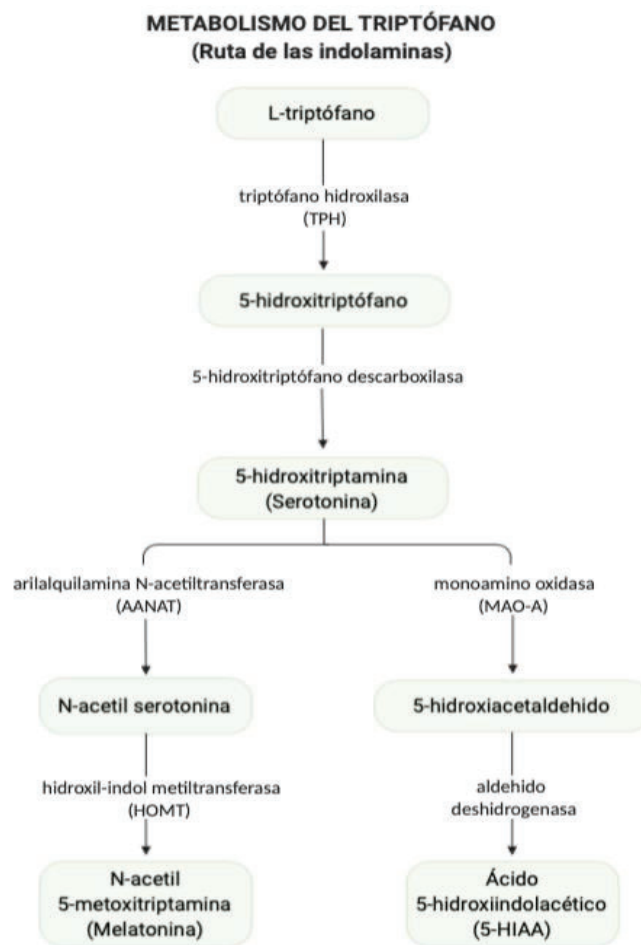
### 1.3.1.2. Metabolismo del triptófano

En función de la actividad enzimática expresada en los tejidos, el triptófano puede actuar en varias rutas metabólicas (Palego y cols., 2016). Las principales rutas metabólicas en las que participa este aminoácido son las siguientes:

La **ruta de las indolaminas**, en la que el anillo indólico se mantiene intacto produciendo diversos mensajeros químicos como la 5-HT, la N-acetilserotonina, la melatonina y sus derivados. Siendo la ruta minoritaria, ya que únicamente el 3-10% del triptófano se metaboliza a través de esta vía.

La **ruta de las quinureninas**, en la que se rompe el anillo indólico generando metabolitos como el ácido nicotínico y la nicotinamida adenina dinucleótido (NAD<sup>+</sup>). Ésta es la ruta predominante, ya que el 90% del triptófano ingerido metaboliza a través de esta vía.

En la ruta de las indolaminas (Figura VI), en primer lugar, se produce la hidroxilación del triptófano a nivel del anillo bencénico del indol, para lo cual se requiere la presencia del O<sub>2</sub> y la tetrahidrobiopterina. Así, mediante la TPH se produce el 5-hidroxitriptófano. Esta es la etapa limitante, ya que la TPH es una enzima que está activa en tejidos especializados, como son las neuronas serotoninérgicas de los Núcleos del Rafe del mesencéfalo, los pinealocitos de la glándula pineal, las células sanguíneas (como son los macrófagos y los mastocitos), las células enterocromafines del tracto digestivo, las células epiteliales neuroendocrinas del pulmón y otros tejidos emergentes (Ruddick y cols., 2006; Cubero y cols., 2011). Existen 2 isoformas de esta enzima, la TPH<sub>1</sub> y TPH<sub>2</sub> que están codificadas por distintos genes. Así, la actividad de TPH<sub>1</sub> predomina en los pinealocitos y en el Sistema Nervioso Periférico (SNP), mientras que TPH<sub>2</sub> se expresa en los Núcleos del Rafe. En segundo lugar, se produce la descarboxilación del 5-hidroxitriptófano a 5-HT, este proceso está catalizado por la enzima 5-hidroxitriptófano descarboxilasa, que utiliza como cofactor el piridoxal-5-fosfato, no obstante, esta enzima no es un factor limitante (Serretti y cols., 2005; Palego y cols., 2016).



**Figura VI.** Esquema de la ruta metabólica de las indolaminas.

A continuación, la 5-HT producida puede entrar en las vesículas de almacenamiento para liberarse posteriormente como neurotransmisor en el SNC o como modulador en el SNP. No obstante, tras su liberación, el exceso de 5-HT se internaliza nuevamente mediante el Transportador de Serotonina (SERT) a través del proceso conocido como recaptación (Figura IV). Así será degradada a 5-hidroxi-acetaldehído gracias a la actividad de la enzima monoamino oxidasa (MAO-A) en la membrana externa de las mitocondrias y a ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA: *5-hydroxyindolacetic acid*) mediante la aldehído deshidrogenasa, requiriendo  $\text{NAD}^+$  como cofactor. Dicho compuesto se excreta en la orina (Serretti y cols., 2005; Palego y cols., 2016).

En los pinealocitos, la 5-HT se puede obtener por su recaptación a través de SERT o mediante su síntesis a partir del triptófano circulante. Acto seguido, se acetila la 5-HT por acción de la enzima aril-alquil-amina-N-acetil transferasa (AANAT) que produce la N-acetil-serotonina. Por último, esta se convierte gracias a la acción de la enzima hidroxil-indolmetiltransferasa (HIOMT), con ayuda del co-sustrato S-adenosilmetionina en melatonina (Gutiérrez y cols., 2003).

### 1.3.1.3. Función de la Serotonina

A este neurotransmisor se le conoce también como la hormona de la felicidad, por sus efectos positivos producidos sobre el estado anímico. Niveles elevados de este neurotransmisor se asocian a sentimientos de bienestar y felicidad, mientras que niveles bajos se relacionan con diversos trastornos como la depresión, la ansiedad, el trastorno obsesivo-compulsivo o la anorexia (León-García, 2015).

Antiguamente se le denominaba, “enteramina”, por su alta expresión en el tracto gastrointestinal. Pero una vez que se demostró su disponibilidad en el cerebro humano, se le empezó a considerar como un neurotransmisor (Erspamer y Asero, 1952). Además, al ser una molécula hidrofóbica, no puede atravesar con facilidad la barrera hematoencefálica, por lo que la 5-HT presente en el SNC se sintetiza localmente. Esta molécula participa en la regulación del SNC y el SNP, por ello se considera un neuromodulador de gran relevancia. Interviene en numerosos procesos neuropsicológicos, anímicos y cognitivos, regula la motilidad y sensibilidad intestinal, regula también la contracción de los vasos sanguíneos, y regula otras actividades como el ritmo circadiano sueño/vigilia, regula la homeostasis de la leche materna y participa en la agregación plaquetaria (Chiba y cols., 2017; Von Volkmann y cols., 2019).

Además, la serotonina también puede ser liberada por las células enterocromafines del intestino (Boullosa y cols., 1992), en respuesta a estímulos relacionados con la alimentación. Una vez producida, la 5-HT se libera al torrente sanguíneo y se transporta en las plaquetas (entorno el 98% de la 5-HT se almacena aquí, mientras que el 1-2% se sintetizará en el SNC). Los niveles de serotonina sintetizada en las células enterocromafines en el intestino, se han relacionado con la regulación del apetito. En concreto se ha observado que los niveles de serotonina disponible en las plaquetas están asociados a las concentraciones del receptor soluble de la leptina en el plasma sanguíneo (Cataldo y cols., 2019).

Estudios publicados en el año 2017 han demostrado que el sistema serotoninérgico también se ve afectado en diversas enfermedades neurológicas. Por ejemplo, en el caso de la enfermedad del Alzheimer se ha observado que se produce la degeneración del sistema serotoninérgico (Smith y cols., 2017). Por otro lado, se ha demostrado que al activar el receptor 5-HT<sub>3</sub> se podrían inhibir las crisis epilépticas, lo cual podría ser una nueva vía en el tratamiento de la epilepsia (Zhao y cols., 2018).

Por todo ello, se puede afirmar que la 5-HT es una sustancia neuroactiva que actúa a modo de vehículo de información entre las células del sistema nervioso del organismo, participando así en numerosos procesos fisiológicos.

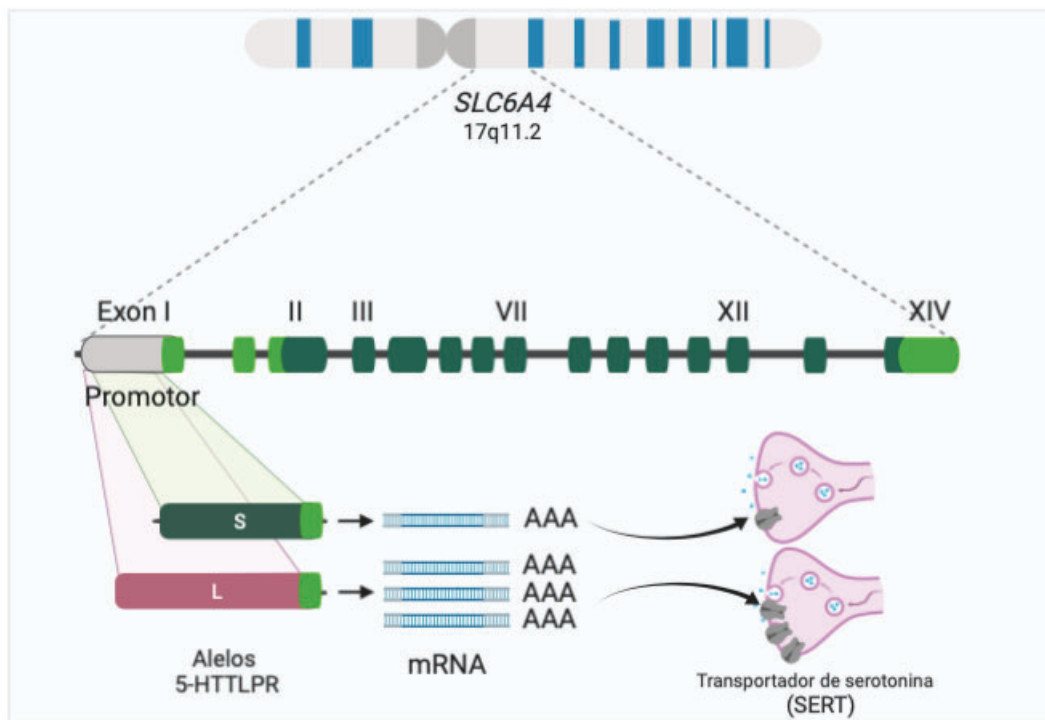
### 1.3.2. Gen del Transportador de la Serotonina (*SLC6A4*)

La actividad de la serotonina se ve regulada por varios genes entre ellos, el receptor de hidroxitriptamina, AANAT, TPH<sub>2</sub> y el transportador de la serotonina (*SLC6A4*: *Solute carrier family 6 member 4* o *SERT*). Sin embargo, al relacionar la serotonina con la depresión el primer gen que aparece en la base de datos OMIM es el gen *SLC6A4* (OMIM, 2019).

El gen *SLC6A4* codifica una proteína integral de membrana, que se encarga de transportar la serotonina desde el espacio intersináptico hasta la neurona presináptica. Es decir, se encarga de reciclar la serotonina y el transportador será sodio-dependiente (Database, 2019<sub>A</sub>).

#### 1.3.2.1. Localización y estructura

El gen *SLC6A4* se encuentra ubicado en la posición 17q11.2 del cromosoma 17 (Figura VII). Este gen consta de 41379 pb, divididos en 14 exones y la secuencia codificante que codificará al transportador de serotonina dependiente de sodio, proteína con una longitud total de 630 aminoácidos (Lesch y cols., 1994).



**Figura VII.** Estructura y localización del gen *SLC6A4*.

### 1.3.2.2. Polimorfismos

Hasta la fecha se han realizado numerosos estudios estudiando algunos de los polimorfismos del gen *SLC6A4*. Siendo los polimorfismos conocidos como 5-HTTLPR (Serotonin Transporter Length Polymorphic Region) y rs25531 algunos de los más estudiados.

El polimorfismo 5-HTTLPR también se conoce como *rs774676466* y se caracteriza por ser un polimorfismo de inserción o delección situado en la región promotora del gen. El polimorfismo está localizado 1 kb corriente arriba del lugar de iniciación de la transcripción. El fragmento que se inserta o deletiona es el siguiente: “AGATGCTGGGGGGCTGCAGGGGGATGCTGGGGGTGCAGGGG” (dbSNP-NCBI, 2019<sub>A</sub>). Como consecuencia del polimorfismo aparecerán 2 variantes génicas. La primera contiene los 43 pb insertados, y se le denomina alelo largo (L: *long*), ya que en total posee 16 repeticiones de esta secuencia. Mientras que el segundo, conocido como el alelo corto (S: *short*) poseerá la delección y no tendrá los 43pb añadidos, teniendo un total de 14 repeticiones de la secuencia (Miranda y cols., 2017). Las diferencias genéticas repercuten en la expresión del gen, ya que se ha observado que en los individuos con el alelo L la frecuencia de expresión de mRNA es hasta tres veces mayor (ver Figura VII), al compararla con los individuos que poseen el alelo S (Plieger y cols., 2017).

El polimorfismo conocido como rs25531 es un polimorfismo de nucleótido sencillo (SNPs: *Single Nucleotide Polimorphism*). Este polimorfismo está asociado al polimorfismo anterior, ya que se caracteriza por el cambio de una Timina por Citosina o Adenina por Guanina (en la cadena de mRNA) en la posición 6 de la primera de las dos repeticiones adicionales (dbSNP-NCBI, 2019<sub>B</sub>).

Al combinar ambos polimorfismos independientes se puede obtener un enfoque trialélico obteniendo los alelos S, L<sub>A</sub> y L<sub>G</sub>. Además, se ha observado que la expresión del gen es similar en individuos con alelo S y en individuos con el alelo L<sub>G</sub>, ambos tienen una menor frecuencia en la expresión de mRNA al compararlo con los individuos portadores del alelo L<sub>A</sub>. Es por ello, que a los alelos S o L<sub>G</sub> también se les denomina S' y al alelo L<sub>A</sub> se le denomina L' (Minelli y cols., 2011).

### 1.3.2.3. Funciones y papel fisiológico

El transportador de 5-HT generado a partir del gen *SLC6A4* se encarga de reintroducir la 5-HT liberada en la hendidura post-sináptica a la neurona presináptica, para obtener así una respuesta más efectiva del neurotransmisor. La recaptación de 5-HT descrita se produce mediante mecanismos Na<sup>+</sup>-dependientes (Amara y Kuhar, 1993).

Se ha observado que el polimorfismo funcional 5-HTTLPR modula la expresión del gen descrito previamente. En concreto, el polimorfismo influye en la capacidad de modular la actividad neural y diversos procesos neuropsicológicos como pueden ser el estado anímico, la cognición, la percepción o las emociones en los individuos (Berger y cols., 2009). Así, estará implicado en la patogénesis de varios trastornos psiquiátricos y neurológicos.

En un principio se asoció al alelo S de 5-HTTLPR con el neuroticismo y la aversión al riesgo. No obstante, en estudios posteriores se ha podido comprobar que el polimorfismo 5-HTTLPR tiene un impacto del 3-4% en estas predisposiciones conductuales. Así, se ha asociado al alelo S con niveles anormales de ansiedad, miedo o depresión. Además, se ha demostrado que no existe relación entre el genotipo y la eficacia del tratamiento farmacológico como se indicaba inicialmente (Lesch y cols., 1996; Mueller y Canli, 2013). No obstante, en estudios recientes se ha demostrado que el alelo S también está asociado a fenotipos favorables, ya que se ha observado que los individuos que presentan el alelo S se desempeñan mejor en la cognición social, es decir, que estos individuos procesan mejor la información social recibida del entorno (Homberg y Lesch, 2010).

En otro estudio realizado al observar a 800 individuos durante más de 23 años concluyeron que el estrés de la vida está relacionado con el genotipo 5-HTTLPR. En concreto, observaron que los individuos que presentaban el alelo S tenían una mayor probabilidad de sufrir depresión o de padecer intentos suicidas al estar expuestos frente a circunstancias estresantes en su vida cotidiana (Caspi y cols., 2003). Otro estudio realizado en el año 2007, demostró que la frecuencia del alelo S se ve incrementada en individuos que padecen la Anorexia Nerviosa y Bulimia Nerviosa (Bailer y cols., 2007).

Por último, se ha observado que el gen *SLC6A4* no se expresa únicamente en el cerebro o el sistema nervioso central, sino que también se expresa en otros órganos o tejidos como las plaquetas o en el intestino (Database, 2019<sub>A</sub>). Así, en el estudio realizado por Fumeron y colaboradores (2002) observaron que los individuos con el

genotipo LL tenían mayor riesgo de padecer infarto de miocardio y una mayor reactividad cardiovascular.

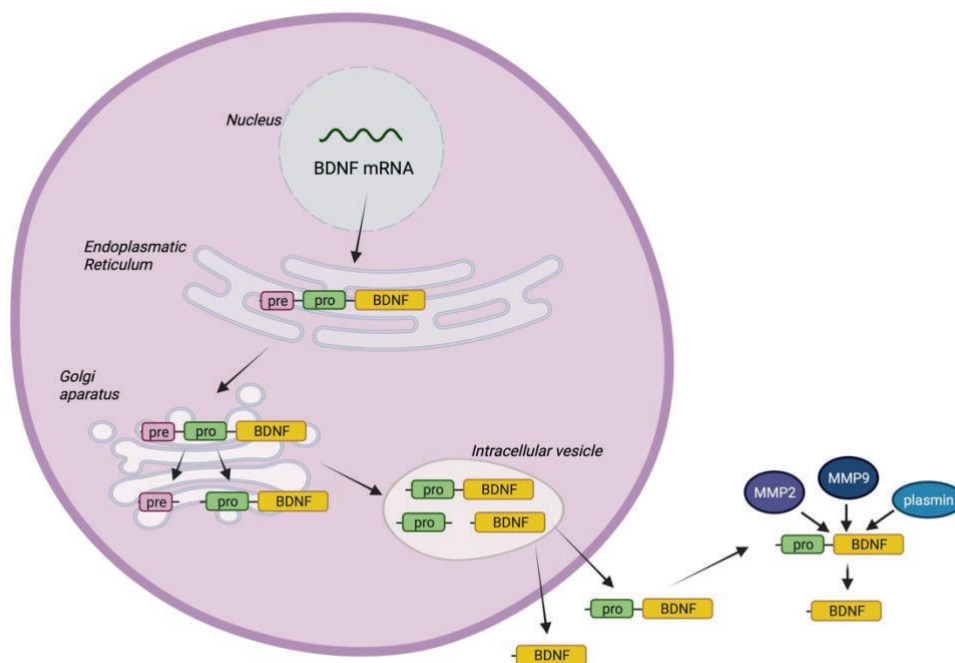
### **1.3.3. Factor Neurotrófico Derivado del Cerebro**

El BDNF, es una proteína que se expresa en el hipocampo y la corteza cerebral de los mamíferos (Armas-Castañeda y cols., 2010). Participa en diversos procesos, como son los procesos de desarrollo neuronal, la sinaptogénesis y la plasticidad neuronal (Wei y cols., 2020). Esta proteína, junto con el factor de crecimiento cerebral o la neurotrofina 3, pertenece a la familia de las neurotrofinas, familia caracterizada por ser pequeñas proteínas y péptidos que se expresan en el neocórtex y la amígdala, realizando diversas funciones adaptativas en el cerebro. Participan así en los procesos de supervivencia, plasticidad sináptica, crecimiento neuronal, diferenciación, y participa también en la creación de recuerdos y en la integración conductual (Bawari y cols., 2019).

#### **1.3.3.1. Metabolismo del BDNF**

El BDNF se sintetiza como una proteína precursora (proBDNF) en el retículo endoplásmico (Figura VIII). Una vez que se elimina el péptido señal, el proBDNF se transporta al aparato de Golgi, donde se clasifica en las vesículas secretoras y a continuación se dirigirá hacia las espinas dendríticas dónde se liberará de manera post-sináptica. Al mismo tiempo, las moléculas de BDNF pueden transportarse a los terminales axónicos mediante transporte anterógrado, y liberarse al espacio extracelular. El proBDNF se puede convertir en BDNF maduro (mBDNF) intracelularmente en el trans-Golgi mediante miembros de la familia subtilisina-kexina de endoproteasas, como la furina, o por el contrario la conversión puede producirse en las vesículas secretoras inmaduras mediante proteínas convertasas (Lu y cols., 2005; Greenberg y cols. 2009). *In vitro* se ha demostrado que una vez liberado el proBDNF éste puede convertirse en mBDNF gracias a la actividad proteolítica de una metaloproteasa (Maureira-Cid, 2016).



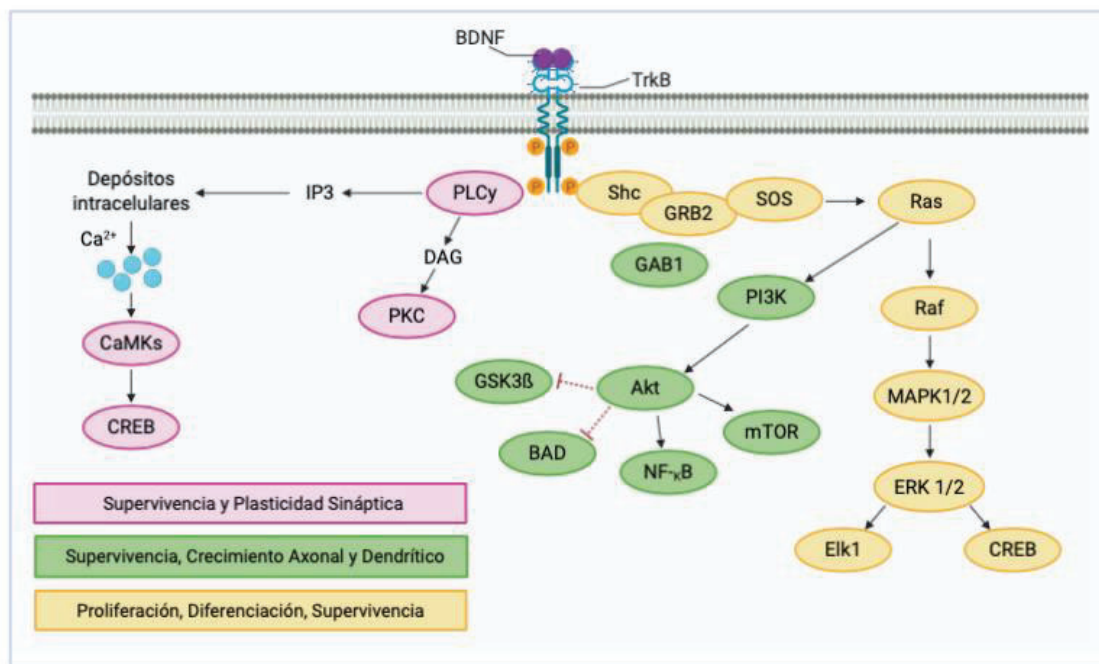


**Figura VIII.** Esquema del proceso de síntesis y maduración de BDNF en una neurona típica. Figura adaptada de Kowianski y cols., 2018.

### 1.3.3.2. Función del BDNF

El BDNF se expresa principalmente en las células nerviosas, sin embargo, puede sintetizarse también en las células del sistema inmune periférico, incluyendo a los linfocitos T (CD4+ y CD8+), linfocitos B y monocitos (Armas-Castañeda y cols., 2010). Así, una vez sintetizado y activado el BDNF se unirá a sus receptores para desencadenar la acción. Esta neurotrofina se puede unir a varios receptores, al receptor tirosina quinasa TrkB (*Tropomyosin related kinase B*) o al Receptor de las neurotrofinas p75 (p75NTR: p75 neurotrophin receptor), éste último es un receptor de menor afinidad que participa en los procesos de crecimiento nervioso. Mientras que el receptor TrkB es un receptor de mayor afinidad que participa principalmente en la supervivencia neuronal y la potenciación a largo plazo de la sinapsis (Ohira y Hayashi, 2009).

Así, por lo general, el BDNF se une al receptor TrkB también conocido como NTRK2 (*neurotrophic tyrosin kinase receptor, type 2*), induciendo su dimerización y su activación (Juhász y cols., 2011). Por consiguiente, se activarán las cascadas de transducción MAPK, PI3K y PLC $\gamma$  (Figura IX), que están interconectadas entre sí (Guo y cols., 2014).



**Figura IX.** Mecanismo de acción del BDNF al unirse al Receptor TrkB (Receptor tirosina quinasa).

La fosforilación del residuo *Tyr515* permite el acoplamiento de la proteína adaptadora Shc al receptor, siendo éste el paso inicial para la activación de la cascada PI3K/Akt, vía que participa en la supervivencia neuronal y en el crecimiento axonal y dendrítico. Pero la Shc también desencadena la activación de la cascada MAPK/ERK, que promueve la diferenciación neuronal, la proliferación neuronal y la supervivencia mediante la activación del factor de transcripción CREB. Por último, el reclutamiento y la activación de la PLC $\gamma$  se produce a través de la fosforilación producida en el residuo *Tyr816*. Esta cascada promueve la supervivencia neuronal y también regula la plasticidad sináptica (Tejeda y Díaz-Guerra, 2017).

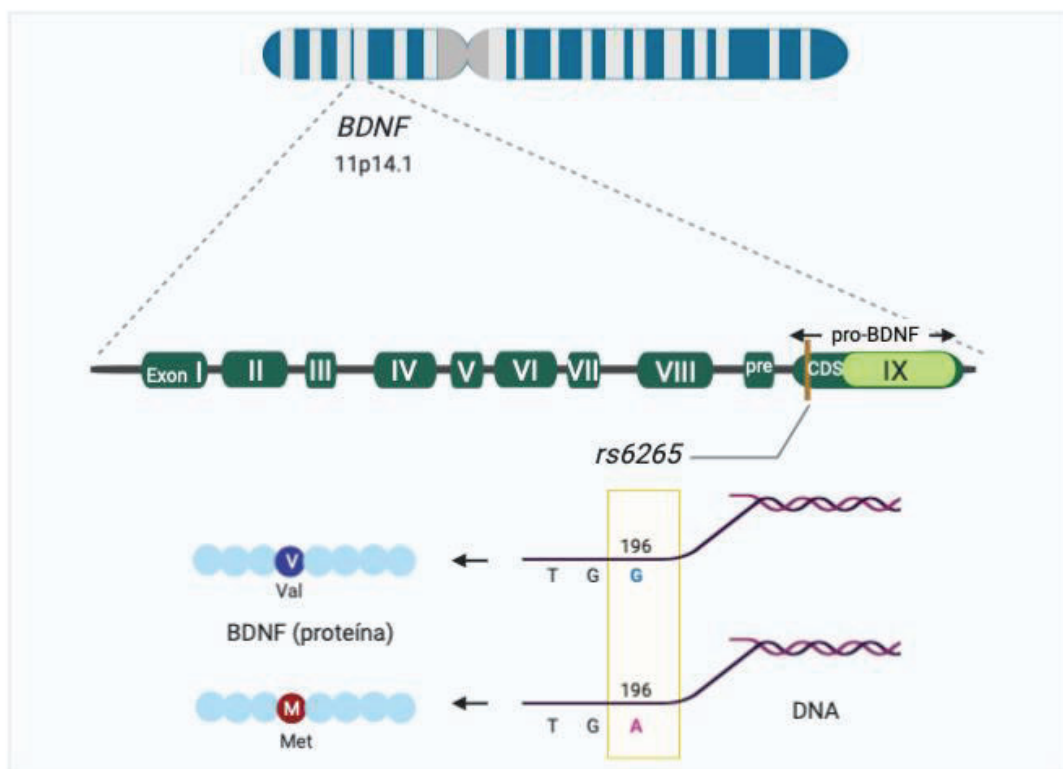
Este metabolito promueve la supervivencia neuronal en el cerebro adulto. De hecho, se ha observado que la expresión del gen se ve disminuida en pacientes con enfermedades como el Alzheimer, el Parkinson o la enfermedad de Huntington. Además, también participa en numerosos procesos adaptativos neuronales, como la potenciación a largo plazo, la depresión a largo-plazo, ciertos tipos de plasticidad sináptica a corto plazo, y participa en la regulación homeostática de la excitabilidad neuronal intrínseca (Mowla y cols., 2001).

### 1.3.4. Gen del Factor Neurotrófico Derivado del Cerebro

La actividad del BDNF principalmente se ve regulada por la expresión del gen *BDNF*. A este gen también se le denomina neurotrofina. Este gen codifica para una proteína de la familia de los factores de crecimiento nervioso. Que es necesario para mantener la supervivencia de las neuronas del cerebro (Zuccato y cols., 2001). Mediante el *splicing* alternativo se generan hasta 9 variantes de la proteína, pero al menos uno de ellos codifica a la preproteína que se procesará hasta dar lugar a la proteína madura (Liu y cols., 2005).

#### 1.3.4.1. Localización y estructura

El gen *BDNF* se encuentra ubicado en la posición 11p14.1 del cromosoma 11 (Figura X). Este gen consta de 67164 pb, divididos en 11 exones y consta también de 9 promotores funcionales que son específicos en función del tejido y de la región cerebral donde se expresen (Tomotsuka y cols., 2014). Así, existen diversas variantes de la proteína BDNF, pero por lo general, el prototipo de BDNF consta de un total de 247 aminoácidos (Pruunsild y cols., 2007).



**Figura X.** Estructura y localización del gen *BDNF*.

#### 1.3.4.2. Polimorfismos

Hasta la fecha se han estudiado diversos SNPs en el gen del *BDNF*, como el polimorfismo rs1554931219, rs1564961192 o rs6265. El primero está relacionado con algunas enfermedades genéticas de nacimiento, el segundo no parece ser patogénico y está relacionado con la obesidad, mientras que el tercero parece demostrar el factor de riesgo asociado al deterioro de la memoria (Database, 2019<sub>B</sub>).

El polimorfismo conocido como *rs6265* está ubicado en el exón 5 y es un SNP que produce un cambio en el aminoácido ubicado en la posición 66. En concreto, en lugar de valina se sintetizará una metionina al sustituir la Guanina original por una Adenina en la cadena de mRNA (dbSNP-NCBI, 2019<sub>C</sub>).

#### 1.3.4.3. Funciones y papel fisiológico

Como se ha mencionado previamente, el BDNF al unirse a sus receptores, regula numerosos procesos como la supervivencia celular, la migración, el sobrecrecimiento de los axones y dendritas, la sinaptogénesis, la transmisión sináptica, la remodelación de las sinapsis o la apoptosis (Ohira y Hayashi, 2009).

Al realizar análisis seriados de la expresión genética, se ha observado que el BDNF además de expresarse en el sistema nervioso también lo hace en otros órganos, como el corazón, o la piel (Gene Cards, 2019<sub>B</sub>).

Generalmente las variaciones genéticas en el *BDNF* se suelen asociar a un riesgo más elevado de desarrollar enfermedades psiquiátricas. De hecho, el consumo regular de cannabis en varones portadores del alelo Met influye en la edad de aparición de psicosis, apareciendo ésta a edades más tempranas (Lodhi y cols., 2019). También se ha observado en niños y adolescentes con trastorno bipolar, que en los individuos que tienen baja cohesión familiar y son portadores del alelo Met el volumen del hipocampo izquierdo es menor (Zeni y cols., 2016). Por otro lado, se ha observado que a pesar de que los niveles de BDNF están relacionados con la depresión, varios estudios demuestran que el polimorfismo rs6265 en sí mismo no es el responsable, sino que su efecto se produce al interactuar con otros factores. De hecho, un meta-análisis realizado en el año 2014 demostró que este polimorfismo modula de forma significativa la relación entre el estrés vital y la depresión (Yang y cols., 2016).

Además, es conocida la relación existente entre el *BDNF* y el deterioro cognitivo. Un estudio demostró que los efectos del *APOE*, *BDNF*, entre otros genes, se combinan influyendo sobre el deterioro cognitivo en pacientes con enfermedad del Alzheimer presintomática, en concreto se vio afectada la puntuación obtenida en la memoria episódica verbal (Porter y cols., 2018).

Sin embargo, recientemente las variaciones genéticas han demostrado estar relacionadas también con diversas patologías. Así, en el caso de las enfermedades se ha observado que los individuos con el genotipo Val/Val tienen un mayor riesgo de padecer la enfermedad coronaria de mayor gravedad, al compararlos con los individuos portadores del alelo Met (Jiang y cols., 2017). Por otro lado, se conoce que el alelo Met induce una reducción en la expresión de la neurotrofina, inhibiendo así el consumo excesivo de calorías y promoviendo el gasto energético (Martínez-Ezquerro y cols., 2017). Este hecho concuerda con los resultados obtenidos en el estudio realizado por Daily y Park en el año 2017. En este estudio, los autores demostraron que los individuos homocigotos para el alelo Val (Val/Val) son más propensos a desarrollar intolerancia a la glucosa y diabetes mellitus tipo 2, aunque su dieta sea baja en energía y proteínas.

## 1.4. NUTRICIÓN HUMANA

La ciencia de la nutrición humana se centra en estudiar los procesos producidos en el interior del organismo humano para aprovechar los nutrientes que están presentes en los alimentos. A partir de estos nutrientes se produce la energía necesaria para desarrollar y mantener la estructura corporal o para regular el metabolismo (Peralta, 2012). Además, estudia cómo prevenir o tratar determinadas enfermedades al realizar modificaciones dietéticas (OMS, 2003).

Desde su aparición en la tierra, el ser humano ha ido seleccionando los alimentos más nutritivos y seguros: Diseñando progresivamente, nuevas herramientas para su almacenamiento y preparado, para alargar así la vida útil del alimento, al preservar las características físico-químicas y organolépticas (Martínez y Portillo, 2011). Además, desde la antigüedad se trata de estudiar la relación existente entre la salud y la nutrición. De este modo, Hipócrates fue el primero en relacionar el consumo habitual de determinados alimentos con la aparición o prevención de ciertas enfermedades (Silva-Candioti, 2000).

### 1.4.1 Los nutrientes, principales componentes alimentarios

Los nutrientes son las sustancias químicas que están presentes en los alimentos, y que aportan la energía necesaria para mantener la homeostasis corporal, y para llevar a cabo las funciones fisiológicas. La mayoría de estos nutrientes suelen ser esenciales, ya que sólo se pueden obtener a través de los distintos alimentos o bebidas ingeridos. Todos ellos resultan necesarios para que se produzca un óptimo crecimiento, desarrollo y mantenimiento del organismo.

La mayoría de nutrientes se ingieren como moléculas complejas, y se van hidrolizando a través del tracto gastrointestinal en moléculas más sencillas durante el proceso de digestión (Tappenden, 2017). A continuación, las microvellosidades presentes en las células epiteliales de la mucosa intestinal, permitirán la absorción de los nutrientes, así estos atraviesan mediante distintos mecanismos las células de la pared del intestinal, para llegar al torrente circulatorio y extenderse a todas las células del organismo (Mataix-Verdú, 2009). Este es un proceso continuo ya que las células, en función de su metabolismo, requieren ciertas cantidades de cada tipo de nutriente. Otro factor determinante es el estado de salud del individuo, de modo que las situaciones fisiológicas y/o fisiopatológicas suelen condicionar las Cantidades Diarias Recomendadas (CDR) de nutrientes para cada individuo.

Cabe destacar que ningún nutriente es más importante que otro, ya que todos ellos resultan indispensables en las rutas metabólicas en las que participan. Por ello, resultará de vital importancia seguir unos patrones dietéticos saludables para así poder adquirir a través de la dieta las cantidades necesarias de cada nutriente. Al fin y al cabo, las células del organismo siempre deben actuar en conjunto.

Estos nutrientes suelen clasificarse en función de su cantidad requerida en macronutrientes (se deben ingerir en grandes cantidades) y micronutrientes (se requieren en pequeñas cantidades). Al primer grupo pertenecen principalmente los glúcidos, lípidos y proteínas, mientras que las vitaminas y minerales se engloban dentro de los micronutrientes. A continuación, se detalla en profundidad cada tipo de nutriente.

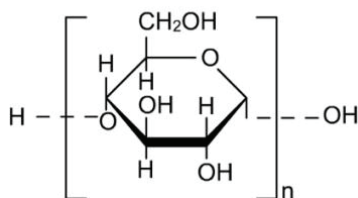
#### 1.4.1.1. Glúcidos

Comúnmente conocidos como hidratos de carbono o carbohidratos. Siendo su función principal la de aportar energía al organismo, en concreto 1 g de glúcidos equivale a 3,75 kilocalorías (Kcal). Estas moléculas se digieren y catabolizan para generar monómeros. Además, la glucosa liberada a partir de los glúcidos presentes en los alimentos es necesaria para sintetizar diversos neurotransmisores como pueden ser la 5-HT, acetilcolina o noradrenalina (Trumbo y cols., 2002). Los glúcidos deben aportar entorno al 50-55% de la energía total aportada por la dieta, ya que constituyen la base de la pirámide nutricional. Alimentos como los cereales de grano entero (el trigo o la avena, por ejemplo), las patatas, las verduras o las frutas suelen contener altas cantidades de glúcidos. Los hidratos de carbono se clasifican, principalmente, en glúcidos simples o sencillos y glúcidos complejos.

Los **monosacáridos** (como la glucosa, galactosa y la fructosa) y los **disacáridos** (como la sacarosa, lactosa y la maltosa) son sustancias de absorción rápida en el

intestino delgado, y pertenecen al grupo de glúcidos simples. Poseen un alto índice glucémico, y proporcionan una fuente rápida de energía. En la dieta, estos deben encontrarse en cantidades inferiores al 10% de la energía total.

Sin embargo, los **oligosacáridos** (como las maltodextrinas (Fig. XI)) y los **polisacáridos** (como el almidón y el glucógeno) tienen un menor índice glucémico y son además de absorción más lenta, ya que están compuestos por un mayor número de monómeros que se deben digerir en el tracto gastrointestinal. Estos se conocen como glúcidos complejos, y deben encontrarse en cantidades superiores al 40% de la energía total aportada por la dieta. Además, los alimentos ricos en glúcidos complejos, suelen ser también ricos en fibra, vitaminas y minerales.



**Figura XI.** Estructura química de la maltodextrina, oligosacárido que posee entre 3-20 moléculas de glucosa.

La **fibra alimentaria**, es la parte del alimento que no se ve afectada durante la digestión del organismo, en concreto son glúcidos no digeribles. Únicamente se puede metabolizar una pequeña parte de la misma en el estómago e intestino. Además, en función de las características químicas que posea y de los efectos producidos en el organismo, se clasifica en fibra soluble e insoluble (Escudero-Álvarez y González-Sánchez, 2006).

La fibra soluble es aquella que posee una estructura ramificada, y forma geles al retener agua. Es muy fermentable por la flora intestinal, produciendo gran cantidad de ácidos grasos volátiles como son el acetato, el butirato o el propionato. Así, contribuye a aumentar el bolo fecal, incrementando la masa bacteriana. Dentro de este tipo de fibra se encuentran la inulina, las pectinas, las gomas y los fructooligosacáridos. Este tipo de fibra predomina en legumbres y cereales como la avena o la cebada, así como en algunas frutas. Por el contrario, la fibra insoluble capta poca agua y es poco fermentable por la microbiota intestinal. Disminuye la viscosidad del bolo alimenticio y el tiempo de tránsito intestinal (Trumbo y cols., 2002). Este tipo de fibra resulta muy útil en la prevención del estreñimiento. A este grupo pertenecen las celulosas, hemicelulosas, ligninas y el almidón. La fibra insoluble predomina en el salvado de trigo, granos enteros, algunas verduras y en general en todos los cereales.

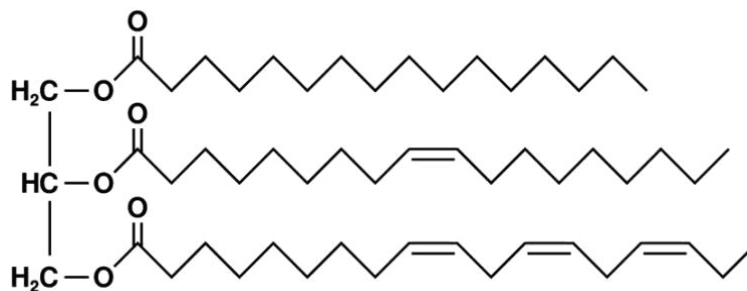
Se considera que una ingesta de 25-30 g/día de fibra dietética procedente de diferentes fuentes alimenticias es la cantidad deseable.

#### 1.4.1.2. Lípidos

Son moléculas que se emplean en la síntesis de algunas sustancias como pueden ser las hormonas y los esteroides. Los lípidos son los nutrientes que más energía aportan, ya que por gramo de lípido se liberan 9 Kcal. Resultan fundamentales en la formación de la estructura y funcionalidad del sistema nervioso y del sistema visual de los humanos. Por ello, serán esenciales en las épocas en las que se produce el desarrollo de estos tejidos, como ocurre durante en el embarazo y en los primeros años de vida (Valenzuela y Nieto, 2003). Se distinguen varios tipos de lípidos, siendo los más relevantes los triacilglicéridos y el colesterol.

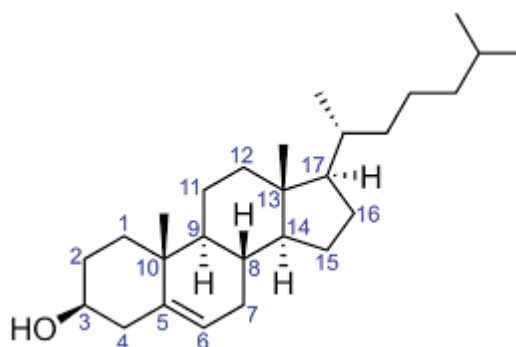
Los **triacilglicéridos**, constituyen el principal depósito graso de reserva energética, localizado principalmente en las células adiposas y son los lípidos más abundantes en el organismo. Están formados por una molécula de glicerol unida a 3 ácidos grasos mediante enlaces éster, y bioquímicamente, pueden clasificarse por su longitud (número de átomos de carbono presentes en la cadena lipídica) o por su grado de saturación (presencia y posición de dobles enlaces). Así, dependiendo de su longitud pueden ser de cadena corta (4-10 átomos de carbono), de cadena media (12-14 átomos de carbono), de cadena larga (16-18 átomos de carbono) o de cadena muy larga (más de 20 átomos de carbono). Mientras que, al ser clasificados en función del grado de saturación, los ácidos grasos saturados (AGS) son aquellos que no poseen dobles enlaces y poseen el máximo número posible de átomos de hidrógeno, como ocurre en el ácido palmítico. Por el contrario, pueden ser ácidos grasos insaturados, aquellos que posean al menos un doble enlace en la cadena hidrocarbonada como ocurre en el caso del ácido oleico, que pertenece al grupo de los ácidos grasos monoinsaturados (AGM). Mientras que también pueden poseer varios enlaces dobles, como ocurre con el ácido linolénico que pertenece al grupo de los ácidos grasos poliinsaturados (AGP) (Fig. XII) (Wang y Chan, 2015). La cantidad de lípidos totales, debe constituir entorno al 30-35% de la energía total aportada por la dieta, en caso de que predomine el uso de aceite de oliva. La proporción de AGS debe ser inferior al 10%, la proporción de AGM debe ser superior al 13% aunque lo idóneo sería que supere el 15-17%, y por último los AGP deben suponer entorno al 3-6% de la energía total.





**Figura XII.** Imagen de un triacilglicérido con el residuo de glicerol unido a un AGS (superior), un AGM (medio) y un AGP (inferior).

El **colesterol** (Fig. XIII), es un lípido no energético que desempeña funciones de gran relevancia, como es la de aportar fluidez a las membranas biológicas en las células eucariotas, actuar como precursor de moléculas esenciales (como pueden ser las sales biliares, las hormonas esteroideas, o la vitamina D), impedir la absorción de sustancias hidrosolubles o evitar la evaporación excesiva de agua a través de la piel. En humanos, aproximadamente el 90% del colesterol se ubica en las membranas celulares, mientras que un 7% se encuentra en el plasma sanguíneo, este último viaja a través del torrente circulatorio al unirse a las lipoproteínas. Estas lipoproteínas son agregados esféricos que contienen apolipoproteínas, colesterol libre y fosfolípidos alrededor del núcleo, donde se ubican las sustancias hidrofóbicas (en concreto los ésteres de colesterol y los triacilglicéridos), así serán solubles en el plasma (Lima y cols., 2011). En este caso, las recomendaciones de colesterol diarios se ubican en rangos inferiores a los 300-350mg/día.



**Figura XIII.** Imagen de una molécula de colesterol.

Los **ácidos grasos trans** se generan industrialmente mediante la hidrogenación parcial de aceites vegetales líquidos (ricos en ácidos grasos insaturados) al realizar el proceso al vacío y al someterlo a temperaturas elevadas, con la presencia de un catalizador metálico. Dicho proceso puede producirse naturalmente en productos

lácteos y en la carne, ya que en los rumiantes el proceso de biohidrogenación de los ácidos grasos insaturados se produce a través de las enzimas bacterianas. Los principales ácidos grasos *trans* generados en la industria alimentaria, son isómeros del ácido elaídico, mientras que el principal ácido graso derivado de los rumiantes, es el ácido vaccénico. Ambos tienen al menos un doble enlace en posición *trans* en lugar de en posición *cis* (Souza y cols., 2015).

#### 1.4.1.3. Proteínas

La función principal de las proteínas es construir y reparar tejidos corporales u órganos, tales como los músculos, huesos, vasos sanguíneos, piel o el pelo. No obstante, también participan en la reparación de tejidos dañados, así como en los procesos de coagulación sanguínea y en la regulación del sistema inmunológico mediante inmunoglobulinas y citoquinas. Pero, además, intervienen en el transporte de numerosas sustancias a través de fluidos corporales y membranas plasmáticas (Veldhorst, 2008). Suelen actuar como biocatalizadores de las reacciones metabólicas. Por ello, en función de la cantidad de masa magra corporal, los individuos tendrán distintos requerimientos proteicos.

Las proteínas son macromoléculas formadas tras la unión de aminoácidos mediante enlaces peptídicos, constituyendo la estructura primaria de la proteína. Los aminoácidos isoleucina, leucina, lisina, metionina, histidina, fenilalanina, treonina, triptófano y valina resultan esenciales, por lo que deben consumirse a través de la dieta. Mientras que la alanina, arginina, aspartato, asparragina, cisteína, ácido glutámico, glicina, prolina, serina y tirosina son aminoácidos no esenciales que se pueden sintetizar a partir de los aminoácidos esenciales (Fukagawa y Yu, 2009).

Las proteínas suelen clasificarse por su valor biológico, es decir, en función de la proporción de aminoácidos esenciales que poseen. Así, las **proteínas de alto valor biológico** son aquellas que poseen cantidades suficientes de cada aminoácido esencial y se pueden digerir fácilmente por el organismo, perteneciendo a este grupo las proteínas de origen animal, como el huevo, la carne o el pescado. Mientras que las **proteínas de bajo valor biológico** serán aquellas que no pueden aportar todos los aminoácidos esenciales al organismo, éstas proceden de alimentos vegetales como las legumbres, cereales y frutos secos. Sin embargo, al combinarse de forma adecuada estas últimas, se podrán obtener proteínas de mayor calidad que serán equiparables a las de origen animal, esto ocurriría al combinar legumbres con arroz, leche con arroz, legumbres con trigo, o arroz con frutos secos.

Estas al igual que las anteriores moléculas, son una fuente de energía. Suelen ser los últimos en utilizarse de todos los macronutrientes, durante el proceso conocido como desgaste muscular. Así, podrán utilizarse para obtener energía tras períodos de ayuno extremo, al extraer la energía de los músculos que están compuestos por proteínas (Veldhorst, 2008). Por gramo de proteína se obtienen 4 Kcal.

En España se recomienda que el porcentaje de proteínas aportado por la dieta se ubique en torno al 10-15% de la energía total. De hecho, la mitad de las proteínas deben ser de origen animal y la otra mitad de origen vegetal, hecho que por lo general no se cumple en los países occidentales donde la cantidad de proteína animal suele ser superior a la de origen vegetal.

#### 1.4.1.4. Vitaminas

Las vitaminas son nutrientes orgánicos que resultan esenciales para un correcto funcionamiento del metabolismo, para obtener un crecimiento y desarrollo óptimo, así como para regular correctamente las funciones celulares. Son moléculas que actúan en conjunto con las enzimas y otras sustancias necesarias para llevar a cabo las funciones biológicas (Smith y Wimalawansa, 2015).

Las vitaminas se pueden dividir en dos grandes grupos. Por un lado, se encuentran las **vitaminas hidrosolubles**, como son la vitamina B<sub>12</sub>, Vitamina B<sub>9</sub>, Vitamina B<sub>1</sub> o la Vitamina C. Todas ellas se solubilizan en agua y se excretan a través de la orina cuando se encuentran en exceso, por lo que habrá que ingerirlas a diario. Por ejemplo, algunos alimentos ricos en vitamina C son las naranjas, los kiwis, las cerezas o las fresas. Por otro lado, se encuentran las **vitaminas liposolubles**, que al contrario que las anteriores se pueden almacenar en los tejidos adiposos del organismo si se encuentran en exceso. Es por ello que no resulta necesario ingerirlas tan a menudo como las hidrosolubles. Dentro de este grupo se incluyen las vitaminas K, D, E y A. La vitamina A está presente tanto en verduras y hortalizas como en alimentos de origen animal; por ejemplo, se encuentra en grandes cantidades en zanahorias, tomates y en el hígado.

Al igual que en el caso anterior la edad, el género, y las condiciones fisiológicas o fisiopatológicas varían las recomendaciones de estos nutrientes. Un ejemplo sería en el embarazo, en el que se deben incrementar los niveles de ácido fólico, para que se produzca el desarrollo adecuado del sistema nervioso. Otro caso sería el de las personas mayores, en las que, debido a problemas de absorción y síntesis, se debe incrementar la cantidad de vitamina D aportada por la dieta.

#### 1.4.1.5. Minerales

En nuestra dieta también deben estar presentes los minerales. Son moléculas que se encuentran en forma de iones y resultan esenciales para el correcto funcionamiento del organismo. Se suelen clasificar en función de las cantidades necesarias (Lukaski, 2004). Los **macrominerales** son aquellos que constituyen un mayor porcentaje en el organismo, por lo que se requieren en cantidades superiores a 100 mg/día. A este grupo pertenecen el calcio, potasio, sodio y magnesio. Mientras que los **microminerales u oligoelementos** se necesitan en cantidades inferiores a 100mg/día, ya que resultan esenciales para el correcto funcionamiento de las enzimas, al actuar como cofactores. En este grupo destacan el zinc, flúor, cromo, o hierro.

Las funciones de los minerales suelen ser muy diversas, por ejemplo, pueden actuar catalizando reacciones enzimáticas al formar parte de enzimas, como ocurre con el hierro, manganeso, yodo, o zinc. O bien pueden tener una función esquelética, como ocurre con el calcio, magnesio, fósforo o flúor. También suelen regular la ósmosis del organismo, los impulsos nerviosos y ayudan a mantener la homeostasis, este será el caso del sodio, potasio o cloro (Kaplan y cols., 2007).

Pese a que se suelen absorber directamente, las CDR suelen variar con la edad, con el género, y como consecuencia de diversos procesos fisiológicos como el embarazo, la menopausia o el envejecimiento. Pero la interacción producida entre los fármacos y los nutrientes, en este caso los minerales, también pueden modificar sus requerimientos.

#### 1.4.1.6. Agua

Existe cierta controversia en cuanto al agua, ya que por ejemplo, el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA: *United States Department of Agriculture*) no incluye al agua dentro de los macronutrientes, dado que no aporta energía. Pero como el organismo necesita grandes cantidades de agua para sobrevivir, en ocasiones se le incluye en el grupo de los macronutrientes (Jéquier y Constant, 2010). Aun así, el agua siempre será un nutriente esencial, ya que es el principal componente del cuerpo humano, y la cantidad de agua aportada por los alimentos no es suficiente para el correcto funcionamiento del organismo.

Este nutriente será el principal componente de las células, tejidos, y órganos (Lang y Waldegger, 1997). Además, resulta imprescindible para mantener la homeostasis celular, ya que transporta los nutrientes a través del sistema circulatorio hasta las células y a su vez excreta los residuos celulares. Por todo ello, este nutriente, aunque no aporte energía será esencial para la vida.

### 1.4.2. Genómica Nutricional, nutrición en el siglo XXI

La Genómica Nutricional surgió en el siglo XXI como consecuencia del Proyecto Genoma Humano (PGH), así como por los avances producidos en la maquinaria necesaria para secuenciación del genoma. Dicho proyecto comenzó en octubre de 1990 con el objetivo de mapear todo los genes y marcadores del genoma humano y finalizó coincidiendo con el 50 aniversario de la publicación de Watson y Crick en la que se describió por primera vez la estructura de la doble hélice del DNA (Fernández y Benito, 2008). No obstante, hasta el 1 de junio de 2007 no se presentó por primera vez la secuencia genómica completa de una persona. Gracias al PGH averiguaron que aproximadamente unos 20.000-25.000 genes del genoma humano codifican para proteínas. Así, se podría afirmar que la Nutrición en el siglo XXI entró en la nueva era de la Genómica Nutricional o Nutrición Molecular (Ordovás y Corella, 2004).

