



**FACULTAD DE FARMACIA**

Grado en Farmacia

**EL AYUNO Y SU RELACIÓN CON LA  
NEUROINFLAMACIÓN COMO BASE DE  
PATOLOGÍAS NEURODEGENERATIVAS Y  
PSIQUIÁTRICAS**

Memoria de Trabajo Fin de Grado

Sant Joan d'Alacant

Junio 2023

Autor: **Laura Sagasta Boix**

Modalidad: **Revisión bibliográfica**

Tutor/es: **Esther Caparrós Cayuela y Teresa Femenía Cantó**

# ÍNDICE

RESUMEN .....	3
ABSTRACT .....	3
GLOSARIO DE ABREVIATURAS.....	4
INTRODUCCIÓN .....	5
HIPÓTESIS .....	7
OBJETIVOS.....	7
MÉTODOS.....	8
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	11
1. EVALUAR LA RELACIÓN QUE EXISTE ENTRE EL TIPO DE NUTRICIÓN Y EL SISTEMA INMUNE.....	11
2. ESTUDIAR EL IMPACTO DEL AYUNO SOBRE LA RESPUESTA INFLAMATORIA.....	22
3. ANALIZAR EL EFECTO DEL AYUNO EN DIVERSAS PATOLOGÍAS NEURODEGENERATIVAS Y PSIQUIÁTRICAS.....	29
3.1. EFECTO DEL AYUNO EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER. ....	29
3.2. EFECTO DEL AYUNO EN LA DEPRESIÓN.....	34
CONCLUSIONES .....	38
BIBLIOGRAFÍA.....	39

## RESUMEN

El tipo de alimentación tiene la capacidad de influir en nuestro sistema inmunitario y lo hace tanto a nivel intracelular como disminuyendo la secreción de citocinas proinflamatorias. Además, es capaz de regular la expresión de ciertos genes que regulan la respuesta inflamatoria.

Por otro lado, el ayuno intermitente también afecta en la respuesta inmunitaria y es capaz de reducir los marcadores inflamatorios. Además, tiene una implicación importante en la prevención y tratamiento de enfermedades neurodegenerativas y psiquiátricas, así como en la mejora de los síntomas asociados. Estudios en ratones han demostrado que esta estrategia mejora el aprendizaje espacial y protege frente a la disfunción cognitiva y la pérdida de memoria. En cuanto a los estudios en pacientes con depresión, se ha demostrado que el ayuno intermitente es seguro y además mejora los síntomas de la enfermedad.

**Palabras claves:** ayuno intermitente, dieta, respuesta inmune, enfermedad de Alzheimer, depresión.

## ABSTRACT

The type of food could influence our immune system and does so both at the intracellular level and by decreasing the secretion of proinflammatory cytokines. In addition, it is able to regulate the expression of certain genes that regulate the inflammatory response.

On the other hand, intermittent fasting also affects the immune response and is able to reduce inflammatory markers. In addition, it has an important implication in the prevention and treatment of neurodegenerative and psychiatric diseases, as well as in the improvement of associated symptoms. Studies in mice have shown that this strategy improves spatial learning and protects against cognitive dysfunction and memory loss. As for studies in patients with depression, intermittent fasting has been shown to be safe and to improve the symptoms of the disease.