Para comprender mejor esta nueva disciplina se necesita poseer amplios conocimientos de nutrición, genética y biología molecular, ya que a grandes rasgos se estudia la relación existente entre los genes humanos y los nutrientes presentes en los alimentos. Analizándose también los efectos producidos tras la interacción de ambos (genes y nutrientes) en el metabolismo celular (Xacur-García y cols., 2008). Tras la interacción de un nutriente con un determinado gen, se puede alterar la expresión del mismo, modificando así el perfil metabólico. Lo cual podría asociarse con la susceptibilidad y riesgo de desarrollar enfermedades comunes. No obstante, los conocimientos adquiridos también se pueden emplear para prevenir determinadas enfermedades. Así, dentro del campo de la genómica nutricional se diferencian dos áreas principales, la nutrigenética y la nutrigenómica.

En primer lugar, se encuentra la **Nutrigenética**, que como su propio nombre indica se trata de la ciencia que se centra en estudiar el efecto de las variaciones genéticas en la respuesta a la ingesta de distintos alimentos, así como a la conducta alimentaria (Nielsen y El-Sohemy, 2012). Es decir, se centra en identificar y caracterizar las variaciones genéticas asociadas a las diferencias de respuesta frente a los nutrientes, con el objetivo de formular recomendaciones para utilizar dietas específicas para cada persona, o lo que sería lo mismo una “nutrición personalizada” (Fernández y Benito, 2008; Simopoulos, 2010; Fenech y cols., 2011). Por ejemplo, en el tratamiento de la hipercolesterolemia se han producido grandes avances al observarse que el polimorfismo del gen *APOE* influye en la respuesta a la ingesta de lípidos en la dieta, ya que la proteína *APOE* constituye las lipoproteínas plasmáticas HDL y VLDL. En concreto, se comprobó que en los individuos portadores del alelo *APOE4* los niveles de

lípidos plasmáticos se ven afectados por la ingesta de ácidos grasos y colesterol en la dieta. Mientras que los individuos con el alelo *APOE2* responden mejor al tratamiento farmacológico con estatinas (Ordovás y Mooser, 2002; de Andrade y cols., 2010; Petkeviciene, 2012). Por lo tanto, la restricción en los niveles de colesterol y lípidos en la dieta únicamente será adecuada para los individuos portadores del primer alelo.

En segundo lugar, la **Nutrigenómica** se centra en estudiar el efecto producido por los nutrientes y los componentes bioactivos presentes en los alimentos sobre la expresión de los genes, conformando un perfil metabólico característico de cada individuo. Es decir, trata de analizar los efectos producidos por los distintos nutrientes en la expresión génica con el objetivo de prevenir las patologías a través de la dieta. De este modo, la progresión ocurrida entre un fenotipo sano a un fenotipo de enfermedad crónica se puede explicar por cambios de la expresión génica o por diferencias en actividades de proteínas y enzimas, siendo los componentes de la dieta los que regulan la expresión de dicha información genética, ya sea directa o indirectamente (Fernández y Benito, 2008; Simopoulos, 2010; Fenech y cols., 2011).

Por último, se encuentra la **Epigenética**, este será el campo que se dedica a analizar las características hereditarias que complementan la información genética almacenada en la secuencia de nucleótidos del DNA. En concreto, estudia los cambios heredables pero que no son causados por modificaciones de la secuencia de DNA, centrándose en las modificaciones del DNA, los cambios post-traduccionales de las histonas, así como las interacciones de los miRNAs con el genoma (Jang y Serra, 2014). Es por ello que las interacciones gen-ambiente adquieren cierto protagonismo en la etiología y prevención de diversas enfermedades. Se describe como factor ambiental, a todo aquel factor no genético, como puede ser el estilo de vida influenciado por la dieta (incluyendo el nivel de actividad física, el consumo de tabaco o alcohol, o los niveles de estrés), los contaminantes químicos o físicos presentes en el medio ambiente, así como la asistencia sanitaria (fármacos ingeridos o las intervenciones quirúrgicas realizadas). Para ciertas enfermedades resulta cuantitativamente más importante la influencia genética, mientras que para otras será de vital importancia la influencia ambiental (Ordovás y cols., 2006).

#### **1.4.3. Dieta personalizada, la dieta del siglo XXI.**

Hasta la fecha los expertos en nutrición se basaban en la composición de los macronutrientes, micronutrientes, y la calidad de los mismos para definir una dieta saludable y equilibrada. El objetivo de este tipo de dietas siempre ha sido que la nutrición

sea adecuada, que el balance energético pueda favorecer la salud y el mantenimiento óptimo del peso, y que, además, se potencie la prevención de enfermedades no hereditarias que son crónicas como la obesidad, o la *diabetes mellitus* tipo II, en poblaciones sanas (Naude y cols., 2014; Zaragoza-Martí y cols., 2015). Es decir, los expertos concluyen que la dieta debe ser variada, incluyendo todos los grupos de alimentos y debe estar adaptada a las condiciones fisiológicas como fisiopatológicas de cada individuo, aportando la cantidad de nutrientes necesarios para que se produzca un crecimiento, desarrollo y mantenimiento óptimo del organismo.

A nivel mundial, aunque el rango recomendado de macronutrientes varía en función del país, todos los países siguen unas pautas similares. En España, se recomienda seguir una dieta en la que el 50-55% de la energía total sea proveniente de hidratos de carbono, el 10-15% de proteínas y el 30-35% de lípidos (SENC, 2011). Mientras que, en países como Australia y Nueva Zelanda, el 46-65% de la energía total debe ser proveniente de hidratos de carbono, el 15-35 % de proteína, y el 20-35% de lípidos (NHMRC, 2014).

A lo largo de todos estos años, las técnicas más empleadas para planificar y evaluar las dietas de individuos y de grupos de población aparentemente sanos han sido las Ingestas Dietéticas de Referencia (IDR), estimadas por las organizaciones pertinentes en función de la edad y el género de los individuos. Estas IDR se clasifican en (NIH, 2019):

- Cantidad Diaria Recomendada (CDR): indica el nivel promedio de ingesta necesaria para satisfacer los requerimientos nutricionales de la mayoría de individuos sanos de una población, en concreto en torno al 97-98%.
- Ingesta Adecuada (IA): se emplea en caso de no tener suficiente evidencia para desarrollar una RDA. Para ello se establece un nivel asumido que en teoría garantice un aporte adecuado de nutrientes.
- Niveles máximos de ingesta admisible (UL: *Tolerable Upper Intake Level*): se conoce así al nivel más alto de ingesta de un nutriente a la que es probable que no se observe ningún efecto adverso para la salud, para la mayoría de los individuos de la población general (97-98%) (AECOSAN, 2015).

Científicamente ya se han descrito cuáles son los nutrientes esenciales y cuál es la estrategia más adecuada para diseñar dietas saludables. La estrategia sería la de sobreestimar la cantidad necesaria de estos nutrientes, empleando las IDR con el objetivo de evitar carencias de nutrientes esenciales. En un principio, se tenía la teoría de que el hecho de aportar una sobredosis de nutrientes a la mayoría de la población

poseería una importante ventaja biológica. Sin embargo, la realidad dista bastante de la teoría, y pese a los esfuerzos realizados desde las instituciones públicas, todavía existen subconjuntos de la población con carencias o ingestas subóptimas de nutrientes esenciales. Estas carencias se ven principalmente influenciadas por la inapropiada elección de alimentos. De hecho, en el último manifiesto de las “*Directrices Dietéticas para Estadounidenses 2015-2020*”, se hace hincapié en el patrón dietético y la importancia de la elección de las comidas, con su repercusión sobre la salud, en lugar de centrarse en los nutrientes principales como se venía haciendo anteriormente (HHS y USDA, 2015).

Por lo tanto, se ha demostrado que la salud nutricional no depende únicamente de la ingesta de nutrientes esenciales. Ya que la epidemia mundial existente de enfermedades no hereditarias está impulsada por dietas en las que la nutrición esencial es adecuada, pero los desequilibrios crónicos de la dieta junto con el contexto del estilo de vida y genética siguen causando enfermedades metabólicas. Al parecer, los nutrientes no esenciales junto con otros factores ambientales (como la microbiota intestinal o el nivel de actividad física realizado), al igual que los nutrientes esenciales, son capaces de interactuar con el genoma y con los derivados metabólicos producidos. Es por ello que surge la necesidad de incluir las variaciones genotípicas y metabólicas de los individuos, junto con su edad y género, a la hora de planificar o evaluar una dieta, surgiendo el concepto de nutrición personalizada. Para poder llegar a aplicar la nutrición personalizada, en primer lugar, habrá que identificar a los individuos respondedores de los que no responden a la dieta. Y conjuntamente, se deberán producir productos alimenticios que satisfagan las demandas crecientes de salud, metabolismo, rendimiento y cognición del consumidor (German y cols., 2011).

El objetivo final de la nutrición personalizada es permitir que cada individuo pueda guiarse por el conocimiento predictivo de su salud personal y que la dieta sea su aliada a la hora de prevenir enfermedades y maximizar su salud (Panagiotou y Nielsen, 2009). Se ha evidenciado que las personas responden de forma diferente frente a los compuestos alimenticios por varios factores. Ya no sólo por las diferencias genéticas existentes o las diferencias en la edad o el género. Sino que el estilo de vida seguido (tanto el actual como el seguido con anterioridad) también adquiere gran relevancia, siendo capaz de modular dicha respuesta (Zivkovic y cols., 2009).



#### 1.4.4. Tratamiento nutricional frente a la depresión y el deterioro cognitivo

La psiconutrición o psiquiatría nutricional es un área de la psiquiatría que está emergiendo en los últimos años. Su objetivo es tratar de prevenir o curar las enfermedades que hoy en día representan la principal carga de discapacidad a nivel mundial. Para ello, se centra en estudiar el impacto de la dieta sobre la salud mental, ya que, al parecer, la dieta tiene gran relevancia en la aparición o desarrollo de los trastornos mentales (Jacka, 2017). Apuntando, de este modo, a que el mejor tratamiento para enfermedades como la depresión o el deterioro cognitivo será su prevención mediante unos hábitos de vida saludables.

Por ejemplo, la mayor adherencia a la dieta mediterránea junto con una mayor puntuación en el Índice de Alimentación Saludable (IASSE) parecen estar asociados a menores niveles de ansiedad y depresión (Tucker, 2016). Además, todo apunta a que la dieta equilibrada ayuda a mejorar los síntomas depresivos con mayor rapidez en pacientes con trastornos psiquiátricos (Fond y cols., 2019).

Al igual que ocurre con la depresión, en individuos que siguen la dieta mediterránea tradicional se ha observado una disminución del riesgo de padecer deterioro cognitivo en pacientes propensos a sufrir la enfermedad del Alzheimer. Pero una vez diagnosticada la enfermedad, se ha observado que el hecho de ingerir suplementos alimenticios constituidos por “nutrientes protectores” no aporta una clara mejoría (Shlisky y cols., 2017).

Por otro lado, dado que en la depresión los niveles de 5-HT se ven disminuidos, y como hemos mencionado uno de los fármacos más usados en el tratamiento de la depresión son los ISRS, un enfoque adecuado para el tratamiento o la prevención de la depresión sería el de modificar la dieta de los individuos propensos a padecer depresión para así incrementar de manera natural los niveles de 5-HT del organismo. Además, dado que la depresión muchas veces aparece acompañando a enfermedades neurodegenerativas en las que también se produce el deterioro cognitivo, parece adecuado pensar que una mejoría de la depresión asociada a las enfermedades neurodegenerativas podría inducir una mejoría en el estado anímico del paciente, mejorando en parte su situación social.

En la mayoría de los estudios nutricionales realizados hasta la fecha en pacientes con depresión o deterioro cognitivo únicamente se ha tratado de averiguar la eficacia de la adherencia a determinada dieta o la eficacia de determinados nutrientes sobre los síntomas de la enfermedad. Es por ello que resulta necesario centrarse en la eficacia de los tratamientos mencionados, pero incluyendo a la genética como posible

factor de modulación de la respuesta. Así, al clasificar a la población en función de los genotipos, se podría averiguar si al igual que ocurre en el tratamiento de la hipercolesterolemia, existe un genotipo que sea más propenso a mejorar los síntomas de la enfermedad con un determinado tratamiento nutricional.

## 2. Justificación y objetivos •••

---



Durante la última década, se ha incrementado el interés sobre la cognición social en el ámbito de las ciencias de la salud. En concreto, la cognición social engloba a todos aquellos procesos psicológicos que subyacen a las interacciones sociales entre los individuos, e incluye también los procesos cognitivos complejos necesarios para percibir y comprender las intenciones y disposiciones de los demás, permitiendo comportamientos sociales diversos y flexibles (Brizio y cols., 2015). Todo ello, hace que seamos capaces de tomar decisiones consistentes, siempre tratando de respetar las normas sociales y el bienestar de los demás (Arioli y cols., 2018).

Desde un punto de vista evolutivo, la cognición social es de vital importancia para la supervivencia de numerosas especies. En la especie humana, como especie social que es, la cognición social intacta es un factor relevante para que el individuo pueda tener una vida sana y plena (González-Lienres y cols., 2014). De hecho, en numerosos trastornos mentales, la cognición social se ve afectada, y puede ser la causante de la sintomatología característica de la enfermedad, como ocurre en la esquizofrenia o en el autismo, o bien puede ser el resultado de una sintomatología concreta, como ocurre en la depresión (Chung y cols., 2014). Asimismo, como consecuencia del proceso de envejecimiento también se produce un deterioro cognitivo social. En este último caso, todo apunta a que la reducción de habilidades sociales junto con la retirada social producida, podrían contribuir a reducir la vitalidad e incrementar la incidencia de la depresión en los ancianos (Moran y cols., 2012).

Hoy en día, el envejecimiento es un desafío importante de nuestra sociedad, ya que las sociedades occidentales están envejeciendo de forma alarmante. De hecho, en 2007 la proporción de personas mayores de 65 años en España rondaba el 16,5 % mientras que en el año 2014 se incrementó hasta un 18,3%. Así, se estima que, durante los próximos años, la proporción de personas mayores de 65 años siga incrementándose (OECD, 2019). Dado que el envejecimiento va acompañado de un descenso en los niveles del neurotransmisor 5-HT, molécula fuertemente asociada al procesamiento de la información social y afectiva (Young, 2013), no es sorprendente que el envejecimiento se vea acompañado con déficits de la cognición social y el bienestar. Hoy en día, se usan diversos fármacos, para tratar enfermedades como la depresión, la esquizofrenia o el trastorno del espectro autista. De hecho, los fármacos ISRS, que actúan sobre la vía serotoninérgica, parecen conllevar a la disminución del deterioro cognitivo (McCreary y Newman-Tancredi, 2015; Sayyah y cols., 2016). Sin embargo, por lo general al utilizar fármacos, los compuestos activos de los mismos no son administrados en dosis fisiológicas, sino que se administran en dosis farmacológicas, por ello, el consumo de fármacos suele ir ligado a la aparición de efectos

secundarios. Además, un estudio reciente demuestra que tras la interrupción del tratamiento de fármacos ISRS, se produce un síndrome de abstinencia similar al observado tras el consumo de benzodiazepinas, barbitúricos, opioides o alcohol (Fava y cols., 2015).

Debido a que la depresión es una de las causas principales de discapacidad a nivel mundial, y que entre el 76% y 85% de las personas que viven en países con ingresos bajos a medios no reciben un tratamiento adecuado para su enfermedad mental, en los últimos años ha surgido el campo de la Psiquiatría Nutricional (NAMI, 2020; WHO, 2020). Este campo de la psiquiatría se centra en realizar estudios para comprender mejor el neurodesarrollo, y como consecuencia los trastornos neurodegenerativos. La nutrición parece tener gran relevancia en la aparición o desarrollo de trastornos mentales o enfermedades cerebrales pudiendo en ocasiones ser el desencadenante del deterioro cognitivo (Bravo y cols., 2015). Aun así, siempre se deberá tener en cuenta el factor genético en las intervenciones nutricionales realizadas, para así poder obtener resultados exitosos en la prevención o tratamiento de las enfermedades (Jacka, 2017).

Los niveles de 5-HT parecen variar entre individuos de forma estable y duradera, siendo las pérdidas relativas al envejecimiento en los niveles de este neurotransmisor, las que modulan el grado en que las variaciones genéticas afectan al funcionamiento cognitivo social (Plieger y cols., 2014). Dichas diferencias pueden hacer, a determinados individuos, más receptivos a la hora de responder el tratamiento nutricional, como ocurre análogamente en los pacientes con hipercolesterolemia y las variaciones genéticas del gen *APOE* (Chen y cols., 2018)

Uno de los genes clave en la regulación o actividad de la 5-HT es el gen *SLC6A4* que actúa en la recaptación del neurotransmisor, recaptando la 5-HT en la sinapsis para su posterior reutilización en la señalización neuronal. Existen varios polimorfismos de este gen, que afectan tanto a la expresión como a la función del mismo (Lesch y cols., 1994; Nakamura y cols., 2000). En concreto 2 son los polimorfismos más estudiados 5-HTTLPR y rs25531. Recientemente, se ha observado cierta relación entre el genotipo del gen *SLC6A4* al analizar el polimorfismo 5-HTTLPR y el efecto de los fármacos antidepressivos (Bonvicini y cols., 2010).

No obstante, se ha observado que existe una relación biológica, entre los polimorfismos funcionales del gen *SLC6A4* y el gen del *BDNF*. Ambos poseen sistemas de señalización distintos, pero interactúan entre sí, al modular la neurogénesis y la plasticidad en los circuitos de procesamiento de emociones (Pezawas et al., 2008). De

hecho, ambos genes han demostrado influir en los niveles de SERT en humanos (Fisher y cols., 2017).

Por todo ello, y en vista de los antecedentes mencionados, el Objetivo Principal de la presente tesis doctoral ha sido evaluar si una intervención nutricional (basada en un suplemento enriquecido en TRP) es capaz de modular la cognición social y disminuir la incidencia de la depresión asociada al envejecimiento, analizando la influencia de *SLC6A4* y secundariamente *BDNF*, en la respuesta al tratamiento. Este objetivo principal ha sido desglosado en los siguientes objetivos específicos:

1. Realizar la evaluación nutricional de la dieta de los participantes, con el fin de determinar si existen diferencias en el patrón dietético en función de su edad, el tipo de tratamiento seguido y los polimorfismos 5-HTTLPR y rs25531 del gen *SLC6A4*.
2. Estudiar, en condiciones basales, los polimorfismos 5-HTTLPR y rs25531 del gen *SLC6A4*, que afectan a la recaptación del neurotransmisor 5-HT, analizando su relación con la excreción del 5-HIAA (metabolito urinario de 5-HT) en ambos grupos de edad (adultos jóvenes y mayores).
3. Evaluar si la ingesta de un suplemento alimenticio enriquecido en triptófano puede mejorar la cognición social y disminuir la tendencia a padecer depresión; determinando si las variantes genéticas del gen *SLC6A4* pueden modular la eficacia del tratamiento.
4. Evaluar el efecto conjunto de ambos genes (*SLC6A4* y *BDNF*) en la respuesta al tratamiento basado en TRP, sobre la excreción de BDNF, la cognición social, y la tendencia a la depresión en una población de individuos mayores.





## 2. Rationale and Objectives •••

---



Over the past decade, increasing attention has been paid to social cognition in the field of health sciences. Social cognition generally refers to a set of psychological processes underlying the ability to perceive others' behaviors, which is a prerequisite for social interaction. Such a complex ability entails various skills, ranging from decoding social information to drawing inferences about others' mental or affective states, in order to make decisions in line with social norms or others' welfare (Arioli et al., 2018). These aspects lead to diverse and flexible social behaviors (Brizio et al., 2015).

From an evolutionary perspective, social cognition is crucial for the survival of numerous species. In social species, such as humans, maintaining intact social cognition is key to living a healthy and fulfilling life (González-Lienres et al., 2014). Social cognitive impairment is observed in several mental disorders. It can be the cause of the symptomatology of a disease (e.g., schizophrenia or autism) or the result of a specific symptomatology (e.g., depression) (Chung et al., 2014). It can also be an outcome of the aging process. In particular, the reduction of social skills, together with social withdrawal, could explain the reduced vitality and increased incidence of depression observed in the elderly population (Moran y cols., 2012).

At present, rapid aging is a major challenge for the western society. In 2007, the percentage of people aged over 65 years was around 16.5% in Spain, while in 2014, it increased to 18.3%. The percentage of people aged over 65 years has been estimated to further increase over the next few years (OECD, 2019). Aging is associated with a decrease in levels of serotonin (5-HT), a neurotransmitter that is strongly associated with the processing of social and affective information (Young et al., 2013). Hence, it is not surprising to observe impaired social cognition and well-being with aging. SSRI is a common medication used in the treatment of major depressive disorder (as the main drug) or schizophrenia (as an adjuvant). It acts on the serotonergic pathway and appears to improve cognitive impairment (McCreary & Newman-Tancredi, 2015; Sayyah et al., 2016). As the active pharmaceutical ingredients of the drug are not administered in physiological doses, its use is usually accompanied by some side effects. A recent study revealed the occurrence of withdrawal syndrome, similar to that observed after the consumption of benzodiazepines, barbiturates, opioids, or alcohol, after the cessation of SSRI treatment (Fava et al., 2015)

Due to depression is one of the leading cause of disability worldwide, and between 76% and 85% of people who live in low- or middle-income countries receive no treatment for their mental disorder, the field of nutritional psychiatry has emerged in recent years (NAMI, 2020; WHO, 2020). Nutritional psychiatry aims at better understanding the neurodevelopment process and, consequently, neurodegenerative

diseases, as nutrition seems to play a key role in the incidence and development of mental disorders and brain diseases (Bravo et al., 2015). However, genetic factors must be considered in the current nutritional studies to obtain successful results for the prevention and treatment of such diseases (Jacka, 2017).

Although 5-HT levels normally differ between individuals, the age-related decrease in 5-HT levels can modulate the way in which genetic variants affect the social cognitive function (Plieger et al., 2014). This genetic variability could interfere with the response to a nutritional treatment. *APOE* variants have been found to respond differently to the treatment of hypercholesterolemia (Chen et al., 2018).

*SLC6A4* plays a key role in the activity of 5-HT and the modulation of its levels. The protein encoded by this gene is involved in 5-HT reuptake; it brings 5-HT back to the presynaptic neuron, making more 5-HT available for further neuronal signaling. Several studies have been conducted on *SLC6A4*, whose polymorphisms affect both its expression and function (Lesch et al., 1994; Nakamura et al., 2000). 5-HTTLPR and rs25531 are two of the most studied polymorphisms. A recent study showed that 5-HTTLPR is involved in the response to antidepressant drugs (Bonvicini et al., 2010).

There is biological epistasis between *SLC6A4* and *BDNF*. Both these genes are involved in different signaling systems, but they interact with each other and modulate neurogenesis and neural plasticity in emotion processing circuits (Pezawas et al., 2008). In fact, both these genes predict differences in SERT levels in humans (Fisher et al., 2017).

Hence, the general objective of this doctoral dissertation is to evaluate whether a nutritional intervention (based on a tryptophan (TRP)-enriched supplement) can modulate social cognition and decrease the incidence of age-related depression and to determine the influence of primarily *SLC6A4* and secondarily *BDNF* on the treatment response. This general objective has been divided into the following specific objectives:

1. To perform nutritional assessment of the participants' diet in order to determine the differences in the dietary pattern according to their age, the type of treatment received, and the 5-HTTLPR and rs25531 polymorphisms of *SLC6A4*.
2. To evaluate the 5-HTTLPR and rs25531 polymorphisms of *SLC6A4*, which are involved in 5-HT reuptake, under baseline conditions and to analyze the association of *SLC6A4* with the excretion of 5-HIAA (the urinary metabolite of 5-HT) in both age groups (younger and older adults).
3. To assess whether the intake of a TRP-enriched supplement can improve social cognition and decrease depressive symptoms and to determine whether the genetic variants of *SLC6A4* can modulate the treatment efficacy.
4. To analyze the combined effect of both genes (*SLC6A4* and *BDNF*) on TRP-based treatment response in older adults by assessing BDNF excretion, social cognition, and depression.



## 3. Material y métodos •••

---





### 3.1. PARTICIPANTES

En el estudio que aquí se presenta participaron un total de 304 individuos, no obstante, sólo 246 de los 304 individuos iniciales llegaron a completar el estudio.

En el estudio participaron un total de 97 individuos jóvenes estudiantes de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Extremadura en Badajoz. Mientras que los 149 individuos restantes fueron personas mayores de 50 años (Tabla 1). Asimismo, 120 individuos tomaron el placebo mientras que los 126 restantes ingirieron el suplemento alimenticio enriquecido en triptófano. Al tener en cuenta el genotipo de los individuos la muestra total disminuyó a 218 individuos, 52 homocigotos L'L', 106 heterocigotos L'S' y 60 homocigotos S'S'. Finalmente, el polimorfismo rs6265 del gen *BDNF* sólo se analizó en 64 individuos mayores, 43 obtuvieron el genotipo Val/Val y 21 el genotipo Met/X.

**Tabla 1.** Número de participantes del estudio, clasificados en función del tratamiento seguido, la edad, el genotipo del gen *SLC6A4* y el genotipo del gen *BDNF*.

Factores	Grupos	N	N TOTAL
<b>Grupo Experimental</b>	<i>Placebo</i>	120	<b>246</b>
	<i>Triptófano</i>	126	
<b>Edad</b>	<i>Jóvenes</i>	97	<b>246</b>
	<i>Mayores</i>	149	
<b>Genotipo <i>SLC6A4</i></b>	<i>L'L'</i>	52	<b>218</b>
	<i>L'S'</i>	106	
	<i>S'S'</i>	60	
<b>Genotipo <i>BDNF</i></b>	<i>Val/Val</i>	43	<b>64</b>
	<i>Met/X</i>	21	

A la hora de seleccionar a los individuos, se descartaron a aquellos que carecieran de síntomas depresivos, trastornos del sueño, enfermedades neurológicas, intolerancias o alergias alimentarias, así como alteraciones metabólicas (diabetes mellitus o hipotiroidismo) diagnosticadas y/o tratadas, entre otras enfermedades.

El presente estudio queda enmarcado en el proyecto “Mejora individualizada de la Cognición Afectiva y Social en intervenciones nutricionales para la Longevidad y el Bienestar”, un proyecto europeo en el que participó el Departamento de Fisiología de la Facultad de Ciencias (Universidad de Extremadura) financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad (PCIN-2015-228) junto con otros dos grupos de investigación alemanes.

Dicho proyecto fue aprobado por el Comité Bioético de la Universidad de Extremadura, respetándose los principios fundamentales establecidos en la Declaración de Helsinki, en el Convenio del Consejo de Europa relativos a los derechos humanos y la biomedicina, y la declaración Universal de la UNESCO sobre genoma humano y derechos humanos. Asimismo, cumple todos los requisitos establecidos en la legislación española en el ámbito de investigación biomédica, la protección de datos de carácter personal y bioética.

Tras ser informados del protocolo a seguir los participantes accedieron a participar voluntariamente, firmando el modelo de consentimiento informado.

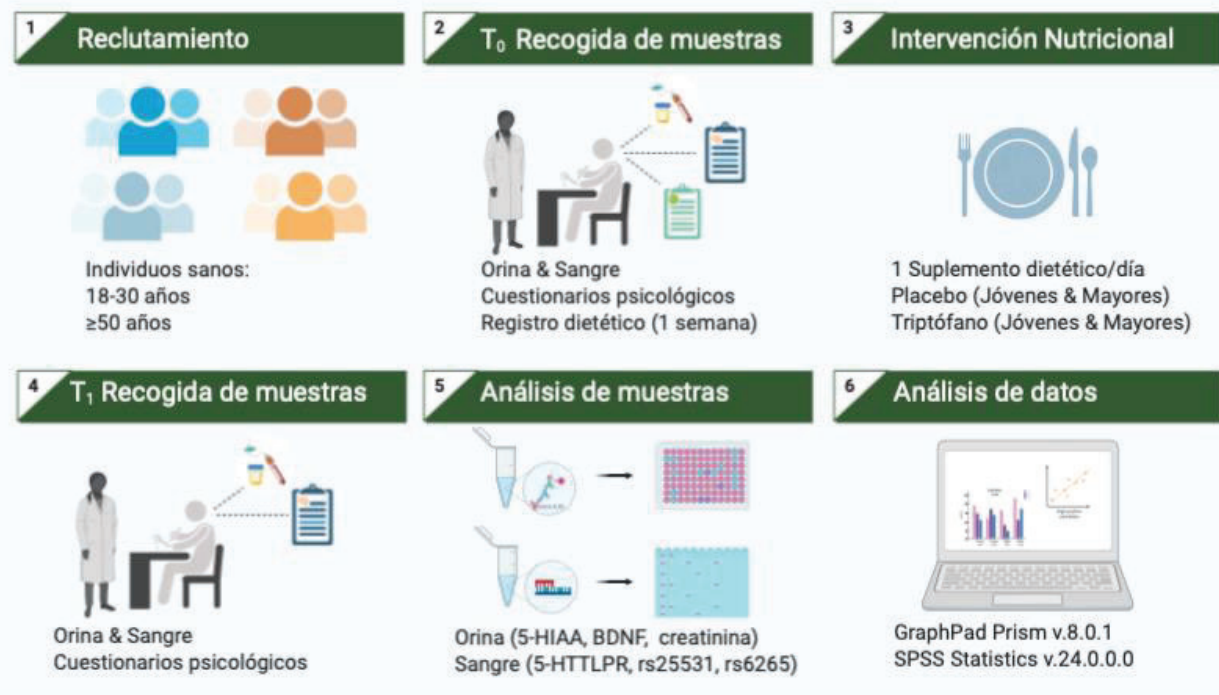
### 3.2. DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño experimental junto con la intervención realizada en el estudio se muestra en la Figura XIII. Se diseñó un estudio en paralelo, en el que cada grupo únicamente recibió una sola intervención nutricional. Además, aunque inicialmente el estudio fue diseñado para llevarse a cabo a doble ciego (únicamente la empresa y la investigadora principal conocerían a las características del producto diseñado). Finalmente, debido a un error producido con el primer envío de los productos, el ensayo se concluyó a simple ciego.

En total se crearon 4 grupos de ensayo. Dentro del grupo de participantes jóvenes, como de mediana edad se distinguieron dos sub-grupos distintos, obteniendo un total de 4 grupos. El grupo experimental de personas de mediana edad, el grupo experimental de personas jóvenes, el grupo control de personas de mediana edad y el grupo control de personas jóvenes (ver Figura XIII). Los participantes del grupo experimental a lo largo del ensayo tomaron el suplemento alimenticio enriquecido con 500 mg de triptófano, mientras que los participantes del grupo control tomaron el mismo suplemento alimenticio, pero sin triptófano añadido. La toma del suplemento alimenticio debían realizarla todas las mañanas a lo largo de 4 semanas, junto con el desayuno habitual, para favorecer así la absorción del aminoácido triptófano. Estos suplementos alimenticios fueron distribuidos por YSONUT S.L. Los suplementos que se utilizaron

como placebo, fueron barras dietéticas ricas en proteínas, con cubierta de chocolate (las barras Proteifine). Mientras que las barras enriquecidas en triptófano, tuvieron una composición similar, a diferencia de los 500 mg de triptófano añadidos. Ambos productos, fueron visualmente idénticos, y tenían también el mismo sabor. La única diferencia entre los dos suplementos era la envoltura, ya que se distinguían por su etiquetado, apareciendo Formato 1 (barras placebo) o Formato 2 (barras enriquecidas con TRP) en su envoltura. Los participantes de cada grupo se seleccionaron aleatoriamente a medida que los participantes se iban apuntando al estudio.

En este caso, cada participante, a su vez, actuó como control de sí mismo. Para ello, las muestras biológicas (tanto sanguíneas como urinarias), junto con los cuestionarios psicológicos (aquellos que miden la cognición social y la tendencia depresiva) se recogieron tanto en condiciones basales (antes de comenzar el estudio,  $T_0$ ) como en condiciones post-tratamiento (realizados el último día del ensayo,  $T_1$ ). Mientras que el registro dietético únicamente se analizó en condiciones basales para conocer la dieta habitual de los individuos.



**Figura XIII.** Diseño experimental del estudio.

### 3.3. VALORACIÓN NUTRICIONAL DE LA DIETA

#### 3.3.1. Valoración dietética

Con el fin de evaluar la cantidad de cada nutriente ingerido, y para detectar si los participantes llevaban a cabo una dieta saludable, adaptándose a las CDR, estos rellenaron un registro dietético. En él debían anotar la cantidad de alimentos y bebidas ingeridas a lo largo de una semana, así como el horario en el que realizaban cada comida. Debido a la complejidad de especificar los gramos de comida consumidos, se les dio la opción a los participantes para que únicamente anotaran el tamaño de cada alimento (a excepción del pan, en el que debían anotar el número de raciones consumidas, tras haberles mostrado lo que es el equivalente a una ración) y de la cubertería o vajilla utilizada.

Posteriormente, para evaluar la cantidad de nutrientes ingeridos por cada individuo se empleó la base de datos de alimentos software DIAL v.3.5.0.4 ® (Alce Ingeniería, 2017®). Este software permite obtener los gramos, miligramos o microgramos de nutrientes ingeridos a diario, destacando las proteínas, glúcidos simples y complejos, fibra dietética, lípidos totales, AGS, AGM, AGP, así como las vitaminas y minerales. En caso de que alguno de los alimentos presentes en el registro dietético de los participantes no se encontrara en la base de datos del software Dial®, los nutrientes correspondientes a dicho alimento se obtuvieron de la base de datos de composición de alimentos del Departamento de Agricultura y Alimentación de los Estados Unidos (USDA, 2018).

#### 3.3.2. Evaluación del patrón dietético

Para evaluar si los participantes llevaban a cabo un patrón dietético saludable, se empleó el Índice de Alimentación Saludable (IASE) (Bowman et al., 1998). Dicho índice ha sido desarrollado por la USDA para proporcionar y estimar la calidad general de la dieta de los participantes, basándose en las Recomendaciones Dietéticas.

El IASE está compuesto por 10 componentes distintos. Los cinco primeros componentes miden el grado en que la dieta de una persona se adecúa a la cantidad de raciones recomendadas en la Guía de la Pirámide Alimentaria en cuanto a cereales, verduras y hortalizas, frutas, leche y productos lácteos, y el grupo de productos cárnicos. El sexto y séptimo componente tienen en cuenta la adecuación en cuanto a los niveles de lípidos totales y de ácidos grasos saturados de la dieta, medido cómo el porcentaje

de éstos con respecto a la energía total aportada por la dieta. El octavo y noveno componente, reflejan, respectivamente, si se cumplen las recomendaciones en cuanto al colesterol total y a los niveles de sodio. Mientras que el décimo y último componente, tiene en cuenta la variedad de alimentos, es decir, tiene en cuenta la cantidad de alimentos diferentes que ingiere una persona a lo largo del día. Así, finalmente en el IASE, se suman las puntuaciones obtenidas en cada uno de los componentes, pudiendo obtener una puntuación de entre 0 a 100 puntos. Dichas puntuaciones se basan siempre en los requerimientos necesarios por cada individuo en base a su consumo de energía en función del sexo y la edad. Además, desde un punto vista cualitativo se entiende que si una persona obtiene una puntuación total inferior a 50, esta no tiene un patrón dietético saludable. Una puntuación que se sitúa entre los 50 y los 80 puntos, indica que esa persona debe de modificar algunos hábitos alimentarios con el fin de obtener un patrón dietético saludable. Mientras que, si la puntuación obtenida es mayor de 80, se considerará que la persona ya tiene un patrón dietético saludable.

Por último, se quiso observar la adherencia que los participantes mayores seleccionados tenían a la Dieta MIND, para ello se utilizó el Índice MIND, previamente validado (Morris et al., 2015). Este cuestionario consta de un total de 15 componentes. Siendo 10 de ellos, grupos de alimentos que favorecen el funcionamiento correcto del cerebro (verduras y hortalizas de hoja verde, otras verduras y hortalizas, frutos secos, frutos rojos, legumbres, alimentos integrales, pescado y marisco, carne magra y blanca, aceite de oliva y el vino). Así, los 5 restantes incluyen grupos de alimentos no-saludables (como la carne roja y sus derivados, la mantequilla o la margarina, el queso, los dulces o bollería y la comida rápida/frita). El consumo de aceite de oliva puntúa un punto siempre y cuando sea el principal aceite empleado por el participante, y en caso contrario puntuará 0. Sin embargo, el resto de los componentes se tiene en cuenta el consumo de cada grupo alimentario, y en función de su frecuencia añadirán un valor de 0, 0.5 o 1. La puntuación total se obtiene al sumar la puntuación de todos los componentes.

### 3.4. ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS BIOLÓGICAS

#### 3.4.1. Análisis de muestras sanguíneas

##### 3.4.1.1. Recogida y tratamiento de las muestras

Por cada participante las muestras de sangre se extrajeron por punción estéril de la vena antecubital, obteniendo dos tubos EDTA con 6 ml de sangre cada uno. Estas muestras se obtuvieron antes del inicio del ensayo. Para ello los participantes no debían

acudir necesariamente en ayunas, ya que la sangre únicamente se iba a utilizar para analizar los polimorfismos. Una vez obtenidas las muestras, éstas se congelaron a -20°C durante 24 horas y posteriormente fueron traspasadas al ultracongelador a -80°C, conservándose así hasta el momento de realizar el análisis de los genotipos. Las muestras se enviaron en hielo seco, al laboratorio de Neurogenética de la Universidad de Bonn (Alemania), dirigido por el profesor Martin Reuter.

Para analizar las muestras, en primer lugar, se procedió a la extracción y purificación del DNA genómico de las células sanguíneas, utilizando para ello el kit comercial para aislamiento de DNA MagNA Pure LC (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany®). Para dicha purificación se empleó el equipo Roche MagNA Pure 96 para purificar DNA/RNA (Roche Life Science®). Una vez obtenidas las muestras purificadas se almacenaban a -20°C hasta ser analizadas.

### 3.4.2. Genotipado de los polimorfismos de *SLC6A4* (5-HTTLPR y rs25531)

Los genotipos de los polimorfismos 5-HTTLPR y rs25531 del gen del transportador de la serotonina, fueron analizados en conjunto. En primer lugar, se analizó el polimorfismo 5-HTTLPR, y posteriormente el SNPs rs25531.

Así, para analizar el polimorfismo 5-HTTLPR, se amplificó la región 5-HTT mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, Mastercycler, Eppendorf®). Para ello se utilizaron las siguientes secuencias de cebadores:

- 5'-TCCTCCGCTTTGGCGCCTCTTCC-3'
- 5'-AGGATCTCCCCTGCAACCCCA-3'

Una vez amplificada la región, para analizar el genotipo rs25531, se digirió el producto obtenido en la PCR con la enzima MSP1 (New England Biolabs®) y se incubó a 37°C durante aproximadamente 1h 30min (Mastercycler®).

Tras la digestión enzimática, las muestras se cargaron en un gel de agarosa al 1,6% en una solución de TBE (Tris/Borato/EDTA), y se dejaron correr las muestras durante 1h 20 min con una corriente de 170V. Por último, se visualizaron los resultados mediante bromuro de etidio bajo luz UV. Las muestras se visualizaron y genotiparon por al menos dos evaluadores independientes.

Una vez obtenidos los resultados, se procedió a clasificar a los individuos en función del tipo de alelo que presentarán. Para ello, se clasificaron a los individuos en función del polimorfismo 5-HTTLPR dando un enfoque bialélico, puesto que los participantes podían poseer tanto el alelo L como el alelo S. A continuación, basándonos

en el estudio realizado por Plieger y cols., en 2014, se clasificaron los genotipos teniendo en cuenta tanto ambos polimorfismos, 5-HTTLPR y rs25531. Clasificando a los genotipos  $L_G/L_G$ ,  $L_G/S$ ,  $S/S$  como  $S'S'$ , a los genotipos  $L_A/L_A$  como  $L'L'$  y por último a los genotipos  $L_G/L_A$ ,  $S/L_A$  como  $S'L'$ , dando así una aproximación trialélica (Ver Figura XIV).

*Enfoque trialélico (5-HTTLPR & rs25531)*



**Figura XIV.** Clasificación del genotipo del gen *SLC6A4*, al combinar los polimorfismos 5-HTTLPR y rs25531.

### 3.4.3. Genotipado del polimorfismo rs6265 de *BDNF*

Para analizar el polimorfismo Val66Met (rs6265) de *BDNF* se amplificó la región a estudiar mediante una PCR en tiempo real o qPCR, mediante el análisis de la curva de fusión por fluorescencia, empleando para ello el Light Cycler System 1.5<sup>®</sup> (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany).

Para ello se utilizaron las siguientes secuencias de cebadores y de sondas de hibridación:

- 5'-ACTCTGGAGAGCGTGAATGG-3'
- 5'-CCAAAGGCACTTGACTACTGA-3'
- 5'-LC640-CGAACACATGATAGAAGAGCTGTT-fosfato-3';
- 5'-AAGAGGCTTGACATCATTGGCTGACACT-fluoresceína-3'.

Tras la amplificación se generó la curva de Melting manteniendo el tiempo de reacción a 40°C por 2 minutos y incrementando posteriormente la temperatura poco a poco hasta los 75°C con una velocidad de aumento de 0,2°C·s<sup>-1</sup>. Por último se calcularon las respectivas Temperaturas de fusión (T<sub>m</sub>) de los dos alelos. Obteniendo una T<sub>m</sub> de 58,5°C para el alelo Val, mientras que se obtuvo un T<sub>m</sub> de 63,8°C para el alelo Met.

### 3.4.4. Análisis de los metabolitos de excreción urinarios

#### 3.4.4.1. Recogida y tratamiento de las muestras

Los participantes recogieron sus respectivas muestras de orina, de forma puntual, el día previo al inicio del estudio (T<sub>0</sub>) y el último día del ensayo (T<sub>1</sub>). Todos los

participantes, recogieron la muestra una hora antes de la puesta del sol (coincidiendo con la acrofase de la producción del neurotransmisor 5-HT). Recogieron la muestra en un bote esterilizado de 125 mL de capacidad. Posteriormente, las muestras fueron almacenadas en el congelador por cada participante, y la semana siguiente fueron trasladadas al laboratorio donde fueron almacenadas en el congelador a -20°C. Una vez recogidas todas las muestras iniciales de cada grupo, éstas se alicuotaron por triplicado, con 1000 µL de muestra en cada vial tipo Eppendorf. Posteriormente, las muestras eran almacenadas en el ultracongelador, a una temperatura de -80°C, hasta el momento del análisis bioquímico. El mismo proceso se se repetía al recoger las muestras finales de cada grupo.

#### 3.4.4.2. Cuantificación de los niveles de creatinina

Los niveles de creatinina, se utilizaron para ajustar la variación de la diuresis entre las muestras. Estos niveles se cuantificaron mediante la Reacción de Jaffe. Empleando para ello, el Kit comercial colorimétrico-cinético de Creatinina 30210 (LABKIT®).

La lectura de las absorbancias se realizó a temperatura ambiente, en el lector de placas TECAN infinite M200®, con una longitud de onda de 292 nm, y utilizando el software Tecan-i-control®.

Una vez obtenidas las absorbancias, la concentración de creatinina de la muestra se obtuvieron utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Creatinina} = \frac{\Delta \text{Abs Muestra} - \Delta \text{Abs Blanco}}{\Delta \text{Abs Calibrador} - \Delta \text{Abs Blanco}} \times 2 \text{ (mg/dL)}$$

#### 3.4.4.3. Cuantificación de los niveles de 5-HIAA

Los niveles de ácido 5-hidroxiindolacético, metabolito de excreción urinario de serotonina, se cuantificaron por triplicado mediante el ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), en concreto con el kit EIA-4482 (DRG®).

La lectura de las absorbancias se realizó a temperatura ambiente, en el lector de placas TECAN infinite M200®, con una longitud de onda de 635nm, y utilizando el software Tecan-i-control®.

Una vez obtenidas las absorbancias, la concentración de 5-HIAA de la muestra se obtuvieron extrapolando los valores de las absorbancias, mediante el software estadístico GraphPad Prism v.8.0.1®(GraphPad Software, San Diego, CA, USA).



#### 3.4.4.4. Cuantificación de los niveles de BDNF

Los niveles de BDNF excretados en orina, se cuantificaron por triplicado mediante una ELISA. En concreto, se empleó el kit comercial RAB0026-1KT (SIGMA®).

La lectura de las absorbancias se realizó a temperatura ambiente, utilizando para ello el lector de placas TECAN infinite M200®, con una longitud de onda de 450 nm, junto con el software Tecan-i-control®.

Finalmente, la concentración de BDNF presente en cada muestra, se obtuvo al extrapolar los valores de las absorbancias utilizando para ello el software estadístico GraphPad Prism v.8.0.1® (GraphPad Software, San Diego, CA, USA).

### 3.5. EVALUACIÓN DEL ESTADO ANÍMICO Y LA COGNICIÓN

La evaluación de la cognición social y la tendencia a padecer depresión de los participantes, se realizó a través de una batería de cuestionarios psicológicos previamente validados. Los participantes cumplimentaron los cuestionarios de manera autónoma, en las dos visitas realizadas (T<sub>0</sub> y T<sub>1</sub>). Los cuestionarios empleados fueron los siguientes.

#### **3.5.1. Cuestionarios relacionados con la tendencia a padecer depresión**

Para medir el estado anímico y la tendencia que los participantes tenían a padecer depresión, se emplearon los cuestionarios descritos a continuación.

##### 3.5.1.1. Escala de Respuestas Rumiativas (RRS)

Esta es la escala más utilizada para evaluar la presencia del estilo de respuesta rumiativo, patrón de respuesta caracterizado por la excesiva focalización en las causas y consecuencias de los síntomas depresivos. Se utilizó la adaptación al castellano de este cuestionario que fue validado previamente (Hervás, 2008). Esta escala consta de 22 ítems con una escala Likert de 5 puntos, desde “Totalmente en desacuerdo” hasta “Totalmente de acuerdo”. Las puntuaciones oscilan entre 22 y 110 puntos. Asimismo, se distinguen 3 componentes, el factor de depresión, el factor de reproches y el factor de reflexión, dentro del estilo de respuesta rumiativo (Nolen-Hoeksema y Morrow, 1991).

### 3.5.1.2. Inventario de Depresión de Beck- II (BDI-II)

El inventario se centra en evaluar la sintomatología depresiva actual en adultos y adolescentes con una edad mínima de 13 años (Beck y cols., 1996). Consta de 21 ítems, cada uno de ellos con 4 afirmaciones ordenadas según un contenido depresivo creciente. La persona debe elegir la respuesta que mejor describe su estado durante las últimas dos semanas. La puntuación de cada ítem es de 0 a 3 según la afirmación elegida, codificando siempre la mayor en caso de que el paciente haya seleccionado varias respuestas. Las puntuaciones oscilan entre 0 y 63 puntos. Se utilizó la adaptación al castellano de este cuestionario que fue validado previamente (Sanz y cols., 2003). En función de la puntuación obtenida, se podrá clasificar la sintomatología depresiva en: depresión leve (puntuación de 14-19 puntos), depresión moderada (20-28 puntos) o depresión severa (29-63 puntos).

### 3.5.1.3. Inventario de Ansiedad de Beck (BAI)

Este inventario diseñado por Beck y colaboradores (1988), se centra en evaluar los síntomas ansiosos que posee la persona en el momento actual. Al igual que en el inventario anterior, consta de 21 ítems con una escala Likert, en el que el paciente debe seleccionar el grado de molestia que cada síntoma de ansiedad está generando al individuo durante las últimas dos semanas. Se utilizó la adaptación española de este cuestionario que fue validado previamente (Sanz, 2014). En este caso las puntuaciones pueden oscilar entre 0 y 63 puntos. En función de la puntuación obtenida se distinguen varios grados de ansiedad: ansiedad mínima (0 a 7 puntos), ansiedad leve (entre 9 y 15 puntos), ansiedad moderada (entre 16 y 25 puntos) y ansiedad severa (30 a 63 puntos).

### 3.5.1.4. OMS-5 Índice de Bienestar

Este cuestionario, inicialmente se diseñó en un estudio de la OMS realizado sobre distintas terapias para evaluar el bienestar de los pacientes con diabetes. Pero hoy en día, es un instrumento rápido para detectar la depresión en la población general que no haya sido evaluada, ya que califica la percepción emocional del individuo. En total consta de 5 ítems con una escala likert de 6 puntos, y a diferencia de los anteriores se centra en medir el estado anímico positivamente. Si al sumar la puntuación de los distintos ítems se obtiene una puntuación inferior a 13, indica bajo bienestar, y se recomienda aplicar el test de depresión (WHO, 1998).

### **3.5.2. Cuestionarios relacionados con la cognición social.**

#### **3.5.2.1. Índice de Reactividad Interpersonal (IRI)**

Este cuestionario diseñado por Davis (1980) es una de las herramientas más utilizadas para evaluar la empatía, ya que lo hace desde una perspectiva multidimensional en la que se incluyen tanto factores cognitivos como emocionales. Está constituido por 28 ítems distribuidos en 4 subescalas que miden cuatro dimensiones separadas del concepto global de empatía: Toma de Perspectiva, Fantasía, Preocupación Empática y Malestar Personal. En este caso, cada una de las subescalas consta de 7 ítems, con un formato de respuesta tipo Likert de 5 puntos, puntuables de 0 a 4. La Toma de Perspectiva mide la habilidad para comprender y asumir el punto de vista de otra persona, sin tener que experimentar necesariamente una respuesta afectiva. La Fantasía mide la capacidad imaginativa del sujeto para ponerse en el lugar de personajes de ficción. La Preocupación Empática evalúa la respuesta del sujeto en relación a sentimientos tales como la compasión y el cariño por los otros. Por último, el Malestar Personal, evalúa los sentimientos de ansiedad y malestar que el sujeto manifiesta al observar experiencias negativas de los demás. En este caso, también se utilizó la adaptación española de este cuestionario, validado previamente (Pérez-Albéniz y cols., 2003).

#### **3.5.2.2. Coeficiente Empático**

Es una herramienta diseñada por Baron-Cohen y Wheelwright (2004) para medir la empatía, con el objetivo de ser un instrumento novedoso para diagnosticar el autismo de alto funcionamiento y síndrome de Asperger en adultos con inteligencia normal. El cuestionario fue diseñado para detectar en el uso clínico la carencia de empatía tanto cognitiva como emocional, siendo esta carencia de empatía una característica de psicopatología. El cuestionario consta de 60 ítems, 40 de ellos miden la empatía, mientras que los 20 restantes serán ítems control, que sirven para evaluar la sinceridad de las respuestas y para desviar la atención de la empatía. Además, los ítems se redactados de tal forma que se espera que la mitad de los ítems se respondan afirmativamente y la otra mitad para que se respondan negativamente, con el fin de evitar sesgos de respuestas idénticas. Se utilizó la adaptación española de este cuestionario, validado previamente (Redondo y Herrero-Fernández., 2018). La estructura del cuestionario muestra 3 factores subyacentes, siendo estos la empatía cognitiva, la reactividad emocional y las habilidades sociales que se pueden medir por separado. La puntuación global obtenida, oscila entre los 0 a los 80 puntos.

### 3.5.2.3. Escala de Juicios Morales.

Este cuestionario fue adaptado a partir del de Young y colaboradores (2010). Para crear la versión española del cuestionario, se seleccionaron en total 40 escenarios diferentes (Sellaro y cols., 2015). Así, 12 de los escenarios se utilizaron en estado basal y los 24 escenarios restantes se utilizaron al finalizar el tratamiento. Una vez seleccionados los escenarios, se tradujeron éstos del inglés al castellano, y una vez obtenida la versión en castellano se volvió a traducir al inglés para asegurar la traducción. En todos los escenarios, el estímulo experimental se creó al combinar la información relativa a la creencia del protagonista (neutral vs. negativa) y la consecuencia (neutral vs. negativa). Así, se obtuvieron un total de 160 historias diferentes (64 para el estado basal y 96 para el post-tratamiento) distribuidas en 4 condiciones distintas:

- Acto neutral o Sin perjuicios: creencia neutral y consecuencia neutral.
- Perjuicio Accidental: creencia neutral y consecuencia negativa.
- Tentativa de perjuicios: creencia negativa y consecuencia neutral.
- Perjuicios Conscientes: creencia negativa y consecuencia negativa.

Así, cada participante tuvo que enfrentarse a 16 escenarios morales (4 escenarios por cada tipo de condición) al inicio del estudio y con otros 24 escenarios morales (6 por cada condición) al finalizar el ensayo.

Cada escenario cuenta con una pequeña introducción (que describe la escena), el presagio (que indica información acerca de si la acción va a desencadenar en una consecuencia neutral o negativa), la creencia del protagonista, y por último la acción del protagonista y su consecuencia.

Una vez que los participantes leían la historia tenían un tiempo limitado de 10 segundos para medir la permisibilidad moral de la acción del protagonista en una escala likert de 7 puntos (siendo el valor de 1 prohibido moralmente y el 7 permisible moralmente).

## 3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS

Para realizar el análisis estadístico de los datos, se emplearon tanto el software SPSS® (IBM®) v.24.0.0.0, como el GraphPad Prism® v.8.0.1. (GraphPad Software, San Diego, CA, USA), principalmente utilizado para crear las gráficas. Los datos fueron representados como media  $\pm$  desviación estándar. Además, los macronutrientes se expresaron en porcentajes, calculando así el perfil calórico y el perfil lipídico de la dieta.

Los tipos de estudios estadísticos que se realizaron fueron los enumerados a continuación:

- 1) Test de normalidad: Se empleó el *Test de Shapiro-Wilk* para estudiar si los datos seguían o no la distribución normal (nivel de significación:  $p < 0.05$ ).
- 2) Estudios de correlación y regresión: En función del resultado del test de normalidad empleado, se aplicó el *Test de Pearson* para los datos paramétricos o el *Test de Spearman* para aquellos no paramétricos. En caso de obtener resultados significativos en los estudios de correlación se representaba la recta de regresión mediante una línea continua ( $p < 0.05$ ), y en caso de que los resultados no fueran significativos se representaba la recta mediante una línea discontinua ( $p > 0.05$ ).
- 3) *Test de Chi Cuadrado ( $X^2$ )*: Este test se empleó para realizar la evaluación estadística del Equilibrio de Hardy-Weinberg con respecto a las frecuencias genotípicas, de los polimorfismos 5-HTTLPR/rs25531 y rs6265. Así se cumple la Ley de Hardy-Weinberg siempre que el valor del test Chi cuadrado calculado sea menor o igual que el valor del test Chi cuadrado tabulado. En este caso, la población estará en equilibrio.
- 4) *Análisis de la Covarianza Univariante (ANCOVA)*. En esta ocasión para el ANCOVA se emplearon la edad, el tipo de tratamiento y/o el genotipo como factores fijos, usando el ANCOVA de 2 factores (tratamiento-genotipo) o el ANCOVA 3 factores (edad-tratamiento-genotipo). Empleando los niveles basales de triptófano, el IASE o el incremento producido en los niveles de BDNF como covariable. En caso de que la covariable no fuera significativa para el modelo ( $p > 0.05$ ), se realizó *el análisis de la varianza factorial (ANOVA factorial)*, utilizando los factores descritos previamente.

$$\text{Variabilidad (\%)} = \frac{\text{Suma de cuadrados (modelo corregido)}}{\text{Suma de cuadrados (total corregido)}} \times 100$$



## 3. Materials and methods •••

---





### 3.1. PARTICIPANTS

Among the 304 subjects who started the present trial, only 246 concluded the study properly. There were two main populations: a younger population (97 students enrolled at the University of Extremadura, Badajoz campus) and an older population (149 adults older than 50 years from the region of Badajoz, Extremadura) (Table I). There were two main groups in the treatment: a placebo group (120 subjects) and the tryptophan group (126 subjects). However, after consideration for the *SLC6A4* genotype, the sample decreased drastically to a total of 218 subjects, 52 of whom had the L'L' genotype, 106 had the L'S' genotype, and 60 had the S'S' genotype. Finally, the *BDNF* genotype was only analyzed in a sample of 64 older participants, 43 of whom had the Val/Val genotype and 21 had the Met/X genotype.

**Table 1.** Sample size of the study, classified by the followed treatment, age, *SLC6A4* genotype and *BDNF* genotype.

Factor	Group	n	N <sub>Total</sub>
<b>Experimental group</b>	<i>Placebo</i>	120	<b>246</b>
	<i>Tryptophan</i>	126	
<b>Age</b>	<i>Younger adults</i>	97	<b>246</b>
	<i>Older adults</i>	149	
<b><i>SLC6A4</i> Genotype</b>	<i>L'L'</i>	52	<b>218</b>
	<i>L'S'</i>	106	
	<i>S'S'</i>	60	
<b><i>BDNF</i> Genotype</b>	<i>Val/Val</i>	43	<b>64</b>
	<i>Met/X</i>	21	

The exclusion criteria followed during the subject recruitment were having been diagnosed and/or being in treatment for any type of psychological disorder, sleep disorder, neurological disease, food intolerance or allergy, or chronic disease (such as diabetes mellitus and cancer) during the study.

The present study was conducted between 2016 and 2019 and framed within the “Individualized Cognitive, Affective and Social Enhancement in nutritional interventions for longevity and well-being” (iCASE) project. In this project, the Neuroimmunophysiology and Chrononutrition Research Group from the Department of Physiology, University of Extremadura, worked with two German research groups. The iCASE project was included in the Nutrition and Cognitive Function (NutriCog) joint action launched by the 2015 *Joint Programming Initiative - A Healthy Diet for a Healthy Life* (JPI HDHL). It was supported by the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (MINECO, grant number PCIN-2015-228), the Regional Government of Extremadura (NIFCRON BB021: FEDER-GR18040), Ysonut Laboratories, and the German Federal Ministry of Education and Research (BMBF, grant numbers 01EA1605 and 01EA1606).

This project was approved by the Ethics Committee of the University of Extremadura (Badajoz, Spain) in accordance with the Declaration of Helsinki, the Council of Europe, and the Universal Declaration of UNESCO on Human Rights, Biomedicine, and Human Genome. Likewise, it met all the requirements of Spanish legislation in the fields of biomedical research, personal data protection, and bioethics.

Participants who met the inclusion criteria were informed about the protocol of the experiment. They agreed to voluntarily participate and provided consent by signing an informed consent document.

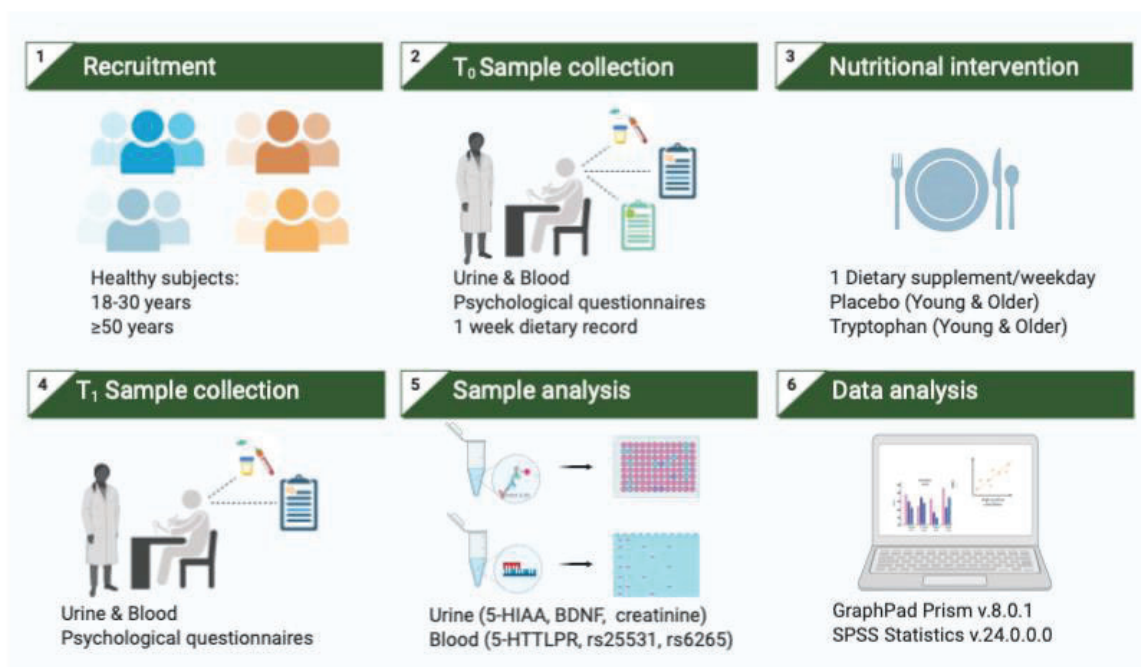
### 3.2. EXPERIMENTAL DESIGN

For the present dissertation, a parallel study was designed in which each group received only a single nutritional intervention. Initially, the study was designed as a double-blind trial; only the company and the PI knew the characteristics of each product. However, due to an error in the first delivery, the study eventually became a single-blind trial.

There were four experimental groups. Two of them were from the young adult population, and the two others were from the older adult population. As Figure XIII shows, the experimental groups were a young adult experimental group (also known as young adult tryptophan group), an older adult experimental group, a young adult placebo group, and an older adult placebo group. The participants from the experimental groups received a 500 mg TRP-enriched bar, while participants from the placebo group received a placebo bar. Each volunteer consumed one dietetic bar during breakfast (to increase TRP absorption) each morning on weekdays, for four weeks. These bars were made by Ysonut SL. The placebo bars were common protein bars with chocolate coating

(Proteifine dietetic bars). The tryptophan-enriched bars had a similar composition, but they had 500 mg of extra TRP. Both bars had the same taste and appearance. The only difference was that the wrappers were labeled Format 1 (placebo bars) or Format 2 (TRP-enriched bars). The participants of each group were randomly selected after they were recruited.

During the study, each subject also had a measure of self-control. For this measure, biological samples (blood and urine samples) together with psychological questionnaires (measuring social cognition and depressive tendency) were collected at baseline (prior to the start date of the trial,  $T_0$ ) and the post-treatment visit (last day of the trial,  $T_1$ ). Dietary recall was analyzed at baseline only in order to know the habitual diet of the participants.



**Figure XIII.** Experimental design of the study.

### 3.3. DIETETIC EVALUATION

#### 3.3.1. Dietary assessment

The subjects filled out a dietary record for one week (with at least five weekdays and one weekend day) with which we could assess the quality of their diet (healthy or not). The participants were instructed not to change their typical diet or physical activity level during the survey period. They had to include all the ingested food and beverages, with the recipes when needed. They were also asked to include the time they had each meal. Due to the complexity of measuring the exact quantity of each food, the participants were allowed to only indicate the size of each food or the used cutlery or tableware. Before they started with the dietary survey, we explained the portion sizes of some food, such as bread, to specify how many portions of bread they consumed.

Dietary intake data were analyzed using the food database of the software DIAL® v.3.5.0.4 (Alce Ingeniería, 2017®). Missing food nutrient data were supplemented by adding nutrient values from the USDA Food Composition Database v.3.9.5.3 to DIAL. (National Agricultural Library, 2018). In this manner, the daily quantities of the nutrients, namely, protein, simple and complex carbohydrates, dietary fiber, lipids, SFA, MUFA, PUFA, vitamins, minerals, and TRP, were obtained (expressed in grams, milligrams, or micrograms).

#### 3.3.2. Dietary Pattern

The participants' dietary patterns were analyzed through the Healthy Eating Index (HEI). Developed by the US Department of Agriculture, the HEI was used to provide a measure of the overall quality of the participants' diet based on dietary guideline recommendations (Bowman et al., 1998).

The HEI comprises 10 component scores. The first five components measure the degree to which a person's diet conforms to the food guide pyramid serving recommendations for the grain, vegetable, fruit, milk, and meat groups. Components 6 and 7 measure compliance with the recommended intakes of total fat and saturated fat, respectively, as percentages of the total food energy intake. Components 8 and 9 reflect compliance with recommended total cholesterol and total sodium intakes, respectively. The final component, variety, represents the number of different food items in a person's diet per day. Overall, the HEI is a sum of these components, with a possible score of 0 to 100. The food group scores are based on the recommended energy intake according

to age and gender. From a qualitative point of view, a final score of less than 50 points indicates an unhealthy dietary pattern. If the final score is between 50 and 80 points, the person will need to change some dietary aspects. Finally, if the person obtains more than 80 points, then they have a healthy dietary pattern.

The questionnaire validated by Morris et al. (2015) was used to measure adherence to the MIND diet. The MIND diet score comprises 15 components. Ten components are brain-healthy food groups (green leafy vegetables, other vegetables, nuts, berries, beans, whole grains, seafood, poultry, olive oil, and wine). The five others are unhealthy food groups (red meats, butter and stick margarine, cheese, pastries and sweets, and fried/fast food). Olive oil consumption is scored 1 when it is identified by the participant as the oil usually used at home; otherwise, it is scored 0. For the other components, the frequency of consumption of each food item portion associated with each component is summed, and it is then assigned a concordance score of 0, 0.5, or 1. The total MIND diet score is computed by summing all 15 component scores.

### 3.4. BIOLOGICAL SAMPLE ANALYSIS

#### 3.4.1. Blood sample analysis

##### 3.4.1.1. Sample collection and processing

Before the start of the trial, blood samples were drawn by sterile puncture from the subjects' median cubital vein in the antecubital fossa. A total of 6 ml of blood were drawn to two different EDTA tubes. Since the blood was only used to analyze gene polymorphisms, the subjects did not need to have an empty stomach. The samples were frozen and stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  for 24 h and then at  $-80^{\circ}\text{C}$  until their analysis. All the samples were transported on dry ice and delivered to the Neurogenetics laboratory headed by Professor Martin Reuter at the University of Bonn (Germany).

Before the genotyping, automated purification of genomic DNA from the blood cells was conducted using the MagNA Pure LC system with the commercial MagNA Pure LC DNA isolation kit (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany<sup>®</sup>). The Roche MagNA Pure 96 (Roche Life Science<sup>®</sup>) instrument was used to conduct the DNA purification. The purified samples were frozen and stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  until their genotyping.

### 3.4.2. Genotyping of *SLC6A4* polymorphisms (5-HTTLPR and rs25531)

The 5-HTT region of the *SLC6A4* gene was amplified by PCR (Mastercycler, Eppendorf®) to measure both polymorphisms. The primer sequences were as follows:

- Forward primer: 5'- TCCTCCGCTTTGGCGCCTCTTCC -3'.
- Reverse primer: 5'- AGGATCTCCCCTGCAACCCCCA- 3'.

For genotyping rs25531, the PCR-product was digested with MSP1 (*New England Biolabs*®) and incubated at 37°C for about 1h 30 min (*Mastercycler, Eppendorf*®).

After the enzymatic digestion, the samples were loaded onto a 1.6% agarose gel in a TBE (Tris/Borate/EDTA) solution, run for 1 h 20 min at 170V, and visualized by ethidium bromide under UV light. The samples were visualized and genotyped by at least two independent raters.

Once the genotypes were obtained, the biallelic approach of the 5-HTTLPR polymorphism was used to classify the individuals according to the two possible alleles, namely, the L and S alleles, obtaining the genotypes SS, LS, and LL. Afterward, in accordance with Plieger et al. (2014), both polymorphisms (5-HTTLPR and rs25531) were combined, thereby obtaining the triallelic approach. Thus, the L<sub>G</sub>/L<sub>G</sub>, L<sub>G</sub>/S, or S/S genotypes were classified as S'S'; L<sub>G</sub>/L<sub>A</sub> or S/L<sub>A</sub> genotypes were classified as S'L'; and L<sub>A</sub>/L<sub>A</sub> genotypes were classified as L'L' (Figure XIV).

#### *Triallelic approach (5-HTTLPR & rs25531)*



**Figure XIV.** Classification of *SLC6A4* gene genotypes, according to the triallelic approach.

### 3.4.3. Genotyping of *BDNF* rs6265 polymorphism

The *BDNF* Val66Met (rs6265) polymorphism was genotyped by real-time PCR (qPCR) using fluorescence melting curve detection analysis. The analysis was performed using the LightCycler® System 1.5 (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). The primers and hybridization probes were as follows:

- Forward primer: 5'-ACTCTGGAGAGCGTGAATGG-3'
- Reverse primer: 5'-CCAAAGGCACTTGACTACTGA-3'

- Anchor hybridization probe: 5'-LC640-CGAACACATGATAGAAGAGCTGTT-phosphate-3';
- Sensor hybridization probe: 5'-AAGAGGCTTGACATCATTGGCTGACACT-fluorescein-3'.

After amplification, a melting curve was generated by keeping the reaction time at 40°C for 2 min and then heating slowly to 75°C with a ramp rate of 0.2°C s<sup>-1</sup>. The fluorescence signal was plotted against temperature to yield the respective melting points (T<sub>m</sub>) of the two alleles. The T<sub>m</sub> for the Val and Met alleles were 58.5°C and 63.8°C, respectively.

#### 3.4.4. Analysis of urinary metabolites

##### 3.4.4.1. Sample collection and processing

The participants collected their urine samples at two different times, namely, the day before the start date (T<sub>0</sub>) and the last day of the trial (T<sub>1</sub>). All participants collected their samples in a sterile 125 mL bottle 1 h before sunset (during the acrophase of the 5-HT production). The samples were stored in their freezers and transferred the following week to the laboratory, where they were stored at -20°C. Once all the T<sub>0</sub> samples of each group were collected, 1000 µL was aliquoted in triplicate (a total of 3000 µL) using Eppendorf vials. These samples were stored at -80°C until their processing and analysis. The same process was conducted with the T<sub>1</sub> samples.

##### 3.4.4.2. Quantification of creatinine

Creatinine levels were used to adjust the variation from the urine output between samples. These levels were measured by means of the Jaffe reaction, which was performed using a commercial colorimetric kinetic creatinine 30210 assay kit (LABKIT®).

The absorbance reading was performed at room temperature with a wavelength of 292 nm by a TECAN Infinite M200® plate reader using the Tecan software i-control®. Afterward, the creatinine levels were calculated by the following formula:

$$\text{Creatinine} = \frac{\Delta A \text{ sample} - \Delta A \text{ Blank}}{\Delta A \text{ calibrator} - \Delta A \text{ Blank}} \times 2 \text{ (mg/dL)}$$

##### 3.4.4.3. Quantification of 5-HIAA

Then, 5-HIAA levels were measured in triplicate using a commercial enzyme-linked immunoSorbent assay (ELISA) kit (EIA-4482, DRG International®)

The absorbance reading was performed at room temperature with a wavelength of 635 nm by the TECAN Infinite M200® plate reader using i-control®. Once the

absorbances were obtained, the 5-HIAA levels (mg/L) were calculated using the GraphPad software Prism® v.8.01 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA).

#### 3.4.4.4. Quantification of BDNF

The BDNF levels were measured in duplicate using a commercial ELISA kit (RAB0026-1KT, SIGMA®).

The absorbance reading was performed at room temperature with a wavelength of 450 nm by the TECAN Infinite M200® plate reader using i-control®. Once the absorbances were obtained, the BDNF levels (ng/mL) were calculated using Prism v.8.01® (GraphPad Software, San Diego, CA, USA).

### 3.5. ASSESSMENT OF MOOD AND COGNITION

The participants' anxiety, social cognition, and proneness to depression were assessed through previously validated psychological questionnaires. The participants completed the following questionnaires during their T<sub>0</sub> and T<sub>1</sub> visits.

#### **3.5.1. Questionnaires measuring prone to depression**

Mood and proneness to depression were measured by means of the following questionnaires.

##### 3.5.1.1. Ruminative Response Scale (RRS)

This questionnaire measures one's rumination response style and assesses his/her tendency to respond to depressed moods. The RRS focuses on the self, symptoms, and possible consequences and causes of this depressed mood. The RRS consists of 22 items on a Likert-type scale with values ranging from 1 (almost never) to 4 (almost always). The total score, which ranges from 22 to 110 points, can be calculated by summing all the items. Likewise, three main subscales must be distinguished, namely, depression, brooding, and reflection factors (Nolen-Hoeksema & Morrow, 1991). A validated Spanish version of the questionnaire was used in this study (Hervás, 2008).

##### 3.5.1.2. Beck's Depression Inventory-II (BDI-II)

The BDI-II measures depression symptoms and severity in youth (over 13 years old) and adults (Beck et al., 1996). The questionnaire consists of 21 self-report items. Each item is rated on a four-point Likert scale ranging from 0 to 3 (3 being more depressive). Individuals must select one statement in each group that best describes the way he/she has been feeling based on the most recent two-week period. The total score, which ranges from 0 to 63, is calculated by summing up the item scores; higher scores



reflect more severe depressive symptomatology. Scores of 0–13 indicate minimal depression, 14–19 moderate depression, and 20–63 severe depression. A validated Spanish version of the questionnaire was used in this work (Sanz et al., 2003).

#### 3.5.1.3. Beck's Anxiety Inventory (BAI)

This self-report questionnaire, designed by Beck et al. (1988), focuses on the somatic symptoms of anxiety. This questionnaire consists of 21 self-report items. Each item is rated on a four-point Likert scale ranging from 0 (not at all) to 3 (severely). Individuals must indicate how much they have been bothered by each symptom over the past two weeks. The total score ranges from 0 to 63. Scores of 0–9 indicate normal or no anxiety at all, 10–18 mild to moderate anxiety, 19–29 moderate to severe anxiety, and 30–63 severe anxiety. A validated Spanish version of the questionnaire was used in this study (Sanz, 2014).

#### 3.5.1.4. WHO-5 Well-Being Index

This five-item questionnaire was initially designed to assess the well-being of patients with diabetes. Nonetheless, it has been found to have adequate validity in screening for depression in both young and old persons due to its good construct validity. It consists of simple, non-invasive questions that assess the positive aspects of psychological well-being. Each item is rated on a six-point Likert scale ranging from 0 (at no time) to 5 (all of the time). The total raw score ranges from 0 to 25. A total raw score lower than 13 indicates poor well-being, in which case a depression questionnaire should be considered (WHO, 1998).

### **3.5.2. Questionnaires measuring social cognition**

#### 3.5.2.1. Interpersonal Reactivity Index (IRI)

This questionnaire is a self-report instrument designed by Davis (1980) and is one of the most used psychological tool to assess empathy from a multidimensional perspective, including cognitive and emotional factors. The questionnaire consists of 28 items that measure four separate aspects of empathy: perspective-taking, fantasy, personal distress, and empathic concern. It provides a multidimensional approach to empathy. Each subscale consists of seven items rated on a five-point Likert scale ranging from 0 to 4. The perspective-taking scale represents the cognitive aspects of empathy; it corresponds to one's tendency to try to take the perspective of other people. The fantasy subscale is related to the tendency to place oneself into fictional situations and empathically relate to characters. The empathic concern factor corresponds to affective empathy; therefore, it assesses one's tendency to feel warmth, compassion, or

concern for others. Finally, the personal distress scale evaluates the tendency to experience unpleasant emotions upon witnessing the negative situations of others. A validated Spanish version of the questionnaire was used in this work (Pérez-Albéniz et al., 2003).

### 3.5.2.2. Empathy Quotient

This questionnaire is a self-report measure of empathy designed by Caron-Cohen and Wheelwright (2004) as a novel tool to diagnose high-functioning autism and Asperger syndrome in adults with normal intelligence. It includes items relevant to both cognitive and affective empathy, focusing on the lack of empathy as a characteristic of the psychopathology. The questionnaire consists of a total of 60 items; 40 measure empathy, while the remaining 20 act as control/filler items to assess the sincerity of the responses. Half of the items are expected to be answered in the affirmative, while the others are expected to be answered in the negative. Participants are asked to indicate their degree of agreement/disagreement with each statement on a four-point Likert scale (strongly disagree, slightly disagree, slightly agree, or strongly agree). The structure of this questionnaire shows three underlying factors, namely, cognitive empathy, emotional reactivity, and social skills. The final score ranges from 0 to 80 points. A validated Spanish version of the questionnaire was used in this research (Redondo & Herrero-Fernández, 2018).

### 3.5.2.3. Moral judgment task

To create the Spanish version of the task, original scenarios used by Young et al. (2010) were translated from English to Spanish and then back-translated from Spanish to English for comparison. A total of 40 scenarios were selected—16 scenarios for the baseline visit and 24 scenarios for the final visit (Sellaro et al., 2015). In every single scenario, the experimental stimulus was created after combining the protagonist's belief (neutral vs. negative) and the outcome (neutral vs. negative). Thus, a total of 160 different stories were obtained (64 for  $T_0$  and 96 for  $T_1$ ), which were distributed under the following conditions:

- Neutral act, without harm: neutral belief and neutral outcome;
- Accidental harm: negative belief and neutral outcome;
- Attempted harm: negative belief and neutral outcome;
- Intentional harm: negative belief and negative outcome.

There were four moral stories per condition at  $T_0$  (a total of 16 moral stories) and six moral stories at  $T_1$  (a total of 24 moral stories). Each participant read only one version of each scenario.

Each story consisted of four segments presented in a fixed order: (1) background (with the information needed to set the scene), (2) foreshadowing (information foreshadowing whether the action will result in a neutral or negative outcome), (3) the protagonist's belief, and (4) the protagonist's action and its outcome. Following the presentation of each story, the participants were asked to rate the moral permissibility of the action on a seven-point Likert scale (1= morally forbidden, 7= morally permissible).

### 3.6. STATISTICAL ANALYSIS

All statistical analyses were conducted in *SPSS*<sup>®</sup> v. 24.0.0.0 (*IBM*<sup>®</sup>, Chicago, IL, USA) and *GraphPad Prism*<sup>®</sup> v.8.0.1 (*GraphPad Software*<sup>®</sup>, San Diego, CA, USA). The latter was mainly used to create graphs. Data were represented as mean  $\pm$  standard deviation (SD). Macronutrients were also expressed in percentages (macronutrient and lipid ratios). The following statistical analyses were performed.

- 1) *Normality test*: The *Shapiro–Wilk test* was used to determine whether the data set was well-modeled by a normal distribution or not (significance level:  $p\text{-value}<0.05$ ).
- 2) *Correlation and regression analysis*: On the basis of the normality test results, the *Pearson's Correlation Test* or *Spearman's Correlation Test* was performed, to analyze parametric and not parametric data, respectively. Significant correlations ( $p\text{-value}<0.05$ ) were represented by solid regression lines, while nonsignificant correlations were represented by broken regression lines ( $p\text{-value}>0.05$ ).
- 3) *Chi-Squared Test ( $X^2$ )*: The Hardy-Weinberg equilibrium for the genotypic frequencies of 5-HTTLPR/rs25531 and rs6265 polymorphisms was examined by this test. The population would be in equilibrium if the calculated chi-square value was lower than the tabulated chi-square value or was equal to the tabulated Chi-square value.
- 4) *Analysis of Covariance (ANCOVA)*: The treatment type and genotype were used as fixed factors in *two-way ANCOVA*. Age-group, treatment type and genotype were used as fixed factors in *three-way ANCOVA*. Baseline tryptophan levels, HEI score, or the increase in BDNF levels were used as covariates (significance level:  $p\text{-value}<0.05$ ).
- 5) *Analysis of Variance (ANOVA)*: If the covariate was not included in the ANCOVA model ( $p\text{-value}>0.05$ ), an ANOVA would be conducted. The treatment type and genotype were used as fixed factors *in two-way ANOVA*.

Age-group, treatment type and genotype were the fixed factors for *three-way ANOVA* (significance level: *p-value*<0.05).

- 6) The variability explained by the ANOVA or ANCOVA models was calculated as follows:

$$\text{Variability}(\%) = \frac{\text{Sum of squares (corrected model)}}{\text{Sum of squares (corrected total)}} \times 100$$

## 4. Resultados ...

---



## 4.1. EVALUACIÓN NUTRICIONAL DE LA DIETA

### 4.1.1. Evaluación del patrón dietético

En la Tabla 1 se muestran las puntuaciones medias del IASE obtenidas por cada grupo, al distribuir a los sujetos en función de la edad, del suplemento alimenticio ingerido y de los polimorfismos 5-HTTLPR y rs25531 del gen *SLC6A4*. Además, se muestra la proporción de sujetos distribuidos en función de la calidad de su patrón dietético (bueno, necesita mejorar, pobre). El modelo explica el 22% de la variabilidad obtenida en el índice de alimentación saludable ( $F_{(11,246)} = 6,75$ ;  $p\text{-valor} < 0,001$ ;  $\eta^2 \text{ parcial} = 0,22$ ;  $\beta = 1,00$ ). La puntuación media de la población evaluada es de  $69,3 \pm 15,9$ . Observándose que el patrón dietético de los individuos de mayor edad es de mejor calidad que el de los individuos jóvenes ( $73,7 \pm 13,7$  vs.  $63,3 \pm 16,1$ ;  $F_{(1,246)} = 39,78$ ;  $p\text{-valor} < 0,001$ ;  $\eta^2 \text{ parcial} = 0,13$ ;  $\beta = 1,00$ ). Al mismo tiempo, que los individuos heterocigotos obtienen una puntuación más elevada que los individuos homocigotos del alelo S' ( $72,9 \pm 14,6$  vs.  $64,0 \pm 16,2$ ;  $F_{(2,246)} = 10,65$ ;  $p\text{-valor} < 0,001$ ;  $\eta^2 \text{ parcial} = 0,07$ ;  $\beta = 0,99$ ).

**Tabla 1.** Puntuación del Índice de Alimentación Saludable (IASE) (media y DS) y la proporción de individuos del Proyecto iCASE pertenecientes a cada categoría del IASE (Bueno  $\geq 80$ ; Necesita mejorar (NM): 51-79; Pobre  $\leq 50$ ), al dividir a los individuos en función de la edad, grupo experimental y genotipo de los polimorfismos 5-HTTLPR y rs25531 del gen *SLC6A4*. \*\*\*  $p\text{-valor} < 0,001$

	N	IASE		Categoría IASE (%)		
		Media	D.S	Bueno	NM	Pobre
<b>Total</b>	279	69,6	15,7	33	50	17
<b>Edad ***</b>						
18-30	119	63,3	16,1	22	48	30
50-75	160	74,3	13,7	41	51	8
<b>Tratamiento</b>						
Placebo	134	68,2	16,5	28	52	20
Triptófano	145	70,9	14,9	37	48	15
<b><i>SLC6A4</i>***</b>						
L'L'	67	68,7	16,2	30	48	22
L'S'	134	72,9	14,6	40	51	9
S'S'	78	64,8	15,9	23	50	27

#### 4.1.2. Calidad de la dieta

Para evaluar la calidad dietética se tuvieron en cuenta el aporte energético, el perfil calórico y lipídico, así como el contenido en vitaminas y minerales que actúan como protectores frente al deterioro cognitivo (Tabla 2).

En primer lugar, al analizar el aporte energético diario de la dieta de los participantes, no se observan diferencias significativas al tener en cuenta la edad ( $F_{(1,211)}=1,60$ ;  $p$ -valor=0,21;  $\eta^2$  parcial=0,01;  $\beta=0,24$ ) y el genotipo de los polimorfismos 5-HTTLPR y rs25531 como factores ( $F_{(2,211)}=2,87$ ;  $p$ -valor=0,06,  $\eta^2$  parcial=0,02;  $\beta=0,56$ ).

Sin embargo, al evaluar el perfil calórico de la dieta se observa que tanto el porcentaje energético aportado por los glúcidos ( $F_{(1,211)}=57,12$ ;  $p$ -valor<0,001;  $\eta^2$  parcial=0,17;  $\beta=1,00$ ) como por las proteínas ( $F_{(1,211)}=76,19$ ;  $p$ -valor<0,001;  $\eta^2$  parcial=0,22;  $\beta=1,00$ ), varían al tener en cuenta la edad de los participantes. En concreto, en los individuos jóvenes la dieta aporta una mayor proporción de glúcidos ( $42\pm 7\%$  vs  $40\pm 7\%$ ) y de proteínas ( $20\pm 4\%$  vs  $16\pm 3\%$ ). Pero el porcentaje energético aportado por los lípidos no difiere, tampoco al clasificar a los individuos en función de la edad ( $F_{(1,211)}=0,11$ ;  $p$ -valor=0,74;  $\eta^2$  parcial<0,01;  $\beta=0,06$ ) ni del genotipo ( $F_{(2,211)}=1,07$ ;  $p$ -valor=0,34;  $\eta^2$  parcial=0,01;  $\beta=0,24$ ).

Cabe destacar que, pese a no existir diferencias en la cantidad total de lípidos aportados por la dieta, al analizar con más detalle el perfil lipídico se observan diferencias significativas en el aporte de ácidos grasos saturados de la dieta ( $F_{(1,211)}=6,33$ ;  $p$ -valor<0,05;  $\eta^2$  parcial=0,02;  $\beta=0,71$ ) al tener en cuenta la edad. Siendo los individuos jóvenes aquellos que poseen una mayor cantidad de este tipo de lípidos ( $13\pm 3\%$  vs  $10\pm 3\%$ ). Por el contrario, al analizar la cantidad de ácidos grasos insaturados no se observan diferencias significativas ni en función de la edad (AGM:  $F_{(1,211)}=0,69$ ;  $p$ -valor=0,41;  $\eta^2$  parcial<0,01;  $\beta=0,13$ ; AGP:  $F_{(1,211)}=2,99$ ;  $p$ -valor=0,08;  $\eta^2$  parcial=0,01;  $\beta=0,41$ ), ni en función de los polimorfismos rs255231 y 5-HTTLPR (AGM:  $F_{(2,211)}=0,31$ ;  $p$ -valor=0,73;  $\eta^2$  parcial<0,01;  $\beta=0,10$ ; AGP:  $F_{(2,211)}=2,57$ ;  $p$ -valor=0,08;  $\eta^2$  parcial=0,02;  $\beta=0,51$ ).

En cuanto a la cantidad de vitaminas aportadas por la dieta se puede observar, que los niveles de Vitamina B<sub>6</sub> se ven influenciados por la edad ( $F_{(1,211)}=8,00$ ;  $p$ -valor<0,01;  $\eta^2$  parcial=0,03;  $\beta=0,81$ ), siendo los individuos jóvenes aquellos con una mayor ingesta ( $2,2\pm 0,8$ mg vs  $2,1\pm 0,5$  mg). No obstante, en los niveles de la vitamina B<sub>9</sub> o ácido fólico existen diferencias significativas al clasificar a los individuos en función del



genotipo ( $F_{(2,211)}=5,10$ ;  $p\text{-valor}<0,01$ ;  $\eta^2$  parcial=0,04;  $\beta=0,82$ ). Específicamente, se observa que los individuos L'L' homocigotos ingieren de media mayores cantidades ( $2,1\pm 0,5$  mg) que los individuos S'S' homocigotos ( $2,0\pm 0,7$  mg). Mientras que en el caso de la vitamina E las diferencias significativas existentes se deben tanto a la edad ( $F_{(1,211)}=53,86$ ;  $p\text{-valor}<0,001$ ;  $\eta^2$  parcial=0,16;  $\beta=1,00$ ) como al genotipo SLC6A4 de los individuos ( $F_{(2,211)}=5,27$ ;  $p\text{-valor}<0,01$ ;  $\eta^2$  parcial=0,04;  $\beta=0,83$ ). En esta ocasión la ingesta de Vitamina E es más elevada en individuos mayores ( $10,3\pm 4,3$  µg vs  $7,0\pm 3,1$  µg), a la vez que los individuos portadores del alelo L' (L'L':  $9,9\pm 5,6$  µg; L'S':  $9,0\pm 3,6$  µg) ingieren mayores cantidades que aquellos individuos homocigotos para el alelo S' ( $7,9\pm 3,4$  µg). Sin embargo, no se aprecian diferencias significativas en función de la edad ni del genotipo en la ingesta de la vitamina B<sub>12</sub> (edad:  $F_{(1,211)}=0,02$ ;  $p\text{-valor}=0,89$ ;  $\eta^2$  parcial<0,01;  $\beta=0,05$ ; genotipo:  $F_{(2,211)}=1,82$ ;  $p\text{-valor}=0,16$ ;  $\eta^2$  parcial=0,01;  $\beta=0,38$ ), la vitamina C (edad:  $F_{(1,211)}=2,04$ ;  $p\text{-valor}=0,15$ ;  $\eta^2$  parcial=0,01;  $\beta=0,30$ ; genotipo:  $F_{(2,211)}=0,13$ ;  $p\text{-valor}=0,88$ ;  $\eta^2$  parcial<0,01;  $\beta=0,07$ ) o la vitamina A (edad:  $F_{(1,211)}=0,20$ ;  $p\text{-valor}=0,65$ ;  $\eta^2$  parcial<0,01;  $\beta=0,07$ ; genotipo:  $F_{(2,211)}=0,73$ ;  $p\text{-valor}=0,48$ ;  $\eta^2$  parcial<0,01;  $\beta=0,17$ ).

Por último, en lo que respecta al aporte de minerales en la dieta, se han analizado los niveles de selenio, zinc y magnesio, minerales que parecen estar relacionados con el deterioro cognitivo. Así, no se observan diferencias significativas en la ingesta de selenio, ni dependiendo de la edad ( $F_{(1,211)}=1,46$ ;  $p\text{-valor}=0,23$ ;  $\eta^2$  parcial<0,01;  $\beta=0,23$ ) ni dependiendo del genotipo de los individuos ( $F_{(2,211)}=2,42$ ;  $p\text{-valor}=0,09$ ;  $\eta^2$  parcial=0,02;  $\beta=0,49$ ). Por el contrario, en la ingesta de zinc se observan diferencias significativas en función del genotipo de los polimorfismos 5-HTTLPR y rs25531 ( $F_{(2,211)}=3,77$ ;  $p\text{-valor}<0,05$ ;  $\eta^2$  parcial=0,03;  $\beta=0,68$ ). Al analizarlo en profundidad, se observa que entre los individuos portadores del alelo L' los homocigotos ingieren de media mayores cantidades de zinc ( $9,5\pm 2,3$  mg) que los heterocigotos ( $8,7\pm 2,1$  mg). Al analizar los niveles de magnesio se observa que únicamente existen diferencias significativas en relación al grupo de edad de los participantes ( $F_{(1,211)}=6,06$ ;  $p\text{-valor}<0,05$ ;  $\eta^2$  parcial=0,02;  $\beta=0,69$ ), siendo los individuos mayores, aquellos que ingieren una mayor cantidad del mineral en cuestión ( $313,2\pm 78,6$  mg vs  $270,0\pm 101,8$  mg).

**Tabla 2.** Comparación en valores ingesta de energía y de nutrientes en participantes del grupo iCASE, clasificando a los individuos en función de la edad y del genotipo del gen SLC6A4 estudiado. Valores expresados como media  $\pm$  desviación estándar. <sup>a</sup>: p-valor<0,05 atendiendo a la edad de los participantes. <sup>b</sup>: p-valor<0,05 atendiendo al genotipo de los individuos. ANCOVA de 2 factores. IASE= covariable.

	<i>EDAD</i>		<i>GENOTIPO SLC6A4</i>		
	<i>Jóvenes</i>	<i>Mayores</i>	<i>L'L'</i>	<i>L'S'</i>	<i>S'S'</i>
<i>Energía (Kcal)</i>	1845 $\pm$ 516	1862 $\pm$ 405	1960 $\pm$ 554	1815 $\pm$ 303	1835 $\pm$ 435
<b>MACRONUTRIENTES (% Energía)</b>					
<i>Glúcidos (%)<sup>a</sup></i>	42 $\pm$ 7	40 $\pm$ 7	39 $\pm$ 8	42 $\pm$ 6	39 $\pm$ 7
<i>Proteínas (%)<sup>a</sup></i>	20 $\pm$ 4	16 $\pm$ 3	18 $\pm$ 5	17 $\pm$ 4	17 $\pm$ 4
<i>Lípidos (%)</i>	36 $\pm$ 7	32 $\pm$ 7	35 $\pm$ 9	32 $\pm$ 6	35 $\pm$ 6
<i>AGS (%)<sup>a</sup></i>	13 $\pm$ 3	10 $\pm$ 3	12 $\pm$ 4	11 $\pm$ 3	12 $\pm$ 3
<i>AGM (%)</i>	15 $\pm$ 4	13 $\pm$ 3	14 $\pm$ 4	14 $\pm$ 3	15 $\pm$ 3
<i>AGP (%)</i>	5 $\pm$ 1	5 $\pm$ 2	5 $\pm$ 2	5 $\pm$ 2	5 $\pm$ 1
<b>VITAMINAS</b>					
<i>Vit. B<sub>6</sub> (mg)<sup>a</sup></i>	2,2 $\pm$ 0,8	2,1 $\pm$ 0,5	2,1 $\pm$ 0,5	2,2 $\pm$ 0,7	2,0 $\pm$ 0,7
<i>Vit. B<sub>6</sub> (mg)<sup>b</sup></i>	268,1 $\pm$ 129,7	322,2 $\pm$ 93,6	320,3 $\pm$ 90,7 <sup>b</sup>	315,1 $\pm$ 124,5	256,1 $\pm$ 99,1 <sup>b</sup>
<i>Vit. B<sub>12</sub> (μg)</i>	6,9 $\pm$ 4,3	6,4 $\pm$ 4,9	7,4 $\pm$ 4,2	6,3 $\pm$ 3,7	6,6 $\pm$ 6,1
<i>Vit. C (mg)</i>	118,1 $\pm$ 96,5	175,7 $\pm$ 85,9	148,2 $\pm$ 79,1	168,2 $\pm$ 96,3	126,3 $\pm$ 99,1
<i>Vit. A (μg)</i>	994,4 $\pm$ 926,0	1203,9 $\pm$ 1303,6	1227,8 $\pm$ 1142,4	1095,4 $\pm$ 1067,7	1055,9 $\pm$ 1325,5
<i>Vit. E (μg)<sup>a,b</sup></i>	7,0 $\pm$ 3,1	10,3 $\pm$ 4,3	9,9 $\pm$ 5,6 <sup>b</sup>	9,0 $\pm$ 3,6 <sup>b</sup>	7,9 $\pm$ 3,4 <sup>b</sup>
<b>MINERALES</b>					
<i>Selenio (μg)</i>	104,3 $\pm$ 39,8	105,4 $\pm$ 28,6	110,5 $\pm$ 41,8	102,8 $\pm$ 28,8	103,3 $\pm$ 33,7
<i>Zinc (mg)<sup>b</sup></i>	9,1 $\pm$ 2,3	8,9 $\pm$ 2,1	9,5 $\pm$ 2,3 <sup>b</sup>	8,7 $\pm$ 2,1 <sup>b</sup>	8,9 $\pm$ 2,1
<i>Magnesio (mg)<sup>a</sup></i>	270,0 $\pm$ 101,8	313,2 $\pm$ 78,6	314,5 $\pm$ 89,5	299,0 $\pm$ 94,1	272,2 $\pm$ 84,8

## 4.2. INFLUENCIA DE LOS POLIMORFISMOS 5-HTTLPR Y RS25531 (*SLC6A4*) SOBRE LA RECAPTACIÓN DE LA SEROTONINA

### 4.2.1. Frecuencia alélica y genotípica del gen *SLC6A4*

Para analizar la frecuencia de los genotipos se clasificaron a los individuos en base al polimorfismo 5-HTTLPR y al SNPs, rs25531, ambos presentes en *SLC6A4*, obteniendo así el enfoque trialélico. Así, teniendo en cuenta la capacidad de expresión de los alelos obtenidos, se clasificaron los alelos L<sub>G</sub> y S como S', mientras que al alelo L<sub>A</sub> se le denominó L'.

Se observó que en la población de individuos jóvenes las frecuencias genotípicas observadas cumplían la ley de equilibrio de Hardy-Weinberg ( $\chi^2_{(1, 91)} = 0,01$ ;  $p\text{-valor} > 0,05$ ). Siendo las frecuencias genotípicas las siguientes: 24,2% (genotipo L'L'), 49,5% (genotipo L'S') y 26,4% (genotipo S'S'). Mientras que la frecuencia del alelo L' fue de 0,49 y la del alelo S' de 0,51 (Tabla 3).

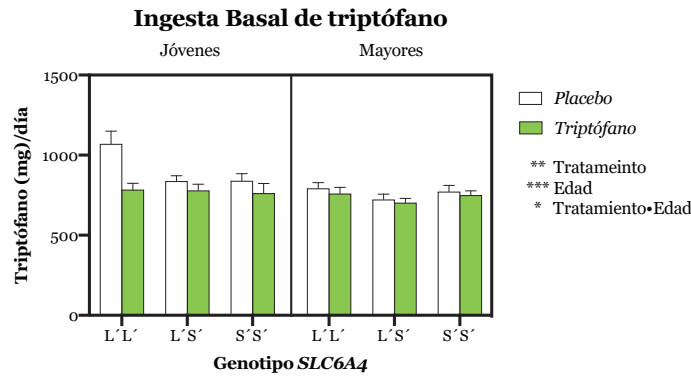
Asimismo, al evaluar la población de individuos de mediana edad, se observó que al igual que en el caso anterior, las frecuencias genotípicas observadas también cumplían la ley de equilibrio de Hardy-Weinberg ( $\chi^2_{(1, 127)} = 0,18$ ;  $p\text{-valor} > 0,05$ ). Se observó una frecuencia genotípica de 23,6% (genotipo L'L'), 48,0% (genotipo L'S') y 28,3% (genotipo S'S'). Además, la frecuencia alélica para el alelo L' fue de 0,48 y la del alelo S' de 0,52.

**Tabla 3.** Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas en base al enfoque trialélico de los polimorfismos 5-HTTLPR y rs25531 del gen *SLC6A4*, al clasificar a los individuos en función de la edad.

<i>5-HTTLPR y rs25531 (SLC6A4)</i>							
	<i>N</i> <sub>o</sub>	L'/L' ( <i>n</i> )	L'/S' ( <i>n</i> )	S'/S' ( <i>n</i> )	L'	S'	$\chi^2$
<i>Jóvenes</i>	91	24,2% (22)	49,5% (45)	26,4% (24)	0,49	0,51	0,01
<i>Mayores</i>	127	23,6% (30)	48,0% (61)	28,3% (36)	0,48	0,52	0,18

#### 4.2.2. Ingesta del aminoácido triptófano

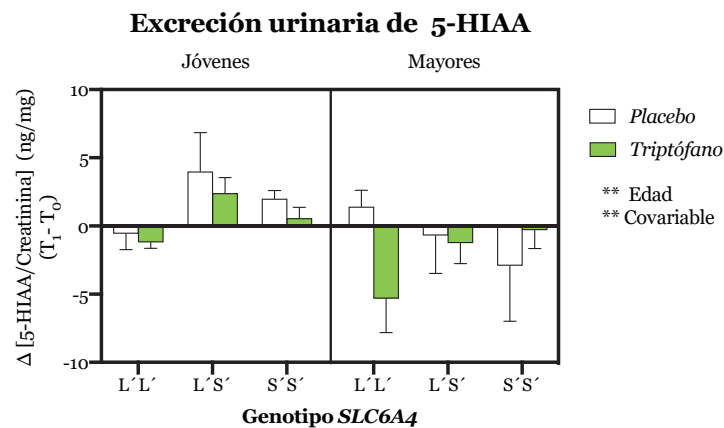
Como se puede observar en la Figura 1, existe un 17% de variabilidad en la ingesta de triptófano habitual de los participantes ( $F_{(11,206)}=5,00$ ;  $p\text{-valor}<0,001$ ;  $\eta^2$  parcial=0,17;  $\beta=1,00$ ). En concreto esta variabilidad está determinada por el tipo de tratamiento al que se van a exponer los individuos ( $F_{(1,206)}=12,31$ ;  $p\text{-valor}<0,01$ ;  $\eta^2$  parcial=0,04;  $\beta=0,94$ ), por la edad de los mismos ( $F_{(1,206)}=16,25$ ;  $p\text{-valor}<0,001$ ,  $\eta^2$  parcial=0,06;  $\beta=0,98$ ), así como por la interacción producida entre el tipo de tratamiento seguido y la edad ( $F_{(1,206)}=5,87$ ;  $p\text{-valor}<0,05$ ;  $\eta^2$  parcial=0,02;  $\beta=0,68$ ). Siendo los individuos pertenecientes al grupo control, aquellos que muestran niveles de triptófano más elevados antes de iniciar el ensayo. Pero a su vez los individuos jóvenes, quienes ingieren mayores cantidades de triptófano.



**Figura 1.** Representación del consumo medio (Media  $\pm$  SEM) de triptófano, clasificando a los individuos en función al grupo experimental, edad, y genotipo 5-HTTLPR/rs25531. El tratamiento ( $F_{(1,206)}=12,31$ ;  $p\text{-valor}<0,01$ ;  $\eta^2$  parcial=0,04;  $\beta=0,94$ ), la edad ( $F_{(1,206)}=16,25$ ;  $p\text{-valor}<0,001$ ;  $\eta^2$  parcial=0,06;  $\beta=0,98$ ) y la interacción tratamiento-edad ( $F_{(1,206)}=5,87$ ;  $p\text{-valor}<0,05$ ;  $\eta^2$  parcial=0,02;  $\beta=0,68$ ), explican el 17% de la variabilidad ( $F_{(11,206)}=5,00$ ;  $p\text{-valor}<0,001$ ;  $\eta^2$  parcial=0,17;  $\beta=1,00$ ). ANOVA de 3 factores. \* $p<0,05$ ; \*\* $p<0,01$ ; \*\*\* $p<0,001$ .

#### 4.2.3. Excreción del metabolito urinario de la serotonina

En la Figura 2 se muestra el incremento producido en los niveles de ácido 5-HIAA urinarios, expresados en  $\mu\text{g}$  5-HIAA/mg Creatinina, para así ajustar la diuresis. En esta ocasión, el modelo de ANCOVA que incluye los factores edad, tratamiento y genotipo también determina el 10% de la variabilidad observada ( $F_{(12,205)} = 2,18$ ;  $p\text{-valor} < 0,05$ ;  $\eta^2 \text{ parcial} = 0,10$ ;  $\beta = 0,94$ ). Pero, al contrario que en el caso anterior, la variabilidad únicamente está determinada por la edad de los individuos ( $F_{(1,205)} = 8,33$ ;  $p\text{-valor} < 0,01$ ;  $\eta^2 \text{ parcial} = 0,04$ ;  $\beta = 0,82$ ). Siendo los individuos mayores, aquellos con mayor incremento en los niveles del metabolito, independientemente del tipo de tratamiento seguido, así como del genotipo del transportador de serotonina expresado.



**Figura 2.** Representación del incremento medio en los niveles de 5-HIAA/creatinina (media  $\pm$  SEM) clasificando a los individuos en función al grupo experimental, edad, y genotipo 5-HTTLPR/rs25531. La edad ( $F_{(1,205)} = 8,33$ ;  $p\text{-valor} < 0,01$ ;  $\eta^2 \text{ parcial} = 0,04$ ;  $\beta = 0,82$ ) explica el 10% de la variabilidad observada ( $F_{(12,205)} = 2,18$ ;  $p\text{-valor} < 0,05$ ;  $\eta^2 \text{ parcial} = 0,10$ ;  $\beta = 0,94$ ). ANCOVA de 3 factores, siendo el triptófano basal la covariable). \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ .

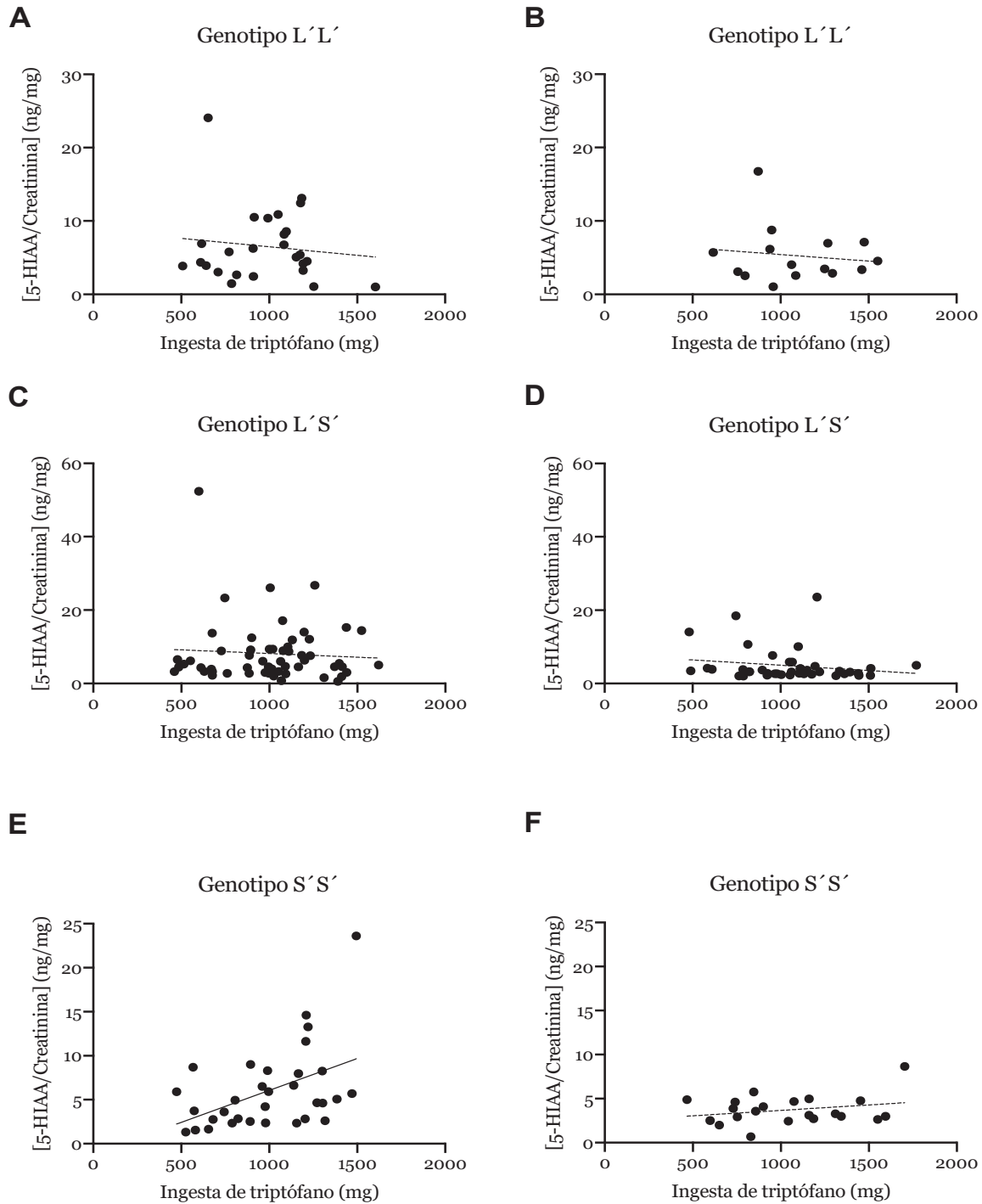
#### 4.2.4. Relación entre el consumo de triptófano y la excreción de 5-HIAA

A continuación, se muestra la relación existente entre la cantidad de triptófano ingerido y los niveles del metabolito urinario de la 5-HT.