**Key words:** intermittent fasting, diet, immune response, Alzheimer's disease, depression.

## GLOSARIO DE ABREVIATURAS

**A $\beta$** :  $\beta$ -amiloide

**ATP**: Adenosín trifosfato

**BDI-2**: Inventario de Depresión de Beck

**BDNF**: factor neurotrófico derivado del cerebro

**CCL2**: ligando de quimiocinas 2

**CCL8**: ligando de quimiocinas 8

**CpG**: Citosina fosfo Guanina

**CT**: colesterol total

**EA**: enfermedad de Alzheimer

**ECV**: Enfermedad cardiovascular

**EPSP**: potencial excitatorio postsináptico

**Escala DASS-21**: escala de depresión, ansiedad y estrés

**HDL**: lipoproteínas de alta densidad

**4HNE**: 4-hidroxinonenal

**HP**: alta en proteínas

**IFN- $\gamma$** : Interferón  $\gamma$

**IL-1 $\beta$** : Interleucina 1 $\beta$

**IL-2**: interleucina 2

**IL-5**: Interleucina 5

**IL-6**: Interleucina 6

**IL-17**: Interleucina 17

**IMC**: Índice de Masa Corporal

**Kb**: Kilobase

**LDL**: lipoproteínas de baja densidad

**MCP-1**: Proteína quimioatrayente de monocitos 1

**NBS**: *Nutrition Bio-shield Superfood*

**NP**: normoproteica

**PBMCs**: Células mononucleares de sangre periférica

**PD**: Patrón dietético

**PHQ-9**: Cuestionario Sobre la Salud del paciente-9

**PQ**: Paraquat

**PRC**: Proteína Reactiva C

**PUFA**: ácido graso poliinsaturado

**RE**: Retículo endoplasmático

**SNP**: Polimorfismo de nucleótido único

**TA**: tejido adiposo

**TBARS**: Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico

**TLR7**: Toll like receptor 7

**TNF- $\alpha$** : Factor de Necrosis Tumoral  $\alpha$

**WT**: *Wild Type*

## INTRODUCCIÓN

El ayuno intermitente es un patrón alimentario que alterna periodos de consumo de alimentos con periodos de ayuno<sup>1</sup>. El ayuno puede implicar o no una restricción en la ingesta de calorías durante los momentos en los que no se ayuna. Los tres regímenes de ayuno intermitente más estudiados en humanos son el ayuno en días alternos, el ayuno intermitente 5:2 que implica ayunar 2 días a la semana, y la alimentación diaria restringida en el tiempo<sup>2</sup>.

Aunque el ayuno intermitente se utiliza como una estrategia dietética para mejorar la salud y la composición corporal, falta evidencia sobre su eficacia y seguridad ya que la mayoría de estudios están realizados en pequeñas muestras durante cortos periodos de tiempo<sup>3</sup>.

La evidencia en estudios animales sugiere que el ayuno prolongado podría proteger frente a enfermedades cardiovasculares, cáncer y desórdenes neurodegenerativos. Sin embargo, el ayuno intermitente puede ser perjudicial para determinados grupos de la población en riesgo de desnutrición como en personas de edad avanzada, ya que puede verse comprometido su estado nutricional<sup>3</sup>.

Las dietas de restricción calórica y los regímenes de ayuno intermitente pueden mejorar el estado inflamatorio general en individuos con obesidad, reduciendo los niveles plasmáticos de proteína amiloide A, interleucina IL-6, proteína C reactiva (PCR), factor de necrosis tumoral TNF- $\alpha$  e interferón IFN- $\gamma$ , como se ha señalado en algunos estudios. Aunque ninguna de las dos dietas parece ejercer la misma magnitud de efectos antiinflamatorios en individuos no obesos, también existen datos que demuestran algunos efectos positivos sobre los biomarcadores inflamatorios en voluntarios sanos con un índice de masa corporal (IMC) $<25$  kg/m<sup>2</sup><sup>4</sup>.

Las dietas de restricción calórica y el ayuno intermitente parecen ser estrategias auxiliares para controlar la inflamación de bajo grado, especialmente cuando la pérdida de peso es fundamental para lograr un buen estado de salud<sup>4</sup>. Sin embargo, es complejo establecer cómo produce estos efectos inmunomoduladores ya que es difícil distinguir en qué medida contribuye la

remodelación del tejido adiposo (por la consecuente pérdida de peso) y los cambios en el microbioma, y establecer qué células inmunitarias contribuyen en este proceso<sup>5</sup>. Por lo tanto, realmente se desconoce si el ayuno intermitente sin una restricción calórica ni cambios en la composición de nutrientes puede afectar la progresión de enfermedades, como las autoinmunes<sup>6</sup>.

El proceso de la inflamación consta de varias etapas, incluyendo la activación del sistema inmune celular, el reclutamiento de las células en el sitio de la inflamación, la liberación de mediadores inflamatorios, y aumento de la permeabilidad vascular que conduce a la resolución del proceso inflamatorio y la curación. La insuficiencia del sistema inmunitario para mitigar y resolver eficazmente la inflamación conduce a la condición crónica de la inflamación de bajo grado, que subyace al desarrollo de enfermedades crónicas como las cardiovasculares (ECV) y enfermedades metabólicas<sup>7</sup>.

Cuando el proceso inflamatorio se produce en el cerebro, se conoce como neuroinflamación y está relacionado con diversas enfermedades neurológicas y psiquiátricas. En el caso del Alzheimer y la depresión, se ha observado que existe una relación entre la neuroinflamación y su desarrollo<sup>8,9</sup>.

Estudios en animales muestran que el ayuno intermitente mejora la cognición en múltiples aspectos, incluida la memoria espacial, la memoria asociativa y la memoria de trabajo. El ayuno en días alternos y la restricción calórica diaria disminuye los efectos adversos de la obesidad, diabetes y neuroinflamación sobre el aprendizaje espacial y la memoria<sup>10</sup>.