Tras la evaluación de la ingesta de triptófano de la dieta habitual de los participantes, en la Figura 3.A se puede observar que en los individuos mayores portadores del genotipo L'L' del gen *SLC6A4* no se observa relación entre la cantidad de triptófano ingerido y el metabolito urinario de la 5-HT, ya que el p-valor obtenido tras la correlación es mayor que 0,05 ( $p\text{-valor}=0,82$ ;  $R=-0,04$ ). Un hecho similar se produce en los individuos L'L' jóvenes para el gen *SLC6A4* (Figura 3.B). En este caso, tampoco existe relación entre la cantidad del aminoácido ingerido y la excreción de 5-HIAA ( $p\text{-valor}=0,92$ ;  $R=0,03$ ).

Por otro lado, en la Figura 3.C y la Figura 3.D se aprecia la misma tendencia que en los casos anteriores, es decir, no parece existir relación entre la cantidad de triptófano ingerido en la dieta y la excreción del metabolito urinario de la 5-HT en los individuos mayores ( $p\text{-valor}=0,65$ ;  $R=0,06$ ) y jóvenes ( $p\text{-valor}=0,25$ ;  $R=-0,18$ ) portadores del genotipo L'S'.

Sin embargo, en la Figura 3.E se observa una correlación positiva entre la cantidad de triptófano ingerido y la liberación de 5-HIAA. Así, los individuos de mayor edad portadores del genotipo homocigoto S'S' con mayores dosis de triptófano ingerido excretan también mayor cantidad del metabolito urinario de la serotonina ( $p\text{-valor}=0,02$ ;  $R=0,44$ ). Pero en el caso de los individuos jóvenes portadores del genotipo S'S' (Figura 3.F), no se observa la misma tendencia, y no habrá relación entre la cantidad de triptófano ingerido y el metabolito excretado ( $p\text{-valor}=0,51$ ;  $R=0,15$ ).



**Figura 3.** Representación de los valores de 5-HIAA y la cantidad de triptófano ingerido, en base al enfoque trialélico del gen *SLC6A4*. (A) Respuesta de individuos mayores con el genotipo L'L' ( $p$ -valor=0,82;  $R$ =-0,04). (B) Respuesta de individuos jóvenes con el genotipo L'L' ( $p$ -valor=0,92;  $R$ =0,03). (C) Respuesta de individuos mayores con el genotipo L'S' ( $p$ -valor=0,65;  $R$ =0,06). (D) Respuesta de individuos jóvenes con el genotipo L'S' ( $p$ -valor=0,25;  $R$ =-0,18). (E) Respuesta de individuos mayores con el genotipo S'S' ( $p$ -valor=0,02;  $R$ =0,44). (F) Respuesta de individuos jóvenes con el genotipo S'S' ( $p$ -valor=0,51;  $R$ =0,15).

### 4.3. EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL TRIPTÓFANO SOBRE LA TENDENCIA A LA DEPRESIÓN Y LA COGNICIÓN SOCIAL

#### 4.3.1. Triptófano como modulador de la tendencia a la depresión.

En cuanto al **BDI-II** (Figura 4.A), el modelo de ANOVA que incluye los factores edad, tratamiento y genotipo determinó el 14% de la variabilidad en la puntuación obtenida en el cuestionario ( $F_{(11,206)}=3,55$ ;  $p\text{-valor}<0,001$ ;  $\eta^2$  parcial=0,14;  $\beta=1,00$ ). En concreto, se observa que los individuos del grupo control y del tratamiento responden de distinta manera, resultando más efectivo el tratamiento con el suplemento enriquecido en triptófano ( $F_{(1,206)}=15,14$ ;  $p\text{-valor}<0,001$ ;  $\eta^2$  parcial=0,06;  $\beta=0,97$ ). Por otro lado, se observa que los individuos con el alelo S'S' responden mejor al tratamiento, que aquellos que son portadores del alelo L', tanto L'L' como L'S' ( $F_{(2,206)}=4,78$ ;  $p\text{-valor}<0,01$ ;  $\eta^2$  parcial=0,04;  $\beta=0,79$ ).

En el **BAI** (Figura 4.B) el 17% de la variabilidad obtenida en la puntuación viene determinada mediante el modelo de ANOVA que incluye los factores edad, tratamiento y genotipo ( $F_{(11,206)}=4,81$ ;  $p\text{-valor}<0,001$ ;  $\eta^2$  parcial=0,17;  $\beta=1,00$ ). Al igual que en el caso anterior, la respuesta al tratamiento es más efectiva en el grupo experimental ( $F_{(1,206)}=19,58$ ;  $p\text{-valor}<0,001$ ;  $\eta^2$  parcial=0,07;  $\beta=0,99$ ). En este caso también existen diferencias al tener en cuenta la edad, respondiendo mejor los jóvenes que los mayores ( $F_{(1,206)}=5,43$ ;  $p\text{-valor}<0,05$ ;  $\eta^2$  parcial=0,02;  $\beta=0,64$ ). Pero al combinar los dos factores, se observa en los individuos jóvenes, que la respuesta es más efectiva en el grupo experimental. A la vez, que los individuos jóvenes que toman el suplemento enriquecido responden mejor que los individuos mayores del mismo grupo ( $F_{(1,206)}=13,08$ ;  $p\text{-valor}<0,001$ ;  $\eta^2$  parcial=0,05;  $\beta=0,95$ ).

En la puntuación obtenida en el **Índice de Bienestar** (Figura 4.C), el modelo de ANOVA que incluye los factores edad, tratamiento y genotipo determina el 8% de la variabilidad observada en la puntuación ( $F_{(11,206)}=2,03$ ;  $p\text{-valor}<0,05$ ;  $\eta^2$  parcial=0,08;  $\beta=0,91$ ). Se observan diferencias en la respuesta al tratamiento dependiendo del tipo de suplemento alimenticio ingerido, siendo los individuos del grupo experimental quienes obtienen una mayor mejoría ( $F_{(1,206)}=10,16$ ;  $p\text{-valor}<0,01$ ;  $\eta^2$  parcial=0,04;  $\beta=0,89$ ).

Para estudiar la eficacia del tratamiento sobre la tendencia a padecer depresión, también se analizó la puntuación obtenida en la **RRS** (Figura 5). Observándose que un 17% de la variabilidad obtenida en la puntuación está determinado mediante el modelo



de ANOVA que incluye los factores edad, tratamiento y genotipo ( $F_{(11,206)}=4,81$ ;  $p$ -valor $<0,001$ ;  $\eta^2$  parcial=0,17;  $\beta=1,00$ ). En concreto, se aprecia que el suplemento enriquecido en triptófano es más efectivo que el placebo ( $F_{(1,206)}=13,56$ ;  $p$ -valor $<0,001$ ;  $\eta^2$  parcial=0,05;  $\beta=0,96$ ). Además, la edad de los participantes también es un factor a tener en cuenta, ya que la respuesta es más efectiva en individuos jóvenes ( $F_{(1,206)}=6,98$ ;  $p$ -valor $<0,01$ ;  $\eta^2$  parcial=0,03;  $\beta=0,75$ ). Pero al tener en cuenta ambos factores se observa que en los jóvenes el tratamiento resulta más eficaz, ya que los individuos jóvenes del grupo experimental obtienen una mayor mejora que aquellos de mayor edad ( $F_{(1,206)}=7,77$ ;  $p$ -valor $<0,01$ ;  $\eta^2$  parcial=0,03;  $\beta=0,91$ ). Por otro lado, se observa que los individuos homocigotos para el alelo L' (L'L') responden de manera diferente en función de la edad, disminuyendo el patrón de respuesta rumiativo en individuos jóvenes. No obstante, en individuos mayores portadores del alelo L', se observa que la respuesta de los individuos heterocigotos resulta más efectiva ( $F_{(2,206)}=6,61$ ;  $p$ -valor $<0,01$ ;  $\eta^2$  parcial=0,05;  $\beta=0,91$ ). Por último, se observa que el efecto del grupo experimental actúa en interacción con la edad y con el genotipo estudiado ( $F_{(2,206)}=6,23$ ;  $p$ -valor $<0,01$ ;  $\eta^2$  parcial=0,05;  $\beta=0,89$ ). Se observa que el tratamiento es más efectivo que en individuos jóvenes que sean portadores del alelo L'. No obstante, se aprecia también, la respuesta al tratamiento varía en función de la interacción producida entre el genotipo y de la edad, ya que en individuos jóvenes aquellos con el alelo L'L' obtienen una respuesta más efectiva que aquellos con el alelo S'S'. Mientras que en mayores justamente se observa el efecto contrario, siendo el tratamiento más efectivo en los individuos con homocigotos para el alelo S'.

#### 4.3.2. Triptófano como modulador de la cognición social

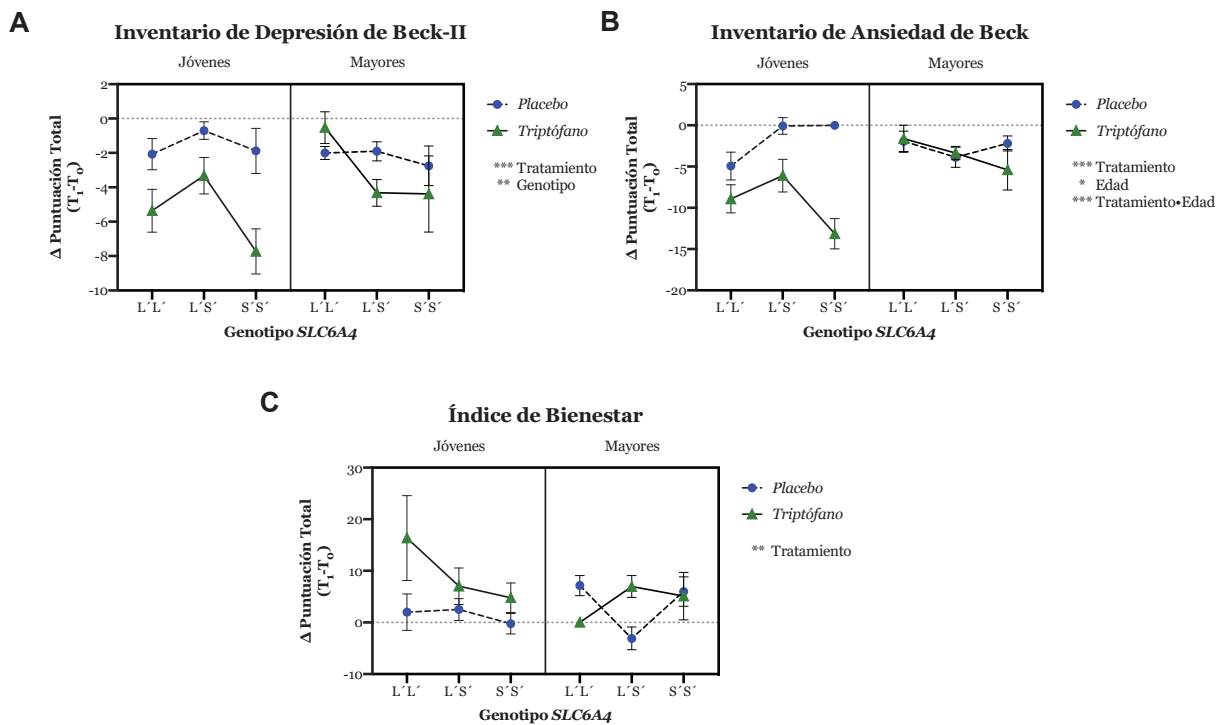
Por otro lado, al evaluar la cognición social, principalmente se han tenido en cuenta el coeficiente de empatía, la reactividad interpersonal y la moralidad. Así, al analizar la puntuación obtenida en el IRI (Figura 6) se ha observado que algunos de los factores explican la variabilidad observada. En concreto, al tener en cuenta la **Toma de Perspectiva** (Figura 6.A), se ha observado que el modelo de ANOVA que incluye los factores edad, tratamiento y genotipo determina el 10% de la variabilidad observada ( $F_{(11,206)}=2,46$ ;  $p$ -valor $<0,01$ ;  $\eta^2$  parcial=0,10;  $\beta=0,96$ ). En concreto, la edad de los participantes determina dicha variabilidad. Teniendo los individuos jóvenes aquellos con una mayor habilidad para comprender y asumir el punto de vista de otra persona, tras participar en el estudio ( $F_{(1,206)}=6,08$ ;  $p$ -valor $<0,05$ ;  $\eta^2$  parcial=0,02;  $\beta=0,69$ ). Por otro lado, en la subescala de **Fantasía** (Figura 6.B), se ha observado que el modelo de

ANOVA que incluye los factores edad, tratamiento y genotipo explica el 11% de la variabilidad obtenida ( $F_{(11,206)}=2,82$ ;  $p\text{-valor}<0,01$ ;  $\eta^2$  parcial=0,11;  $\beta=0,98$ ). En concreto, se observa que el tipo de alimento ingerido interfiere actuando junto con el genotipo del individuo. Así, los individuos homocigotos para el alelo L' del grupo experimental responden mejor que aquellos que ingieren el placebo. No obstante, existen diferencias entre los individuos portadores del alelo L', ya que en el grupo control, los individuos heterocigotos L'S' responden mejor que los homocigotos. Mientras que, en el grupo experimental, son los individuos homocigotos L'L' quienes responden mejor ( $F_{(2,206)}=7,16$ ;  $p\text{-valor}<0,01$ ;  $\eta^2$  parcial=0,05;  $\beta=0,93$ ). Por otro lado, se observa el efecto producido al tener en cuenta la edad de los individuos y el genotipo expresado. En concreto se observa, en el grupo de individuos homocigotos L'L', son los individuos jóvenes quienes responden mejor. Además, los individuos mayores heterocigotos (L'S') muestran una mejor respuesta que los individuos homocigotos L'L' ( $F_{(2,206)}=4,70$ ;  $p\text{-valor}<0,05$ ;  $\eta^2$  parcial=0,04;  $\beta=0,79$ ). Sin embargo, ni en la **Preocupación Empática** (Figura 6.C;  $F_{(11,206)}=1,56$ ;  $p\text{-valor}=0,11$ ;  $\eta^2$  parcial=0,07;  $\beta=0,82$ ) ni en el **Malestar Personal** (Figura 6.D;  $F_{(11,206)}=0,79$ ;  $p\text{-valor}=0,65$ ;  $\eta^2$  parcial=0,03;  $\beta=0,44$ ), se han observado diferencias significativas al tener en cuenta los mismos factores.

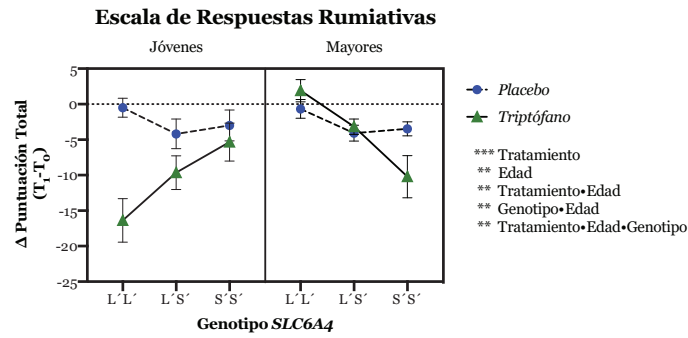
Al evaluar el **Coefficiente de Empatía** (Figura 7), tampoco se han observado diferencias estadísticamente significativas al tener en cuenta la edad, el tratamiento, y el genotipo de los polimorfismos 5-HTTLPR/rs25531 ( $F_{(11,206)}=1,32$ ;  $p\text{-valor}=0,22$ ;  $\eta^2$  parcial=0,05;  $\beta=0,70$ ) como factores del modelo de ANOVA.

Al evaluar el cuestionario de Juicios Morales, en las historias en las que se produce el **Perjuicio Accidental** (Figura 8.B), se ha observado, que el modelo de ANOVA que incluye los factores edad, tratamiento y genotipo define el 10% de la variabilidad observada ( $F_{(11,206)}=2,54$ ;  $p\text{-valor}<0,01$ ;  $\eta^2$  parcial=0,10;  $\beta=0,96$ ). Se observa que los individuos que toman el suplemento de triptófano, son más permisibles frente al evaluar el perjuicio accidental que aquellas que ingieren el suplemento placebo ( $F_{(1,206)}=8,25$ ;  $p\text{-valor}<0,01$ ;  $\eta^2$  parcial=0,03;  $\beta=0,82$ ). La genética influye también en la permisibilidad, siendo los individuos homocigotos L'L' más permisivos que los individuos heterocigotos, tras finalizar el estudio ( $F_{(2,206)}=4,17$ ;  $p\text{-valor}<0,05$ ;  $\eta^2$  parcial=0,03;  $\beta=0,73$ ). No obstante, el tipo de tratamiento empleado afecta a los individuos en función de la edad ( $F_{(1,206)}=4,71$ ;  $p\text{-valor}<0,05$ ;  $\eta^2$  parcial=0,02;  $\beta=0,58$ ), viéndose incrementaba la permisibilidad en los individuos mayores del grupo experimental, frente a aquellos del grupo control. Por otro lado, se ha observado que el tratamiento empleado interfiere con la edad de los participantes ( $F_{(1,205)}=6,49$ ;  $p\text{-}$

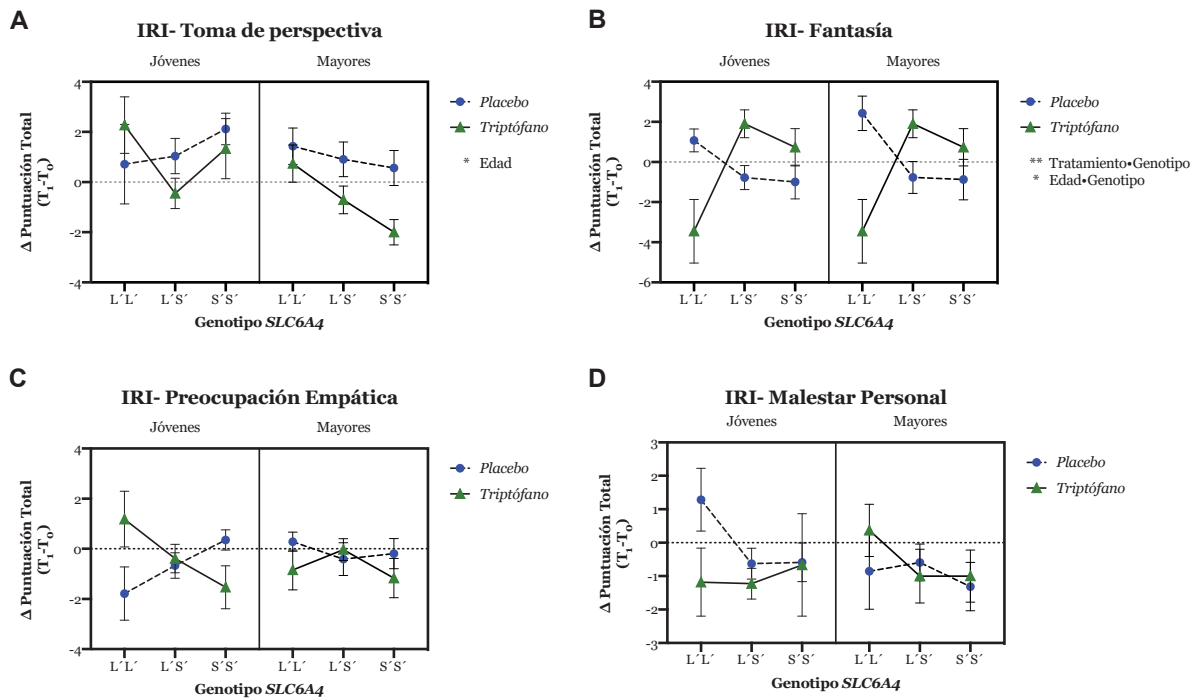
valor<0,05;  $\eta^2$  parcial=0,03;  $\beta=0,72$ ) al evaluar las historias con **Tentativas de Perjuicio** (Figura 8.C). Así, en el grupo control, los individuos jóvenes tienden a ser menos permisivos, cuando el daño es intencionado. En esta ocasión, el modelo de ANCOVA que incluye los factores edad, tratamiento y genotipo define el 9% de la variabilidad observada ( $F_{(12,205)}=2,12$ ;  $p$ -valor<0,05;  $\eta^2$  parcial=0,09;  $\beta=0,94$ ). En esta ocasión, la cantidad de triptófano basal en la dieta se incluye como covariable en el modelo ( $F_{(1,205)}=11,54$ ;  $p$ -valor<0,01;  $\eta^2$  parcial=0,05;  $\beta=0,92$ ). Mientras que al evaluar las historias con **Actos Neutrales** (Figura 8.A), o con **Perjuicios Conscientes** (Figura 8.D.), no se ha observado ninguna relación entre la edad de los participantes, el suplemento alimenticio ingerido o el genotipo de los polimorfismos 5-HTTLPR/rs25521 y la puntuación obtenida en cada una de las historias ( $F_{(11,206)}=1,34$ ;  $p$ -valor=0,21;  $\eta^2$  parcial=0,06;  $\beta=0,71$ ;  $F_{(11,206)}=1,47$ ;  $p$ -valor=0,14;  $\eta^2$  parcial=0,06;  $\beta=0,76$ ).



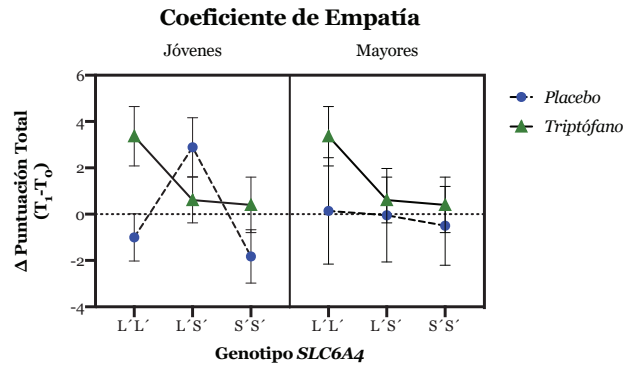
**Figura 4. (A) Inventario de Depresión de Beck:** el tratamiento ( $F_{(1,206)}=15,14$ ;  $p$ -valor<0,001;  $\eta^2$  parcial=0,06;  $\beta=0,97$ ), y el genotipo ( $F_{(2,206)}=4,78$ ;  $p$ -valor<0,01;  $\eta^2$  parcial=0,04;  $\beta=0,79$ ), determinan el 14% de la variabilidad ( $F_{(11,206)}=3,55$ ;  $p$ -valor<0,001;  $\eta^2$  parcial=0,14;  $\beta=1,00$ ). **(B) Inventario de Ansiedad de Beck.** El tratamiento ( $F_{(1,206)}=19,58$ ;  $p$ -valor<0,001;  $\eta^2$  parcial=0,07;  $\beta=0,99$ ), la edad ( $F_{(1,206)}=5,43$ ;  $p$ -valor<0,05;  $\eta^2$  parcial=0,02;  $\beta=0,64$ ), y la interacción tratamiento-edad ( $F_{(1,206)}=13,08$ ;  $p$ -valor<0,001;  $\eta^2$  parcial=0,05;  $\beta=0,95$ ), explican el 17% de la variabilidad ( $F_{(11,206)}=4,81$ ;  $p$ -valor<0,001;  $\eta^2$  parcial=0,17;  $\beta=1,00$ ). **(C) Índice de Bienestar:** el tratamiento ( $F_{(1,206)}=10,16$ ;  $p$ -valor<0,01;  $\eta^2$  parcial=0,04;  $\beta=0,89$ ) determina el 8% de la variabilidad observada ( $F_{(11,206)}=2,03$ ;  $p$ -valor<0,05;  $\eta^2$  parcial=0,08;  $\beta=0,91$ ).



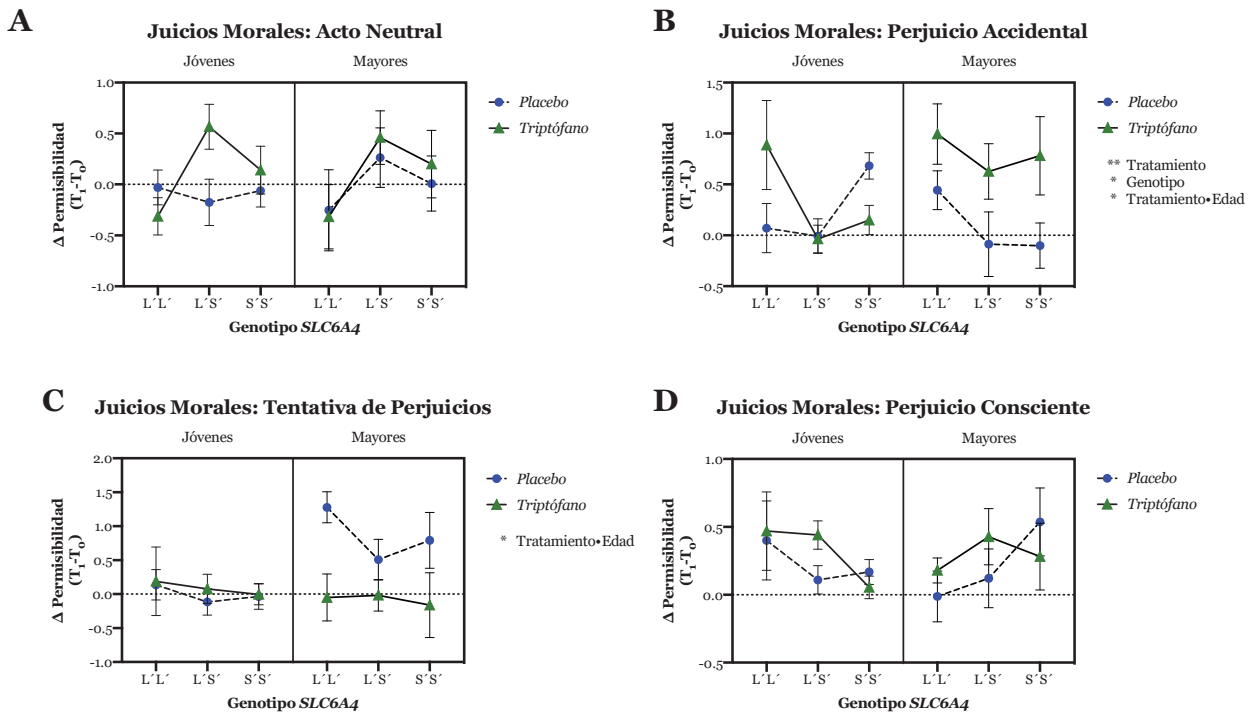
**Figura 5. Escala de Respuestas Rumiativas.** El tratamiento ( $F_{(1,206)}=13,56$ ;  $p$ -valor $<0,001$ ;  $\eta^2$  parcial=0,05;  $\beta=0,96$ ), la edad ( $F_{(1,206)}=6,98$ ;  $p$ -valor $<0,01$ ;  $\eta^2$  parcial=0,03;  $\beta=0,75$ ), la interacción tratamiento-edad ( $F_{(1,206)}=7,77$ ;  $p$ -valor $<0,01$ ;  $\eta^2$  parcial=0,03;  $\beta=0,91$ ), la interacción genotipo-edad ( $F_{(2,206)}=6,61$ ;  $p$ -valor $<0,01$ ;  $\eta^2$  parcial=0,05;  $\beta=0,91$ ), y la interacción tratamiento-edad-genotipo ( $F_{(2,206)}=6,23$ ;  $p$ -valor $<0,01$ ;  $\eta^2$  parcial=0,05;  $\beta=0,89$ ), explican el 17% de la variabilidad ( $F_{(11,206)}=4,81$ ;  $p$ -valor $<0,001$ ;  $\eta^2$  parcial=0,17;  $\beta=1,00$ ).



**Figura 6. IRI: Índice de Reactividad Interpersonal.** (A) Subescala Toma de Perspectiva: La edad ( $F_{(1,206)}=6,08$ ;  $p$ -valor $<0,05$ ;  $\eta^2$  parcial=0,02;  $\beta=0,69$ ) explica el 10% de la variabilidad ( $F_{(11,206)}=2,46$ ;  $p$ -valor $<0,01$ ;  $\eta^2$  parcial=0,10;  $\beta=0,96$ ). (B) Subescala Fantasía: La interacción tratamiento-genotipo ( $F_{(2,206)}=7,16$ ;  $p$ -valor $<0,01$ ;  $\eta^2$  parcial=0,05;  $\beta=0,93$ ) y la interacción edad-genotipo ( $F_{(2,206)}=4,70$ ;  $p$ -valor $<0,05$ ;  $\eta^2$  parcial=0,04;  $\beta=0,79$ ), explican el 11% de la variabilidad ( $F_{(11,206)}=2,82$ ;  $p$ -valor $<0,01$ ;  $\eta^2$  parcial=0,11;  $\beta=0,98$ ). (C) Subescala de Preocupación Empática ( $F_{(11,206)}=1,56$ ;  $p$ -valor=0,11;  $\eta^2$  parcial=0,07;  $\beta=0,82$ ). (D) Subescala de Malestar Personal ( $F_{(11,206)}=0,79$ ;  $p$ -valor=0,65;  $\eta^2$  parcial=0,03;  $\beta=0,44$ ).



**Figura 7. Coeficiente de Empatía** ( $F_{(11,206)}=1,32$ ;  $p$ -valor=0,22;  $\eta^2$  parcial=0,05;  $\beta=0,70$ ).



**Figura 8. Cuestionario de Juicios Morales.** **(A) Acto Neutral** ( $F_{(11,206)}=1,34$ ;  $p$ -valor=0,21;  $\eta^2$  parcial=0,06;  $\beta=0,71$ ). **(B) Perjuicio Accidental:** El tratamiento ( $F_{(1,206)}=8,25$ ;  $p$ -valor<0,01;  $\eta^2$  parcial=0,03;  $\beta=0,82$ ), el genotipo ( $F_{(2,206)}=4,17$ ;  $p$ -valor<0,05;  $\eta^2$  parcial=0,03;  $\beta=0,73$ ) y la interacción tratamiento-edad ( $F_{(1,206)}=4,71$ ;  $p$ -valor<0,05;  $\eta^2$  parcial=0,02;  $\beta=0,58$ ) explican el 10% de la variabilidad observada ( $F_{(11,206)}=2,54$ ;  $p$ -valor<0,01;  $\eta^2$  parcial=0,10;  $\beta=0,96$ ). **(C) Tentativa de Perjuicios:** La interacción tratamiento-edad ( $F_{(1,205)}=6,49$ ;  $p$ -valor<0,05;  $\eta^2$  parcial=0,03;  $\beta=0,72$ ), junto con los niveles basales del aminoácido triptófano ( $F_{(1,205)}=11,54$ ;  $p$ -valor<0,01;  $\eta^2$  parcial=0,05;  $\beta=0,92$ ) explican el 9% de la variabilidad observada ( $F_{(12,205)}=2,12$ ;  $p$ -valor<0,05;  $\eta^2$  parcial=0,09;  $\beta=0,94$ ). **(D) Perjuicios Conscientes** ( $F_{(11,206)}=1,47$ ;  $p$ -valor=0,14;  $\eta^2$  parcial=0,06;  $\beta=0,76$ ).

#### 4.4. RESPUESTA AL TRATAMIENTO EN PERSONAS MAYORES MODULADA POR *SLC6A4* Y *BDNF*

##### 4.4.1. Frecuencia alélica y genotípica de los polimorfismos de *BDNF* y *SLC6A4*

Para analizar la frecuencia de los genotipos se clasificaron a los individuos en base al SNPs Val66Met (*rs6265*) presente en el gen *BDNF*, así como de los polimorfismos rs25531 y 5-HTTLPR presentes en el gen *SLC6A4* (Tabla 4).

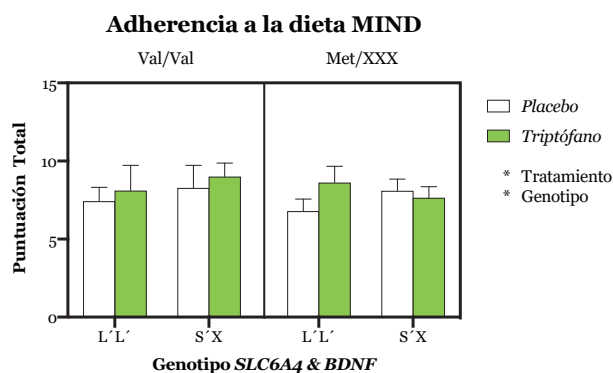
En la población de individuos mayores se observó que las frecuencias genotípicas del polimorfismo *rs6265* se distribuían siguiendo la ley de equilibrio de Hardy-Weinberg ( $\chi^2_{(2,60)}=0,69$ ;  $p\text{-valor}>0,05$ ). Obteniendo las siguientes frecuencias genotípicas: 66,7% (genotipo Val/Val), 31,7% (genotipo Val/Met) y 1,6% (genotipo Met/Met). Mientras que la frecuencia del alelo Val fue de 0,83 y la del alelo Met de 0,17. Sin embargo, las frecuencias genotípicas de los polimorfismos 5-HTTLPR/rs25531 no se distribuían siguiendo el equilibrio de Hardy-Weinberg ( $\chi^2_{(2,60)}=4,64$ ;  $p\text{-valor}<0,05$ ). Obteniendo las siguientes frecuencias genotípicas: 39,7% (genotipo L'L'), 34,9% (genotipo L'S') y 25,4% (genotipo S'S'). Siendo la frecuencia del alelo L' de 0,57 y la del alelo S' de 0,43.

**Tabla 4.** Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos *rs6265* y 5-HTTLPR/rs25531 de los genes *BDNF* y *SLC6A4*, respectivamente.

<i>rs6265 (BDNF)</i>						
<i>N</i> <sub>o</sub>	<i>Val/Val</i> ( <i>n</i> )	<i>Val/Met</i> ( <i>n</i> )	<i>Met/Met</i> ( <i>n</i> )	<i>Val</i>	<i>Met</i>	$\chi^2$
63	66,7%(42)	31,7% (20)	1,6% (1)	0,83	0,17	0,69
<i>5-HTTLPR y rs6265 (SLC6A4)</i>						
<i>N</i> <sub>o</sub>	<i>L'/L'</i> ( <i>n</i> )	<i>L'/S'</i> ( <i>n</i> )	<i>S'/S'</i> ( <i>n</i> )	<i>L'</i>	<i>S'</i>	$\chi^2$
63	39,7% (25)	34,9% (22)	25,4% (16)	0,57	0,43	4,64

#### 4.4.2. Adherencia a la Dieta MIND, influenciada por los polimorfismos rs6265 y 5-HTTLPR/rs25531

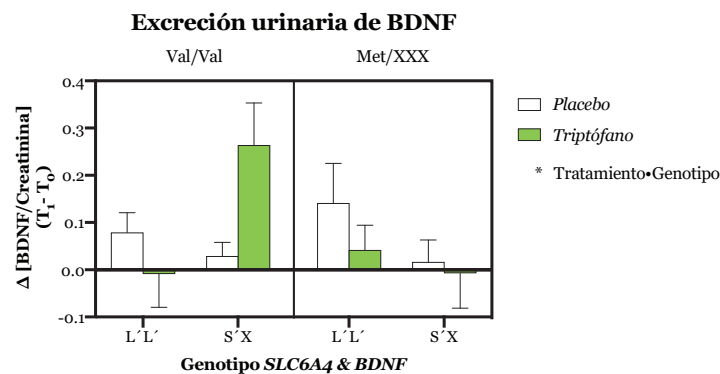
La Figura 9, muestra la puntuación media de adherencia a la dieta MIND obtenida por los participantes. Específicamente, el modelo de ANOVA que incluye los factores tratamiento y genotipo determina el 24% de variabilidad obtenida en la puntuación de la adhesión a la dieta MIND ( $F_{(7,56)}=3,09$ ;  $p\text{-valor}<0,01$ ;  $\eta^2$  parcial=0,24;  $\beta=0,92$ ). En concreto, esta variabilidad está determinada por la interacción entre los polimorfismos 5-HTTLPR/rs25531 y rs6265, de los genes *SLC6A4* y *BDNF*, respectivamente ( $F_{(3,56)}=3,05$ ;  $p\text{-valor}<0,05$ ;  $\eta^2$  parcial=0,11;  $\beta=0,69$ ). Obteniendo los individuos portadores del alelo S' y del alelo Met, una mayor adhesión a la dieta MIND que aquellos homocigotos para los alelos L' y Val ( $p\text{-valor}<0,05$ ). Mientras que los individuos portadores del alelo S' y homocigotos para el alelo Val, obtienen una mayor adherencia que aquellos homocigotos para el alelo L' y portadores del alelo Met ( $p\text{-valor}<0,05$ ). Por último, también existen diferencias entre los individuos portadores del alelo S', obteniendo los homocigotos para el alelo Val una mayor puntuación ( $p\text{-valor}<0,05$ ). Sin embargo, también se observan diferencias entre los individuos pertenecientes a los distintos grupos experimentales. Obteniendo en condiciones basales, una mayor adherencia a la dieta MIND, los individuos que posteriormente recibieron el tratamiento con triptófano ( $F_{(1,56)}=6,74$ ;  $p\text{-valor}<0,05$ ;  $\eta^2$  parcial=0,09;  $\beta=0,73$ ;  $p\text{-valor}<0,05$ ).



**Figura 9.** Representación de la adherencia de los participantes a la dieta MIND (media  $\pm$  SEM). El grupo experimental ( $F_{(1,56)}=6,74$ ;  $p\text{-valor}<0,05$ ;  $\eta^2$  parcial=0,09;  $\beta=0,73$ ) y la interacción entre los polimorfismos rs6265, rs25531 y 5-HTTLPR ( $F_{(3,56)}=3,05$ ;  $p\text{-valor}<0,05$ ;  $\eta^2$  parcial=0,11;  $\beta=0,69$ ) explica el 24% de la variabilidad observada ( $F_{(7,56)}=3,09$ ;  $p\text{-valor}<0,01$ ;  $\eta^2$  parcial=0,24;  $\beta=0,92$ ).

#### 4.4.3. Excreción del factor neurotrófico derivado del cerebro

En la Figura 10 se expresa el incremento en la liberación del BDNF producido tras concluir el tratamiento. Específicamente, el modelo de ANOVA que incluye los factores tratamiento y genotipo determina el 18% de variabilidad producida en la excreción de esta proteína ( $F_{(7,56)}=2,27$ ;  $p\text{-valor}<0,05$ ;  $\eta^2$  parcial=0,18;  $\beta=0,80$ ). En concreto, esta variabilidad está determinada por la interacción entre el tipo de suplemento alimenticio ingerido y los polimorfismos 5-HTTLPR/rs25531 y rs6265, de los genes *SLC6A4* y *BDNF*, respectivamente ( $F_{(3,56)}= 2,86$ ;  $p\text{-valor}<0,05$ ;  $\eta^2$  parcial=0,11;  $\beta=0,66$ ). Siendo los individuos portadores del alelo S' y Homocigotos para el alelo Val aquellos con una mejor respuesta al tratamiento ( $p\text{-valor}<0,05$ ) ya que el incremento es mayor en los individuos del grupo de triptófano ( $0,26\pm 0,37$  pg/mg) que en aquellos del grupo control ( $0,03\pm 0,13$  pg/mg). Pero a su vez, teniendo únicamente en cuenta a los individuos que ingirieron el suplemento de triptófano, se observa que la liberación de BDNF es mayor en individuos S'X Val/Val ( $0,26\pm 0,37$  pg/mg) que en individuo L'L' Val/Val ( $p\text{-valor}<0,05$ ;  $-0,01\pm 0,21$  pg/mg) o que en individuos S'X Met/XXX ( $p\text{-valor}<0,05$ ;  $-0,01\pm 0,23$  pg/mg).



**Figura 10.** Representación diferencia en la liberación del metabolito urinario del BDNF (media  $\pm$  SEM). La interacción entre el tipo de tratamiento recibido con los polimorfismos rs6265, rs25531 y 5-HTLPR ( $F_{(3,56)}=2,86$ ;  $p\text{-valor}<0,05$ ;  $\eta^2$  parcial=0,11;  $\beta=0,66$ ) explica el 18% de la variabilidad observada ( $F_{(7,56)}=2,27$ ;  $p\text{-valor}<0,05$ ;  $\eta^2$  parcial=0,18;  $\beta=0,80$ ).



#### 4.4.4. Mejora de la tendencia a la depresión y la cognición social, mediada por la interacción de los genes *SLC6A4* y *BDNF*.

En cuanto al **BDI-II** (Figura 11.A), el modelo de ANCOVA que incluye los factores tratamiento y genotipo determinó un 41% de variabilidad en la puntuación obtenida en el inventario de depresión ( $F_{(8,55)}=5,56$ ;  $p\text{-valor}<0,001$ ;  $\eta^2$  parcial=0,41;  $\beta=1,00$ ). En concreto, se observan diferencias significativas en la puntuación al tener en cuenta la interacción producida entre los polimorfismos de los genes *BDNF* y *SLC6A4* ( $F_{(3,55)}=2,87$ ;  $p\text{-valor}<0,05$ ;  $\eta^2$  parcial=0,12;  $\beta=0,66$ ). Concretamente se observa que los individuos homocigotos para el alelo Val, responden de distinta manera en función de los polimorfismos del gen *SLC6A4*. Responden mejor los individuos portadores del alelo S', que los individuos homocigotos L'L' ( $p\text{-valor}<0,01$ ). Estas diferencias se acentúan al incluir el tipo de suplemento ingerido en el modelo ( $F_{(3,55)}=3,09$ ;  $p\text{-valor}<0,05$ ;  $\eta^2$  parcial=0,13;  $\beta=0,70$ ). En los individuos S'X Val/Val y L'L' Met/XXX se observa una mejora al tomar el suplemento enriquecido en triptófano ( $p\text{-valor}<0,05$  y  $p\text{-valor}<0,05$ , respectivamente). Observándose también que los individuos S'X Met y S'X Val/Val responden mejor al tratamiento de triptófano que los individuos L'L' Val/Val. Destacar que el incremento en los niveles de BDNF modula la respuesta producida al actuar como covariable ( $F_{(1,55)}=19,39$ ;  $p\text{-valor}<0,001$ ;  $\eta^2$  parcial=0,24;  $\beta=0,99$ ).

En el caso del **BAI** (Figura 11.B) un 34% de la variabilidad viene determinada por el modelo de ANCOVA que incluye los factores tratamiento y genotipo ( $F_{(8,55)}=4,39$ ;  $p\text{-valor}<0,001$ ;  $\eta^2$  parcial=0,34;  $\beta=0,99$ ). En esta ocasión son también los individuos con el genotipo L'L' y Val/Val quienes peor responden al tratamiento ( $F_{(3,55)}=4,47$ ;  $p\text{-valor}<0,01$ ;  $\eta^2$  parcial=0,17;  $\beta=0,86$ ), al comparar el incremento de la puntuación con los demás genotipos ( $p\text{-valor}<0,05$ ). Al igual que en el caso anterior, el incremento en los niveles de BDNF modula la respuesta al actuar como como covariable ( $F_{(1,55)}=18,47$ ;  $p\text{-valor}<0,001$ ;  $\eta^2$  parcial=0,22;  $\beta=0,99$ ).

En la puntuación obtenida en el **Índice de Bienestar** (Figura 11.C), el modelo de ANCOVA que incluye los factores tratamiento y genotipo determina el 25% de la variabilidad observada ( $F_{(8,55)}=2,86$ ;  $p\text{-valor}<0,01$ ;  $\eta^2$  parcial=0,25;  $\beta=0,92$ ). No obstante, parece que las diferencias únicamente se deben a la covariable, es decir, al incremento producido en los niveles de BDNF excretados ( $F_{(1,55)}=6,51$ ;  $p\text{-valor}<0,05$ ;  $\eta^2$  parcial=0,09;  $\beta=0,71$ ).

Al evaluar el patrón de respuesta rumiativo mediante la **RRS** (Figura 12), el modelo de ANCOVA que incluye los factores tratamiento y genotipo explica el 54% de

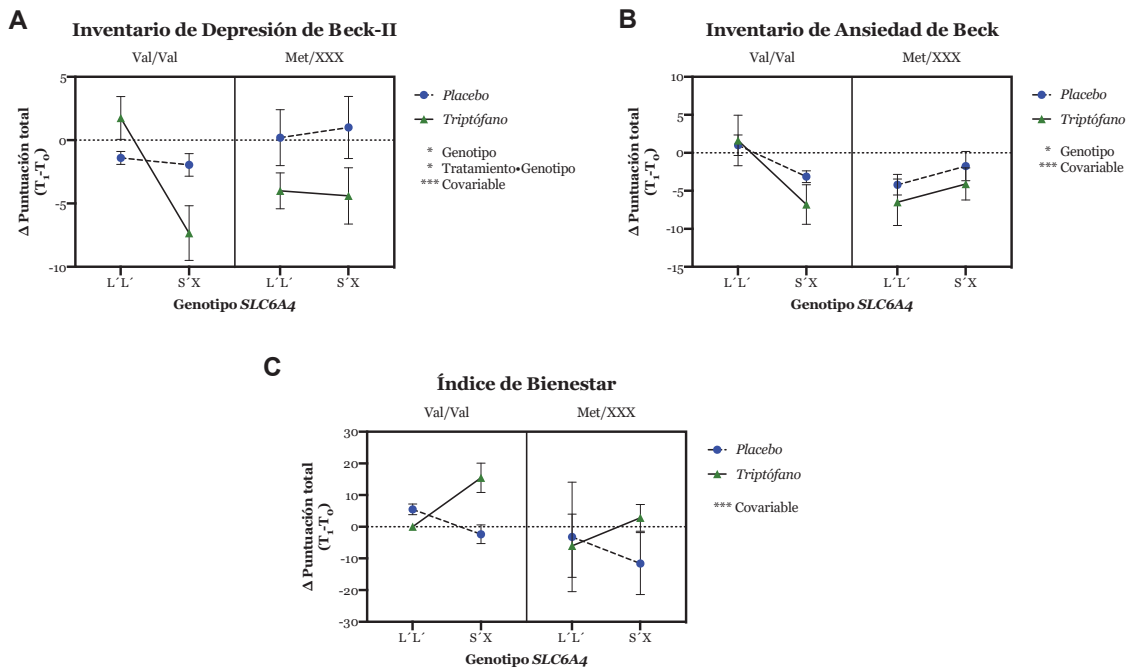
la variabilidad observada ( $F_{(8,55)}=9,51$ ;  $p\text{-valor}<0,001$ ;  $\eta^2$  parcial=0,54;  $\beta=1,00$ ). En este caso, la covariable, el incremento en los niveles de BDNF, explica parte de dichas diferencias ( $F_{(1,55)}=31,09$ ;  $p\text{-valor}<0,001$ ;  $\eta^2$  parcial=0,32;  $\beta=1,00$ ). Sin embargo, también interviene el genotipo de los participantes para los dos genes estudiados ( $F_{(3,55)}=9,38$ ;  $p\text{-valor}<0,001$ ;  $\eta^2$  parcial=0,30;  $\beta=1,00$ ). Siendo en esta ocasión los individuos con los genotipos L´L´ y Val/Val quienes peor responden al tratamiento. Pero al tener en cuenta el tratamiento seguido, se observa que en estos individuos la ingesta del suplemento enriquecido en triptófano es menos beneficiosa que la ingesta del placebo ( $F_{(3,55)}=6,43$ ;  $p\text{-valor}<0,01$ ;  $\eta^2$  parcial=0,23;  $\beta=0,96$ ).

Siguiendo con la cognición social, al analizar la puntuación obtenida en el IRI (Figura 13) sí se ha observado que algunos de los factores explican la variabilidad observada. Al tener en cuenta la **Toma de Perspectiva** (Figura 13.A), se ha observado que el modelo de ANOVA que incluye los factores tratamiento y genotipo determina el 18% de la variabilidad observada ( $F_{(7,56)}=2,32$ ;  $p\text{-valor}<0,05$ ;  $\eta^2$  parcial=0,18;  $\beta=0,81$ ). En concreto, la interacción producida entre el tipo de tratamiento y el genotipo de los polimorfismos estudiados determina dicha variabilidad ( $F_{(3,56)}=3,08$ ;  $p\text{-valor}<0,05$ ;  $\eta^2$  parcial=0,11;  $\beta=0,70$ ). Resultando la respuesta al suplemento de triptófano más efectiva en individuos portadores del alelo S´, y homocigotos Val/Val, que en individuos homocigotos L´L´ y portadores del alelo Met. Por otro lado, en la subescala de **Fantasía** (Figura 13.B), se ha observado que el modelo de ANCOVA que incluye los factores tratamiento y genotipo explica el 26% de la variabilidad obtenida ( $F_{(8,55)}=2,98$ ;  $p\text{-valor}<0,01$ ;  $\eta^2$  parcial=0,26;  $\beta=0,93$ ). Tanto el tipo alimento ingerido como el genotipo del individuo influirán en la respuesta producida. Así, los individuos del grupo experimental responden mejor que aquellos del grupo control ( $F_{(1,55)}=4,51$ ;  $p\text{-valor}<0,05$ ;  $\eta^2$  parcial=0,06;  $\beta=0,55$ ). Mientras que se observa que la respuesta es menos efectiva en los individuos con el genotipo L´L´ y Val/Val al compararlos con los individuos L´L´ y Met/XXX o S´X y Val/Val ( $F_{(3,55)}=3,66$ ;  $p\text{-valor}<0,05$ ;  $\eta^2$  parcial=0,14;  $\beta=0,78$ ). Sin embargo, ni en la **Preocupación Empática** (Figura 13.C;  $F_{(7,56)}=0,90$ ;  $p\text{-valor}=0,51$ ;  $\eta^2$  parcial=0,08;  $\beta=0,36$ ) ni en el **Malestar Personal** (Figura 13.D;  $F_{(7,56)}=1,36$ ;  $p\text{-valor}=0,24$ ;  $\eta^2$  parcial=0,12;  $\beta=0,54$ ), no se han observado diferencias significativas al tener en cuenta los mismos factores, como son el grupo experimental, y el genotipo de los polimorfismos rs6265, rs25531 y 5-HTTLPR.

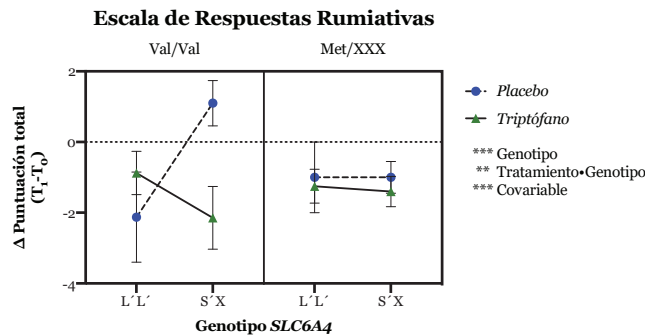
Al evaluar el **coeficiente de empatía** (Figura 14), tampoco se han observado diferencias estadísticamente significativas al tener en cuenta el tipo de tratamiento, y el

genotipo de los polimorfismos rs6265, rs25531 y 5-HTTLPR ( $F_{(7,56)}=1,97$ ;  $p\text{-valor}=0,07$ ;  $\eta^2$  parcial=0,16;  $\beta=0,73$ ).

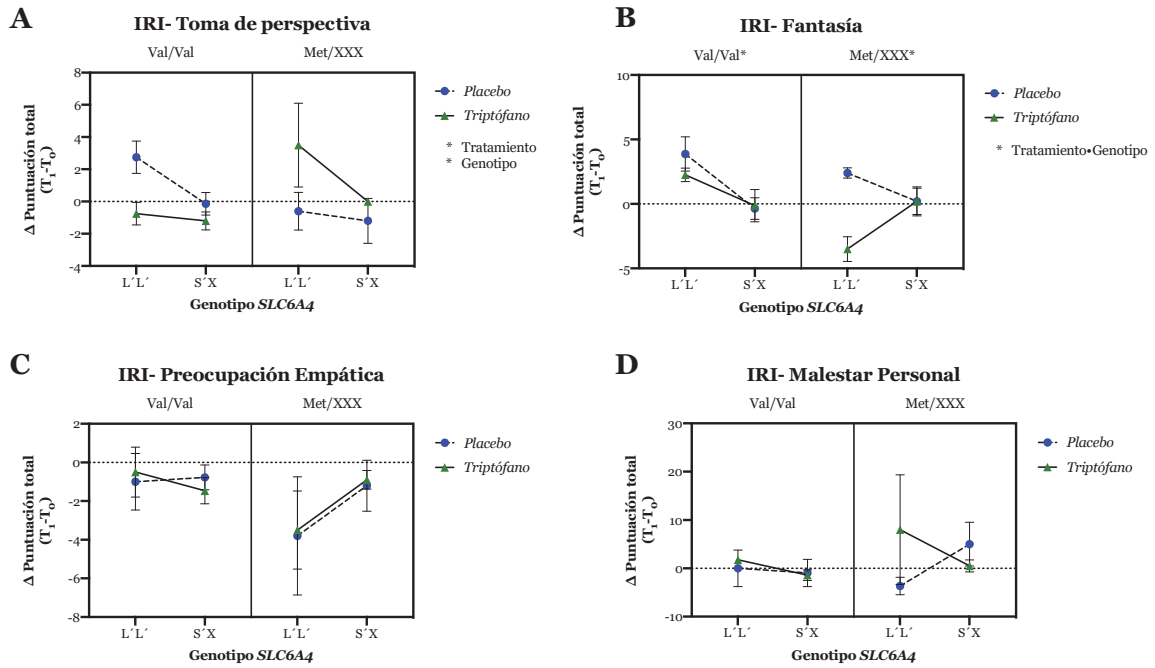
Por último, al evaluar el cuestionario de Juicios Morales, en los escenarios en los que se produce el **Perjuicio Accidental** (Figura 15.B) se ha observado, que el modelo de ANOVA que incluye los factores tratamiento y genotipo define el 31% de la variabilidad observada ( $F_{(8,55)}=3,70$ ;  $p\text{-valor}<0,05$ ;  $\eta^2$  parcial=0,31;  $\beta=0,98$ ). Se observa que tanto la genética como el tipo de tratamiento seguido interaccionan entre sí, influyendo a la permisibilidad. En esta ocasión, los individuos que toman el suplemento de triptófano y con el genotipo L´L´ y Met/XXX, son más permisibles a la hora de evaluar el perjuicio accidental que aquellas que ingieren el placebo. Además, se observa dentro del grupo experimental, que entre los individuos portadores del alelo Met, aquellos homocigotos L´L´ son más permisibles que los portadores de alelo S´ ( $F_{(3,55)}=3,25$ ;  $p\text{-valor}<0,05$ ;  $\eta^2$  parcial=0,13;  $\beta=0,72$ ). Mientras que al evaluar los escenarios con **Actos Neutrales** (Figura 15.A), con **Tentativas de Perjuicios** (Figura 15.C) o con **Perjuicios Conscientes** (Figura 15.D), no se ha observado ninguna relación entre el suplemento alimenticio ingerido o el genotipo de los polimorfismos rs6265, rs25531 y 5-HTTLPR y la puntuación obtenida en cada uno de los escenarios ( $F_{(7,56)}=1,43$ ;  $p\text{-valor}=0,21$ ;  $\eta^2$  parcial=0,12;  $\beta=0,57$ ;  $F_{(7,56)}=1,07$ ;  $p\text{-valor}=0,39$ ;  $\eta^2$  parcial=0,10;  $\beta=0,43$ ;  $F_{(7,56)}=1,24$ ;  $p\text{-valor}=0,29$ ;  $\eta^2$  parcial=0,11;  $\beta=0,50$ ).



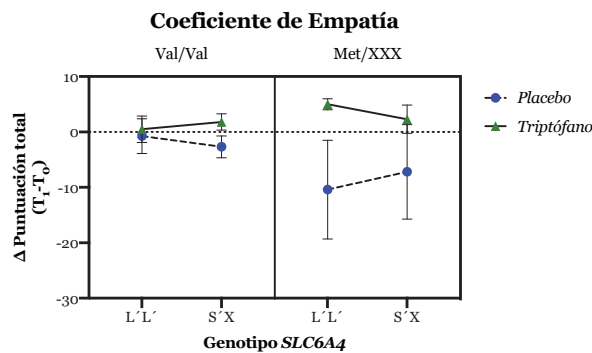
**Figura 11. (A)** Inventario de Depresión de Beck: el genotipo ( $F_{(3,55)}=2,87$ ;  $p$ -valor $<0,05$ ;  $\eta^2$  parcial=0,12;  $\beta=0,66$ ) y la interacción genotipo-tratamiento ( $F_{(3,55)}=3,09$ ;  $p$ -valor $<0,05$ ;  $\eta^2$  parcial=0,13;  $\beta=0,70$ ), así como el incremento de los niveles de BDNF ( $F_{(1,55)}=19,39$ ;  $p$ -valor $<0,001$ ;  $\eta^2$  parcial=0,24;  $\beta=0,99$ ) determinan el 41% de la variabilidad observada en la puntuación de este cuestionario ( $F_{(8,55)}=4,39$ ;  $p$ -valor $<0,001$ ;  $\eta^2$  parcial=0,34;  $\beta=0,99$ ). **(B)** Inventario de Ansiedad de Beck. El genotipo ( $F_{(3,55)}=4,47$ ;  $p$ -valor $<0,01$ ;  $\eta^2$  parcial=0,17;  $\beta=0,86$ ), junto con el incremento en los niveles de BDNF ( $F_{(1,55)}=18,47$ ;  $p$ -valor $<0,001$ ;  $\eta^2$  parcial=0,22;  $\beta=0,99$ ) modulan el 34% de la variabilidad observada en la puntuación de este cuestionario ( $F_{(8,55)}=4,39$ ;  $p$ -valor $<0,001$ ;  $\eta^2$  parcial=0,34;  $\beta=0,99$ ). **(C)** Índice de Bienestar: el incremento en los niveles de BDNF ( $F_{(1,55)}=6,51$ ;  $p$ -valor $<0,05$ ;  $\eta^2$  parcial=0,09;  $\beta=0,71$ ) determina el 25% de la variabilidad observada en la puntuación ( $F_{(8,55)}=2,86$ ;  $p$ -valor $<0,01$ ;  $\eta^2$  parcial=0,25;  $\beta=0,92$ ).



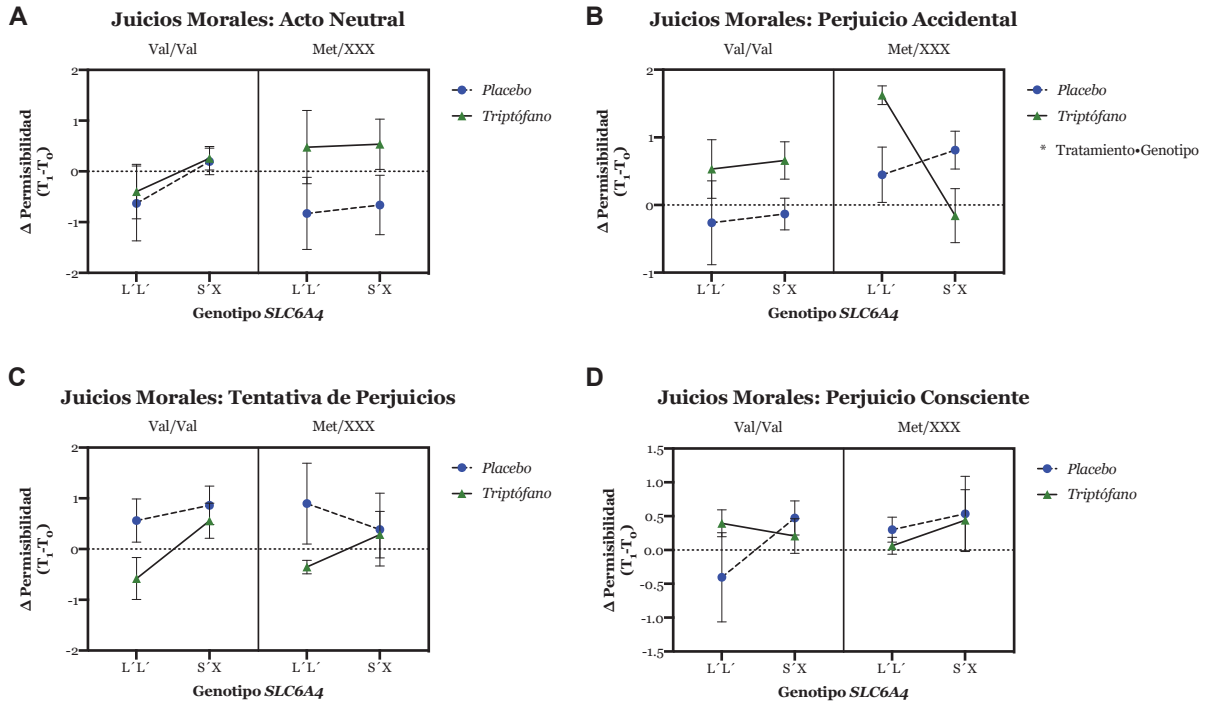
**Figura 12. Escala de Respuestas Rumiativas:** el genotipo ( $F_{(3,55)}=9,38$ ;  $p$ -valor $<0,001$ ;  $\eta^2$  parcial=0,30;  $\beta=1,00$ ) y la interacción genotipo-tratamiento ( $F_{(3,55)}=6,43$ ;  $p$ -valor $<0,01$ ;  $\eta^2$  parcial=0,23;  $\beta=0,96$ ), así como el incremento de los niveles de BDNF ( $F_{(1,55)}=31,09$ ;  $p$ -valor $<0,001$ ;  $\eta^2$  parcial=0,32;  $\beta=1,00$ ) determinan el 54% de la variabilidad observada en la puntuación de este cuestionario ( $F_{(8,55)}=9,51$ ;  $p$ -valor $<0,001$ ;  $\eta^2$  parcial=0,54;  $\beta=1,00$ ).



**Figura 13.** IRI: Índice de Reactividad Interpersonal. **(A)** Subescala Toma de Perspectiva: la interacción tratamiento-genotipo ( $F_{(3,56)}=3,08$ ;  $p$ -valor $<0,05$ ;  $\eta^2$  parcial=0,11;  $\beta=0,70$ ) determina el 18% de la variabilidad observada en la puntuación de este cuestionario ( $F_{(7,56)}=2,32$ ;  $p$ -valor $<0,05$ ;  $\eta^2$  parcial=0,18;  $\beta=0,81$ ). **(B)** Subescala Fantasía: el tratamiento ( $F_{(1,55)}=4,51$ ;  $p$ -valor $<0,05$ ;  $\eta^2$  parcial=0,06;  $\beta=0,55$ ) y el genotipo ( $F_{(3,55)}=3,66$ ;  $p$ -valor $<0,05$ ;  $\eta^2$  parcial=0,14;  $\beta=0,78$ ) determinan el 26% de la variabilidad observada en la puntuación de este cuestionario ( $F_{(8,55)}=2,98$ ;  $p$ -valor $<0,01$ ;  $\eta^2$  parcial=0,26;  $\beta=0,93$ ). **(C)** Subescala Preocupación Empática ( $F_{(7,56)}=0,90$ ,  $p$ -valor=0,51;  $\eta^2$  parcial=0,08;  $\beta=0,36$ ). **(D)** Subescala Malestar Personal ( $F_{(7,56)}=1,36$ ;  $p$ -valor=0,24;  $\eta^2$  parcial=0,12;  $\beta=0,54$ ).



**Figura 14.** Coeficiente de Empatía. ( $F_{(7,56)}=1,97$ ;  $p$ -valor=0,07;  $\eta^2$  parcial=0,16;  $\beta=0,73$ ).



**Figura 15.** Cuestionario de Juicios Morales **(A)** Actos Neutrales ( $F_{(7,56)}=1,43$ ;  $p$ -valor=0,21;  $\eta^2$  parcial=0,12;  $\beta=0,57$ ). **(B)** Perjuicio Accidental: la interacción tratamiento-genotipo ( $F_{(3,55)}=3,25$ ;  $p$ -valor<0,05;  $\eta^2$  parcial=0,13;  $\beta=0,72$ ) determina el 31% de la variabilidad observada en la puntuación de este cuestionario ( $F_{(8,55)}=3,70$ ;  $p$ -valor<0,05;  $\eta^2$  parcial=0,31;  $\beta=0,98$ ). **(C)** Tentativa de Perjuicios ( $F_{(7,56)}=1,07$ ;  $p$ -valor=0,39;  $\eta^2$  parcial=0,10;  $\beta=0,43$ ). **(D)** Perjuicios Conscientes ( $F_{(7,56)}=1,24$ ;  $p$ -valor=0,29;  $\eta^2$  parcial=0,11;  $\beta=0,50$ ).

## 4. Results ...

---





## 4.1. DIETARY ASSESSMENT

### 4.1.1. Dietary Pattern analysis

Table 1 presents the mean HEI score and the proportion of subjects in each HEI category (good, needs improvement, poor), stratified by age, followed treatment, and triallelic approach (5-HTTLPR and rs25531 polymorphisms) of the *SLC6A4* gene. The ANOVA model explained 22% of the total variability observed in the score ( $F_{(11,246)}=6.75$ ,  $p\text{-value}<0.001$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.22$ ,  $\beta=1.00$ ). The mean HEI score of the sample was  $69.3\pm 15.9$  points. Thus, older adults had better dietary patterns than did the younger adults ( $73.7\pm 13.7$  vs.  $63.3\pm 16.1$ ;  $F_{(1,246)}=39.78$ ,  $p\text{-value}<0.001$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.13$ ,  $\beta=1.00$ ). Regarding the *SLC6A4* gene, subjects with the L'S' genotype had higher HEI scores than did the S'S' subjects ( $72.9\pm 14.6$  vs.  $64.0\pm 16.2$ ;  $F_{(2,246)}=10.65$ ,  $p\text{-value}<0.001$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.07$ ,  $\beta=0.99$ ).

**Table 1.** Healthy Eating Index (HEI) score (mean with SD), and proportion of subjects from the iCASE project in each HEI category (Good:  $\geq 80$ ; Needs Improvement (NI): 51-79; Poor:  $\leq 50$ ), classified by age group, experimental group, and 5-HTTLPR/rs25531 polymorphisms genotype from the *SLC6A4* gene. \*\*\*  $p\text{-value}<0.001$ .

	N	HEI		HEI categories (%)		
		Mean	SD	Good	NI	Poor
<b>Total</b>	279	69.6	15.7	33	50	17
<b>Age ***</b>						
18-30	119	63.3	16.1	22	48	30
50-75	160	74.3	13.7	41	51	8
<b>Treatment</b>						
Placebo	134	68.2	16.5	28	52	20
Tryptophan	145	70.9	14.9	37	48	15
<b><i>SLC6A4</i>***</b>						
L'L'	67	68.7	16.2	30	48	22
L'S'	134	72.9	14.6	40	51	9
S'S'	78	64.8	15.9	23	50	27

#### 4.1.2. Quality of the diet

Table 2 shows the energy intake, macronutrient and lipid ratios, and the levels of vitamins and minerals, especially those that protect against cognitive decline.

Regarding energy intake, there were no significant differences in total energy values when considering the participants' age ( $F_{(1,211)}=1.60$ ,  $p\text{-value}=0.21$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.01$ ,  $\beta=0.24$ ) or 5-HTTLPR and rs25531 polymorphisms ( $F_{(2,211)}=2.87$ ,  $p\text{-value}=0.06$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.02$ ,  $\beta=0.56$ ) as fixed factors.

On the contrary, in relation to the macronutrient ratio, both the carbohydrate percentage ( $F_{(1,211)}=57.12$ ,  $p\text{-value}<0.001$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.17$ ,  $\beta=1.00$ ) and protein percentage ( $F_{(1,211)}=76.19$ ,  $p\text{-value}<0.001$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.22$ ,  $\beta=1.00$ ) differed according to the age of the participants. In addition, in the younger subjects, the percentage of carbohydrates was higher than that in the older individuals ( $42\pm 7\%$  vs.  $40\pm 7\%$ ). Moreover, the younger individuals had higher values of protein than did the older adults ( $20\pm 4\%$  vs.  $16\pm 3\%$ ). Nevertheless, there was no statistical difference in the total lipid percentage regarding to the age of the participants ( $F_{(1,211)}=0.11$ ,  $p\text{-value}=0.74$ ,  $\text{partial } \eta^2<0.01$ ,  $\beta=0.06$ ) or the genotype ( $F_{(2,211)}=1.07$ ,  $p\text{-value}=0.34$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.01$ ,  $\beta=0.24$ ).

Despite the absence of differences in the total amount of lipids, the lipid ratio showed that SFA levels differed between the younger and older adults ( $F_{(1,211)}=6.33$ ,  $p\text{-value}<0.05$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.02$ ,  $\beta=0.71$ ), with the former having a higher SFA intake than did the latter ( $13\pm 3\%$  vs.  $10\pm 3\%$ ). Conversely, regarding unsaturated fatty acids (MUFA and PUFA), no statistical differences were found when the participants' age (MUFA:  $F_{(1,211)}=0.69$ ,  $p\text{-value}=0.41$ ,  $\text{partial } \eta^2<0.01$ ,  $\beta=0.13$ ; PUFA:  $F_{(1,211)}=2.99$ ,  $p\text{-value}=0.08$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.01$ ,  $\beta=0.41$ ) and 5-HTTLPR/rs25531 polymorphisms (MUFA:  $F_{(2,211)}=0.31$ ,  $p\text{-value}=0.73$ ,  $\text{partial } \eta^2<0.01$ ,  $\beta=0.10$ ; PUFA:  $F_{(2,211)}=2.57$ ,  $p\text{-value}=0.08$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.02$ ,  $\beta=0.51$ ) were considered as fixed factors.

Vitamin intake was also studied. In terms of the vitamin B<sub>6</sub> levels, there were significant differences between the age groups ( $F_{(1,211)}=8.00$ ,  $p\text{-value}<0.01$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.03$ ,  $\beta=0.81$ ). Specifically, the younger subjects generally had higher vitamin levels than did the older ones ( $2.2\pm 0.8$  mg vs.  $2.1\pm 0.5$  mg). About the folic acid or vitamin B<sub>9</sub> levels, there was a significant difference between the subjects regarding the genotype ( $F_{(2,211)}=5.10$ ,  $p\text{-value}<0.01$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.04$ ,  $\beta=0.82$ ). In this case, the L'L' subjects ( $2.1\pm 0.5$  mg) had a higher intake than did the S'S' subjects ( $2.0\pm 0.7$  mg). In terms of the vitamin E levels, statistical differences were observed when the subjects were classified

by age ( $F_{(1,211)}=53.86$ ,  $p\text{-value}<0.001$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.16$ ,  $\beta=1.00$ ) and *SLC6A4* polymorphisms ( $F_{(2,211)}=5.27$ ,  $p\text{-value}<0.01$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.04$ ,  $\beta=0.83$ ). Thus, the older subjects had higher vitamin E intakes than did the younger volunteers ( $10.3\pm 4.3$   $\mu\text{g}$  vs.  $7.0\pm 3.1$   $\mu\text{g}$ ). Meanwhile, participants with at least one L' allele had higher values (L'L':  $9.9\pm 5.6$   $\mu\text{g}$ , L'S':  $9.0\pm 3.6$   $\mu\text{g}$ ) compared with those with S'S' genotype ( $7.9\pm 3.4$   $\mu\text{g}$ ). By contrast, when the subjects were classified by age or *SLC6A4* genotype, no significant differences were found in vitamin B12 level (age:  $F_{(1,211)}=0.02$ ,  $p\text{-value}=0.89$ ,  $\text{partial } \eta^2<0.01$ ,  $\beta=0.05$ ; genotype:  $F_{(2,211)}=1.82$ ,  $p\text{-value}=0.16$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.01$ ,  $\beta=0.38$ ), vitamin C level (age:  $F_{(1,211)}=2.04$ ,  $p\text{-value}=0.15$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.01$ ,  $\beta=0.30$ ; genotype:  $F_{(2,211)}=0.13$ ,  $p\text{-value}=0.88$ ,  $\text{partial } \eta^2<0.01$ ,  $\beta=0.07$ ), and vitamin A level (age:  $F_{(1,211)}=0.20$ ,  $p\text{-value}=0.65$ ,  $\text{partial } \eta^2<0.01$ ,  $\beta=0.07$ ; genotype:  $F_{(2,211)}=0.73$ ,  $p\text{-value}=0.48$ ,  $\text{partial } \eta^2<0.01$ ,  $\beta=0.17$ ).

Finally, selenium, zinc, and magnesium levels were analyzed because they are closely related to cognitive decline. Selenium levels did not differ between the participants regarding age ( $F_{(1,211)}=1.46$ ,  $p\text{-value}=0.23$ ,  $\text{partial } \eta^2<0.01$ ,  $\beta=0.23$ ) or the genotype of the *SLC6A4* polymorphisms ( $F_{(2,211)}=2.42$ ,  $p\text{-value}=0.09$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.02$ ,  $\beta=0.49$ ). Conversely, zinc levels differed when the subjects were classified according to the 5-HTTLPR and rs25531 polymorphism genotype ( $F_{(2,211)}=3.77$ ,  $p\text{-value}<0.05$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.03$ ,  $\beta=0.68$ ). Subjects with L'L' genotype ( $9.5\pm 2.3$  mg) had an overall higher zinc intake in their diets than did subjects with only one L' allele ( $8.7\pm 2.1$  mg). Meanwhile, magnesium levels only differed between subjects considering the different age groups ( $F_{(1,211)}=6.06$ ,  $p\text{-value}<0.05$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.02$ ,  $\beta=0.69$ ). The older adults had an overall higher magnesium intake than did the younger adults ( $313.2\pm 78.6$  mg vs.  $270.0\pm 101.8$  mg).

**Table 2.** Energy and nutrient intakes from the iCASE project subjects, according to the age and SLC6A4 genotype of participants. Values are expressed as mean and Standard Deviation (SD). <sup>a</sup>: p-value<0.05 based on the age. <sup>b</sup>: p-value<0.05 based on the genotype. Two-way ANCOVA. HEI was used as covariate.

	<i>AGE GROUP</i>		<i>SLC6A4 GENOTYPE</i>		
	<i>Young adults</i>	<i>Older adults</i>	<i>L'L'</i>	<i>L'S'</i>	<i>S'S'</i>
<i>Energy (Kcal)</i>	1845±516	1862±405	1960±554	1815±303	1835±435
<b>MACRONUTRIENTS (Energy %)</b>					
<i>Carbohydrate(%)<sup>a</sup></i>	42±7	40±7	39±8	42±6	39±7
<i>Protein (%)<sup>a</sup></i>	20±4	16±3	18±5	17±4	17±4
<i>Fat (%)</i>	36±7	32±7	35±9	32±6	35±6
<i>SFA (%)<sup>a</sup></i>	13±3	10±3	12±4	11±3	12±3
<i>MUFA (%)</i>	15±4	13±3	14±4	14±3	15±3
<i>PUFA (%)</i>	5±1	5±2	5±2	5±2	5±1
<b>VITAMINS</b>					
<i>Vit. B<sub>6</sub> (mg)<sup>a</sup></i>	2.2±0.8 <sup>a</sup>	2.1±0.5 <sup>a</sup>	2.1±0.5	2.2±0.7	2.0±0.7
<i>Vit. B<sub>9</sub> (mg)<sup>b</sup></i>	268.1±129.7	322.2±93.6	320.3±90.7 <sup>b</sup>	315.1±124.5	256.1±99.1 <sup>b</sup>
<i>Vit. B<sub>12</sub> (µg)</i>	6.9±4.3	6.4±4.9	7.4±4.2	6.3±3.7	6.6±6.1
<i>Vit. C (mg)</i>	118.1±96.5	175.7±85.9	148.2±79.1	168.2±96.3	126.3±99.1
<i>Vit. A (µg)</i>	994.4±926.0	1203.9±1303.6	1227.8±1142.4	1095.4±1067.7	1055.9±1325.5
<i>Vit. E (µg)<sup>a,b</sup></i>	7.0±3.1 <sup>a</sup>	10.3±4.3 <sup>a</sup>	9.9±5.6 <sup>b</sup>	9.0±3.6 <sup>b</sup>	7.9±3.4 <sup>b</sup>
<b>MINERALS</b>					
<i>Selenium (µg)</i>	104.3±39.8	105.4±28.6	110.5±41.8	102.8±28.8	103.3±33.7
<i>Zinc (mg)<sup>b</sup></i>	9.1±2.3	8.9±2.1	9.5±2.3 <sup>b</sup>	8.7±2.1 <sup>b</sup>	8.9±2.1
<i>Magnesium (mg)<sup>a</sup></i>	270.0±101.8	313.2±78.6	314.5±89.5	299.0±94.1	272.2±84.8

## 4.2. INFLUENCE OF 5-HTTLPR AND RS25531 POLYMORPHISMS (*SLC6A4*) ON THE SEROTONIN REUPTAKE

### 4.2.1. Allelic and genotypic frequencies of the *SLC6A4* gene

The different frequencies were analyzed by classifying the individuals based on the triallelic approach from the *SLC6A4*, using both the 5-HTTLPR polymorphism and the SNP rs25531. Therefore, on the basis of the gene expression, the  $L_G$  and  $S$  alleles were reclassified as  $S'$ , while the  $L_A$  allele was renamed as  $L'$ .

The genotypic frequencies (Table 3) from the young population were in agreement with those expected by the Hardy–Weinberg equilibrium ( $\chi^2_{(1, 91)}=0.01$ ,  $p$ -value>0.05). The genotypic frequencies were 24.2% for the  $L'L'$  genotype, 49.5% for  $L'S'$ , and 26.4% for  $S'S'$ . The allelic frequencies were 0.49 for the  $L'$  allele and 0.51 for  $S'$ .

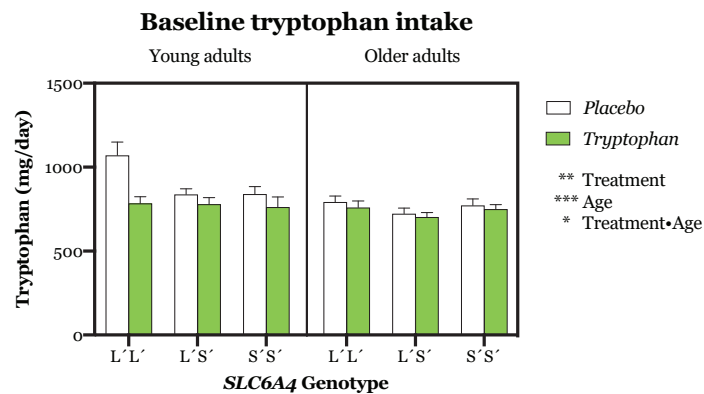
Likewise, the genotypic frequencies (Table 3) from the older population agreed with those expected by the Hardy–Weinberg equilibrium ( $\chi^2_{(1,127)}=0.18$ ,  $p$ -value>0.05). The genotypic frequencies for this group were 23.6% for the  $L'L'$  genotype, 48.0% for  $L'S'$ , and 28.3% for  $S'S'$ . The allelic frequencies were 0.48 for the  $L'$  allele and 0.52 for  $S'$ .

**Table 3.** Allelic and genotypic frequencies for the triallelic approach of the *SLC6A4* gene (based on 5-HTTLPR and rs25531 polymorphisms), related to age of participants.

<i>5-HTTLPR &amp; rs25531 (SLC6A4)</i>							
	$N_0$	$L'/L' (n)$	$L'/S' (n)$	$S'/S' (n)$	$L'$	$S'$	$\chi^2$
<i>Younger adults</i>	91	24.2% (22)	49.5% (45)	26.4% (24)	0.49	0.51	0.01
<i>Older adults</i>	127	23.6% (30)	48.0% (61)	28.3% (36)	0.48	0.52	0.18

#### 4.2.2. Tryptophan intake

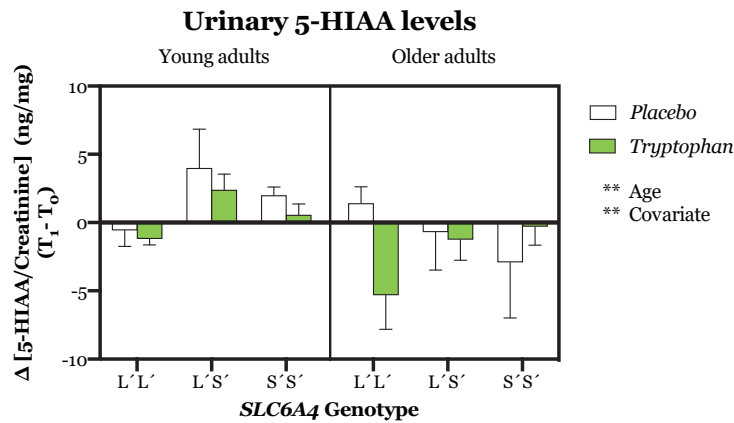
Figure 1 shows a 17% variability in the habitual tryptophan intake of the participants ( $F_{(11,206)}=5.00$ ,  $p\text{-value}<0.001$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.17$ ,  $\beta=1.00$ ). This variability is explained by the treatment type they were going to follow during the study ( $F_{(1,206)}=12.31$ ,  $p\text{-value}<0.01$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.04$ ,  $\beta=0.94$ ), the age of the participants ( $F_{(1,206)}=16.25$ ,  $p\text{-value}<0.001$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.06$ ,  $\beta=0.98$ ), and the interaction between the treatment type and participant age ( $F_{(1,206)}=5.87$ ,  $p\text{-value}<0.05$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.02$ ,  $\beta=0.68$ ). In particular, the subjects from the placebo group had higher tryptophan levels prior to the start of the trial; specifically, the younger subjects had higher tryptophan intakes.



**Figure 1.** Average tryptophan intake (Mean  $\pm$  SEM), regarding to the experimental group, age and 5-HTTLPR/rs25531 genotype. Treatment type ( $F_{(1,206)}=12.31$ ,  $p\text{-value}<0.01$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.04$ ,  $\beta=0.94$ ), age ( $F_{(1,206)}=16.25$ ,  $p\text{-value}<0.001$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.06$ ,  $\beta=0.98$ ), and interaction between treatment-age ( $F_{(1,206)}=5.87$ ,  $p\text{-value}<0.05$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.02$ ,  $\beta=0.68$ ), explained 17% of the variability observed ( $F_{(11,206)}=5.00$ ,  $p\text{-value}<0.001$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.17$ ,  $\beta=1.00$ ). Three-way ANOVA. \* $p\text{-value}<0.05$ , \*\* $p\text{-value}<0.01$ , \*\*\* $p\text{-value}<0.001$ .

#### 4.2.3. Excretion of serotonin urinary metabolite

Figure 2 shows the difference observed in 5-HIAA levels during the trial, expressed as 5-HIAA( $\mu\text{g}$ )/creatinine (mg). The ANCOVA model that used age, treatment type, and SLC6A4 genotype as factors and baseline tryptophan levels as a covariate explained 10% of the observed variability in 5-HIAA levels ( $F_{(12,205)} = 2.18$ ,  $p\text{-value}<0.05$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.10$ ,  $\beta=0.94$ ). The main effect was produced by the age of the participants ( $F_{(1,205)}=8.33$ ,  $p\text{-value}<0.01$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.04$ ,  $\beta=0.82$ ). Moreover, the older adults generally had a higher increase in 5-HIAA levels than did the younger adults during the experiment, while the treatment type or the serotonin transporter gene genotypes did not show any significant difference.



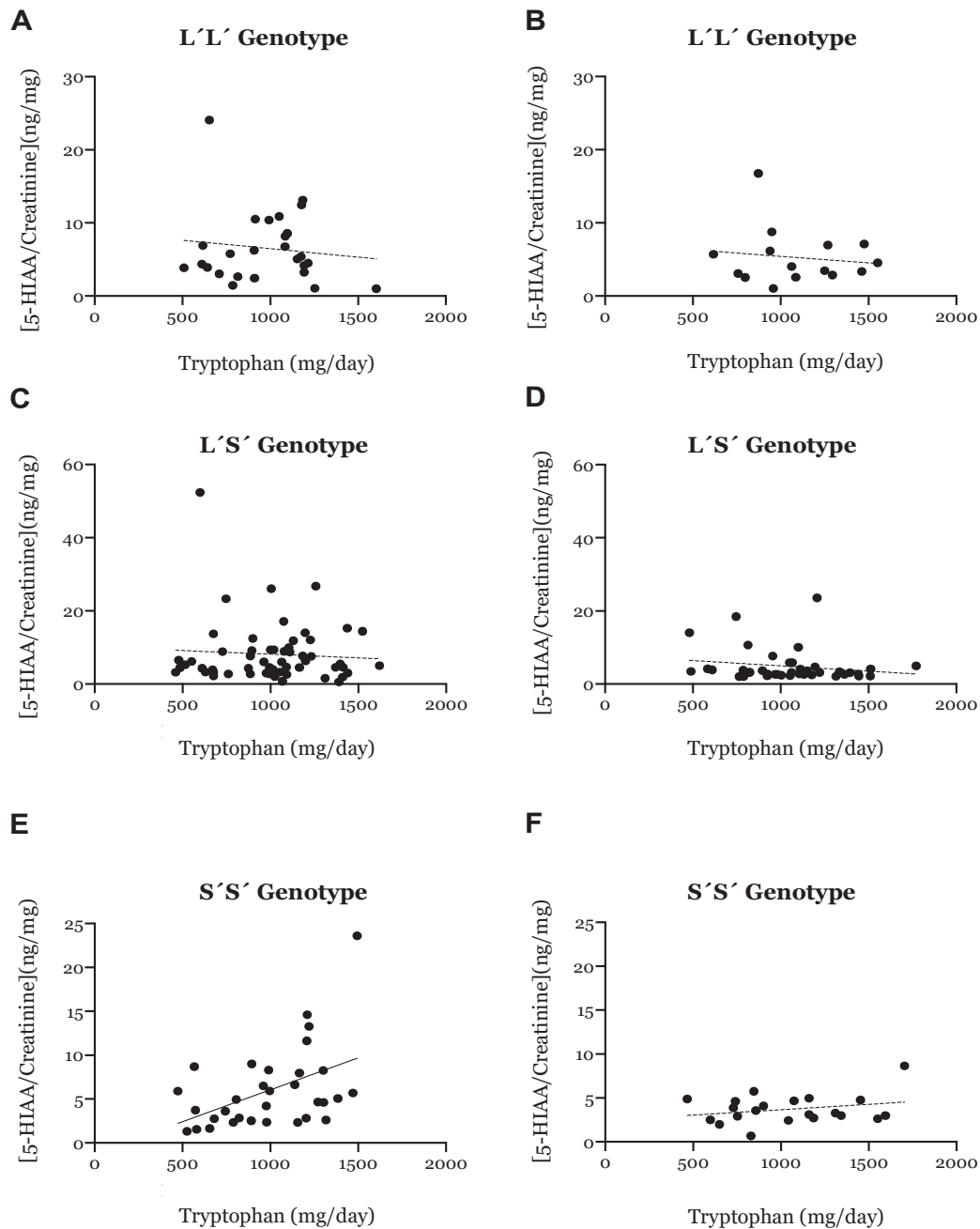
**Figure 2.** Average 5-HIAA( $\mu\text{g}$ )/creatinine(mg) excretion increase (Mean $\pm$  SEM) during the trial, regarding to the experimental group, age and 5-HTTLPR/rs25531 genotype. Age ( $F_{(1,205)} = 8.33$ ,  $p\text{-value} < 0.01$ , partial  $\eta^2 = 0.04$ ,  $\beta = 0.82$ ) explained 10% of the observed variability ( $F_{(12,205)} = 2.18$ ,  $p\text{-value} < 0.05$ , partial  $\eta^2 = 0.10$ ,  $\beta = 0.94$ ). Three way ANCOVA. \* $p\text{-value} < 0.05$ , \*\* $p\text{-value} < 0.01$ .

#### 4.2.4. Interaction between tryptophan intake and 5-HIAA excretion

Figure 3 shows the interaction between baseline tryptophan intake levels and the 5-HT urinary metabolite excretion levels, classified by *SLC6A4* genotypes. As shown by Figure 3A, in older subjects with the L'L' genotype, there was no relationship between both variables ( $p\text{-value} = 0.82$ ;  $R = -0.04$ ). Likewise, in younger subjects with the same genotype (Figure 3B), there was no relation between the amino acid intake and the metabolite excretion ( $p\text{-value} = 0.92$ ;  $R = 0.03$ ).

Participants with the L'S' genotype followed the same tendency. In both the older (Figure 3C;  $p\text{-value} = 0.65$ ;  $R = 0.06$ ) and younger adults (Figure 3D;  $p\text{-value} = 0.25$ ;  $R = -0.18$ ), there was no link between tryptophan intake and 5-HIAA excretion.

On the contrary, as Figure 3E shows, there is a positive correlation between baseline tryptophan levels and the release of 5-HIAA. Therefore, in the older adults with the S'S' genotype, with an increase in tryptophan intake, the serotonin urinary metabolite release also increased ( $p\text{-value} = 0.02$ ;  $R = 0.44$ ). Nevertheless, in the younger subjects with the same genotype, no such correlation was observed ( $p\text{-value} = 0.51$ ;  $R = 0.15$ ).



**Figure 3.** Baseline 5-HIAA and tryptophan intake levels, regarding to the triallelic approach of the SLC6A4 gene. (A) Response of older adults with L'L' genotype: p-value=0.82; R=-0.04. (B) Response of young adults with L'L' genotype: p-value=0.92; R=0.03. (C) Response of older adults with L'S' genotype: p-value=0.65; R=0.06. (D) Response of young adults with L'S' genotype: p-value=0.25; R=-0.18. (E) Response of older adults with S'S' genotype: p-value=0.02; R=0.44. (F) Response of young adults with S'S' genotype: p-value=0.51; R=0.15.



### 4.3. EVALUATION OF TRYPTOPHAN EFFECTS ON TENDENCY TOWARDS DEPRESSION AND SOCIAL COGNITION

#### 4.3.1. Tryptophan as a modulator of the tendency towards depression

Regarding the **BDI-II** (Figure 4A), 14% of the total variability observed in the score ( $F_{(11,206)}=3.55$ ,  $p\text{-value}<0.001$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.14$ ,  $\beta=1.00$ ) was explained by the treatment ( $F_{(1,206)}=15.14$ ,  $p\text{-value}<0.001$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.06$ ,  $\beta=0.97$ ) and the genotype of the participants ( $F_{(2,206)}=4.78$ ,  $p\text{-value}<0.01$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.04$ ,  $\beta=0.79$ ). The TRP treatment was more effective than the placebo treatment, and participants with the S'S' genotype showed a better response than did the L' carriers (both L'L' and L'S').

About the **BAI** (Figure 4B), 17% of the total variability observed in the score ( $F_{(11,206)}=4.81$   $p\text{-value}<0.001$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.17$ ,  $\beta=1.00$ ) was explained by the treatment type, age of the participants, and the interaction between age and treatment type. Particularly, the response to the TRP treatment was more effective compared with those of the subjects from the placebo group ( $F_{(1,206)}=19.58$ ,  $p\text{-value}<0.001$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.07$ ,  $\beta=0.99$ ). Moreover, the young adults had a better response during the trial than did the older ones ( $F_{(1,206)}=5.43$ ,  $p\text{-value}<0.05$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.02$ ,  $\beta=0.64$ ). An analysis of the interaction between both factors revealed that, in the younger adults, the TRP treatment was more effective than the placebo treatment, while younger subjects taking the TRP treatment had a greater response than did the older ones taking the same supplement ( $F_{(1,206)}=13.08$ ,  $p\text{-value}<0.001$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.05$ ,  $\beta=0.95$ ).

Regarding the **WHO (Five) Well-Being Index** score, three-way ANOVA showed that 8% of the total variability observed in the score ( $F_{(11,206)}=2.03$ ,  $p\text{-value}<0.05$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.08$ ,  $\beta=0.91$ ) was explained by the treatment type. Subjects taking the TRP supplement obtained the greatest improvement again ( $F_{(1,206)}=10.16$ ,  $p\text{-value}<0.01$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.04$ ,  $\beta=0.89$ ).

The **RRS** was also analyzed to measure the tendency to experience depression (Figure 5). Seventeen percent of the total variability of the score ( $F_{(11,206)}=4.81$ ,  $p\text{-value}<0.001$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.17$ ,  $\beta=1.00$ ) was explained by the type of treatment, the age of the participants, the interaction between treatment type and participant age, the interaction between *SLC6A4* genotype and age, and the interaction between all factors (treatment, *SLC6A4* genotype, age). Participants who followed the TRP treatment ( $F_{(1,206)}=13.56$ ,  $p\text{-value}<0.001$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.05$ ,  $\beta=0.96$ ) had a better response than did those from the placebo group. Furthermore, the age of the participants was an essential factor; the response was

more effective in the young subjects ( $F_{(1,206)}=6.98$ ,  $p\text{-value}<0.01$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.03$ ,  $\beta=0.75$ ). Regarding the interaction between both factors, young participants who took the TRP supplement had a more effective response to the treatment than did older individuals from the same group ( $F_{(1,206)}=7.77$ ,  $p\text{-value}<0.01$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.03$ ,  $\beta=0.91$ ). In participants with the L'L' genotype, those from the older group had a higher rumination style than did the participants from the young group. Furthermore, in older individuals with the L' allele, heterozygotic subjects (L'S') had a greater outcome ( $F_{(2,206)}=6.61$ ,  $p\text{-value}<0.01$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.05$ ,  $\beta=0.91$ ). Finally, findings showed that the treatment factor interacted with age and the genotype ( $F_{(2,206)}=6.23$ ,  $p\text{-value}<0.01$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.05$ ,  $\beta=0.89$ ). As in the previous case, the outcome was better in young subjects with at least one L' allele. However, after the TRP-treatment, outcome is different depending on the interaction with age and genotype. Thus, among the young participants, L'L' subjects had a greater outcome than did S'S' subjects. Older participants showed the opposite effect; S'S' subjects obtained the greatest outcome after the TRP treatment.

#### 4.3.2. Tryptophan as modulator of social cognition

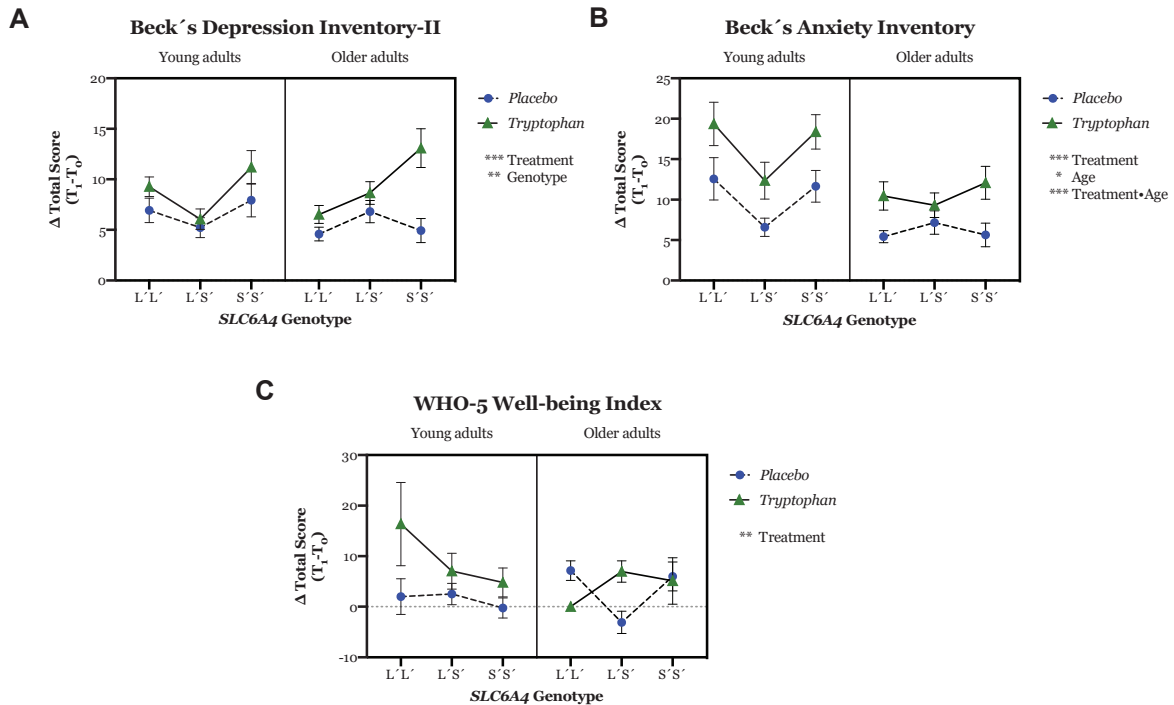
Social cognition was evaluated by means of the Empathy Quotient, IRI, and Moral Judgment Task at the beginning and at the end of the experiment. These results are explained below.

First of all, the **IRI** scores were analyzed (Figure 6). In the *Perspective Taking subscale* (Figure 6A), the three-way ANOVA explained 10% of the total variability observed in the score ( $F_{(11,206)}=2.46$ ,  $p\text{-value}<0.01$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.10$ ,  $\beta=0.96$ ). Participant age was responsible for this difference. Young adults had greater skills to understand each other or respect each other's viewpoints ( $F_{(1,206)}=6.08$ ,  $p\text{-value}<0.05$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.02$ ,  $\beta=0.69$ ). Regarding the *Fantasy subscale* (Figure 6.B), the three-way ANOVA model explained 11% of the observed variability ( $F_{(11,206)}=2.82$ ,  $p\text{-value}<0.01$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.11$ ,  $\beta=0.98$ ). In particular, there was an interaction between the used treatment and the genotype of the participants ( $F_{(2,206)}=7.16$ ,  $p\text{-value}<0.01$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.05$ ,  $\beta=0.93$ ). Subjects with the L'L' genotype from the tryptophan-treated group showed a greater response compared with those who took the placebo treatment. Nevertheless, there were differences between participants with at least one L' allele. In the placebo group, L'S' volunteers showed a greater response than did the L'L' subjects. Meanwhile, in the tryptophan group, the opposite tendency was observed; individuals with the L'L' genotype yielded the greatest response. Additionally, an interaction was observed between the age of the participants and the genotype ( $F_{(2,206)}=4.70$ ,  $p\text{-value}<0.05$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.05$ ,  $\beta=0.89$ ).

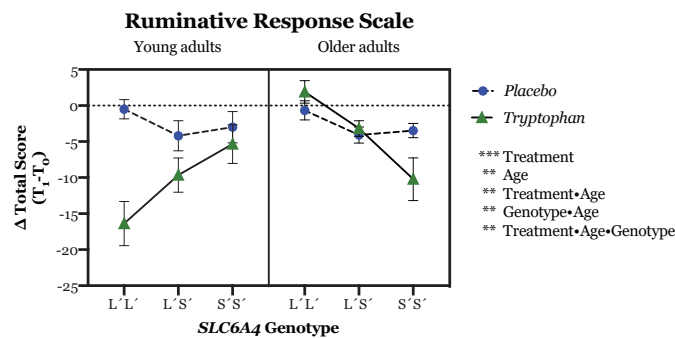
$\eta^2=0.04$ ,  $\beta=0.79$ ). Among participants with the L'L' genotype, older volunteers showed a higher increase in the fantasy score than did the younger ones, regardless of the followed treatment. Meanwhile, among the older adults, those with the L'S' genotype had a greater response than did those with the L'L' genotype. By contrast, no significant differences were observed when considering age, genotype, and treatment type as the main factors in the *Emphatic Concern* subscale (Figure 6.C;  $F_{(11,206)}=1.56$ ,  $p\text{-value}=0.11$ , *partial*  $\eta^2=0.07$ ,  $\beta=0.82$ ) or the *Personal Distress* subscale (Figure 6.D;  $F_{(11,206)}=0.79$ ,  $p\text{-value}=0.65$ , *partial*  $\eta^2=0.03$ ,  $\beta=0.44$ ).

In the three-way ANOVA model for the **Empathy Quotient** (Figure 7), there were no significant differences when using age, treatment type, and *SLC6A4* genotype as the main factors ( $F_{(11,206)}=1.32$ ,  $p\text{-value}=0.22$ , *partial*  $\eta^2=0.05$ ,  $\beta=0.70$ ).

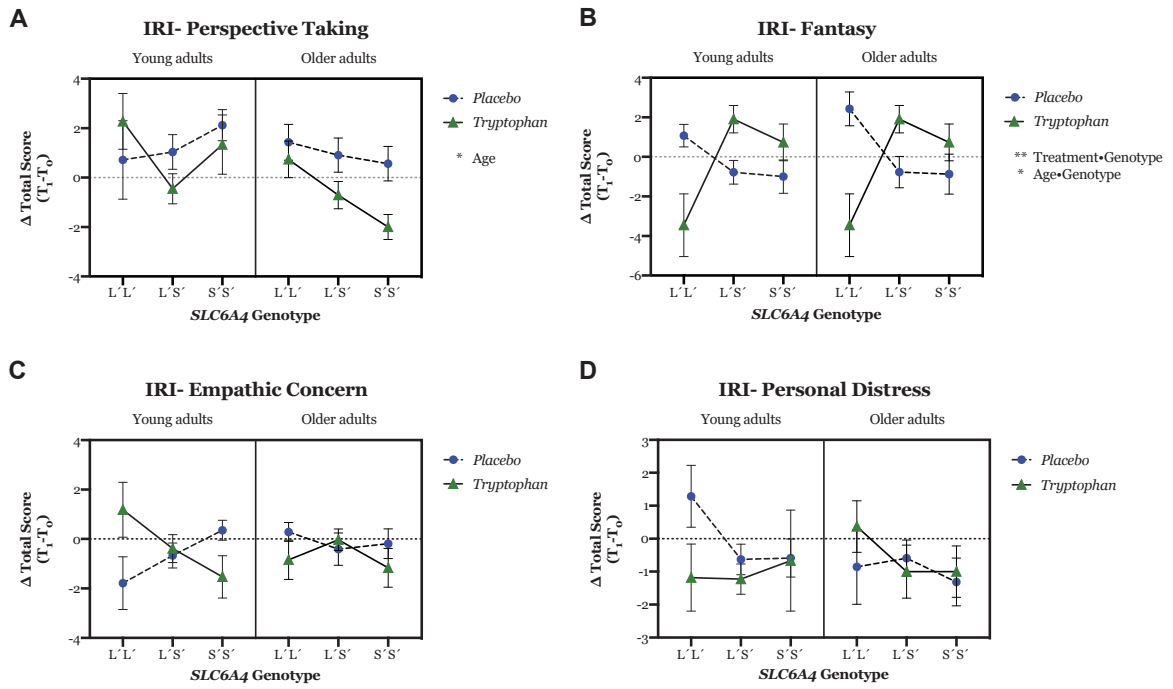
Regarding the **Moral Judgment Task**, in the assessment of the moral permissibility of *Accidental Harms* (Figure 8B), 10% of the total variability of the score ( $F_{(11,206)}=2.54$ ,  $p\text{-value}<0.01$ , *partial*  $\eta^2=0.10$ ,  $\beta=0.96$ ) was explained by the three-way ANOVA model. According to the treatment type, those who took the tryptophan supplement were more permissible than those from the control group ( $F_{(1, 206)}=8.25$ ,  $p\text{-value}<0.01$ , *partial*  $\eta^2=0.03$ ,  $\beta=0.82$ ). Moreover, genetics seemed to modulate the response; participants with the L'L' genotype had a higher permissibility than did the L'S' individuals after the experiment, regardless of the followed treatment ( $F_{(2,206)}=4.17$ ,  $p\text{-value}<0.05$ , *partial*  $\eta^2=0.03$ ,  $\beta=0.73$ ). Moreover, an interaction between the treatment type and age of the participants was observed ( $F_{(1,206)}=4.71$ ,  $p\text{-value}<0.05$ , *partial*  $\eta^2=0.02$ ,  $\beta=0.58$ ). Specifically, in the older adults, tryptophan treatment increased permissibility when accidental harms occurred. Nevertheless, when the participants were evaluated for the permissibility of *Attempted Harms* (Figure 8C), 9% of the total variability of the score ( $F_{(12,205)}=2.12$ ,  $p\text{-value}<0.05$ , *partial*  $\eta^2=0.09$ ,  $\beta=0.94$ ) was explained by the three-way ANCOVA model. Baseline tryptophan levels were included as a covariate ( $F_{(1,205)}=11.54$ ,  $p\text{-value}<0.01$ , *partial*  $\eta^2=0.05$ ,  $\beta=0.92$ ) in the model. Furthermore, there was an interaction between the followed treatment and participant age ( $F_{(1,205)}=6.49$ ,  $p\text{-value}<0.05$ , *partial*  $\eta^2=0.03$ ,  $\beta=0.72$ ). In that case, under normal conditions, with the placebo treatment, young adults were less permissible with this kind of action than were the older subjects. Meanwhile, no significant differences were observed when considering age, genotype, and treatment type as the main factors in the *Neutral Act* stories (Figure 8A;  $F_{(11,206)}=1.34$ ,  $p\text{-value}=0.21$ , *partial*  $\eta^2=0.06$ ,  $\beta=0.71$ ) or in the *Intentional Harm* stories (Figure 8D;  $F_{(11,206)}=1.47$ ,  $p\text{-value}=0.14$ , *partial*  $\eta^2=0.06$ ,  $\beta=0.76$ ).