En el Alzheimer, se ha demostrado que la neuroinflamación es un componente importante en la patología de la enfermedad. Los estudios han mostrado que la inflamación crónica y el estrés oxidativo pueden conducir a cambios patológicos en el cerebro típicos de la enfermedad asociados con la liberación de citoquinas proinflamatorias. Esto a su vez puede llevar a la formación de placas amiloides y ovillos neurofibrilares característicos de esta enfermedad<sup>11</sup>.

Por otro lado, en la depresión, la neuroinflamación también juega un papel importante. Las respuestas inflamatorias tienen un papel fundamental en la fisiopatología de esta enfermedad. Los pacientes con depresión presentan niveles elevados de citoquinas proinflamatorias en el cerebro, proteínas de fase

aguda, quimiocinas y moléculas de adhesión celular. Además, se ha descubierto que las citocinas proinflamatorias interactúan con muchos de los dominios fisiopatológicos que caracterizan la depresión, incluido el metabolismo de los neurotransmisores, la función neuroendocrina, la plasticidad sináptica y el comportamiento<sup>12</sup>.

En ambos casos, la liberación de citoquinas proinflamatorias puede ser responsable del desarrollo y la progresión de estas enfermedades, por ello, esta revisión bibliográfica se centra en estudiar la influencia del ayuno intermitente sobre la respuesta inmunológica y la inflamación y cómo puede afectar a su vez a estas patologías.

## **HIPÓTESIS**

El ayuno intermitente regula la expresión de mediadores inflamatorios al modificar el metabolismo de las células del sistema inmune, por lo que puede mejorar la sintomatología de algunas enfermedades que cursan con neuroinflamación como es el caso del Alzheimer y la depresión.

## **OBJETIVOS**

Los objetivos del presente Trabajo Fin de Grado son:

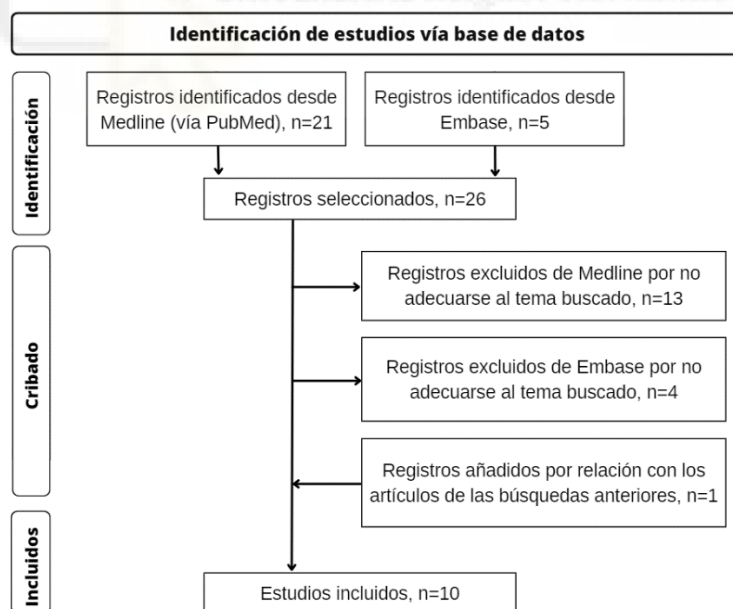
- Evaluar la relación que existe entre el tipo de nutrición y el sistema inmune.
- Estudiar el impacto del ayuno sobre la respuesta inflamatoria.
- Analizar el efecto del ayuno en diversas patologías neurodegenerativas y psiquiátricas.

## MÉTODOS

Se ha realizado una búsqueda bibliográfica por objetivos consultando en las principales bases de datos bibliográficas del ámbito de ciencias de la salud: Medline (a través de PubMed), *The Cochrane Library* y *Embase*.

Para la búsqueda de artículos que permitan abordar el primer objetivo se ha utilizado el buscador PubMed y se ha introducido la siguiente ecuación de búsqueda: "*Immune System*"[Majr] AND "*Diet*"[Majr]. Como filtros se ha puesto el año "2017-2023", y el tipo de estudio "*Clinical Trial*". Se obtienen 21 resultados de los cuales se escogen 8 por coincidir con el tema que se busca. Además, se añade un artículo encontrado por relación con los anteriores.

En la base de datos *Embase* se ha utilizado la ecuación: "*Immune System*" AND "*Nutrition*" introducidos ambos como MeSH Terms y que aparezcan en el título del artículo. Como filtro se pone el año "2018-2023", la especie "*human*" y el tipo de documento "*article*". Se obtienen 5 resultados de los cuales se selecciona 1 por adecuarse a los objetivos buscados (Fig. 1).