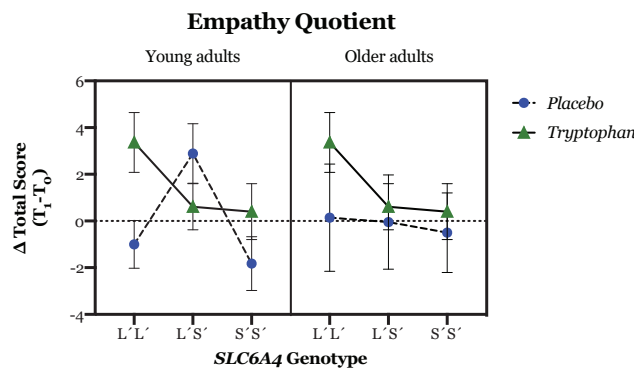
**Figure 4. (A) Beck's Depression Inventory:** treatment ( $F_{(1,206)}=15.14$ ,  $p$ -value<0.001, partial  $\eta^2=0.06$ ,  $\beta=0.97$ ), and genotype ( $F_{(2,206)}=4.78$ ,  $p$ -value<0.01, partial  $\eta^2=0.04$ ,  $\beta=0.79$ ), determined 14% of variability ( $F_{(11,206)}=3.55$ ,  $p$ -value<0.001, partial  $\eta^2=0.14$ ,  $\beta=1.00$ ). **(B) Beck's Anxiety Inventory:** Treatment ( $F_{(1,206)}=19.58$ ,  $p$ -value<0.001, partial  $\eta^2=0.07$ ,  $\beta=0.99$ ), age ( $F_{(1,206)}=5.43$ ,  $p$ -value<0.05, partial  $\eta^2=0.02$ ,  $\beta=0.64$ ), and treatment-age interaction ( $F_{(1,206)}=13.08$ ,  $p$ -value<0.001, partial  $\eta^2=0.05$ ,  $\beta=0.95$ ), determined 17% of variability ( $F_{(11,206)}=4.81$ ,  $p$ -value<0.001, partial  $\eta^2=0.17$ ,  $\beta=1.00$ ). **(C) WHO-5 Well-being Index:** treatment ( $F_{(1,206)}=10.16$ ,  $p$ -value<0.01, partial  $\eta^2=0.04$ ,  $\beta=0.89$ ) determined 8% of variability ( $F_{(11,206)}=2.03$ ,  $p$ -value<0.05, partial  $\eta^2=0.08$ ,  $\beta=0.91$ ).



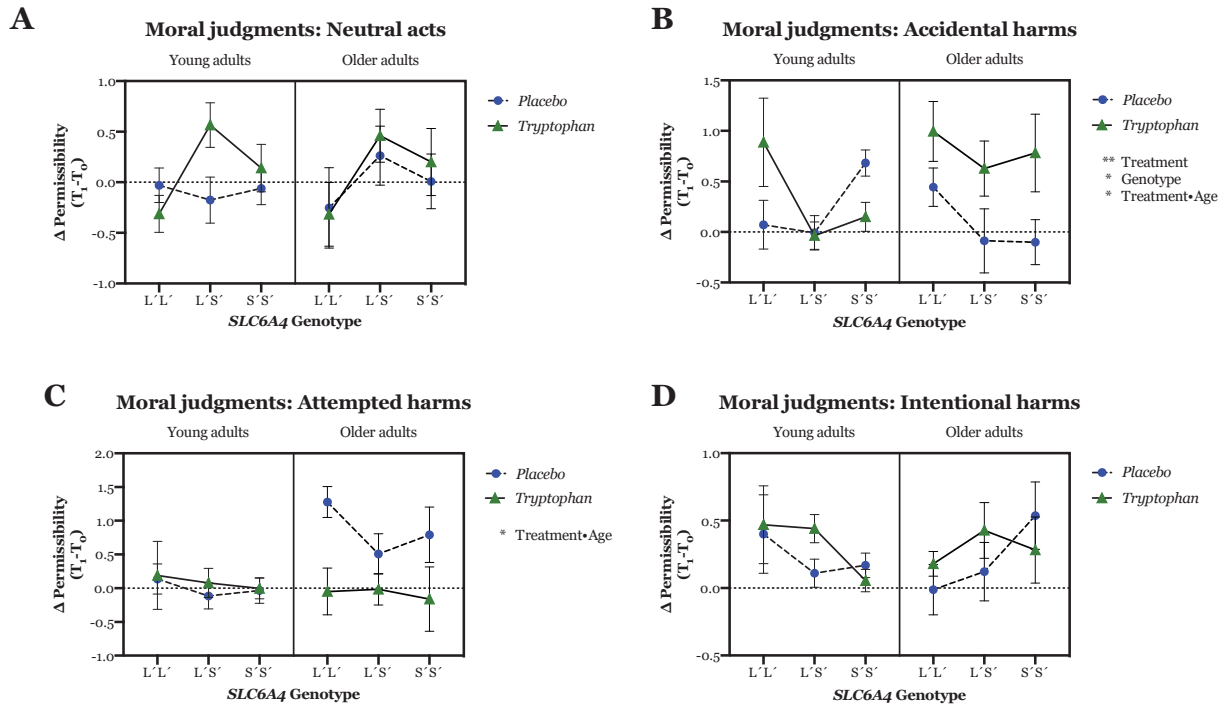
**Figure 5. Ruminative Response Scale:** Treatment ( $F_{(1,206)}=13.56$ ,  $p$ -value<0.001, partial  $\eta^2=0.05$ ,  $\beta=0.96$ ), age ( $F_{(1,206)}=6.98$ ,  $p$ -value<0.01, partial  $\eta^2=0.03$ ,  $\beta=0.75$ ), treatment-age interaction ( $F_{(1,206)}=7.77$ ,  $p$ -value<0.01, partial  $\eta^2=0.03$ ,  $\beta=0.91$ ), genotype-age interaction ( $F_{(2,206)}=6.61$ ,  $p$ -value<0.01, partial  $\eta^2=0.05$ ,  $\beta=0.91$ ), and treatment-age-genotype interaction ( $F_{(2,206)}=6.23$ ,  $p$ -value<0.01, partial  $\eta^2=0.05$ ,  $\beta=0.89$ ), determined 17% of variability ( $F_{(11,206)}=4.81$ ,  $p$ -value<0.001, partial  $\eta^2=0.17$ ,  $\beta=1.00$ ).



**Figure 6.** IRI: Interpersonal Reactivity Index. **(A)** Perspective Taking subscale: Age ( $F_{(1,206)}=6.08$ ,  $p$ -value $<0.05$ , partial  $\eta^2=0.02$ ,  $\beta=0.69$ ) determined 10% of variability ( $F_{(11,206)}=2.46$ ,  $p$ -value $<0.01$ , partial  $\eta^2=0.10$ ,  $\beta=0.96$ ). **(B)** Fantasy subscale: treatment-genotype interaction ( $F_{(2,206)}=7.16$ ,  $p$ -value $<0.01$ , partial  $\eta^2=0.05$ ,  $\beta=0.93$ ), and age-genotype interaction ( $F_{(2,206)}=4.70$ ,  $p$ -value $<0.05$ , partial  $\eta^2=0.04$ ,  $\beta=0.79$ ), determined 11% of variability ( $F_{(11,206)}=2.82$ ,  $p$ -value $<0.01$ , partial  $\eta^2=0.11$ ,  $\beta=0.98$ ). **(C)** Empathic Concern subscale ( $F_{(11,206)}=1.56$ ,  $p$ -value=0.11, partial  $\eta^2=0.07$ ,  $\beta=0.82$ ). **(D)** Personal Distress subscale ( $F_{(11,206)}=0.79$ ,  $p$ -value=0.65, partial  $\eta^2=0.03$ ,  $\beta=0.44$ ).



**Figure 7.** Empathy Quotient ( $F_{(11,206)}=1.32$ ,  $p$ -value=0.22, partial  $\eta^2=0.05$ ,  $\beta=0.70$ ).



**Figure 8.** Moral Judgments task. **(A)** Neutral Act ( $F_{(11,206)}=1.34$ ,  $p$ -value=0.21, partial  $\eta^2=0.06$ ,  $\beta=0.7166$ ). **(B)** Accidental Harms: treatment ( $F_{(1,206)}=8.25$ ,  $p$ -value<0.01, partial  $\eta^2=0.03$ ,  $\beta=0.82$ ), genotype ( $F_{(2,206)}=4.17$ ,  $p$ -value<0.05, partial  $\eta^2=0.03$ ,  $\beta=0.73$ ) and treatment-age interaction ( $F_{(1,206)}=4.71$ ,  $p$ -value<0.05, partial  $\eta^2=0.02$ ,  $\beta=0.58$ ) determined 10% of variability ( $F_{(11,206)}=2.54$ ,  $p$ -value<0.01, partial  $\eta^2=0.10$ ,  $\beta=0.96$ ). **(C)** Attempted Harms: treatment-age interaction ( $F_{(1,205)}=6.49$ ,  $p$ -value<0.05, partial  $\eta^2=0.03$ ,  $\beta=0.72$ ), and baseline tryptophan levels ( $F_{(1,205)}=11.54$ ,  $p$ -value<0.01, partial  $\eta^2=0.05$ ,  $\beta=0.92$ ) determined 9% of variability ( $F_{(12,205)}=2.12$ ,  $p$ -value<0.05, partial  $\eta^2=0.09$ ,  $\beta=0.94$ ). **(D)** Intentional Harms ( $F_{(11,206)}=1.47$ ,  $p$ -value=0.14, partial  $\eta^2=0.06$ ,  $\beta=0.76$ ).

#### 4.4. *SLC6A4* AND *BDNF* AS MODULATORS OF TREATMENT RESPONSE IN OLDER ADULTS

##### 4.4.1. Allelic and genotypic frequencies of *BDNF* and *SLC6A4* polymorphisms

The subjects were classified regarding the Val66Met (rs6265) SNP from the *BDNF* gene, and rs25531 and 5-HTTLPR polymorphisms from the *SLC6A4* gene to measure the genotypic frequencies (Table 4).

In the older adult population, the genotypic frequencies of the rs6265 polymorphism were in agreement with those expected by the Hardy–Weinberg equilibrium ( $\chi^2_{(2,60)}=0.69$ ,  $p\text{-value}>0.05$ ). The genotypic frequencies (Table 4) were as follows: 66.7% (Val/Val genotype), 31.7% (Val/Met genotype), and 1.6% (Met/Met genotype). The allelic frequencies were as follows: 0.83 for the Val allele and 0.17 for the Met allele.

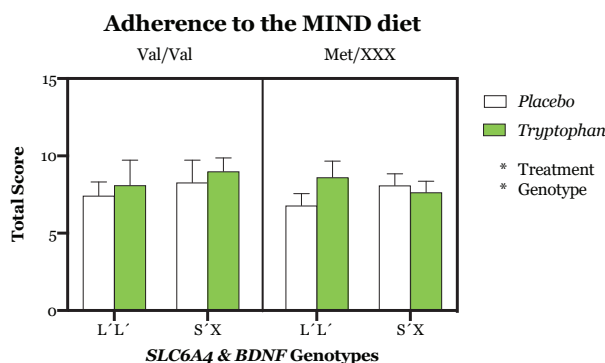
However, the genotypic frequencies of the triallelic approach (5-HTTLPR and rs25531 polymorphisms) from *SLC6A4* were not in agreement with those expected by the Hardy–Weinberg equilibrium ( $\chi^2_{(2,60)}=4.64$ ,  $p\text{-value}<0.05$ ). The genotypic frequencies were as follows: 39.7% (L'L' genotype), 34.9% (L'S' genotype), and 25.4% (S'S' genotype). Meanwhile, the allelic frequencies were as follows: 0.57 for the L' allele and 0.43 for the S' allele.

**Table 4.** Allelic and genotypic frequencies of the 5-HTTLPR/rs25531 and rs6265 polymorphisms, from *SLC6A4* and *BDNF*, respectively.

<i>rs6265 (BDNF)</i>						
<i>N</i> <sub>o</sub>	<i>Val/Val</i> ( <i>n</i> )	<i>Val/Met</i> ( <i>n</i> )	<i>Met/Met</i> ( <i>n</i> )	<i>Val</i>	<i>Met</i>	$\chi^2$
63	66.7%(42)	31.7% (20)	1.6% (1)	0.83	0.17	0.69
<i>5-HTTLPR y rs25531 (SLC6A4)</i>						
<i>N</i> <sub>o</sub>	<i>L'/L'</i> ( <i>n</i> )	<i>L'/S'</i> ( <i>n</i> )	<i>S'/S'</i> ( <i>n</i> )	<i>L'</i>	<i>S'</i>	$\chi^2$
63	39.7% (25)	34.9% (22)	25.4% (16)	0.57	0.43	4.64

#### 4.4.2. MIND diet adherence, influenced by rs6265 and 5-HTTLPR/rs25531 polymorphisms

Figure 9 shows the average MIND diet score. The two-way ANOVA model with treatment type and genotype as fixed factors explained 24% of the obtained variability in the MIND diet score ( $F_{(7,56)}=3.09$ ,  $p\text{-value}<0.01$ , partial  $\eta^2=0.24$ ,  $\beta=0.92$ ). The main effect was produced by the interaction between the analyzed polymorphisms of both genes, *SLC6A4* and *BDNF* ( $F_{(3,56)}=3.05$ ,  $p\text{-value}<0.05$ , partial  $\eta^2=0.11$ ,  $\beta=0.69$ ). Participants with both S' and Met alleles had a greater adherence to the MIND diet compared with those with both Val/Val and L'L' genotypes ( $p\text{-value}<0.05$ ). Moreover, individuals with the S' allele and Val/Val genotype had a greater adherence than did those with the L'L' genotype and Met allele ( $p\text{-value}<0.05$ ). In addition, there were differences between subjects with the S' allele; subjects with the S' allele and Val/Val genotype obtained higher scores ( $p\text{-value}<0.05$ ). However, considering the followed treatment type, those who later received the tryptophan-based treatment had a greater adherence to the MIND diet ( $F_{(1,56)}=6.74$ ,  $p\text{-value}<0.05$ , partial  $\eta^2=0.09$ ,  $\beta=0.73$ ;  $p\text{-value}<0.05$ ).



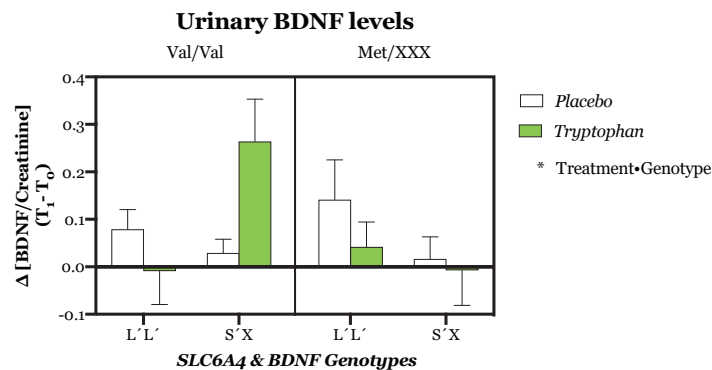
**Figure 9.** The average MIND diet score (mean  $\pm$  SEM). The treatment type ( $F_{(1,56)}=6.74$ ,  $p\text{-value}<0.05$ , partial  $\eta^2=0.09$ ,  $\beta=0.73$ ) and the interaction between rs6265, rs25531 and 5-HTTLPR polymorphisms ( $F_{(3,56)}=3.05$ ,  $p\text{-value}<0.05$ , partial  $\eta^2=0.11$ ,  $\beta=0.69$ ) explained 24% of the observed variability ( $F_{(7,56)}=3.09$ ,  $p\text{-value}<0.01$ , partial  $\eta^2=0.24$ ,  $\beta=0.92$ ).

#### 4.4.3. Excretion of brain derived neurotrophic factor

Figure 10 shows the difference observed in BDNF levels during the trial, expressed as BDNF(pg)/creatinine(mg). The two-way ANOVA model included the treatment type and the genotype as factors, and it explained 18% of the observed variability in urinary BDNF levels ( $F_{(7,56)}=2.27$ ,  $p\text{-value}<0.05$ , partial  $\eta^2=0.18$ ,  $\beta=0.80$ ). In particular, it was explained by the interaction between the treatment type and *BDNF*-



*SLC6A4* genotypes ( $F_{(3,56)}=2.86$ ,  $p\text{-value}<0.05$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.11$ ,  $\beta=0.66$ ). In this case, subjects with at least one S' allele and Val/Val genotype had a greater response ( $p\text{-value}<0.05$ ) when they took the tryptophan treatment ( $0.26\pm 0.37$  pg/mg) instead of the placebo ( $0.03\pm 0.13$  pg/mg). Meanwhile, in the tryptophan group, those with at least one S' allele and Val/Val genotype ( $0.26\pm 0.37$  pg/mg) had a higher BDNF level increase than did those with the L'L' genotype and Val/Val genotype ( $-0.01\pm 0.21$  pg/mg;  $p\text{-value}<0.05$ ) or those with at least one S' allele and another Met allele ( $-0.01\pm 0.23$  pg/mg;  $p\text{-value}<0.05$ ).



**Figure 10.** The average urinary BDNF (pg)/creatinine (mg) increase observed in the trial (expressed as mean  $\pm$  SEM), regarding to the treatment type and *rs6265* with *5-HTTLPR/rs25531* genotypes. Interaction between the followed treatment type and the genotypes ( $F_{(3,56)}=2.86$ ,  $p\text{-value}<0.05$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.11$ ,  $\beta=0.66$ ) explained 18% of the observed variability ( $F_{(7,56)}=2.27$ ,  $p\text{-value}<0.05$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.18$ ,  $\beta=0.80$ ).

#### 4.4.4. Interaction between *SLC6A4* and *BDNF* as key modulator for improvement of depression and social cognition.

Regarding the *BDI-II* (Figure 11A), the two-way ANCOVA model with treatment type and genotype as main factors determined 41% of the variability observed in the score of the questionnaire ( $F_{(8,55)}=5.56$ ,  $p\text{-value}<0.001$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.41$ ,  $\beta=1.00$ ). In particular, significant differences were observed in the score when the subjects were classified according to *BDNF* and *SLC6A4* polymorphism genotypes ( $F_{(3,55)}=2.87$ ,  $p\text{-value}<0.05$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.12$ ,  $\beta=0.66$ ). Val/Val subjects had a different response based on *SLC6A4* genotypes. Individuals with at least one S' allele and Val/Val genotype had a greater response than did those with the L'L' and Val/Val genotypes ( $p\text{-value}<0.01$ ). However, regardless of whether the treatment type was included in the model or not, those differences would only become more evident ( $F_{(3,55)}=3.09$ ,  $p\text{-value}<0.05$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.13$ ,  $\beta=0.70$ ). Subjects with S'X and Val/Val genotypes or L'L' and Met/X genotypes had a greater response regardless of whether they took the tryptophan-enriched

supplement ( $p$ -value<0.05 and  $p$ -value<0.05, respectively). Furthermore, subjects with at least one S' and Met allele or subjects with at least one S' allele and Val/Val genotype had a greater response to the tryptophan treatment than did those with the L'L' and Val/Val genotypes. The increase in urinary BDNF levels modulated this effect by acting as a covariate ( $F_{(1,55)}=19.39$ ,  $p$ -value<0.001, partial  $\eta^2=0.24$ ,  $\beta=0.99$ ).

In **BAI** (Figure 11B), 34% of the total variability observed in the score was explained by the two-way ANCOVA model with treatment type and genotype as factors ( $F_{(8,55)}=4.39$ ,  $p$ -value<0.001, partial  $\eta^2=0.34$ ,  $\beta=0.99$ ). Regarding the genotypes, subjects with both L'L' and Val/Val genotypes were also those with the worst response ( $F_{(3,55)}=4.47$ ,  $p$ -value<0.01, partial  $\eta^2=0.17$ ,  $\beta=0.86$ ;  $p$ -value<0.05). As in the previous case, BDNF levels also acted as a modulator, being the covariate of the model ( $F_{(1,55)}=18.47$ ,  $p$ -value<0.001, partial  $\eta^2=0.22$ ,  $\beta=0.99$ ).

In terms of the **WHO (Five) Well-Being Index** (Figure 11C) score, 8% of the total variability observed was explained by the two-way ANCOVA model including treatment type and genotype as factors ( $F_{(8,55)}=2.86$ ,  $p$ -value<0.01, partial  $\eta^2=0.25$ ,  $\beta=0.92$ ). Nevertheless, those differences appeared to be due to the covariate, the increase in urinary BDNF levels ( $F_{(1,55)}=6.51$ ,  $p$ -value<0.05, partial  $\eta^2=0.09$ ,  $\beta=0.71$ ).

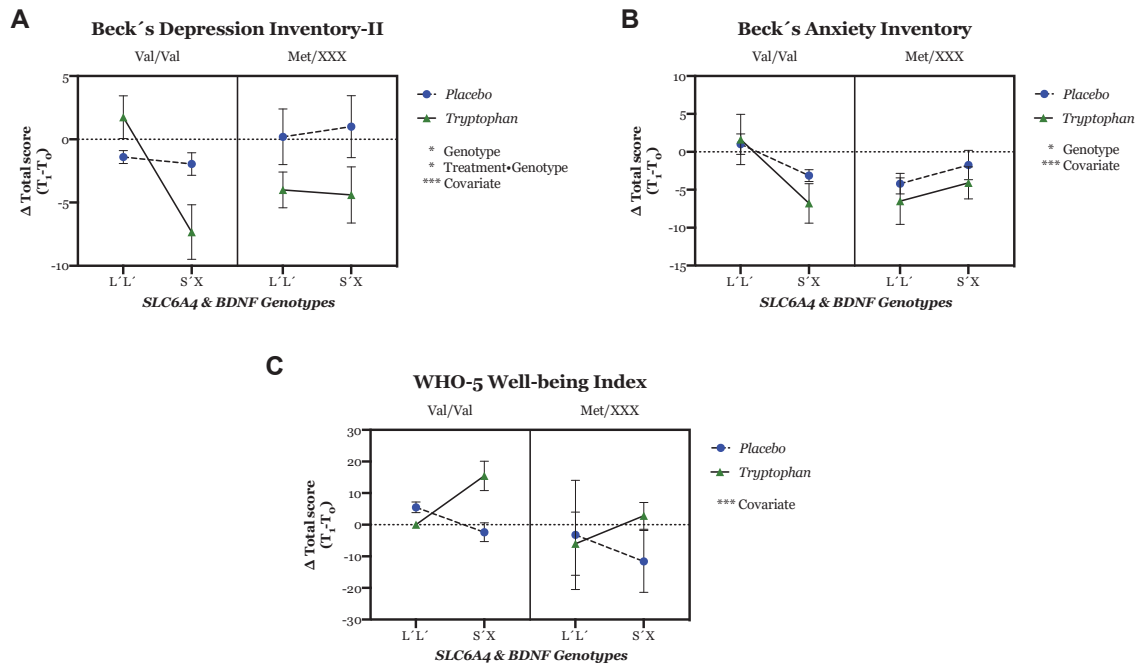
Moreover, the **RRS** was analyzed to evaluate the tendency to experience depression (Figure 12). In particular, 54% of the variability was explained by the two-way ANCOVA model ( $F_{(8,55)}=9.51$ ,  $p$ -value<0.001, partial  $\eta^2=0.54$ ,  $\beta=1.00$ ). As observed in the previous models, the covariate (the increase in BDNF levels) explained some of the observed differences ( $F_{(1,55)}=31.09$ ,  $p$ -value<0.001, partial  $\eta^2=0.32$ ,  $\beta=1.00$ ). However, the genotype of the studied genes also affected the obtained score ( $F_{(3,55)}=9.38$ ,  $p$ -value<0.001, partial  $\eta^2=0.30$ ,  $\beta=1.00$ ). Namely, individuals with both L'L' and Val/Val genotypes had the worst results compared with the other subjects. However, when the treatment type was combined with the genotype, we observed that, in subjects with L'L' and Val/Val genotypes, the tryptophan-enriched supplement was less effective than the placebo ( $F_{(3,55)}=6.43$ ,  $p$ -value<0.01, partial  $\eta^2=0.23$ ,  $\beta=0.96$ ).

Regarding social cognition, the **IRI** (Figure 13) findings revealed that the selected factors explained the variability of the score. In the *Perspective Taking* subscale (Figure 13A), the two-way ANOVA determined 18% of the total variability observed in the score ( $F_{(7,56)}=2.32$ ,  $p$ -value<0.05, partial  $\eta^2=0.18$ ,  $\beta=0.81$ ). The interaction between the treatment type and the genotype explained this variability ( $F_{(3,56)}=3.08$ ,  $p$ -value<0.05, partial  $\eta^2=0.11$ ,  $\beta=0.70$ ). Subjects with the S' allele and Val/Val genotype had a greater response to the tryptophan treatment than did individuals with the L'L' genotype and Met

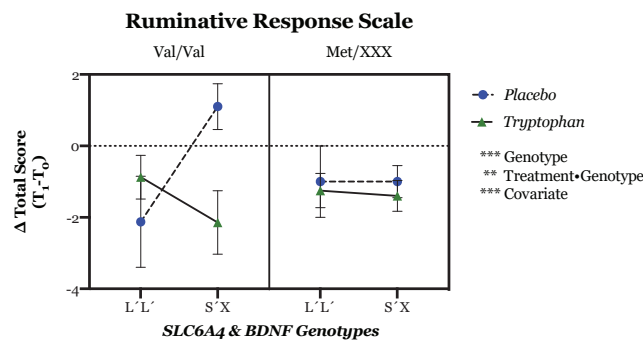
allele. In the *Fantasy* subscale (Figure 13B), the two-way ANCOVA model explained 26% of the observed variability ( $F_{(8,55)}=2.98$ ,  $p\text{-value}<0.01$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.26$ ,  $\beta=0.93$ ). Both the treatment type and the genotypes modulated the response. Therefore, individuals from the tryptophan group had a greater response to the treatment than did those who took the placebo ( $F_{(1,55)}=4.51$ ,  $p\text{-value}<0.05$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.06$ ,  $\beta=0.55$ ). Likewise, subjects with L'L' and Val/Val genotypes responded worse than did those with the L'L' genotype and Met allele or those with the S' allele and Val/Val genotype ( $F_{(3,55)}=3.66$ ,  $p\text{-value}<0.05$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.14$ ,  $\beta=0.78$ ). By contrast, no significant differences were observed when considering the treatment type and the interaction between the *BDNF* and *SLC6A4* genotypes as the main factors in the *Emphatic Concern* subscale (Figure 13C;  $F_{(7,56)}=0.90$ ,  $p\text{-value}=0.51$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.08$ ,  $\beta=0.36$ ) or the *Personal Distress* subscale (Figure 13D;  $F_{(7,56)}=1.36$ ,  $p\text{-value}=0.24$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.12$ ,  $\beta=0.54$ ).

In the two-way ANOVA model for the **Empathy Quotient** (Figure 14), there were no significant differences when using the treatment type and the rs6265, rs25531, and 5-HTTLPR polymorphism genotypes as the main factors ( $F_{(7,56)}=1.97$ ,  $p\text{-value}=0.07$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.16$ ,  $\beta=0.73$ ).

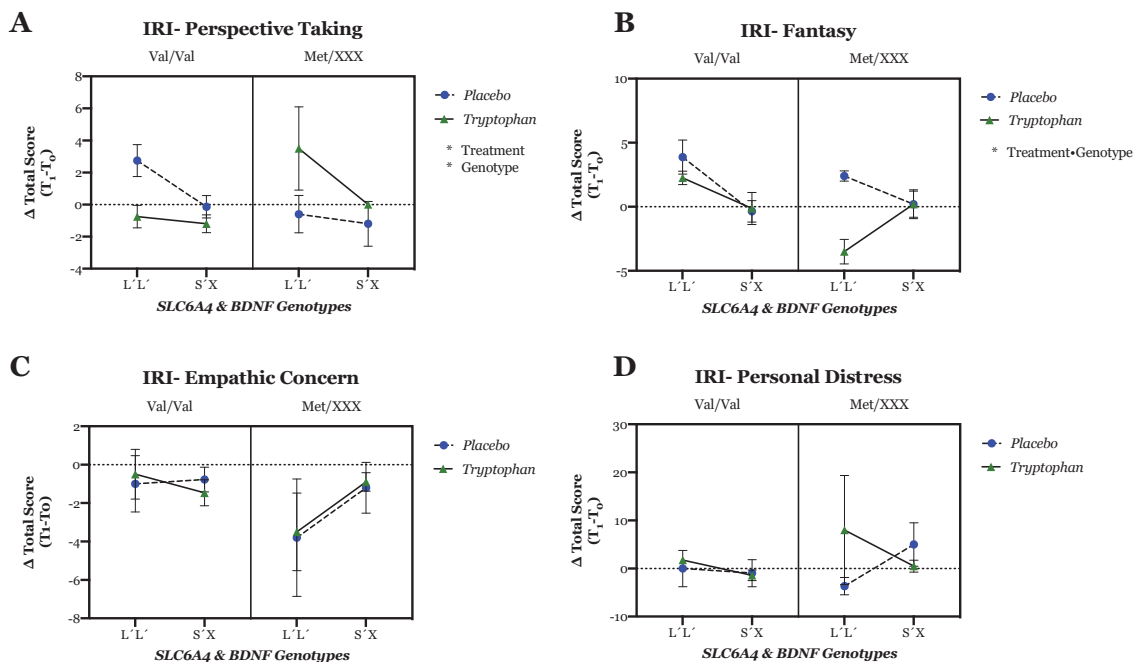
Finally, in the **Moral Judgement Task**, an assessment of the moral permissibility of *Accidental Harms* (Figure 15B) showed that the two-way ANOVA model explained 31% of the variability in the score ( $F_{(8,55)}=3.70$ ,  $p\text{-value}<0.05$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.31$ ,  $\beta=0.98$ ). Both the treatment type and the genotypes modulated the permissibility when they interacted together ( $F_{(3,55)}=3.25$ ,  $p\text{-value}<0.05$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.13$ ,  $\beta=0.72$ ). In particular, subjects with the L'L' genotype and Met allele from the tryptophan group were more permissible than those from the placebo group when they assessed this type of action. Moreover, in the tryptophan group, subjects with the Met allele acted in a different way depending on the *SLC6A4* genotype. In detail, those with the L'L' genotype were more permissible than those with the S' allele. Meanwhile, none of the *Neutral Act* stories (Figure 15A;  $F_{(7,56)}=1.43$ ,  $p\text{-value}=0.21$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.12$ ,  $\beta=0.57$ ), *Attempted Harm* stories (Figure 15B;  $F_{(7,56)}=1.07$ ,  $p\text{-value}=0.39$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.10$ ,  $\beta=0.43$ ), or *Intentional Harm* stories (Figure 15D;  $F_{(7,56)}=1.24$ ,  $p\text{-value}=0.29$ ,  $\text{partial } \eta^2=0.11$ ,  $\beta=0.50$ ) showed significant differences regarding the permissibility score when considering the ingested supplement type and/or the genotype of rs6265, rs25531, and 5-HTTLPR polymorphisms as factors.



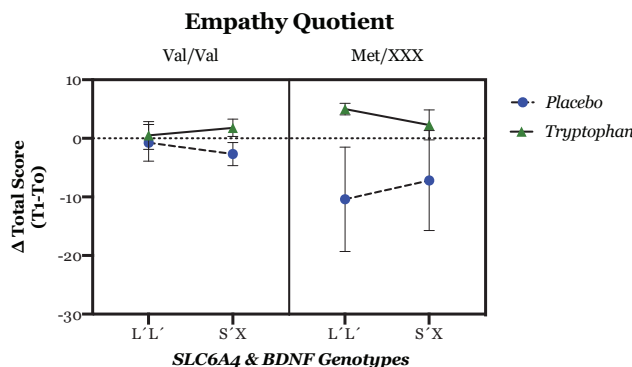
**Figure 11. (A) Beck's Depression Inventory-II:** genotype ( $F_{(3,55)}=2.87$ ,  $p$ -value $<0.05$ , partial  $\eta^2=0.12$ ,  $\beta=0.66$ ) genotype-treatment interaction ( $F_{(3,55)}=3.09$ ,  $p$ -value $<0.05$ , partial  $\eta^2=0.13$ ,  $\beta=0.70$ ), and the increase in urinary BDNF levels ( $F_{(1,55)}=19.39$ ,  $p$ -value $<0.001$ , partial  $\eta^2=0.24$ ,  $\beta=0.99$ ) determined 41% of variability ( $F_{(8,55)}=4.39$ ,  $p$ -value $<0.001$ , partial  $\eta^2=0.34$ ,  $\beta=0.99$ ). **(B) Beck's Anxiety Inventory:** genotype ( $F_{(3,55)}=4.47$ ,  $p$ -value $<0.01$ , partial  $\eta^2=0.17$ ,  $\beta=0.86$ ), and the increase in urinary BDNF levels ( $F_{(1,55)}=18.47$ ,  $p$ -value $<0.001$ , partial  $\eta^2=0.22$ ,  $\beta=0.99$ ) determined 34% of variability ( $F_{(8,55)}=4.39$ ,  $p$ -value $<0.001$ , partial  $\eta^2=0.34$ ,  $\beta=0.99$ ). **(C) WHO-5 Well-being Index:** the increase in urinary BDNF levels ( $F_{(1,55)}=6.51$ ,  $p$ -value $<0.05$ , partial  $\eta^2=0.09$ ,  $\beta=0.71$ ) determined 25% of variability ( $F_{(8,55)}=2.86$ ,  $p$ -value $<0.01$ , partial  $\eta^2=0.25$ ,  $\beta=0.92$ ).



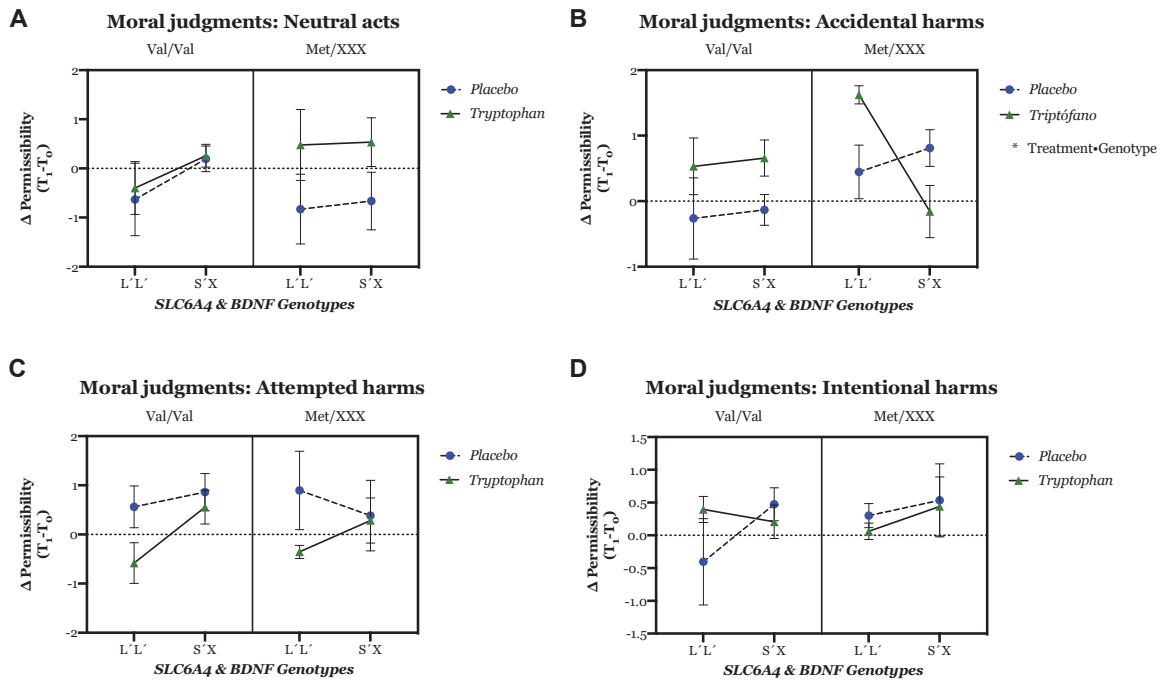
**Figure 12. Ruminative Response Scale:** genotype ( $F_{(3,55)}=9.38$ ,  $p$ -value $<0.001$ , partial  $\eta^2=0.30$ ,  $\beta=1.00$ ), genotype-treatment interaction ( $F_{(3,55)}=6.43$ ,  $p$ -value $<0.01$ , partial  $\eta^2=0.23$ ,  $\beta=0.96$ ), and the increase in urinary BDNF levels ( $F_{(1,55)}=31.09$ ,  $p$ -value $<0.001$ , partial  $\eta^2=0.32$ ,  $\beta=1.00$ ) determined 54% of variability ( $F_{(8,55)}=9.51$ ,  $p$ -value $<0.001$ , partial  $\eta^2=0.54$ ,  $\beta=1.00$ ).



**Figure 13.** IRI: Interpersonal Reactivity Index. **(A)** Perspective Taking subscale: treatment-genotype interaction ( $F_{(3,56)}=3.08$ ,  $p$ -value $<0.05$ , partial  $\eta^2=0.11$ ,  $\beta=0.70$ ) determined 18% of variability ( $F_{(7,56)}=2.32$ ,  $p$ -value $<0.05$ , partial  $\eta^2=0.18$ ,  $\beta=0.81$ ). **(B)** Fantasy subscale: treatment ( $F_{(1,55)}=4.51$ ,  $p$ -value $<0.05$ , partial  $\eta^2=0.06$ ,  $\beta=0.55$ ), and genotype ( $F_{(3,55)}=3.66$ ,  $p$ -value $<0.05$ , partial  $\eta^2=0.14$ ,  $\beta=0.78$ ) determined 26% of variability ( $F_{(8,55)}=2.98$ ,  $p$ -value $<0.01$ , partial  $\eta^2=0.26$ ,  $\beta=0.93$ ). **(C)** Empathic Concern subscale ( $F_{(7,56)}=0.90$ ,  $p$ -value $=0.51$ , partial  $\eta^2=0.08$ ,  $\beta=0.36$ ). **(D)** Personal Distress subscale ( $F_{(7,56)}=1.36$ ,  $p$ -value $=0.24$ , partial  $\eta^2=0.12$ ,  $\beta=0.54$ ).



**Figure 14.** Empathy Quotient. ( $F_{(7,56)}=1.97$ ,  $p$ -value $=0.07$ , partial  $\eta^2=0.16$ ,  $\beta=0.73$ ).



**Figure 15.** Moral Judgments task. **(A)** Neutral Acts ( $F_{(7,56)}=1.43$ ,  $p$ -value=0.21, partial  $\eta^2=0.12$ ,  $\beta=0.57$ ). **(B)** Accidental Harms: treatment-genotype interaction ( $F_{(3,55)}=3.25$ ,  $p$ -value<0.05, partial  $\eta^2=0.13$ ,  $\beta=0.72$ ) determined 31% of variability ( $F_{(8,55)}=3.70$ ,  $p$ -value<0.05, partial  $\eta^2=0.31$ ,  $\beta=0.98$ ). **(C)** Attempted Harms ( $F_{(7,56)}=1.07$ ,  $p$ -value=0.39, partial  $\eta^2=0.10$ ,  $\beta=0.43$ ). **(D)** Intentional Harms ( $F_{(7,56)}=1.24$ ,  $p$ -value=0.29, partial  $\eta^2=0.11$ ,  $\beta=0.50$ ).

## 5. Discusión ...

---





La depresión y el deterioro cognitivo son alteraciones asociadas al envejecimiento que conllevan un importante coste económico tanto a día de hoy como en el futuro. Estos desórdenes empeoran considerablemente la calidad de vida de los individuos al empeorar el estado fisiológico, psicológico y la salud auto-percibida por los mayores (Wang y cols., 2017). Ambas se suelen tratar con diversos fármacos como los antidepresivos, la psicoterapia o los fármacos que sirven para paliar los síntomas de las enfermedades asociadas, en el caso del deterioro cognitivo. Sin embargo, numerosos estudios han demostrado que la eficacia del tratamiento no termina de ser satisfactoria y nuevas investigaciones son necesarias para determinar los posibles mecanismos que subyacen estas patologías (Correia-Melo y cols., 2019; Yu, 2019). Asimismo, la importancia de estos desórdenes en la población de personas mayores, así como la necesidad de estrategias más efectivas, hace que hayan quedado englobados dentro del reto social “salud, cambio demográfico y bienestar” en el programa Marco de Investigación e Innovación de la Unión Europea Horizonte 2020 (MICIU, 2019).

Dada la importancia que está adquiriendo la medicina personalizada en los últimos años y que la nutrición personalizada es una herramienta muy útil para preservar o mejorar la salud, en el presente estudio se ha tratado de averiguar si el tratamiento con alimentos enriquecidos en triptófano puede disminuir la incidencia de la depresión y es capaz de mejorar el deterioro de la cognición social, ambos asociados al envejecimiento. Para ello se ha tenido en cuenta el gen *SLC6A4*, así como la interacción de este gen con el gen *BDNF*, al estar ambos implicados en la etiología de la depresión y del deterioro cognitivo.

### 5.1. Evaluación nutricional

Al estudiar la calidad nutricional de la dieta se ha observado que, pese a ser la época universitaria una de las etapas más importantes en la vida del individuo, al desarrollarse y establecerse numerosos comportamientos relacionados con la salud futura, todavía no se ha conseguido que los estudiantes se adhieran a un patrón dietético saludable. Así, en la presente Tesis Doctoral, se han observado diferencias en el patrón dietético y en la calidad de la dieta de los participantes en función de la edad. En este caso se observa que en los individuos más jóvenes el patrón dietético es pobre, y así lo es también la calidad de la dieta.

Pese a que la dieta sea normocalórica en la muestra estudiada, tanto el perfil calórico como el lipídico se alejan del recomendado por la SENC (2016). Nuestros resultados revelan que los individuos jóvenes consumen de media una mayor

proporción de proteínas y glúcidos que los mayores. Por otro lado, también existen diferencias en la proporción de AGS: los individuos jóvenes superan los niveles óptimos mientras que los adultos se quedan muy cerca del límite superior (SENC, 2016). Por último, al evaluar las vitaminas y minerales, se observan diferencias en la ingesta de la vitamina B<sub>6</sub>, la vitamina E y el magnesio en función de la edad. Siendo otra vez los individuos mayores aquellos que más se aproximan a las CDR (García-Gabarra y cols., 2017).

Los resultados dietéticos obtenidos están respaldados por numerosos estudios, que indican que los estudiantes universitarios siguen un patrón dietético pobre, en el que predomina el consumo de alimentos de alta densidad energética, *snacks*, dulces y otros alimentos refinados y ultra-procesados disminuyendo la frecuencia del consumo de alimentos más saludables como las verduras y hortalizas, los frutos secos o el pescado (Martínez-Roldán y cols., 2005; Megeid y cols., 2011; Amaral-Alves y cols., 2012; Altavilla y cols., 2019). Un estudio realizado en Alemania concluyó que los principales obstáculos que impiden a los estudiantes llevar un estilo de vida saludable son la falta de tiempo debido a la carga que supone el realizar las tareas y actividades relacionadas con la universidad, la escasez de comidas saludables en los comedores universitarios, y en tercer lugar se ubica el coste que supone seguir una dieta saludable (Hilger y cols., 2017). Cabe destacar que muchos de los estudiantes viven en residencias universitarias, en las que tampoco existe un control parental en relación con la comida (Chacón-Cuberos y cols., 2017) y en las que escasean al igual que en los comedores escolares las recetas saludables. Por otro lado, la puntuación obtenida por los estudiantes extremeños en el IASE es similar a la de los estudiantes de la Universidad del Estado de Mississippi (Sunbul y cols., 2019). Asimismo, el hecho de que la dieta de los individuos mayores sea de mejor calidad, concuerda con los resultados del estudio SU.VI.MAX francés, en el que al impulsar la prevención de enfermedades crónicas asociadas al envejecimiento y el cáncer observaron que el IASE estaba asociado a la edad, siendo mejor el de los individuos mayores (Drewnowski y cols., 2009).

Pero al tener en cuenta los genotipos de los individuos, también se han observado diferencias al evaluar el patrón dietético y la calidad del mismo. En concreto se observa que en los individuos L'S' el IASE de la dieta es más elevado que en los individuos S'S'. Además, al evaluar las vitaminas y minerales también se observan diferencias, obteniendo los individuos S'S' una menor cantidad de ácido fólico y vitamina E a través de la dieta, al compararlos con los individuos L'L' y con los individuos

portadores del alelo L. Mientras que al evaluar los minerales se observa que los individuos L'L' obtienen mayores cantidades que aquellos L'S'.

En el año 2018, se observó que el gen *SLC6A4* está relacionado con las diferencias cognitivas y psicopatológicas en pacientes obesos. En concreto, concluyeron que los individuos SS eran más propensos a comer por la noche después de cenar, consumir más alimentos dulces, poseían más ansia por el consumo de alimentos ricos en hidratos de carbono, siendo más propensos a padecer ansiedad que aquellos individuos portadores del alelo L (Caroleo y cols., 2018). Un año antes, Miranda y cols., demostraron que estas diferencias existentes en la alimentación son evidentes desde los primeros años de vida, asociándose el genotipo S'S' con una mayor ingesta energética en individuos de sólo 1 año de edad (Miranda y cols., 2017). El hecho de que los individuos con el genotipo S'S' posean una menor calidad dietética puede estar relacionado con la ruta serotoninérgica. Ya que, en los individuos con el alelo S como con el alelo L<sub>G</sub>, la expresión del transportador de serotonina se ve disminuida considerablemente (Peralta-Leal y cols., 2012; Plieger y cols., 2014). Al tener una menor expresión, la recaptación de serotonina será menos eficaz, por lo que es probable que los individuos recurran a alimentos de elevada carga glucémica para obtener una mayor sensación de placer. Recientemente se ha demostrado, que la ingesta de glúcidos incrementa los niveles de serotonina en el hipotálamo al incrementar el transporte de triptófano por la barrera hematoencefálica (Spadaro y cols., 2015), mejorando así el estado anímico de forma inminente. Sin embargo, si el estrés es prolongado, se producirá la depleción de triptófano, ya que el organismo habrá superado la capacidad para sintetizar serotonina a partir de triptófano (Orosco y cols., 2004; Ventura y cols., 2014). Por ello, en los individuos S'S' que son más propensos a padecer depresión no será adecuado seguir una dieta de elevada carga glucémica prolongada en el tiempo, ya que, pese al beneficio inicial, se activará la depleción de triptófano, disminuyendo considerablemente los niveles de serotonina en el cerebro y causando un mayor malestar.

Por otro lado, al evaluar la adherencia a la dieta MIND en individuos mayores se ha demostrado que los individuos portadores del alelo S' (*SLC6A4*) y homocigotos con el alelo Val (*BDNF*) poseen una mayor adherencia que los demás individuos. Es decir, los individuos que son más propensos a padecer depresión han demostrado tener una mayor adherencia (Pezawas y cols., 2008; Salari-Moghaddam y cols., 2019). Quizás así, traten de contrarrestar la elevada predisposición genética que poseen.

## 5.2. Influencia de los polimorfismos 5-HTTLPR, rs25531 y rs6265

Al evaluar los polimorfismos 5-HTTLPR y rs25531, se observó que tanto los adultos jóvenes como mayores, los genotipos cumplían el equilibrio de Hardy-Weinberg. De este modo, los individuos heterocigotos aparecen como predominantes en ambos grupos de edad. En otros estudios en los que se han analizado los mismos polimorfismos mediante el enfoque trialélico también se ha observado la misma tendencia (Wang y cols., 2011; Whisman y cols., 2011; Plieger y cols., 2017; Navarro-Mateu y cols., 2019; Pallesen y cols., 2019).

Además, al analizar los polimorfismos de los genes *BDNF* y *SLC6A4* en el subconjunto de personas mayores, se ha observado que el polimorfismo rs6265 cumplía el equilibrio de Hardy-Weinberg, lo cual concuerda con un estudio realizado en mujeres post-menopáusicas (Iqbal y cols., 2019). Sin embargo, la frecuencia alélica varía al tener en cuenta los grupos étnicos. En nuestro estudio se observa que el alelo Val es más frecuente mientras que en individuos asiáticos se ha observado que el alelo Met es el más frecuente (Hosang y cols., 2014; Tsai, 2018). Sin embargo, los polimorfismos 5-HTTLPR/rs25531 en el grupo de individuos mayores, no se encontraban en equilibrio. Lo cual era esperable, ya que en el grupo de individuos mayores seleccionamos al azar la misma cantidad de individuos de cada grupo genotípico.

Por otro lado, al analizar la ingesta basal del precursor de la 5-HT y la excreción de 5-HIAA, se observó que, pese a que los individuos jóvenes ingirieran mayores cantidades de triptófano en la dieta, eran los individuos mayores quienes mostraban un mayor incremento en la excreción del metabolito urinario de la 5-HT. En los individuos mayores, el sistema serotoninérgico suele verse afectado (Richter-Levin y Segal, 1996). Por ello, es probable que tras la ingesta del suplemento enriquecido en triptófano se produzca un mayor incremento en los niveles de 5-HIAA. Hasta la fecha se ha observado que los niveles 5-HIAA son correlativos a los niveles de 5-HT (Moberg y cols., 2011). Además, un estudio realizado en el año 2018 indica que la concentración de 5-HT en plasma es 5 veces la concentración de 5-HIAA (Lindström y cols., 2018). Al realizar estudios preliminares en ratas, se observó que tras la administración de 300 mg de L-triptófano, los niveles de 5-HIAA incrementaban significativamente en el diencefalo (Esteban y cols., 2004). Mientras que, en humanos, la ingesta de cereales enriquecidos con 60 mg del aminoácido precursor de 5-HT, promueve un incremento significativo en la excreción de 5-HIAA (Bravo y cols., 2013). Asimismo, al administrar dosis de 2 mg de triptófano contenido en un producto nutracéutico a base de cereza, los valores de 5-HIAA se incrementan en adultos, tanto de mediana edad como de mayor edad (Garrido

y cols., 2012). Sin embargo, hasta la fecha pocos estudios se han realizado teniendo en cuenta el gen *SLC6A4*, así nuestro estudio revela que únicamente se observa una relación positiva entre la ingesta del aminoácido L-triptófano y el metabolito 5-HIAA en los individuos que poseen el genotipo S'S', es decir que el tratamiento será efectivo en aquellos que posean una menor expresión de la proteína transportadora de la 5-HT en el espacio intersináptico.

Al evaluar la excreción de BDNF se ha observado que el incremento producido es mayor en los individuos portadores del alelo S'y homocigotos Val/Val. Así, resulta más efectivo el tratamiento en triptófano que la ingesta del placebo. Lo cual puede deberse a los resultados obtenidos con la adherencia a la dieta MIND. Ya que los niveles de BDNF parecen depender de la calidad dietética (Froud y cols., 2019). Además, en nuestro estudio se ha observado que los individuos S' Val/Val del grupo de experimental obtuvieron también una mayor adherencia a la dieta MIND que los individuos S'Met y L'L'Val/Val. No obstante, el tratamiento con triptófano también puede estar detrás del incremento en la excreción de BDNF. Ya que el 90% del BDNF se almacena en las plaquetas, tanto en el citoplasma como en los gránulos  $\alpha$  (Tamura y cols., 2011). Además, se ha observado que la liberación de BDNF es paralela a la liberación de 5-HT en las plaquetas, liberándose únicamente el BDNF acumulado en los gránulos  $\alpha$ . Asimismo, durante la activación plaquetaria, la estimulación con 5-HT acelera la exocitosis de los gránulos  $\alpha$  plaquetarios (Serra-Millàs, 2016). Por lo tanto, puede que el mayor incremento en los niveles de BDNF producido en el grupo experimental, sea la consecuencia del incremento en los niveles de triptófano ingerido, incrementando así los niveles de 5-HT plaquetarios, y estimulando al mismo tiempo la liberación de BDNF a nivel plaquetario. Lo cual llevaría a un incremento de BDNF en el torrente circulatorio.

### **5.3. Eficacia de la intervención nutricional sobre la depresión**

Al evaluar el estado anímico de los participantes, se ha observado que el tratamiento con triptófano resulta eficaz, ya que, pese a que en condiciones basales son los individuos agrupados en el grupo control aquellos con mayor ingesta de triptófano, tras finalizar el estudio se observó que los individuos del grupo experimental respondieron mejor que los individuos del grupo control. Así, se observa una mayor disminución de la puntuación en el BDI-II, en el BAI y en el Índice de Bienestar. Dado que la única diferencia entre el suplemento alimenticio placebo y experimental utilizado es que el empleado en el grupo experimental contiene 500 mg del aminoácido precursor

de la 5-HT, todo apunta a que la mejora obtenida en la puntuación se debe al incremento en los niveles de esta molécula.

Asimismo, se observa que en el ***BDI-II***, son los individuos con el genotipo S'S' quienes más mejoran la puntuación, al compararlos con aquellos portadores del alelo L'. Esto puede deberse al hecho de que los individuos S'S' poseen una menor expresión del SERT, siendo la eficacia para recaptar la 5-HT en el espacio intersináptico bastante baja (Lam y cols., 2018). En estudios previos se ha observado que la respuesta al tratamiento con antidepresivos varía en función del polimorfismo 5-HTTLPR (Luddington y cols., 2009). En concreto, la respuesta al tratamiento con antidepresivos en pacientes con el genotipo SS, se ve disminuida a largo plazo, mostrando a su vez una mayor aparición de efectos secundarios (Kronenberg y cols., 2007). El mecanismo producido tras el incremento de triptófano en la dieta será similar al de los ISRS, principales fármacos usados en el tratamiento de la depresión, (Vojvodic y cols., 2019). Ya que el principio activo del citalopram (ISRS) se une a SERT en el mismo sitio de unión de la 5-HT de manera competitiva, bloqueando la unión de 5-HT e incrementando los niveles de serotonina extracelulares (Andersen y cols., 2011). Por ello, puede que en los pacientes con el genotipo S'S' o SS, la clave esté en incrementar la cantidad de triptófano en dieta, generando así una mayor reserva de triptófano, con el objetivo de prolongar la síntesis de 5-HT en el tiempo, incrementando la concentración de 5-HT en la matriz extracelular, y retrasando así la aparición de la depleción de triptófano. Nuestros resultados avalan esta estrategia, ya que nuestra muestra presenta una mejoría de los síntomas depresivos, y todo apunta a que estaría modulado por la actividad del SERT.

Sin embargo, al incluir el gen *BDNF*, en individuos mayores se observa que la epistasia biológica producida entre los genes *BDNF* y *SLC6A4* es evidente (Kitzlerová y cols., 2018). Ya que los individuos S'X Val/Val y L'L'Met del grupo experimental responden mejor que aquellos del grupo control. Estudios previos han demostrado que los individuos que poseen un alelo S' como aquellos que poseen un alelo Met son más propensos a padecer depresión (Pei y cols., 2012; Davin y cols., 2015; Januar y cols., 2015). Además, los individuos portadores del alelo Met también son más propensos al deterioro cognitivo (Altmann y cols., 2016; D'Souza y Rajkumar, 2019; ). Así, nuestro estudio muestra que los individuos con al menos un alelo de riesgo son quienes mejor responden al tratamiento, ya que los individuos S'Met y S'Val/Val tienen una mejor respuesta al reducirse el incremento en la puntuación del inventario de depresión que los individuos L'L'Val/Val.

Al evaluar el **BAI**, se observa que son los jóvenes del grupo experimental quienes mejor responden al tratamiento. En el año 2015, se observó que el 21% de los adultos de una población de Murcia, región muy afectada por la crisis económica española, poseían algún tipo de trastorno de ansiedad (Navarro-Mateu y cols., 2015). Sin embargo, otro estudio muestra que un 55.7% de los estudiantes de la Universidad Católica de Murcia (España) sufre algún tipo de trastorno de ansiedad (Balanza-Galindo y cols., 2009); siendo este porcentaje bastante más elevado que el del estudio anterior. El hecho de que los estudiantes universitarios sean más propensos a la ansiedad está respaldado por numerosos estudios (Bayran y Bigel, 2008; Aurerbach y cols., 2018; Dear y cols., 2019). No obstante, también se ha observado que los estudiantes que poseen problemas relacionados con la salud mental suelen establecer menos relaciones con otros estudiantes o miembros de la facultad, suelen evitar realizar actividades de ocio relacionadas con el campus, su puntuación media en la carrera se ve afectada y además la probabilidad de llegar a graduarse es menor que en los estudiantes que no padecen problemas mentales (Regehr y cols., 2013). Al parecer, el contexto familiar es un indicador significativo del bienestar emocional, ya que, la desadaptación del entorno más cercano suele contribuir a la aparición de niveles altos de ansiedad. No obstante, el desarrollo de habilidades y competencias para resolver los problemas cotidianos, el afrontamiento eficaz de las transiciones de la vida y el hecho de entablar relaciones positivas con compañeros y profesores, son variables que ayudan a disminuir el estrés y el riesgo a padecer un trastorno psicológico (Balanza-Galindo y cols., 2009). Además, en nuestro estudio hemos comprobado que los jóvenes son quienes mejor responden al tratamiento. Puede que esto se deba a que los jóvenes tienen también niveles más elevados de ansiedad, y al metabolizarse el triptófano, obtengan una considerable mejoría.

No obstante al incluir el gen *BDNF* en el estudio de la ansiedad, se ha observado que los individuos mayores homocigotos para ambos genes, L´L´ Val/Val son quienes muestran un mayor incremento en los niveles de ansiedad tras el tratamiento. Los estudios realizados hasta la fecha son inconcluyentes. La mayoría concluyen que el alelo Val actúa como alelo protector en el desarrollo de los trastornos de la ansiedad en individuos caucásicos (McGregor y cols., 2017). Por otro lado, los estudios también sugieren que el tratamiento farmacológico resulta más efectivo en los individuos que poseen el alelo Met (Choi y cols., 2006). En nuestro estudio se corrobora el hecho de que los individuos más propensos a padecer ansiedad, son quienes mejor responden al tratamiento. No obstante, se debe tener en cuenta que en ocasiones los individuos LL también pueden tener una mayor predisposición frente a la angustia mental, siempre y

cuando estén expuesto a trastornos crónicos o a factores estresantes severos (Ancelin y cols., 2017). Pero todo apunta a que en individuos LL Val/Val, el tratamiento farmacológico no resultaría tan efectivo como en los demás individuos, pero es probable que en estos individuos la psicoterapia resulte más efectiva, ya que la enfermedad se produce como respuesta a los factores estresantes que les han abordado con el paso de los años. Así, una vez que los individuos aprendan a gestionar los estímulos estresantes puede que disminuyan los síntomas de la enfermedad.

Al evaluar la **RRS** y su relación con el genotipo *SLC6A4* se observa una tendencia similar a la observada con la depresión. Lo cual pone de manifiesto la estrecha relación existente entre el estilo de respuesta rumiativo y la depresión (Erdur-Baker y Bugay, 2010). En concreto, en los individuos mayores con el genotipo S'S' y que siguieron el tratamiento con TRP, se observa una mayor disminución en el patrón de respuesta rumiativo al compararlos con individuos L'L'. Lo cual puede deberse a que los individuos más propensos a la depresión—S'S'— poseen una menor expresión del SERT (Lam y cols., 2018). Por lo tanto, el hecho de incrementar las reservas de triptófano en estos individuos a través de la dieta, resultará más beneficioso. Ya que como consecuencia del tratamiento con TRP se incrementarán los niveles del neurotransmisor 5-HT (Sánchez-Mateos y cols., 2009), y se podrá retrasar la depleción de triptófano, disminuyendo así el estilo de respuesta rumiativo.

Asimismo, al tener en cuenta ambos genes (*SLC6A4* y *BDNF*) en individuos mayores, se ha observado que son también los individuos homocigotos L'L' y Val/Val aquellos que responden peor al tratamiento. Además, en estos individuos se ha observado que el placebo resulta más beneficioso que el tratamiento propiamente dicho. Lo cual sugiere, que en los individuos que no son propensos por naturaleza a la depresión, el tratamiento con 500mg de triptófano puede llegar a ser perjudicial (Pei y cols., 2012; Davin y cols., 2015; Januar y cols., 2015). Ello puede deberse a que en estos individuos se estimule la vía de las quinureninas liberando metabolitos como la 3-hidroxiquinurenina que produce una respuesta neurodegenerativa (Lovelace y cols., 2017).

#### 5.4. Eficacia de la intervención nutricional sobre la cognición social

Al evaluar como afecta la intervención nutricional a la cognición social, no se ha observado ninguna relación entre el tratamiento y el coeficiente empático (Baron-Cohen y Wheelwright, 2004). Sin embargo, al evaluar los componentes de la empatía mediante el **IRI**, se ha comprobado que la puntuación de la escala de *toma de perspectiva* está



influenciada por la edad. En concreto, los individuos jóvenes muestran una mayor puntuación que los mayores.

La *toma de perspectiva* define la habilidad que poseen los individuos para interpretar los estados mentales y emocionales propios y ajenos (Martín-García y cols., 2006). Por ello representa la dimensión cognitiva de la empatía, al ser la capacidad que la persona tiene de adoptar sentimientos y perspectivas de otras personas (De Corte y cols., 2007; Briganti y cols., 2018). Así, una persona que posea una mayor toma de perspectiva, será capaz de analizar una determinada situación desde otro punto de vista de modo que podrá bloquear y reorientar pensamientos o sentimientos negativos. Además, el hecho de obtener una mayor puntuación en la toma de perspectiva se relaciona con unos niveles más elevados de socialización (Beven y cols., 2004). Algunos estudios sugieren que la empatía cognitiva, pero no la afectiva, puede deteriorarse como consecuencia del proceso de envejecimiento (Bailey y cols., 2008; López-Pérez y Fernández-Pinto, 2010; Ortega y cols., 2014). Durante el envejecimiento también se suele producir una disminución de las relaciones sociales, lo cual estará parcialmente relacionado con el deterioro de la empatía cognitiva.

Mientras que al evaluar los efectos de ambos genes (*BDNF* y *SLC6A4*) sobre la respuesta al tratamiento en los individuos mayores, se han observado diferencias en función al genotipo de los individuos. En concreto, los individuos S´ Val/Val muestran un mayor incremento en la puntuación al compararlos con los individuos L´L´ Met. Estudios previos sugieren que los individuos SS son más propensos a incorporar los sentimientos negativos de otros y por ello tendrán una mayor dificultad para distanciarse de la angustia que sienten las personas de su entorno (Gyurak y cols., 2013). Por ello, en un principio pueden tener una menor toma de perspectiva, pero el tratamiento puede ayudarles a mejorar la capacidad de distanciarse de los problemas y a incrementar la toma de perspectiva. Por otro lado, el hecho de que los individuos con el alelo Val/Val posean una mayor toma de perspectiva puede deberse a que éstos tengan una mayor capacidad para comprender a los demás en las interacciones sociales directas a diferencia de los individuos portadores del alelo Met (Taschareau-Dumouchel y cols., 2016).

Sin embargo al analizar la escala de *Fantasía* del *IRI*, se ha observado que tanto la edad como los polimorfismos 5-HTTLPR/rs25531 modulan la respuesta al tratamiento. En concreto en los individuos con el genotipo L´L´ se observa que el tratamiento con triptófano resulta más eficaz y que además son los jóvenes quienes obtienen una mayor mejora. A su vez, los individuos homocigotos L´L´ del grupo experimental obtienen una mejora mayor que los individuos heterocigotos (L´S´).

La escala de Fantasía, es otro de los componentes de la empatía. uno de los componentes afectivos del IRI, que mide la capacidad que tienen los individuos para identificarse con personajes ficticios o situaciones ficticias. El estudio realizado por Gilet y cols. (2013) también demostró que los individuos jóvenes eran más propensos a identificarse con personajes ficticios. Esto puede deberse a que a medida que el ser humano crece y madura, se identifica y se siente mejor consigo mismo, haciendo que sea menos deseable imaginar ser otra persona. Pero también puede deberse a que los individuos jóvenes han tenido más oportunidades de leer y ver entornos ficticios en su entorno, y puede que ello les haga desarrollar más la creatividad, y pudiendo identificarse con mayor facilidad con los personajes ficticios de una historia (Schieman y Gundy, 2000; Gilet y cols., 2013).

El hecho de que sean los individuos homocigotos L'L' quienes mejor responden, puede deberse a que al incrementar los niveles de triptófano a través de la dieta, se llegue a saturar la vía de las indolaminas, estimulando así la vía de las quinureninas. Así, se liberarán metabolitos derivados de la quinurenina, como el ácido quinurénico. Este metabolito se considera una sustancia neuroprotectora, ya que actúa inhibiendo de manera competitiva los receptores ionotrópicos de glutamato. De hecho, pueden llegar a disminuir los niveles de glutamato hasta en un 30-40% (Savitz, 2020). Dado que los receptores de glutamato tipo NMDA están implicados en los mecanismos de neuroplasticidad, y actúan modulando la actividad de diversas áreas del sistema límbico. Además, se ha observado que están implicados en el déficit producido en la cognición social en individuos con el trastorno de la personalidad límite (Haile y cols., 2012; Guendelman y cols., 2014). Puede que por lo ello, los individuos L'L' al acelerar el metabolismo de triptófano, e incrementar los niveles de 5-HT y de los derivados de la quinurenina, mejoren la cognición social al reducir además los niveles de glutamato.

Por otro lado, al continuar con la escala de fantasía pero evaluando el efecto de ambos genes (*BDNF* y *SLC6A4*) en los individuos mayores, se han observado diferencias en función al genotipo de los individuos y del tipo de tratamiento seguido. En primer lugar, se ha observado que en los individuos del grupo experimental se producía un mayor incremento. Sin embargo, estudios previos muestran que no existen relaciones entre los niveles de 5-HT en saliva y la escala de fantasía, por lo tanto puede que la mejoría producida se deba a la estimulación de la vía de las quinureninas (Matsunaga y cols., 2017).

Al evaluar los genotipos se ha observado que los individuos L'L'Val/Val son quienes tienen una peor respuesta al compararlos con los individuos L'L' Met y S'S' Val/Val. En esta ocasión son los individuos L'L' quienes muestran una menor capacidad

para identificarse con personajes o situaciones ficticias. Pero al igual que ocurre en un estudio previo, los individuos con el alelo Met muestran una menor toma de perspectiva y una mayor fantasía. Lo cual corrobora que pese a que las dos subescalas suelen agruparse dentro de la empatía cognitiva, describen distintos tipos de interacciones sociales al tener en cuenta el nivel de implicación personal requerido (Taschareau-Dumouchel y cols., 2016).

Por último, al evaluar los **juicios morales** se ha observado que los individuos que ingirieron los suplementos enriquecidos en triptófano resultaron ser más permisivos en las historias en las que se producía *perjuicio accidental*. En esta ocasión resultó también que fueron los individuos con el genotipo L´L´ más permisivos que los individuos heterocigotos. Lo cual puede explicarse como en el caso anterior por el incremento en los niveles de 5-HT junto con la saturación de la vía de las indolaminas y la consiguiente activación de la ruta de las quinureninas.

Al incluir el genotipo de *BDNF* en la población de individuos mayores, se mantiene la misma tendencia, aportando el tratamiento con triptófano una mayor permisibilidad en los individuos con el genotipo L´L´ y el alelo Met que en los individuos del grupo control. Al igual que en la población general, esto puede deberse a la saturación de la ruta de las indolaminas. Por otro lado, la microbiota intestinal también puede ser la responsable, ya que es capaz de utilizar el triptófano ingerido de manera directa. Así, alrededor del 4-6% del triptófano ingerido se metaboliza a triptamina y ácido indol pirúvico (Gao y cols., 2018). La triptamina actuará como una amina neuroactiva, mientras que el ácido indolpirúvico mejora el sueño, actúa como ansiolítico y es también precursor del ácido quinurénico (Badawy, 2015). Es por ello, que puede que en los individuos del grupo experimental, se consiga incrementar el aprovechamiento del triptófano a través de la microbiota, incrementando a su vez los niveles de sus metabolitos. No obstante, entre los individuos del grupo experimental portadores del alelo Met, son aquellos con el alelo L´L´ quienes son más permisivos. Lo cual puede ocurrir, debido a que son los individuos con el alelo corto quienes tienen una menor eficacia en la recaptación de 5-HT (Scharinger y cols., 2014). Por ello, al incrementar las cantidades de triptófano en la dieta, puede que la vía de las indolaminas aproveche mejor el triptófano extra ingerido, dirigiéndose a su vez una menor cantidad de triptófano a la ruta de las quinureninas o a la ruta de aprovechamiento del triptófano por la microbiota intestinal (Gao y cols., 2018).

Sin embargo, al evaluar las historias en las que se producía la *tentativa de perjuicios* los individuos mayores eran más permisibles que los individuos jóvenes. Sin embargo, al tomar el suplemento en triptófano, los individuos mayores disminuyeron la

permisibilidad y obtuvieron así puntuaciones similares a las de los individuos jóvenes. No es de extrañar el resultado obtenido, ya que con el envejecimiento se espera un deterioro en la capacidad para empatizar con los sentimientos ajenos (Ortega y cols., 2014; Margoni y cols., 2018). Por ello, se espera que aprueben con mayor facilidad los dilemas morales personales, si los comparamos con adultos de menor edad que tendrán mayor capacidad para empatizar con los sentimientos de los personajes de las historias, y por tanto serán menos permisibles al evaluar las historias en las que se produce la tentativa de perjuicios, es decir cuando el protagonista intenta producir daño deliberadamente.

Por todo ello, los resultados obtenidos en la presente Tesis Doctoral avalan la eficacia terapéutica del triptófano como suplemento alimenticio para paliar la aparición de los síntomas depresivos y de ansiedad, así como el deterioro de la cognición social asociado al envejecimiento. Cabe destacar que por lo general, el tratamiento resulta eficaz únicamente en los individuos que son más propensos a sufrir este tipo de trastornos, siendo éstos los individuos portadores del alelo S' (al tener en cuenta los polimorfismos 5-HTTLPR y rs25531 del gen *SLC6A4*) y los individuos portadores del alelo Met (al tener en cuenta el polimorfismo rs6265 del gen *BDNF*). Además, estudios previos demuestran que los individuos portadores del alelo corto (5-HTTLPR), tienen una menor eficacia a la hora de metabolizar los fármacos antidepresivos (Ahmed y cols., 2019). No obstante, son necesarios más estudios en el ámbito con la colaboración de psiquiatras y de pacientes diagnosticados con depresión y ansiedad o con un deterioro de la cognición social marcado, para averiguar si los polimorfismos estudiados son los causantes de la farmacorresistencia observada en el tratamiento del trastorno depresivo, ya que todo apunta a que los individuos que mejor responden frente al tratamiento nutricional estudiado pueden ser además los pacientes farmacorresistentes.

## 6. Conclusiones •••

---



De los resultados obtenidos en la presente Tesis Doctoral en la que nos propusimos estudiar si una intervención nutricional con suplementos de triptófano es capaz de modular la cognición social y disminuir la tendencia a la depresión en personas mayores de 50 años, podemos concluir que:

1. La calidad dietética de los individuos mayores de 50 años es mejor y más saludable que la de los estudiantes universitarios. Asimismo, los individuos portadores del alelo  $L_A$  (tanto homocigotos como heterocigotos) poseen una mayor calidad dietética que los individuos con el genotipo  $S'S'$  en ambos grupos de edad.
2. Los polimorfismos 5-HTTLPR y rs25531 modulan la recaptación de serotonina, siendo los individuos mayores con el genotipo  $S'S'$  los únicos en mostrar un incremento en los niveles de 5-HT tras la ingesta del aminoácido triptófano.
3. El suplemento enriquecido en triptófano disminuye los síntomas de depresión y ansiedad, mejorando el bienestar. Pero a la vez es capaz de mejorar la cognición social. Sin embargo, los individuos  $S'S'$  son quienes obtienen mayor beneficio en relación al estado anímico, mientras que los individuos jóvenes portadores del alelo  $L'$  obtienen una mayor mejoría de la cognición social.
4. Se manifiesta la epistasia biológica existente entre los genes *SLC6A4* y *BDNF*. Siendo los individuos  $L'L'$  Val/Val quienes obtienen un menor beneficio, mientras que los individuos con alguno de los alelos  $S'$  o Met obtienen un mayor beneficio, al mejorar los síntomas depresivos y la cognición social.





## 6. Conclusions ...

---



From the results obtained in the present doctoral dissertation— in which it was analyzed whether a nutritional intervention (based on a TRP-enriched supplements) can modulate social cognition and decrease the tendency towards depression in people older than 50 years— we concluded that:

1. Individuals older than 50 years old had overall a healthier dietary pattern and a better quality of diet than younger university students. Likewise, subjects who had at least one  $L_A$  allele had a better-quality diet than subjects with the  $S'S'$  genotype, in both age groups.
2. 5-HTTLPR and rs25531 polymorphisms contributed to modulating serotonin reuptake, with older individuals with the  $S'S'$  genotype having the greatest benefit. This is because they showed, in a roundabout way, an increase in 5-HT levels after the increase in the TRP intake.
3. A 500 mg TRP-enriched supplement can reduce depressive and anxiety symptoms, improve well-being, and enhance social cognition. However, subjects with the  $S'S'$  genotype have the greatest benefit with respect to mood. In terms of social cognition, however, the young subjects with at least one  $L_A$  allele respond better to the treatment.
4. In older adults, the biological epistasis between *SLC6A4* and *BDNF* genes has been proven physiologically. Subjects with  $L'L'$  and Val/Val genotypes respond poorly to the nutritional intervention, while subjects with at least one  $S'$  or Met allele see the greatest benefit as it improves their depressive symptoms and social cognitive skills.



## 7. Bibliografía •••

---



Abad-Santos F.; Novalbos-Reina J.; Gallego-Sandín S.; García A.G. "Tratamiento del deterioro cognitivo leve: utilidad de la citicolina". *Rev. Neurol.* **2002**. 35(7), 675-682.

Abellán-García A.; Aceituno-Nieto P.; Pérez-Díaz J.; Ramiro-Fariñas D.; Ayala-García A, Pujol-Rodríguez R. "Un perfil de las personas mayores en España. **2019**. Indicadores estadísticos básicos". Madrid, *Informes Envejecimiento en red no 22*, 38p. [Fecha de publicación: 06/03/2019].

Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN). "Niveles Máximos de Ingesta Admisible (Tolerable Upper Intake Level) para vitaminas y minerales evaluados por EFSA". *Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad, subdirección General de Promoción de Seguridad Alimentaria*. **2015**.

Ahmed A.T.; Biernacka J.M.; Jenkins G.; Rush A.J.; Shinozaki G.; Veldic M.; Kung S.; Bobo W.V.; Hall-Flavin D.K.; Weinshilboum R.M.; Wang L.; Frye M.A. "Pharmacokinetic-Pharmacodynamic interaction associated with venlafaxine-XR remission in patients with major depressive disorder with history of citalopram/escitalopram treatment failure". *Journal of Affective Disorders*. **2019**. 246, 62-68.

Aleksandrova K.; Pounis F.; di Giuseppe R. Capítulo 12 "Diet, Healthy Aging, and Cognitive Function". De: Pounis G. "Analysis in Nutrition Research. Principles of statistical methodology and interpretation of results". **2019**. Ed. *Elsevier Inc.* pp 321-336. ISBN: 978-0-12-814556-2.

Altavilla C.; Caballero-Pérez P.; Tuells J. "High cooking skills do not lead to healthy Mediterranean eating habits. Focus on catering students". *International Journal of Gastronomy and Food Science*. **2019**. 17, 100169.

Altmann V.; Schumacher-Schuh A.F.; Rieck M.; Callegari-Jacques S.M.; Rieder C.R.; Hutz M.H. "Val66Met BDNF polymorphism is associated with Parkinson's disease cognitive impairment". *Neuroscience Letters*. **2016**. 615, 88-91.

Alvarado-García A.M.; Salazar-Maya A.M. "Análisis del concepto envejecimiento". *Gerokomos*. **2014**. 25(2), 57-62.

Álvarez-Guerra O.M.; Ulloa-Arias B.; Fernández-Duarte J.; Castellanos-Carmenate T.; González de la Paz J.E. "Afecciones digestivas más frecuentes en el adulto mayor". *MEDISAN*. **2010**. 14(4), 511-518.

Amara S.; Kuhar M. "Neurotransmitter transporters: recent progress". *Annual Review of Neuroscience*. **1993**. 16, 73-93.

Amaral-Alves D.; Hernández-Regidos N.; Basabe Baraño N.; Rocandio Pablo A.M.; Arroyo-Izaga M. "Satisfacción corporal y calidad de la dieta en estudiantes universitarias del País Vasco". *Endocrinol. Nutr.* **2012**. 59(4), 239-245.

Ancelin M.L.; Scali J.; Norton J.; Ritchie K.; Dupuy A.M.; Chaudieu I.; Ryan J. "Heterogeneity in HPA axis dysregulation and serotonergic vulnerability to depression". *Psychoneuroendocrinology*. **2017**. 77, 90-94.

Andersen J.; Stuhr-Hansen N.; Zachariassen L.; Toubro S.; Hansen S.M.R.; Eildal J.N.N.; Bond A.D.; Bøgesø K.P.; Bang-Andersen B.; Kristensen A.S.; Strømgaard K. "Molecular determinants for selective recognition of antidepressants in the human serotonin and norepinephrine transporters". *Proc.Natl. Acad. Sci U.S.A.* **2011**. 108(29), 12137-12142.

Arioli M.; Crespi C.; Canessa N. "Social cognition through the lens of cognitive and clinical neuroscience". *Biomed. Res. Int.* **2018**. 4283427.

Armas-Castañeda G.; Pezoa Jares R.E.; Vásquez Medina J.A. "Factor neurotrófico derivado del cerebro en el trastorno depresivo mayor". *Medigraphic*. **2010**. 5(1), 19-21.

Artan M.; Hwang A.B.; Lee S.J.V.; Nam H.G. "Meeting Report: International Symposium on the Genetics of Aging and Life History II". *Aging*. **2015**. 7(6), 362-369.

Asociación Americana de Psiquiatría (AAP). Sección 2 "Criterios diagnósticos y Códigos de Trastornos Depresivos" En "Guía de consulta de los criterios diagnósticos del DSM-5™". Ed. *American Psychiatric Publishing*. **2014**. pp 103-128. ISBN: 978-0-89042-551-0.

Auerbach R.P.; Mortier P.; Bruffaerts R.; Alonso J.; Benjet C.; Cuijpers P.; Demttenaere K.; Ebert D.D.; Green J.G.; Hasking G.; Murray E.; Nock M.K.; Pinder-Amaker S.; Sampson N.A.; Stein D.K.; Vilagut G.; Zaslavsky A.M.; Kessler R.C.



“WHO world mental health surveys international college student project: prevalence and distribution of mental disorders”. *J. Abnorm. Psychol.* **2018**. 127, 623-638.

Badawy A.A.B. “Tryptophan metabolism, disposition and utilization in pregnancy”. *Biosci. Rep.* **2015**. 35, e00261. doi: 10.1042/BSR20150197.

Bailer U.F.; Frank G.K.; Henry S.E.; Price J.C.; Meltzer C.C.; Becker C.; Ziolkowski S.K.; Mathis C.A.; Wagner A.; Barbarich-Marsteller N.C.; Putnam K.; Kaye W.H. “Serotonin transporter binding after recovery from eating disorders”. *Psychopharmacology.* **2007**. 195(3), 315-324.

Bailey P.E.; Henry J.D.; Von-Hippel W. “Empathy and social functioning in late adulthood”. *Aging Ment. Health.* **2008**. 12, 499-503.

Balanza-Gallardo S.; Morales-Moreno I.; Guerrero-Muñoz J. “Prevalencia de ansiedad y depresión en una población de estudiantes universitarios: factores académicos y sociofamiliares asociados”. *Clínica y Salud.* **2009**. 20(2), 177-187.

Baron-Cohen S.; Wheelwright S. “The Empathy Quotient: An Investigation of Adults with Asperger Syndrome or High Functioning Autism, and Normal Sex Differences”. *J. Autism Dev. Disord.* **2004**. 34(2), 163–175.

Baron-Cohen S.; Wheelwright S.; Hill J.; Raste Y.; Plum I.. “The “Reading the Mind in thre Eyes” Test revised version: a study with normal adults, and adults with Asperger Syndrome or High-functioning Autism”. *J. Child Psychol. Psychiat.* **2001**. 42(2), 241-251.

Bawari S.; Tewari D.; Argüelles S.; Sah A.N.; Nabawi S.F.; Xu S.; Vacca R.A.; Nabavi S.M.; Shirooie S. “Targeting BDNF signaling by products: Novel synaptic repair therapeutics for neurodegeneration and behavior disorders”. *Pharmacological Research.* **2019**. 148, 104458.

Bayran N.; Bigel N. “The prevalence and socio-demographic correlations of depression, anxiety and stress among a group of university students”. *Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology.* **2008**. 43(8), 667-672.

Beck A.T.; Brown G.; Epstein N.; Steer R.A. “An inventory for measuring clinical anxiety: psycho-metric properties”. *J. Consult. Clin. Psychol.* **1988**. 56, 893-897.

Beck A.T.; Steer R.; Brown G. "Beck Depression Inventory - II Manual". San Antonio, Texas: *The Psychological Corporation*. **1996**.

Belsky D.W.; Moffitt T.E.; Cohen A.A.; Corcoran D.L.; Levine M.E.; Prinz J.A.; Schaefer J.; Sugden K.; Williams B.; Poulton R.; Caspi A. "Eleven telomere, epigenetic clock, and biomarker-composite quantifications of biological aging: do they measure the Same Thing? *Am. J. Epidemiol.* **2018**. 187(6), 1220-1230.

Beltrán DMA, Cáceres MBA, Sierra GJV. "Importancia de la microbiota en la regulación fisiológica e inmunológica del sistema gastrointestinal". *Biociencias*. **2017**. 1(2), 43.51.

Berger M.; Gray J.A.; Roth B.L. "The expanded biology of serotonin". *Annual Review of Medicine*. **2009**. 60, 355–366.

Beven J.P.; O'Brien-Malone A.; Hall G. "Using the interpersonal reactivity index to assess empathy in violent offenders. *International Journal of Forensic Psychology*. 2004. 1(2)-33-41.

Bishop NA, Lu T, Yankner BA. Neural mechanisms of ageing and cognitive decline. *Nature*. **2010**. 464 (7288), 529-535.

Bonvicini C.; Minelli A.; Scassellati C.; Bortolomasi M.; Segala M.; Sartori R.; Giacomuzzi M.; Gennarelli M. "Serotonin transporter gene polymorphisms and treatment-resistant depression". *Prog. Neuro-Psychoph.* **2010**. 34(6), 934-939.

Boullosa O.; López-Mato A.; Cetkovich B.; Ciprian-Olliver J. "Actualización en Serotonina". *Revista Argentina de Clínica Neuropsiquiátrica*. **1992**. 2,327-336.

Bowman S.A.; Lino M.; Gerrior S.A.; Basiotis P.P. "The Healthy Eating Index: 1994-1996". U.S. *Department of Agriculture, Center for Nutrition Policy and Promotion*. CNPP-5. **1998**. 1-19.

Bravo R.; Matito S.; Cubero J.; Paredes S.D.; Franco L.; Rivero M.; Rodríguez A.B.; Barriga C. "Tryptophan-enriched cereal intake improves nocturnal sleep, Melatonin, Serotonin, and total antioxidant capacity levels and mood in elderly humans". *Age*. **2013**. 35, 1277-1285.

Bravo R.; Ugartemendia L.; Cubero J.; Rodríguez A.B.; Barriga C. "Nutritional tables to improve mood disorders". *Annals of Depression and Anxiety*. **2015**. 2(5), 1059.

Briganti G.; Kempnaers C.; Braun S.; Fried E.I.; Linkowski P. "Network analysis of empathy items from the interpersonal reactivity index in 1973 young adults". *Psychiatry Research*. **2018**. 265, 87-92.

Brizio A.; Gabbatore I.; Tirassa M.; Bosco F.M. "No more a child, not yet an adult: studying social cognition in adolescence". *Front. Psychol*. **2015**. 6, 1011-1023.

Brizio A.; Gabbatore I.; Tirassa M.; Bosco F.M. "No more a child, not yet an adult: studying social cognition in adolescence". *Front. Psychol*. **2015**. 6, 1011-1023.

Brüne M. "Emotion recognition, "theory of mind" and social behaviour in schizophrenia". *Psychiatry Res*. **2005**. 133, 135-147.

Cañas M.; Buschiazzo H. "Uso de medicamentos en ancianos". *FEMEBA*. **2000**. 58, 8-9.

Caroleo M.; Primerano A.; Rania M.; Aloï M.; Pugliese V.; Magliocco F.; Fazio G.; Filippo A.; Sinopoli F.; Ricchio M.; Arturi F.; Jimenez-Murcia S.; Fernandez-Aranda F.; de Fazio P.; Segura-Garcia C. "A real world study on the genetic, cognitive and psychopathological differences of obese patients clustered according to eating behaviours". *European Psychiatry*. **2018**. 48, 58-64.

Caspi A.; Sugden K.; Moffitt T.E.; Taylor A.; Craig I.W.; Harrington H.; McClay J.; Mill J.; Martin J.; Braithwaite A.; Poulton R. "Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene". *Science*. **2003**. 301(5631), 386–389.

Cataldo L.R.; Suazo J.; Olmos P.; Bravo C.; Galgani J.E.; Fex M.; Martínez J.A.; Santos J.L. "Platelet serotonin levels are associated with plasma soluble leptin receptor concentrations in normoglycemic women". *Journal of Diabetes Research*. **2019**. ID 2714049. <https://doi.org/10.1155/2019/2714049>.

Cazzuffi C.; López-Moreno D. "Psychosocial wellbeing and place characteristics in Mexico". *Health and Place*. **2018**. 50, 52-64.

Chacón-Cuberos R.; Zurita-Ortega F.; Castro-Sánchez M.; Espejo-Garcés T.; Martínez-Martínez A.; Lucena-Zurita M. “Análisis descriptivo del consumo de sustancias nocivas, adhesión a la dieta Mediterránea y tipo de residencia en estudiantes universitarios de Granada”. *Rev. Complut. Educ.* **2017**. 28(3), 823-837.

Chen J.P.; Chen G.C.; Wang X.P.; Qin L.; Bai Y. “Dietary Fiber and Metabolic Syndrome: A Meta-Analysis and Review of Related Mechanisms”. *Nutrients*. **2018**. 10(24), 1-17.

Chiba T.; Maeda T.; Tairabune T.; Tomita T.; Sanbe A.; Takeda R.; Kikuchi A.; Kudo K. “Analysis of Serotonin concentrations in human milk by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection”. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. **2017**. 485(1). 102-106.

Childs B.G.; Durik M.; Baker D.J.; van Deursen J.M. “Cellular senescence in aging and age-related disease: from mechanisms to therapy”. *Nat Med*. **2015**. 21(12): 1424-1435.

Choi M.J.; Kang R.H.; Lim S.W.; Oh K.S.; Lee M.S. “Brain-derived neurotrophic factor gene polymorphism (Val66Met) and citalopram response in major depressive disorder”. *Brain Research*. **2006**. 1118, 176-182.

Chung Y.S.; Barch D.; Strube M. “A meta-analysis of mentalizing impairments in adults with schizophrenia and autism spectrum disorder”. *Schizophr. Bull.* **2014**. 40(3), 602-616.

Cipriani A.; Purgato M.; Furukawa T.A.; Trespidi C.; Imperadore G.; Signoretti A.; Churchill R.; Watanabe N.; Barbui C. “Citalopram versus other anti-depressive agents for depression”. *Cochrane Database Syst. Rev.* **2014**. 7, CD006534.

Clare L.; Wu Y.T.; Teale J.C.; MacLeod C.; Matthews F.; Brayne C.; Woods B.; CFAS-Wales study team. “Potentially modifiable lifestyle factors, cognitive reserve, and cognitive function in later life: A cross-sectional study”. *PLoS Med*. **2017**. 14(3), e1002259.

Correia-Melo F.S.; Leal G.C.; Vieira F. Jesus-Nunes A.P.; Mello R.P.; Magnavita G.; Caliman-Fontes A.T.; Echegaray M.V.F.; Bandeira I.D.; Silva S.S.; Cavalcanti D.R.; Araújo-de-Freitas L.; Sarin L.M.; Tuena M.A.; Nakahira C.; Sampaio A.S.; Del-Porto J.A.; Turecki G.; Quarantini L.C. “Efficacy and safety of adjunctive therapy using

esketamine or racemic ketamine for adult treatment-resistant depression: A randomized, double-blind, non-inferiority study”. *Journal of Affective Disorders*. **2019**. <https://doi.org/10.1016.j.jad.2019.11.086>.

Coryell W. “Trastornos del estado de ánimo: trastornos depresivos”. Manual MERCK, versión para profesionales. **2018**. [online] Disponible en: [https://www.merckmanuals.com/es-us/professional/trastornos-psiquiátricos/trastornos-del-estado-de-ánimo/trastornos-depresivos#v1028038\\_es](https://www.merckmanuals.com/es-us/professional/trastornos-psiquiátricos/trastornos-del-estado-de-ánimo/trastornos-depresivos#v1028038_es). [Acceso el 5 Dic. 2019].

Crespo-Santiago D.; Fernández-Viadero C. “Bases biomoleculares del envejecimiento neurocognitivo”. *Psicogeriatría*. **2011**. 3(1), 9-17.

Cubero J.; Ojalora B.B.; Bravo R.; Sánchez C.L.; Franco L.; Uguz A.C.; Rodríguez A.B.; Barriga C. “Distribution of 5-HT receptors in the mammalian brain”. *Trends in Cell & Molecular Biology*. **2011**. 6, 41-46.

D’Souza T.; Rajkumar A.P. “Systematic review of genetic variants associated with cognitive impairment and depressive symptoms in Parkinson’s disease”. *Acta Neuropsychiatrica*. Doi: 10.1017/neu.2019.28.

Daily J.W.; Park S. “Interaction of BDNF rs6265 variants and energy and protein intake in the risk for glucose intolerance and type 2 diabetes in middle-aged adults”. *Nutrition*. **2017**. 33, 187-194.

Dang Y.; An Y.; He J.; Huang B.; Zhu J.; Gao M.; Zhang S.; Wang X.; Yang B.; Xie Z. “Berberine ameliorates cellular senescence and extends the lifespan of mice via regulating p16 and cyclin protein expression”. *Aging Cell*. **2019**. OO, e13060. doi: 10.1111/accel.13060

Database G<sub>A</sub>. 2019 “GeneCards-Human Genes, Gene Database, Gene Search. [online] Disponible en: [www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=SLC6A4#snp](http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=SLC6A4#snp). [Acceso el 9 Dic. 2019].

Database G<sub>B</sub>. 2019 “GeneCards-Human Genes, Gene Database, Gene Search. [online] Disponible en: [www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=BDNF-AS#expression](http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=BDNF-AS#expression). [Acceso el 11 Dic. 2019].

Davin A.; Monti M.C.; Polito L.; Vaccaro R.; Abbondanza S.; Gnesi M.; Villani S.; Guaita A. "Influence of serotonin transporter gene polymorphisms and adverse life events on depressive symptoms in the elderly: a population-based study". *PLoS One*. **2015**. 10(11), e0143395.

Davis M.H. "A multidimensional Approach to Individual Differences in Empathy". *Catalog of Selected Documents in Psychology*. **1980**. 10, 85-105.

dbSNP-NCBI<sub>A</sub>. **2019**. "rs774676466 RefSNP Report". US. National Library of Medicine, National Center for Biotechnology Information. [online] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs774676466>. [Acceso el 9 Dic. 2019].

dbSNP-NCBI<sub>B</sub>. **2019**. "rs25531 RefSNP Report". US. National Library of Medicine, National Center for Biotechnology Information. [online] Disponible en: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs25531#variant\\_details](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs25531#variant_details). [Acceso el 9 Dic. 2019].

dbSNP-NCBI<sub>C</sub>. **2019**. "rs6265 RefSNP Report". US. National Library of Medicine, National Center for Biotechnology Information. [online] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs6265>. [Acceso el 11 Dic. 2019].

De Andrade F.M.; Bulhøes A.C.; Maluf S.W.; Schuch J.B.; Voigt F.; Lucatelli J.F.; Barros A.C.; Hutz M.H. "The influence of nutrigenetics on the lipid profile: interaction between genes and dietary habits". *Biochemical Genetics*. **2010**. 48, 342–355.

De Corte K.; Buysse A.; Berhofstadt L.L.; Roeyers H.; Ponnet K.; Davis M.H. "Measuring empathic tendencies: reliability and validity of the dutch version of the interpersonal reactivity index". *Psychologica Belgica*. **2007**. 47(4), 235-260.

Deal J.A.; Albert M.S.; Arnold M.; Bangdiwala S.I.; Chisolm T.; Davis S.; Eddins A.; Glynn N.W.; Goman A.M.; Minotti M.; Mosley T.; Rebok G.W.; Reed N.; Rodgers E.; Sanchez V.; Sharrett A.R.; Coresh J.; Lin F.R. "A randomized feasibility pilot trial of hearing treatment for reducing cognitive decline: results from the Aging and Cognitive Health Evaluation in Elders Pilot Study". *Alzheimer & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions*. **2017**, 3, 410-315.

Deal J.A.; Goman A.M.; Albert M.S.; Arnold M.L.; Burgard S.; Chisolm T.; Couper D.; Glynn N.W.; Gmelin T.; Hayden K.M.; Mosley T.; Pankow J.S.; Reed N.; Sanchez V.A.; Sharrett A.R.; Thomas S.D.; Coresh J.; Lin F.R. "Hearing treatment for reducing cognitive decline: Design and methods of the Aging and Cognitive health evaluation

in elders randomized controlled trial". *Alzheimer & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions*. **2018**. 4, 499-507.

Dear B.F.; Johnson B.; Singh A.; Wilkes B.; BRkic T.; Gupta R.; Jones M.P.; Bailey S.; Dudeney J.; Gandy M.; Fogliati R.; Titov N. "Examining an internet-delivered intervention for anxiety and depression when delivered as a part of routine care for university students: a phase IV trial". *Journal of Affective Disorders*. **2019**. 256, 567-577.

Donoghue O.A.; McGarrigle C.A.; Kenny R.A. "Who's in the driver's seat? Impact on social participation and psychosocial wellbeing in adults aged 50 and over". *Transportation Research Part F*. **2019**. 64, 522-531.

Drewnowski A.; Fiddler E.C.; Dauchet L.; Galan P.; Hercberg S. "Diet quality measures and cardiovascular risk factors in France: applying the Healthy Eating Index to the SU.VI.MAX Study". *Journal of the American College of Nutrition*. **2019**. 28(1), 22-29.

Erdur-Baker Ö.; Bugay A. "The short version of ruminative response scale: reliability, validity and its relation to psychological symptoms". *Procedia Soc. and Behav. Sci*. **2010**. 5, 2178-2181.

Erspamer V.; Asero B. "Identification of enteramine, the specific hormone of the enterochromaffin cell system, as 5-hydroxytryptamine". *Nature*. **1952**. 169, 800-801.

Escoriza M.D.M.O.; Gázquez A.A.; Guerrero C.H. Capítulo 22: "Vulnerabilidad del anciano ante la nutrición". De: Gázquez-Linares J.J.; Pérez- Fuentes M.C.; Molero-Jurado M.M.; Mercader-Rubio I.; Soler-Flores F. "Investigación en salud y envejecimiento Volumen I". Ed. *ASUNIVEP*. **2014**. pp: 141-143. ISBN: 978-84-617-1388-2.

Escudero-Álvarez E.; González-Sánchez P. "La fibra dietética". *Nutr. Hosp*. **2006**. 21(2), 61-72.

Esteban S.; Nicolaus C.; Garmundi A.; Rial R.V.; Rodríguez A.B.; Ortega E.; Barriga-lbars C. "Effect of orally administered L-tryptophan on Serotonin, Melatonin, and the innate immune response in the rat". *Molecular and Cellular Biochemistry*. **2004**. 267, 39-46.

Fava G.A.; Gatti A.; Belaise C.; Guidi J.; Offidani E. "Withdrawal Symptoms after Selective Serotonin Reuptake Inhibitor Discontinuation: a systematic review". *Psychotherapy and Psychosomatics*. **2015**. 84, 82-81.

Fenech M.; El-Sohehy A.; Cahill L.; Ferguson L.R.; French T.A.C.; Tai E.S.; Milner J.; Koh W.P.; Xie L.; Zucker M.; Buckley M.; Cosgrove L.; Lockett T.; Fung K.Y.C.; Head R. "Nutrigenetics and Nutrigenomics: Viewpoints on the Current Status and Applications in Nutrition Research and Practice". *Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics*. **2011**. 4, 69-89.

Fernández J.L.; Benito J. "Panorama actual de la Nutrigenómica. ¿Esperanza o Realidad?". *Nutrición Clínica y Dietética Hospitalaria*. **2008**. 28(3), 38-47.

Finn A.S.; Kraft M.A.; West M.R.; Leonard J.A.; Bish C.E.; Martin R.E.; Sheridan M.A.; Gabrieli C.F.O.; Gabrieli J.D.E. "Cognitive Skills, Student Achievement Test, and Schools". *Psychol. Sci*. **2014**. 25(3), 736-744.

Firk C.; Markus C.R. "Mood and cortisol responses following tryptophan-rich hydrolyzed protein and acute stress in healthy subjects with high and low cognitive reactivity to depression". *Clinical Nutrition*. **2009**. 28, 266-271.

Fisher P.M.; Ozenne B.; Svarer C.; Adamsen D.; Lehel S.; Baaré W.F.C.; Jensen P.S.; Knudsen G.M. "BDNF val66met association with serotonin transporter binding in healthy humans". *Transl. Psychiatry*. **2017**. 7, e1029.

Fond G.; Young A.H.; Godin O.; Messiaen M.; Lancon C.; Auquier P.; Boyer L. "Improving diet for psychiatric patients: High potential benefits and evidence for safety". *Journal of Affective Disorders*. **2019**. [doi.org/10.1016/j.jad.2019.11.092](https://doi.org/10.1016/j.jad.2019.11.092)

Froud A.; Murphy J.; Cribb L.; Ng C.H.; Sarris J. "The relationship between dietary quality, serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF) level, and the Val66Met polymorphism in predicting depression". *Nutritional Neuroscience*. **2019**. 22(7), 513-521.

Fukagawa N.K.; Yu Y.M. "Nutrition and Metabolism of proteins and Amino acids". En: *Introduction to Human Nutrition*. Editores: Gibney M.J.; Lanham-New S.A.; Cassidy A.; Vorster H.H. Wiley-Blackwell, p49-72, **2009**.



Fumeron F.; Betoulle D.; Nicaud V.; Evans A.; Kee F.; Ruidavets J.B.; Arveiler D.; Luc G.; Cambien F. "Serotonin Transporter Gene Polymorphism and Myocardial Infarction. Etude Cas-Témoins de l'Infartus du Myocarde (ECTIM)". *Circulation*. **2002**. 105, 2943-2945.

Gao J.; Xu K.; Liu H.; Liu G.; Bai M.; Peng C.; Li T.; Yin Y. "Impact of the gut microbiota on intestinal immunity mediated by tryptophan metabolism". *Front. Cell. Infect. Microbiol.* **2018**. 8,13. Doi: 10.3389/fcimb.2018.00013

García-Gabarra A.; Castellà-Soley M.; Calleja-Fernández A. "Ingestas de energía y nutrientes recomendadas en la Unión Europea: 2008-2016". *Nutr. Hosp.* **2017**. 34(2), 490-498.

Garrido M.; Espino J.; González-Gómez D.; Lozano M.; Barriga C.; Paredes S.D.; Rodríguez A.B. "The consumption of a Jerte Valley cherry product in humans enhances mood, and increases 5-hydroxyindolacetic acid but reduces cortisol levels in urine". *Experimental Gerontology*. **2012**. 47(8), 573-580.

Genua-Goena M.A. "Nutrición y Valoración del estado nutricional en el anciano". Matia Fundazioa. **2001**, 1-21. Recuperado de [www.matiaf.net/profesionales/articulos](http://www.matiaf.net/profesionales/articulos).

German J.B.; Zivkovic A.M.; Dallas D.C.; Smilowitz J.T. "Nutrigenomics and personalized diets: What will they mean for food?". *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* **2011**. 2, 97-123.

Ghasemi M, Philips C, Fahimi A, McNemey MW, Salehi A. "Mechanisms of action and clinical efficacy of NMDA receptor modulators in mood disorders. *Neurosci Biobehav.* **2017**. 80, 555-572.

Gilet A.L.; Studer J.; Mella N.; Grün D.; Labouvie-Vief G. "Assessing dispositional empathy in adults: a French validation of the Interpersonal Reactivity Index (IRI)". *Canadian Journal of Behavioural Sciences*. **2013**. 45(1), 42-48.

González F.; Ruiz P. "Cognición Social". En: "Manual de introducción a la Psicología Cognitiva". Editor: Vasquez A. *Universidad de la República*, p253-276, **2015**.

González-Lienres C.; Tas C.; Brown E.C.; Erdin S.; Onur E.; Cubukcoglu Z.; Aydemir O.; Esen-Danaci A.; Brüne M. "Oxidative stress in schizophrenia: a case-

control study on the effects on social cognition and neurocognition". *BMC Psychiatry*. **2014**. 14, 268-276.

Green M.F.; Olivier B.; Crawley J.N.; Penn D.L.; Silverstein S. "Social Cognition in Schizophrenia: Recommendations from the Measurement and Treatment Research to Improve Cognition in Schizophrenia New Approaches Conference". *Schizophr. Bull.* **2005**. 31, 882-887.

Greenberg M.E.; Xu B.; Lu B.; Hempstead B.L. "New insights in the biology of BDNF synthesis and release: implications in CNS function". *J Neurosci*. **2009**. 29(41), 12764–12767.

Grupo Colaborativo de la Sociedad Española de Nutrición Comunitaria (SENC). "Objetivos nutricionales para la población española. Consenso de la Sociedad Española de Nutrición Comunitaria". *Rev. Esp. Nutr. Comunitaria*. **2011**. 17(4), 178-199.

Guendelman S.; Garay L.; Miño V. "Neurobiología del trastorno de personalidad límite". *Rev. Med. Chile*. **2014**. 142, 204-210.

Guo W.; Ji Y.; Wang S.; Sun Y.; Lu B. "Neuronal activity alters BDNF-TrkB signaling kinetics and downstream functions". *Journal of Cell Science*. **2014**. 127, 2249-2260.

Gutiérrez C.I.; Urbina M.; Obregon F.; Glykys J.; Lima L. "Characterization of tryptophan high affinity transport system in pinealocytes of the rat. Day-night modulation". *Amino Acids*. **2003**. 25(1), 95–105.

Gyurak A.; Haase C.M.; Sze J.; Gorkin M.S.; Coppola G.; Lane J.; Miller B.L.; Levenson R.W. "The effect of the serotonin transporter (5-HTTLPR) polymorphism on empathic and self-conscious emotional reactivity". *Emotion*. **2013**. 13(1), 25-35.

Haile C.N.; Mahoney J.J.; Newton T.F.; De La Garza R. "Pharmacotherapeutics directed at deficiencies associated with cocaine dependence: focus on dopamine, norepinephrine and glutamate". *Pharmacol. Ther.* **2012**. 134(2), 260-277.

Health Quality Ontario (HQO). "Psychotherapy for Major Depressive Disorder and Generalized Anxiety Disorder: a health Technology assessment". *Ont. Health Technol. Assess. Ser.* **2017**. 17(15), 1-167.

Hendrie H.C.; Albert M.S.; Butters M.A.; Gao S.; Knopman D.S.; Launer L.J.; Yaffe K.; Cuthbert B.N.; Edwards E.; Wagster M.V. "The NIH cognitive and emotional Health project: report of the critical evaluation study committee". *Alzheimers Dement.* **2006.** 2(1), 12-32.

Hervás G. "Adaptación al castellano de un instrument para evaluar el estilo rumiativo: La escala de respuestas rumiativas". *Revista de Psicopatología y Psicología Clínica.* **2008.** 13(2), 111-121.

Hilger J.; Loerbroks A.; Diehl K. "Eating behavior of university students in Germany: dietary intake, barriers to healthy eating and changes in eating behavior since the time of matriculation". *Appetite.* **2017.** 109, 100-107.

Homberg J.R.; Lesch K.P. "Looking on the bright side of serotonin transporter gene variation". *Biological Psychiatry.* **2010.** 69, 513–519.

Hosang G.M.; Shiles C.; Tansey K.E.; McGuffin P.; Uher R. "Interaction between stress and the BDNF Val66Met polymorphism in depression: a systematic review and meta-analysis". *BMC Medicine.* **2014.** 12, 7.

Hosking D.E.; Eramudugolla R.; Cherbuin N.; Anstey K.J. "MIND not Mediterranean diet related to 12-year incidence of cognitive impairment in an Australian longitudinal cohort study". *Alzheimer's and Dementia.* **2019.** 15, 581-589.

Instituto Nacional de Estadística (INE). "Indicadores de la Calidad de Vida. Salud. Esperanza de vida en buena salud". *INE,* **2019.** 1-6.

Iqbal M.U.N.; Yagoob T.; Ali S.A.; Khan T.A. "Neurotrophic factor gene and breast cancer: an association study". *Breast Cancer (Auckl.).* **2019.** 13, 1-5.

Jacka F.N. "Nutritional Psychiatry: Where to next?". *EBioMedicine.* **2017.** 17, 24-29.

Jang H.; Serra C. "Nutrition, Epigenetics, and Diseases". *Clinical Nutrition Research.* **2014.** 3(1), 1-8.

Januar V.; Ancelin M.L.; Ritchie K.; Saffery R.; Ryan J. "BDNF promoter methylation and genetic variation in late-life depression". *Transl. Psychiatry.* **2015.** 5(8), e619. doi: 10.1038/tp.2015.114.

Jéquier E.; Constant F. "Water as an essential nutrient: the physiological basis of hidratation". *Eur. J. Clin. Nutr.* **2010**. 64, 115-123.

Jiang R.; Babyak M.A.; Brummett B.H.; Hauser E.R.; Shah S.H.; Becker R.C.; Siegler I.C.; Singh A.; Haynes C.; Chryst-Ladd M.; Craig D.M.; Williams R.B. "Brain-derived neurotrophic factor rs6265 (Val66Met) polymorphism is associated with disease severity and incidence of cardiovascular events in a patient cohort". *American Heart Journal.* **2017**. 190, 40-45.

Juhasz G.; Dunham J.S.; Mckie S.; Thomas E.; Downey D.; Chase D.; Lloyd-Williams K.; Toth Z.G.; Platt H.; Krisztina M.; Payton A.; Elliott R.; Williams S.R.; Anderson I.M.; Deakin J.F.W. "The CREB1-BDNF-NTRK2 Pathway in Depression: Multiple Gene-Cognition-Environment Interactions". *Biological Psychiatry.* **2011**. 69(8), 762-771.

Kaplan B.J.; Field C.J.; Crawford S.G.; Simpson J.S.A. "Vitamins, Minerals, and Mood". *Psychol Bull.* **2007**. 133(5), 747-760.

Kitzlerová E.; Fisar Z.; Lelková P.; Jirák R.; Zverová M.; Hroudová J.; Manukyan A.; Martásek P.; Raboch J. "Interactions among polymorphisms of susceptibility *Loci* for Alzheimer's Disease or Depressive Disorder". *Med. Sci. Monit.* **2018**. 24, 2599-2619.

Kowianski P.; Lietzau G.; Czuba E.; Waskow M.; Steliga A.; Morys J. "BDNF: a key factor with multipotent impact on brain signaling and synaptic plasticity". *Cellular and molecular Neurobiology.* **2018**. 38(3), 579-593.

Kronenberg S.; Apter A.; Brent D.; Schirman S.; Melhem N.; Pick N.; Gothelf D.; Carmel M.; Frisch A.; Weizman A. "Serotonin transporter polymorphism (5-HTTLPR) and citalopram effectiveness and side effects in children with depression and/or anxiety disorders". *J. Child. Adolesc. Psychopharmacol.* **2007**. 17(6), 741-750.

Lam D.; Ancelin M.L.; Ritchie K.; Freak-Poli R.; Saffery R.; Ryan J. "Genotype-dependant associations between serotonin transporter gene (SLC6A4) DNA methylation and late-life depression". *BMC Psychiatry.* **2018**. 18, 282. <https://doi.org/10.1186/s12888-018-1850-4>.

Lang F.; Waldegger S. "Regulating cell volume". *Am. Sci.* **1997**. 85, 456-463.

- León-García M. "Serotonina, ciclo menstrual y síndrome premenstrual". *Medicina Naturista*, **2015**. 9(2), 103-108.
- Lesch K.P.; Balling U.; Gross J.; Strauss K.; Wolozin B.L.; Murphy D.L.; Riederer P. "Organization of the human serotonin transporter gene". *J. Neural. Trans. Gen. Sect.* **1994**. 95(2), 157-162.
- Lesch K.P.; Bengel D.; Heils A.; Sabol S.Z. " Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region". *Science*. **1996**. 274(5292), 1527–1531.
- Li S, Hua D, Wang Q, Yang L, Wang X, Luo A, Yang C. "The role of bacteria and its derived metabolites in chronic pain and depression: Recent findings and research progress". *International Journal of Neuropsychopharmacology*. **2019**. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyz061>.
- Lima M.M.; Balladares N.; Bermúdez A.; López G.; Soltero I. "Bases fisiológicas del metabolismo de lipoproteínas". *Infor. Med.* **2011**. 13(8), 363-370.
- Lindström M.; Tohmola N.M.; Renkonen R.; Hämäläinen E.; Schalin-Jääntti C.; Itkonen O. "Comparison of serum serotonin and serum 5-HIAA LC-MS/MS assays in the diagnosis of serotonin producing neuroendocrine neoplasms: A pilot study". *Clinica Chimica Acta*. **2018**. 482, 78-83.
- Lippi G.; Mattiuzzi C.; Sanchis-Gomar F. "Updated overview on interplay between physical exercise, neurotrophins, and cognitive function in humans". *Journal of Sport and Health Science*. **2019**. <http://doi.org/10.1016/j.jshs.2019.07.012>
- Liu Q.R.; Walther D.; Drgon T.; Poleskaya O.; Lesnick T. G.; Strain K. J.; de Andrade M.; Bower J. H.; Maraganore D. M.; Uhl G. R. "Human brain derived neurotrophic factor (BDNF) genes, splicing patterns, and assessments of associations with substance abuse and Parkinson's disease". *Am. J. Med. Genet.* **2005**. 134B, 93-103.
- Lodhi R.J.; Wang Y.; Macintyre G.; Crocker C.; Loverock A.; Henriques B.C.; Heywood B.; Sivapalan S.; Bowker A.; Majeau B.; Bolt C.; Bugbee D.; Newton V.; Tibbo P.; Purdon S.E.; Aitchison K.J. "Trend level gene-gender interaction effect for the BDNF rs6265 variant on age of onset of psychosis". *Psychiatry Research*. **2019**. 280, 112500.

Logan A.C.; Jacka F.N. "Nutritional psychiatry research: an emerging discipline and its intersection with global urbanization, environmental challenges and the Evolutionary mismatch". *J. Physiol. Anthropol.* **2014.** 33(1), 22-37.

López-Otín C.; Blasco M.A.; Partridge L.; Serrano M.; Kroemer G. "The Hallmarks of Aging". *Cell.* **2013.** 153, 1194-1217.

López-Pérez B.; Fernández-Pinto I. "Diferencias de edad en empatía: desde la adolescencia hasta la tercera edad". *Ansiedad y Estrés.* 2010. 16, 139-150.

Lovelace MD, Varney B, Sundaram G, Lennon MJ, Lim CK, Jacobs K, Guillemin GJ, Brew BJ. "Recent evidence for an expanded role of the kynurenine pathway of Tryptophan metabolism in neurological diseases". *Neuropharmacology.* **2017.** 112: 373-388.

Lu B.; Pang P.T.; Woo N.H. "The yin and yang of neurotrophin action". *Nature Reviews Neuroscience.* **2005.** 6, 603-614.

Luddington N.S.; Mandadapu A.; Husk M.; El-Mallakh R.S. "Clinical implications of genetic variation in the serotonin transporter promoter region: a review". *Prim. Care Companion J. Clin. Psychiatry.* **2009.** 11(3), 93-102.

Lukaski H.C. "Vitamin and mineral status: effects on physical performance". *Nutrition.* **2004.** 20 (7-8), 632-644.

Maiese M. "Affective scaffolds, Expressive Arts and Cognition". *Front. Psychol.* **2016.** 7, 359-369.

Major Depressive Disorder Working Group of the Psychiatric GWAS Consortium (MDD working group of the PCG). "A mega-analysis of genome-wide association studies for major depressive disorder". *Molecular Psychiatry.* **2013.** 18, 497-511.

Margoni F.; Geipel J.; Hadjichristidis C.; Surian L. "Moral Judgment in old age". *Exp. Psychol.* **2018.** 65(2), 105-114.

Marín-Sánchez M.; García-González A.J. "Calidad de vida en la tercera edad desde la salud y el estado de bienestar psicosocial". *Mapfre Medicina.* **2004.** 15(3), 177-185.

Martín-García M.J.; Gómez-Becerra I.; Chávez-Brown M.; Greer D. "Toma de perspectiva y Teoría de la mente: aspectos conceptuales y empíricos. Una propuesta complementaria y pragmática". *Salud Mental*. **2006**. 29(6), 1-14.

Martínez J.A.; Portillo M.P. "Ciencias de la Alimentación. En: Fundamentos de Nutrición y Dietética: Bases metodológicas y aplicaciones". Editorial *Panamericana*. **2011**, pp:3-9. ISBN: 978-84-9835-397-6.

Martínez-Ezquerro J.D.; Rendón-Macías M.E.; Zamora-Mendoza G.; Serrano-Meneses J.; Rosales-Rodríguez B.; Escalante-Bautista D.; Rodríguez-Cruz M.; Sánchez-González R.; Arellano-Pineda Y.; López-Alarcón M.; Zampedri M.C.; Rosas-Vargas H. "Association between the brain-derived neurotrophic factor Val66Met polymorphism and overweight/obesity in pediatric population". *Archives of Medical Research*. **2017**. 48(7), 599-608.

Martínez-Roldán C.; Veiga-Herreros P.; López-de Andrés A.; Cobo-Sanz J.M.; Carbajal-Azcona A. "Evaluación del estado nutricional de un grupo de estudiantes universitarios mediante parámetros dietéticos y de composición corporal". *Nutr Hosp*. **2005**. 20(3), 197-203.

Mataix-Verdú J. "Bases Fisiológicas Digestivas". En: "Nutrición y Alimentación Humana: Nutrientes y Alimentos". Ed Ergon. **2009**. pp 5-27, ISBN: 978-84-8473-665-3.

Matsunaga M.; Ishii K.; Ohtsubo Y.; Noguchi Y.; Ochi M.; Yamasue H. "Association between salivary serotonin and the social sharing of happiness". *PLoS ONE*. **2017**. 12(7), e0180391.

Mattson M.P.; Arumugam T.V. "Hallmarks of Brain Aging: adaptative and pathological modification by metabolic states". *Cell Metab*. 2018, 27(6), 1176-1199.

Maureira-Cid F. "Plasticidad sináptica, BDNF y ejercicio físico". *EmasF, Revista digital de educación física*. **2016**. 7(40), 51-63.

McCreary A.C.; Newman-Tancredi A. "Serotonin 5-HT1A Receptor and Antipsychotics- an update in light of new concepts and drugs". *Current Pharmaceutical Design*. **2015**. 21(26), 3725-3731.

McGregor N.W.; Dimatelis J.J.; Van Zyl P.J.; Hemmings S.M.J.; Kinnear C.; Russell V.A.; Stein D.J.; Lochner C. "A translational approach to the genetics of anxiety disorders". *Behavioural Brain Research*. **2017**. 341, 91-97.

Megeid F.Y.A.; Abdelkarem H.M.; El-Fetouh A.M. "Unhealthy nutritional habits in university students are a risk factor for cardiovascular diseases". *Saudi Med. J.* **2011**. 32(6), 621-627.

Meléndez J.C.; Satorres E.; Redondo R.; Escudero J.; Pitarque A. "Wellbeing, resilience, and coping: Are there differences between healthy older adults, adults with mild cognitive impairment, and adults with Alzheimer-type dementia". *Archives of Gerontology and Geriatrics*. **2018**. 77, 38-43.

Mendonca G.V.; Pezarat-Correia P.; Vaz J.R.; Silva L.; Heffernan K.S. "Impact of aging on endurance and neuromuscular physical performance: the role of vascular senescence". *Sports Med.* **2017**. 47, 583–598.

Minelli A.; Bonvicini C.; Scassellati C.; Sartori R.; Gennarelli M. "The influence of psychiatric screening in healthy populations selection: a new study and meta-analysis of functional 5-HTTLPR and rs25531 polymorphisms and anxiety-related personality traits". *BioMedCentral: Psychiatry*. **2011**. 11(1), 50-62.

Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (MICIU). 2019. "Retos sociales, Horizonte2020: Portal español del Programa Marco de Investigación e Innovación de la Unión Europea". [online] Disponible en: <https://eshorizonte2020.es/retos-sociales>. [Acceso el 16 Dic. 2019].

MINSAL :Ministerio de Salud, Gobierno de Chile. "Depresión en personas de 15 años y más. Guía Clínica AUGÉ, Serie Guías Clínicas MINSAL. **2013**. pp 1-144.

Miranda R.C.K.; Genro J.O.; Campagnolo P.D.B.; Mattevi V.S.; Vitolo M.R.; Almeida S. "Biallelic and triallelic approaches of 5-HTTLPR polymorphism are associated with Food intake and nutritional status in childhood". *The Journal of Nutritional Biochemistry*. **2017**. 1-13

Miranda R.C.K.; Genro J.P.; Campagnolo P.D.B.; Mattevi V.S.; Vitolo M.R.; Almeida S. "Biallelic and triallelic approaches of 5-HTTLPR polymorphism are associated with food intake and nutritional status in childhood". *Journal of Nutritional Biochemistry*. **2017**. 43, 47-52.



- Moberg T.; Nordström P.; Korslung K.; Kristiansson M.; Asberg M.; Jokinen J. "CSF 5-HIAA and exposure to and expression of interpersonal violence in suicide attempters". *Journal of Affective Disorders*. **2011**. 132 (1-2), 173-178.
- Moneta M.A. "Procesos afectivos, cognición y corporalidad". *Subjetividad y procesos cognitivos*. **2008**. 11, 136-143.
- Mora-Simón S.; García-García R.; Perea-Bartolomé M.V.; Ladera-Fernández V.; Unzueta-Arce J.; Patino-Alonso M.C.; Rodríguez-Sánchez E. "Deterioro cognitivo leve: detección temprana y nuevas perspectivas". *Rev. Neurol*. **2012**. 54(5): 303-310.
- Moran J.M.; Jolly E.; Mitchell J.P. "Social-cognitive deficits in normal aging". *J. Neurosci*. **2012**. 32(16), 5553-5561.
- Morris M.C.; Tangney C.C.; Wang Y.; Sacks F.M.; Barnes L.L.; Bennett D.A.; Aggarwal N.L. "MIND diet slows cognitive decline with aging". *Alzheimer's and Dementia*. **2015**. 11(9), 1015-1022.
- Mowla S.J.; Farhadi H.F.; Pareek S.; Atwal J.K.; Morris S.J.; Seidah N.G.; Murphy R.A. "Biosynthesis and post-translational processing of the precursor to brain-derived neurotrophic factor". *Journal of Biochemical chemistry*. **2001**. 276, 12660-12666.
- Mueller A.; Canli T. "Serotonin Transporter Gene". *Encyclopedia of Behavioral Medicine*. **2013**. 1769-1772.
- Myint A.; Schwars M.J.; Müller N. "The role of the kynurenine metabolism in major depression". *Journal of Neural Tansmision*. **2012**, 119, 245-251.
- Nakamura M.; Ueno S.; Sano A.; Tanabe H. "The human serotonin transporter gene linked polymorphism (5-HTTLPR) shows ten novel allelic variants". *Mol. Psychiatry*. **2000**. 5, 32-38.
- National Alliance on Mental Illness (NAMI). **2020**. "Mental Health by the Numbers: Infographics and Fact Sheets" [online] Disponible en: <https://www.nami.org/About-Mental-Illness/Mental-Health-by-the-Numbers/Infographics-Fact-Sheets> [Acceso el 10 Jul. 2020].

National Health and Medical Research Council (NHMRC). **2019**. "Nutrient Reference Values for Australia and New Zealand". Australian Government, Ministry of Health. [online] Disponible en: <https://www.nrv.gov.au/nutrients>. [Acceso el 15 Oct. 2019].

National Institute of Health (NIH), Office of Dietary Supplements. **2019**. "Nutrient Recommendations: Dietary Reference Intakes (DRI), US. Department of Health & Human Services. [online] Disponible en: [https://ods.od.nih.gov/Health Information/Dietary Reference Intakes.aspx](https://ods.od.nih.gov/Health%20Information/Dietary%20Reference%20Intakes.aspx). [Acceso el 15 Oct. 2019].

Naude C.E.; Schoonees A.; Senekal M.; Young T.; Garner P.; Volmink J. "Low carbohydrate versus isoenergetic balanced diets for reducing weight and cardiovascular risk: a systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE*. **2014**. 9(7), e100652.

Navarro-Mateu F.; Escámez T.; Quesada M.P.; Alcaráz M.J.; Vilagut G.; Salmerón D.; Huerta J.M.; Chirlaque M.D.; Navarro C.; Kessler R.C.; Alonso J.; Martínez S. "Modification of the risk of post-traumatic stress disorder (PTSD) by the 5-HTTLPR polymorphisms after Lorca's earthquakes (Murcia, Spain)". *Psychiatry Research*. **2019**. 282, 112640.

Navarro-Mateu F.; Tormo M.J.; Salmerón D.; Vilagut G.; Navarro C.; Ruíz-Merino G.; Escámez T.; Júdez J.; Martínez S.; Kessler R.C.; Alonso J. "Prevalence of mental disorders in the south-east of Spain, one of the European regions most affected by the economic crisis: the cross-sectional PEGASUS-Murcia Project". *PLoS One*. **2015**. 10(9); e0137293.

Ncbi.nlm.nih.gov. **2019**. "Home-OMIM-NCBI". [online] Disponible en: [www.omim.org/search/?index=entry&start=1&limit=10&sort=score+desc%2C+prefix\\_sort+desc&search=serotonin+depression](http://www.omim.org/search/?index=entry&start=1&limit=10&sort=score+desc%2C+prefix_sort+desc&search=serotonin+depression). [Acceso el 9 Dic.2019].

Nielsen D.E.; El-Sohehy A. "A randomized trial of genetic information for personalized nutrition". *Genes Nutr*. **2012**. 7, 559-566.

Nolen-Hoeksema S.; Morrow J. "A prospective study of depression and posttraumatic stress symptoms after a natural disaster: The 1989 Loma Prieta earthquake". *J. Pers. Soc. Psychol*. **1991**. 61(1), 115-121.

OECD. **2019**. "Demography, Elderly Population, OECD Data". OECD Better Policies for better lives. [online] Disponible en: <https://data.oecd.org/pop/elderly-population.htm>. [Acceso el 18 Jul. 2019].

Ohira K.; Hayashi M. "A new aspect of the TrkB signaling pathway in neural plasticity". *Curr Neuropharmacol*. **2009**, 7(4), 276-285.

Ordovás J.M.; Carmena R.; Corella D. "Nutrigenómica. Fundación Medicina y Humanidades Médicas". *Colección de Monografías Humanitas*. **2006**. 9, 21-44.

Ordovás J.M.; Corella D. "Nutritional Genomics". *Annual Review of Genomics and Human Genetics*. **2004**. 5, 71-118.

Ordovás J.M.; Mooser V. "The APOE locus and the pharmacogenetics of lipid response". *Current Opinion in Lipidology*. **2002**. 13(2), 113-117.

Organización Mundial de la Salud (OMS). "Dieta, nutrición y prevención de enfermedades crónicas". Serie de Informes Técnicos, Ginebra. OMS. **2003**.

Organización Mundial de la Salud (OMS). "Guía de Intervención para los trastornos mentales, neurológicos y por uso de sustancias en el nivel de atención de la salud no especializada. Programa de acción mundial para superar las brechas en salud mental". OMS. **2012**. pp 7-16. ISBN:978-92-4-354806-7.

Organización Mundial de la Salud (OMS). "Informe mundial sobre el envejecimiento y la salud". OMS. **2015**. pp, 27-44. ISBN: 978-92-4-069487-3.

Orosco M.; Rouch C.; Beslot F.; Feurte S.; Regnault A.; Daude V. "Alpha-lactalbumin-enriched diets enhance serotonin release and induce anxiolytic and rewarding effects in the rat". *Behav. Brain Res*. **2004**. 148, 1-10.

Ortega H.; Cacho R.; López-Goñi J.J.; Tirapu-Ustárriz J. "Empatía y juicios morales en población anciana". *Rev. Neurol*. **2014**. 59, 97-105.

Palego L.; Betti L.; Rossi A.; Giannaccini G. "Tryptophan biochemistry: structural, nutritional, metabolic, and medical aspects in humans". *Journal of Amino Acids*. **2016**. 1-13.

Pallesen S.; Jacobsen D.P.; Nielsen M.B.; Gjerstad J. "The 5-HTTLPR rs25531 LALA-genotype increases the risk of insomnia symptoms among shift workers". *Sleep Medicine*. **2019**. 60, 224-229.

Panagiotou G.; Nielsen J. "Nutritional systems biology: definitions and approaches". *Annu Rev Nutr*. **2009**. 29, 329–339.

Pawlikowski J.S.; Adams P.D.; Nelson D.M. "Senescence at a glance". *J Cell Sci*. **2013**. 126(18), 4061-4067.

Pei Y.; Smith A.K.; Wang Y.; Pan Y.; Yang J.; Chen Q.; Pan W.; Bao F.; Zhao L.; Tie C.; Wang Y.; Wang J.; Zhen W.; Zhou J.; Ma X. "The brain-derived neurotrophic factor (BDNF) Val66Met polymorphism is associated with geriatric depression: a meta-analysis". *Am. J. Med. Genet. B. Neuropsychiatr. Genet*. **2012**. 159B(5), 560-566.

Penn D.L.; Combs D. "Modification of affect perception deficits in schizophrenia". *Schizophr Res*. **2000**. 46, 217-229.

Peralta C.A. "Fisiología de la Nutrición". Editorial *McGraw-Hill Interamericana* México. **2012**. ISBN: 978-607-15-0670-2.

Peralta-Leal V.; Leal-Ugarte E.; Meza-Espinoza J.P.; Dávalos-Rodríguez I.P.; Bocanegra-Alonso A.; Acosta-González R.I.; Gonzales E.; Nair S.; Durán-González J. "Association of a serotonin transporter gene (SLC6A4) 5-HTTLPR polymorphism with body mass index categories but not type 2 diabetes mellitus in Mexicans". *Genet. Mol. Biol*. **2012**. 35(3), 589-593.

Pérez-Albéniz A.; de Paul J.; Etxebarria J.; Montes M.P.; Torres E. "Adaptación de Interpersonal Reactivity Index (IRI) al español". *Psichotema*. **2003**. 15, 267-272.

Pérez-Martínez V.T. "El deterioro cognitivo: una mirada previsor". *Rev. Cubana Med. Gen. Integr*. **2005**. 21(1-2).ISSN 1561-3038.

Petkeviciene J.; Smalinskiene A.; Luksiene D.I.; Jureniene K.; Ramazauskiene V.; Klumbiene J.; Lesauskaite V. "Associations between apolipoprotein E genotype, diet, body mass index, and serum lipids in lithuanian adult". *PLoS ONE*. **2012**. 7(7), e41525.

Pezawas L.; Meyer-Lindenberg A.; Goldman A.L.; Verchinski B.A.; Chen G.; Kolachana B.S.; Egan M.F.; Mattay V.S.; Hariri A.R.; Weinberger D.R. "Evidence of biologic epistasis between BDNF and SLC6A4 and implications for depression". *Molecular Psychiatry*. **2008**. 13, 709-716.

Plieger T.; Melchers M.; Vetterlein A.; Görtz J.; Kuhn S.; Ruppel M.; Reuter M. "The serotonin transporter polymorphism (5-HTTLPR) and coping strategies influence successful emotion regulation in an acute stress situation: Physiological evidence". *International Journal of Psychophysiology*. **2017**. 114, 31-37.

Plieger T.; Montag C.; Felten A.; Reuter M. "The serotonin transporter polymorphism (5-HTTLPR) and personality: response style as a new endophenotype for anxiety". *Int J Neuropsychopharmacol*. **2014**. 17(6), 851-858.

Porter T.; Villemagne V.L.; Savage G.; Milicic L.; Lim Y.Y.; Maruff P.; Masters C.L.; Amer D.; Bush A.I.; Martins R.N.; Rainey-Smith S.; Rowe C.C.; Taddei K.; Groth D.; Verdile G.; Burnham S.C.; Laws S.M. "Cognitive gene risk profile for the prediction of cognitive decline in presymptomatic Alzheimer's Disease". *Personalized Medicine in Psychiatry*. **2018**. 7-8, 14-20.

Pruunsild P.; Kazantseva A.; Aid T.; Palm K.; Timmusk T. "Dissecting the human BDNF locus: bidirectional transcription, complex splicing , and multiple promotions". *Genomics*. **2007**. 90(3), 397-406.

Ramos-Esquivel J.; Meza-Calleja A.M.; Maldonado-Hernández I.; Ortega-Medellín M.P.; Hernández-Paz M.T. "Aportes para una conceptualización de la vejez". *Revista de Educación y Desarrollo*. **2009**. 11, 47-56.

Real Academia Española (RAE). **2019**. "Cognición". Diccionario de la Real Academia Española (DIRAE). [online] Disponible en: <http://dle.rae.es/?id=9fd0fm0> [Acceso el 18 Nov. 2019].

Redondo I.; Herrero-Fernández D. "Adaptación del Empathy Quotient (EQ) en una muestra española". *Terapia Psicológica*. **2018**. 36(2), 81-89.

Regehr C.; Glancy D.; Pitts A. "Interventions to reduce stress in university students: a review and meta-analysis". *Journal of Affective Disorders*. **2013**. 148, 1-11.

- Revuelta-Evrard E.; Segura-Escobar E.; Paulino-Tevar. "Depresión, ansiedad y fibromialgia". *Rev. Soc. Esp. Dolor*. **2010**. 17(7), 326-332.
- Richter-Levin G.; Segal M. "Serotonin, aging and cognitive functions of the hippocampus". *Rev. Neurosci*. **1996**. 7(2), 103-113.
- Ruddick J.P.; Evans A.K.; Nutt D.J.; Lightmain S.L.; Rook G.A.; Lowry C.A. (2006). "Tryptophan metabolism in the central nervous system: medical implications". *Expert Reviews in Molecular Medicine*. **2006**. 9(20), 1-27.
- Ruiz-Ruiz J.C.; García-Ferrer S.; Fuentes-Durá I. "La relevancia de la cognición social en la esquizofrenia". *Apuntes de Psicología*. **2006**. 24(1-3), 137-155.
- Salari-Moghaddam A.; Keshteli A.H.; Mousavi S.M.; Afshar H.; Esmailzadeh A.; Adibi P. "Adherence to the MIND diet and prevalence of psychological disorders in adults". *J. Affect. Disord*. **2019**. 256, 96-102.
- Salech F, Jara RL, Michea LA. "Cambios fisiológicos asociados al envejecimiento". *Rev. Med. Clin. Condes*. **2012**. 23(1), 19-29.
- Salech F.; Jara R.L.; Michea L.A. "Cambios fisiológicos asociados al envejecimiento". *Rev. Med. Clin. Condes*. **2012**. 23(1), 19-29.
- Sánchez-Mateos S.; Sánchez C.L.; Paredes S.D.; Barriga C.; Rodríguez A.B. "Circadian levels of Serotonin in plasma and brain after oral administration of tryptophan in rats". *Basic Clin. Pharmacol*. **2009**. 104, 52-59.
- Sanz J. "Recomendaciones para la utilización de la adaptación española del Inventario de Ansiedad de Beck (BAI) en la práctica clínica". *Clínica y Salud*. **2014**. 25, 39-48.
- Sanz J.; Perdigón A.L.; Vázquez C. "Adaptación española del Inventario de Depresión de Beck -II (BDI-II): 2. Propiedades psicométricas en población general". *Clínica y Salud*. **2003**. 14(3), 249-280.
- Savitz J. "The kynurenine pathway: a finger in every pie". *Mol. Psychiatry*. **2020**. 25(1), 131-147.

Sayyah M.; Eslami K.; AlaiShehni S.; Kouti L. "Cognitive function before and during treatment with selective serotonin reuptake inhibitors in patients with depression". *Psychiatry Journal*. **2016**. ID 5480391.

Scharinger C.; Rabl U.; Kasess C.H.; Meyer B.M.; Hofmaier T.; Diers K.; Bartova L.; Pail G.; Huf W.; Uzelac Z.; Hartinger B.; Kalcher K.; Perkmann T.; Haslacher H.; Meyer-Lindenberg A.; Kasper S.; Fressmuth M.; Windischberger C.; Willeit M.; Lanzenberger R.; Esterbauer H.; Brocke B.; Moser E.; Sitte H.H.; Pezawas L. "Platelet serotonin transporter function predicts default-mode network activity". *PLoS ONE*. **2014**. 9(3), e92543.

Schieman S.; Gundy K.V. "The personal and social links between age and self-reported empathy". *Social Psychology Quarterly*. **2000**. 63, 152-174.

Scullin M.K.; Bliwise D.L. "Sleep, cognition, and normal aging: integrating a half-century of Multidisciplinary Research". *Perspect. Psychol. Sci.* **2015**. 10(1), 97-137.

Sellaro R.; Güroglu B.; Nitsche M.A.; van den Wildenberg W.P.M.; Massaro V.; Durieux J.; Hommel B.; Colzato L.S. "Increasing the role of belief information in moral judgments by stimulating the right temporoparietal junction". *Neuropsychologia*. **2015**. 77, 400-408.

SENC (Sociedad Española de Nutrición Comunitaria). Guías alimentarias para la población española; la nueva pirámide de la alimentación saludable. *Nutr. Hosp.* **2016**. 33(8), 1-48.

Serra-Millàs M. "Are the changes in the peripheral brain-derived neurotrophic factor levels due to platelet activation?" *World J. Psychiatr.* **2016**. 6(1), 84-101.

Serreti A.; Benedetti F.; Zanardi R.; Smeraldi E. "The influence of Serotonin Transporter Promoter Polymorphism (SERTPR) and other polymorphisms of the Serotonin pathway on the efficacy of antidepressant treatments". *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. **2005**. 29, 1074-1084.

Shekari A.; Fahnstock M. "Retrograde axonal transport of BDNF and proNGF diminishes with age basal forebrain cholinergic neurons". *Neurobiology of Aging*. **2019**. 84, 131-140.

Shlisky J.; Bloom D.E.; Beaudreault A.R.; Tucker K.L.; Keller H.H.; Freund-Levi Y.; Fielding R.A.; Cheng F.W.; Jensen G.L.; Wi D.; Meydani S.N. "Nutritional Considerations for Healthy Aging and Reduction in Age-Related Chronic Disease". *Adv. Nutr.* **2017**. 8(1), 17-26.

Silva-Candiotti J.H. "Nutrición e inmunidad en el hombre y los animales". *Anales de Real Academia de Ciencias Veterinarias de Andalucía Oriental*. **2000**. 13, 89-102.

Simopoulos A.P. "Nutrigenetics/nutrigenomics". *Annual Review of Public Health*. **2010**. 31, 53-68.

Smith G.; Wimalawansa S.J. "Reconciling the irreconcilable: micronutrients in clinical nutrition and public Health". *Vitam. Miner.* **2015**. 4(1), 1-4.

Smith G.S.; Barrett F.S.; Joo J.H.; Nassery N.; Savonenko A.; Sodums D.J.; Marano C.M.; Munro C.A.; Brandt J.; Kraut M.A.; Zhou Y. "Molecular imaging of Serotonin degeneration in mild cognitive impairment". *Neurobiology of Disease*. **2017**, 1-47.

Souza R.; Mente A.; Maroleanu A.; Cozma A.I.; Ha V.; Kishibe T.; Uleryk E.; Budyłowski P.; Schönemann H.; Beyene J.; Anand S.S. "Intake of saturated and trans unsaturated fatty acids and risk of all cause mortality, cardiovascular disease, and type 2 diabetes: Systematic review and meta-analysis of observational studies". *BMJ*. **2015**. 351, h3978.

Spadaro P.A.; Naug H.L.; Du Toit E.F.; Donner D.; Colson N.J. "A refined high carbohydrate diet is associated with changes in the serotonin pathway and visceral obesity". *Genet. Res.* **2015**. 97, e23.

Sunbul M.; Tapanee P.; Reeder N.; Sockwell S.; Cowles A.; Mosby T. "P10 Evaluating diet quality of college students using the healthy eating index". *Journal of Nutrition education and Behavior*. **2019**. 51(7), S37.

Tamura S.; Suzuki H.; Hirowatari Y.; Hatase M.; Nagasawa A.; Matsuno K.; Kobayashi S.; Moriyama T. "Release reaction of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) through PAR1 activation and its two distinct pools in human platelets". *Thromb. Res.* **2011**. 128, e55-e61.



Tappenden K.A. "Intake: Digestion, Absorption, Transport, and Excretion of Nutrients. En: Mahan L.K.; Raymond J.L. "Krause's Food and the Nutrition Care Process". Ed. Elsevier, p2-16, **2017**. ISBN: 9780323340755.

Taschereau-Dumouchel V.; Héту S.; Bagramiam A.; Labrecque A.; Racine M.; Chagnon Y.C.; Jackson P.L. "BDNF Val66Met Polymorphism is associated with self-reported empathy". *PLoS ONE*. **2016**. 11(2), e0149911. doi:10.1371/journal.pone.0149911 .

Teixeira A.L.; Barbosa I.G.; Diniz B.S.; Kummer A. "Circulating levels of brain-derived neurotrophic factor: correlation with mood, cognition and motor function". *Biomark. Med.* **2010**. 4(6), 871-887.

Tejeda G.S.; Díaz-Guerra M. "Integral characterization of defective BDNF/TrkB signalling in neurological and psychiatric disorders leads the way to new therapies". *Int. J. Mol. Sci.* **2017**. 18(2), 268. doi:10.3390/ijms18020268

Tomotsuka N.; Kaku R.; Obata N.; Matsuoka Y.; Kanzaki H.; Taniguchi A.; Muto N.; Omiya H.; Itano Y.; Sato T.; Ichikawa H.; Mizobuchi S.; Morimatsu H. "Up-regulation of brain-derived neurotrophic factor in the dorsal root ganglion of the rat bone cancer pain model". *Journal of Pain Research*. **2014**. 7, 415-423.

Trueta C.; Cercós M.G. "Regulación de la liberación de serotonina en distintos compartimentos neuronales". *Salud Mental*. **2012**. 35, 435-443.

Trumbo P.; Schlicker S.; Yates A.A.; Poos M. "Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein and amino acids". *J. Am. Diet. Assoc.* **2002**. 102(11), 1621-1630.

Tsai S.J. "Critical Issues in BDNF Val66Met Genetic studies of neuropsychiatric disorders". *Frontiers in Molecular Neuroscience*. **2018**. 11, 156

Tucker K.L. "Nutrient intake, nutritional status, and cognitive function with aging". *Annals of the New York Academy of Sciences*. **2016**. 1367, 38-49.

U.S. Department of agriculture (USDA). **2019**. "USDA Food Composition Databases, FoodData Central Search" [online] Disponible en <https://fdc.nal.usda.gov>. [Último acceso el 21 En. 2019].

U.S. Department of Health and Human Services and U.S. Department of Agriculture (HHS & USDA). "2015-2020 Dietary Guidelines for Americans". 8<sup>th</sup> Edition. **2015**.

Valenzuela A.; Nieto S. "Ácidos grasos omega-6 y omega-3 en la nutrición perinatal: su importancia en el desarrollo del sistema nervioso y visual". *Rev. Chi. Pediatr.* **2003**. 74(2), 149-157.

Veldhorst M.; Smeets A.; Soenen S.; Hochstenbach-Waelem A.; Hursel R.; Diepvens K.; Lejeune M.; Luscombe-Marsh N.; Wedterterp-Plantenga M. "Protein-induced satiety: Effects and mechanisms of different proteins". *Physiol. Behav.* **2008**. 94(2), 300-307.

Ventura T.; Santander J.; Torres R.; Contreras A.M. "Neurobiologic basis of craving for carbohydrates". *Nutrition.* **2014**. 30(3), 252-256.

Vojvodic J.; Mihajlovic G.; Vojvodic P.; Radomirovic D.; Vojvodic A.; Vlaskovic-Jovicevic T.; Peric-Hajzler Z.; Matovic D.; Dimitrijevic S.; Sijan G.; Rocchia M.G.; Fioranelli M.; Lotti T. "The impact of immunological factors on depression treatment-relation between antidepressants and immunomodulation agents". *Open Access Maced. J. Med. Sci.* **2019**. 7(18), 3064-3069.

Von Volkman H.L.; Brønstad I.; Fiskerstrand T.; Gudbrandsen O.A. "Comparison of pre-analytical conditions for quantification of serotonin in platelet-poor plasma". *Pract Lab Med.* **2019**, 17, e00136.

Wang K.C.; Yip P.K.; Lu Y.Y.; Yeh Z.T. "Depression in older adults among community: the role of executive function". *International Journal of Gerontology.* **2017**. 11(4),230-234.

Wang X.; Chan C.B. "n-3 polyunsaturated fatty acids and insulin secretion". *J Endocrinol.* **2015**. 224(3), 97-106.

Wang Z.; Baker D.G.; Harrer J.; Hamner M.; Price M.; Amstadter A. "The relationship between combat-related posttraumatic stress disorder and the 5-HTTLPR/rs25531 polymorphism". *Depress. Anxiety.* **2011**. 28(12), 1067-1073.

Wei C.; Sun Y.; Chen N.; Chen S.; Xiu M.H.; Zhang X.Y. "Interaction of oxidative stress and BDNF on executive dysfunction in patients with chronic schizophrenia". *Psychoneuroendocrinology.* **2020**. 111, 104473.

Whisman M.A.; Richardson E.D.; Smolen A. "Behavioural inhibition and triallelic genotyping of the serotonin transporter promoter (5-HTTLPR) polymorphism". *Journal of Research in Personality*. **2011**. 45, 706-709.

World Health Organization (WHO): Regional Office for Europe. "Well-being measures in primary Health care: The DepCare Project". Consensus meeting, Stockholm. **1998**.

World Health Organization (WHO). **2020**. "Depression". [online] Disponible en <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/depression>. [Acceso el 10 Jul. 2020].

Xacur-García F.; Castillo-Quan J.I.; Hernández-Escalante V.M.; Laviada-Molina H. "Genómica nutricional: una aproximación de la interacción genoma-ambiente". *Revista Médica de Chile*. **2008**. 136, 1460-1467.

Yang C.; Sun N.; Liu Z.; Li X.; Xu Y.; Zhang K. "The interaction of combined effects of the BDNF and PRKCG genes and negative life events in major depressive disorder". *Psychiatry Research*. **2016**. 237, 72-77.

Yang S. "Emotion, Intentionality and Appropriateness of Emotion: In Defense of a Response Dependence Theory". *Organon F*. **2009**. 16(1), 82-104.

Young L.; Camprodón J.A.; Hauser M.; Pascual-Leone A.; Saxe R. "Disruption of the right temporoparietal junction with transcranial magnetic stimulation reduces the role of beliefs in moral judgements". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **2010**. 107,6753-6758.

Young S.N. "Methodology and interpretation of acute Tryptophan depletion studies". *Acta Psychiatr. Scand*. **2013**. 128, 114-123.

Yu B, Zhang X, Wang C, Sun M, Jin L, Liu X. "Trends in depression among adults in the United States, NHANES 2005-2016". *Journal of Affective Disorders*. **2019**. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2019.11.036>.

Zaragoza-Martí A.; Ferrer Cascales R.; Cabañero-Martínez M.J.; Hurtado-Sánchez J.A.; Laguna-Pérez A. "Adherencia a la dieta mediterránea y su relación con el estado nutricional en personas mayores". *Nutr.Hosp*. **2015**. 31(4), 1667-1674.

Zeni C.P.; Mwangi B.; Cao B.; Hasan K.M.; Walss-Bass C.; Zunta-Soares G.; Soares J.C. "Interaction between BDNF rs6265 Met allele and low family cohesion is associated with smaller left hippocampal volume in pediatric bipolar disorder". *Journal of Affective Disorders*. **2016**. 189, 94-97.

Zhao H.; Wang P.; Chen S.; Li X.; Huo H. "5-HT3 receptors: a potential therapeutic target for epilepsy". *Curr. Neuropharmacol*. **2018**. 16(1), 29-36.

Zheng H. "Aging in the Context of Cohort evolution and mortality selection". *Demography*. **2014**. 51(4), 1295-1317.

Zivkovic A.M.; Wiest M.M.; Nguyen U.; Nording M.L.; Watkins S.M.; German J.B. "Assessing individual metabolic responsiveness to a lipid challenge using a targeted metabolomic approach". *Metabolomics*. **2009**. 5, 209–218.

Zuccato C.; Ciammola A.; Rigamonti D.; Leavitt B.R.; Goffredo D.; Conti L.; MacDonald M.E; Friedlander R.M.; Silani V.; Hayden M.R.; Timmusk T.; Sipione S.; Cattaneo E. "Loss of huntingtin-mediated BDNF gene transcription in Huntington's disease". *Science*. **2001**. 293, 493-498.

Zulfitri R .; Sabrian F.; Herlin.. "Sociodemographic characteristics and psychosocial wellbeing of elderly with chronic illnesses who live with family at home". *Enfermería Clínica*. **2019**. 29(S1), 34-37.

Anexos ...

---



## ANEXO I

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN,  
Y TRANSFERENCIACampus Universitario  
Avd<sup>a</sup> de Elvas s/n<sup>o</sup>  
06071 BADAJOZTel.: 924 28 93 05  
Fax: 924 27 29 83N<sup>o</sup>Registro: 82/2020**D. JOÃO NUNO MEIRELES DA SILVA GONÇALVES RIBEIRO, SECRETARIO DE LA COMISIÓN DE BIOÉTICA Y BIOSEGURIDAD DE LA UNIVERSIDAD DE EXTREMADURA**

**INFORMA:** Que una vez analizada por esta Comisión, en su sesión celebrada el 13/07/2020, la solicitud de Proyecto de Tesis titulado **“Eficacia de una intervención nutricional basada en suplementos de triptófano sobre la cognición social y la depresión asociadas al envejecimiento humano, en base a los genes *SLC6A4* y *BDNF*”**, cuyo Investigador/a Principal es D/D<sup>a</sup> Lierni Ugartemendia Ugalde, ha decidido por unanimidad, valorar positivamente el precitado proyecto por considerar que se ajusta a las normas éticas esenciales cumpliendo con la normativa vigente al efecto.

Y para que conste y surta los efectos oportunos firmo el presente informe.

**MEIRELES DA  
SILVA GONCALVES  
RIBEIRO JUAN  
NUNO -  
088446425**

Firmado digitalmente por MEIRELES DA SILVA GONCALVES RIBEIRO JUAN NUNO - 088446425  
Nombre de reconocimiento (DN): c=ES, serialNumber=dCES-088446425, givenName=JUAN NUNO, sn=MEIRELES DA SILVA GONCALVES RIBEIRO, cn=MEIRELES DA SILVA GONCALVES RIBEIRO JUAN NUNO - 088446425  
Fecha: 2020.07.14 13:20:57 +01'00'

**DE  
FRANCISCO  
MORCILLO  
JAVIER -  
28946338X**

Firmado digitalmente por DE FRANCISCO MORCILLO JAVIER - 28946338X  
Nombre de reconocimiento (DN): c=ES, serialNumber=dCES-28946338X, givenName=JAVIER, sn=DE FRANCISCO MORCILLO, cn=DE FRANCISCO MORCILLO JAVIER - 28946338X  
Fecha: 2020.07.15 08:25:27 +02'00'

V.º B.º

Fdo.: Javier de Francisco Morcillo  
Presidente por delegación de la Comisión  
de Bioética y Bioseguridad

## ANEXO II

**MODELO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

**Proyecto:** Suplementación en la ingesta de probióticos y triptófano y sus efectos sobre la cognición y el estado de ánimo en personas jóvenes y mayores.

**Participante:**

**Participante ID#:**

**Centro:** Facultad de Ciencias

**Centro ID#:**

**Investigador:** Ana Beatriz Rodríguez Moratinos

LEA DETENIDAMENTE LA INFORMACIÓN CONTENIDA EN ESTE DOCUMENTO Y ASEGÚRESE QUE ENTIENDE ESTE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN. POR FAVOR SI ESTA DE ACUERDO EN PARTICIPAR EN ESTE ESTUDIO, FIRME ESTE DOCUMENTO. POR SU FIRMA RECONOCE QUE HA SIDO INFORMADO DE LAS CARACTERÍSTICAS DEL PROYECTO, DE SUS REQUISITOS Y SUS RIESGOS Y QUE ACEPTA LIBREMENTE PARTICIPAR EN ÉL. UNA COPIA DEL PRESENTE DOCUMENTO LE SERÁ ENTREGADA.

**OBJETO DEL ESTUDIO.**

Ha sido invitado/a a participar en un estudio de investigación dirigido a personas jóvenes y mayores de 55 años.

**PROCEDIMIENTOS Y DURACIÓN DEL ESTUDIO.**

El único procedimiento al que será sometido/a será la ingesta de un suplemento alimenticio (placebo/triptófano/probiótico). La duración del proyecto será de 4 semanas, durante los cuales usted nos autoriza a recoger 2 muestras de orina, 2 muestras de sangre y 2 baterías de test psicológicos. Una muestra se recogerá antes de comenzar el estudio y la otra al final. La muestra que cede será utilizada exclusivamente con finalidad de investigación sin ánimo de lucro.

Se respetarán los principios fundamentales de la Declaración de Helsinki y sus revisiones posteriores para estudios en humanos, en la ley 14/2007 de investigaciones biomédicas, en el convenio del Consejo de Europa relativos a los derechos humanos y biomedicina, en la Declaración Universal de la UNESCO sobre el genoma humano y los



derechos humanos y se cumplirán todos los requisitos establecidos en la legislación española en el ámbito de la investigación biomédica, la protección de datos de carácter personal y la bioética del Real Decreto 53/2013 de 1 de Febrero.

#### **RESULTADOS DEL ESTUDIO.**

Al finalizar el estudio se le informará del resultado global del mismo si usted lo desea, pero NO de su resultado personal, que se tratará con total confidencialidad de acuerdo con la Declaración de Helsinki y la Ley 14/2007, de Investigación biomédica.

#### **RIESGOS DERIVADOS DE LA PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO.**

Los riesgos asociados a la toma de muestras son mínimos. Se empleará material estéril individual y desechable a fin de eliminar los riesgos de infección y de contagio y las muestras de obtendrán por personal cualificado.

#### **BENEFICIOS.**

La participación en el proyecto no será recompensada económicamente. Aparte de lo comentado anteriormente, se estima que el desarrollo del estudio en el que participará comportará beneficios a medio plazo para la elaboración de dietas encaminadas a mejorar la cognición afectiva y social junto con el estado anímico.

#### **COSTES.**

El coste de la extracción y procesamiento de la muestra, así como los análisis posteriores serán cubiertos por el proyecto. Su participación no le supondrá ningún coste.

El investigador principal, Ana B. Rodríguez Moratinos, puede ser contactado en cualquier momento en el siguiente teléfono, 696 322 770, a fin de recabar información acerca del proyecto y en la siguiente dirección:

Departamento de Fisiología  
Facultad de Ciencias  
Av. De Elvas s/n.  
06006 Badajoz

En ningún caso su decisión de no participar en el proyecto le supondrá una rebaja en la calidad asistencial por parte de su médico.

#### **CONFIDENCIALIDAD DE SU MUESTRA.**

De acuerdo con la normativa legal vigente, los resultados de las muestras se tratarán con total confidencialidad. El protocolo de recogida de datos será archivado, y a cada participante se le asignará una clave de tal modo que no pueda relacionarse la muestra e información obtenida con la identidad del sujeto. Las muestras serán anonimizadas, asegurando la imposibilidad de inferir su identidad, para su estudio y potencial análisis ulterior.

El investigador principal del proyecto se compromete a que la confidencialidad de los datos que se puedan obtener en dicho proyecto será escrupulosamente observada, y que los datos personales de los sujetos participantes no serán conocidos por los investigadores del proyecto. En los casos que corresponda, éstos informarán al responsable médico o a los afectados si creen que algún resultado del proyecto podría ser de su interés.

El investigador principal del proyecto se compromete a no utilizar las muestras para otros estudios diferentes a los de este proyecto y a no traspasar las muestras a otros posibles proyectos o equipos de investigación.

Para todo lo no previsto en este documento, se aplicará la legislación vigente sobre protección de datos de carácter personal (Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica, BOE 274 de 15 de noviembre de 2002; Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal; BOE 298 de 14 de diciembre de 1999; Real Decreto 1720/2007, de 21 de diciembre, por el que se aprueba el Reglamento de desarrollo de la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de protección de datos de carácter personal, BOE 17 de 19 de enero de 2008), sobre investigación biomédica (Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica; BOE 159 de 4 de julio de 2007) y cualquier otra que resultara aplicable.

Si fuese necesario el almacenamiento de las muestras para análisis ulteriores, tal como recoge la Ley 41/2007, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica (art. 9.3), el consentimiento escrito del participante será necesario para cada una de las actuaciones que se lleven a cabo. Acción que podrá ser ejercitada por el paciente, por sus representantes, o por sus herederos si éste hubiera fallecido.

Los resultados del estudio pueden ser publicados en revistas científicas o publicaciones de carácter general. No obstante, la información concerniente a su participación será mantenida como confidencial.

Recibirá una copia de esta hoja de información y del consentimiento informado firmado por usted.

#### **DECLARACIÓN DEL PARTICIPANTE.**

He sido informado por el personal relacionado con el proyecto mencionado:

- De las ventajas e inconvenientes de este procedimiento.
- Del fin para el que se utilizarán mis muestras.
- He sido informado de que los tejidos que cedo serán utilizados exclusivamente con finalidad de investigación sin ánimo de lucro.
- Que mis muestras serán proporcionadas de forma anónima a los investigadores del proyecto.
- Que en cualquier momento puedo solicitar información genérica sobre los estudios para los que se han utilizado mis muestras.
- Que he comprendido la información recibida y he podido formular todas las preguntas que he creído oportunas.

**Usted tiene derecho de participar o no en la investigación y de retirar su consentimiento en cualquier momento. Como se menciona anteriormente, en ningún caso su decisión de no participar en el proyecto le supondrá una rebaja en la calidad asistencial por parte de su médico.**

SE ME HA PROPORCIONADO COPIA DEL PRESENTE DOCUMENTO. ACEPTO PARTICIPAR EN ESTE ESTUDIO.

Nombre:..... Firma:

- **Declaración del profesional de salud médica de que ha informado debidamente al donante.**

Nombre:..... Firma:

## ANEXO III

**Producción Científica**1.1. Artículos en Revistas Científicas

Ugartemendia L, Bravo R, Reuter M, Castaño MY, Plieger T, Zamoscik V, Kirsch P, Rodríguez AB. *SLC6A4* polymorphisms modulate the efficacy of a tryptophan-enriched diet on age-related depression and social cognition. *Clinical Nutrition*. 2021, 40, 1487-1494.

Ugartemendia L, Bravo R, Castaño MY, Zamoscik V, Plieger T, Reuter M, Kirsch P, Rodríguez AB. Diet and depression: the role of serotonin transporter gene. (in progress)

Ugartemendia L, Bravo R, Castaño MY, Zamoscik V, Plieger T, Reuter M, Kirsch P, Rodríguez AB. Tryptophan-enriched diet and its influence on mood and social cognition depending on *SLC6A4* and *BDNF* genes in an elderly population (in progress)

1.2. Artículos relacionados

Ugartemendia L, Bravo R, Castaño MY, Cubero J, Zamoscik V, Kirsch P, Rodríguez AB, Reuter M. Influence of diet on mood and social cognition: a pilot study. *Food Func*. 2020, 11, 8320.

Reuter M, Felten A, Zamoscik V, Bravo R, Ugartemendia L, Kirsch P, Rodríguez AB, Plieger T. Genetic and epigenetic serotonergic markers predict the ability to recognize mental states. *Physiology & Behavior*. 2020, 227, 113143.

Reuter M, Zamoscik V, Plieger T, Bravo R, Ugartemendia L, Rodríguez AB, Kirsch P. Tryptophan-rich diet is negatively associated with depression and positively linked to social cognition. *Nutrition Research*. 2021, 85, 14-20.

Zamoscik V, Schmidt SNL, Bravo R, Ugartemendia L, Plieger T, Rodríguez AB, Reuter M, Kirsch P. Tryptophan availability is linked to the processing of social information: hints from an fMRI randomized controlled trial. *Scientific Reports*. 2021 (under review).

2. Comunicaciones a congresos:

Ugartemendia L, Bravo R, Castaño MY, Cubero J, Rodríguez AB, Kirsch P. Relationship between diet and social cognition in university students. XXXIX Congreso de la Sociedad Española de Ciencias Fisiológicas (Cádiz, Spain, 2018).

Bravo R, Ugartemendia L, Castaño Y, Zamoscik V, Reuter M, Rodríguez AB, Kirsch P. Dietetic tryptophan-enriched bars improve mood in Young participants. Preliminary results suggest an improvement in social cognition in elderly participants depending on *SLC6A4* genotype. International Congress "Final Symposia JPI HDHL" (Brussels, Belgium, 2019).

Zamoscik V, Lischewski J, Schmidt SNL, Deris N, Bravo R, Ugartemendia L, Rodríguez AB, Reuter M, Kirsch P. Chocolate makes you happy and decide more ethically just? Influence of tryptophan on moral decisionmaking. International Congress "Final Symposia JPI HDHL" (Brussels, Belgium, 2019).

Ugartemendia L. Dieta enriquecida en triptófano, potencial adyuvante en el tratamiento de la depression y el deterioro cognitive. IV Jornadas Doctorales de la Universidad de Extremadura. (online, 2020).