**Figura 1.** Diagrama de flujo para búsqueda bibliográfica del objetivo 1.

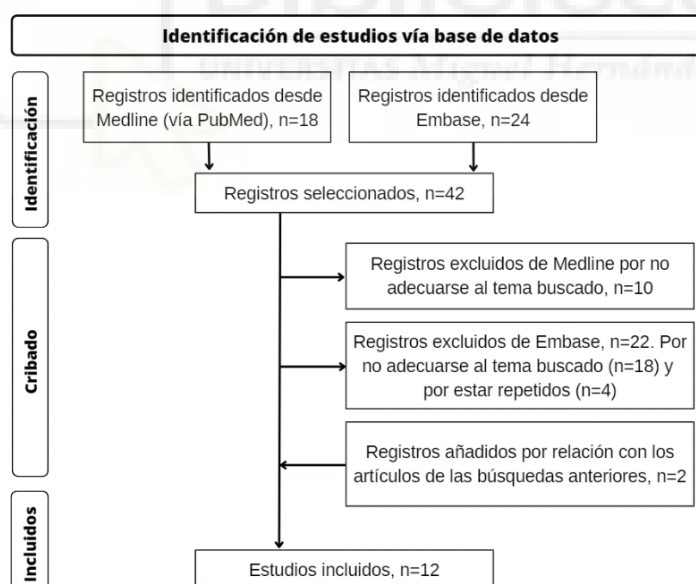
Para el segundo objetivo se utilizar en PubMed la ecuación: "*fasting*"[Majr] AND "*inflammation*"[Majr]. Como filtros se pone el año "2018-2022" y la especie



“Humans”. Aparecen 13 resultados de los que seleccionamos 10 por coincidir con el tema buscado.

Se utiliza otra estrategia de búsqueda con la ecuación: "Fasting"[Majr] AND "Inflammation"[Mesh] para buscar únicamente los ensayos clínicos. Como filtros se pone el año “2017-2023” y el tipo de estudio “Clinical Trial”. Aparecen 5 resultados de los que se selecciona 1. A partir de ese artículo se seleccionan 5 artículos relacionados de los cuales 1 ya estaba seleccionado.

En la base de datos *Embase* se utiliza la ecuación: ((“fasting” OR “intermittent fasting”) AND “inflammation”) introducidos como MeSH Terms y que aparezcan en el título del artículo. Como filtros se pone el año “2018-2023” y la especie “humans”. Aparecen 24 resultados en total y se seleccionan únicamente 14, de los cuales 4 ya estaban seleccionados. Se han descartado los artículos que valoran los niveles de glucosa en ayunas (los niveles de glucosa a primera hora de la mañana) en vez de valorar los efectos de una dieta basada en el ayuno intermitente (Fig.2).



**Figura 2.** Diagrama de flujo para búsqueda bibliográfica del objetivo 2.

Para el tercer objetivo la búsqueda se centra en dos patologías, la depresión y la enfermedad de Alzheimer, por lo que se hacen dos búsquedas independientes.

En la primera, se utiliza en PubMed la ecuación de búsqueda: “fasting” AND “depression” con el filtro de año “2018-2023” y especie “humans”. Aparecen 30 resultados y se seleccionan 11 por coincidir con el tema deseado, pero finalmente solo se incluyen 4.

En la base de datos Embase se utiliza la ecuación: (“fasting” OR “intermittent fasting”) AND “depression”) introducidos como MeSH Terms y que aparezcan en el título del artículo. Como filtro se pone el año “2018-2023”. Aparecen 10 resultados y se seleccionan 5 por adecuarse al tema buscado. Entre esos 5 artículos, 1 estaba repetido y se añaden 2 por relación con los anteriores (Fig.3).

Para la búsqueda sobre la enfermedad de Alzheimer se utiliza en PubMed la ecuación: (“Fasting”[Mesh] AND “Alzheimer Disease”[Mesh]) con el filtro de año “2017-2023”. Aparecen 25 resultados de los que se seleccionan 6 por adecuarse al tema buscado. Además, se selecciona 1 artículo por relación con los anteriores.

En la base de datos Embase se utiliza la ecuación: (“fasting” OR “intermittent fasting”) AND “Alzheimer disease”) introducidos como MeSH Terms y que aparezcan en el título del artículo. Como filtro se pone el año “2017-2023”. Aparecen 2 resultados, pero no se selecciona ninguno por no adecuarse al tema buscado (Fig.4).

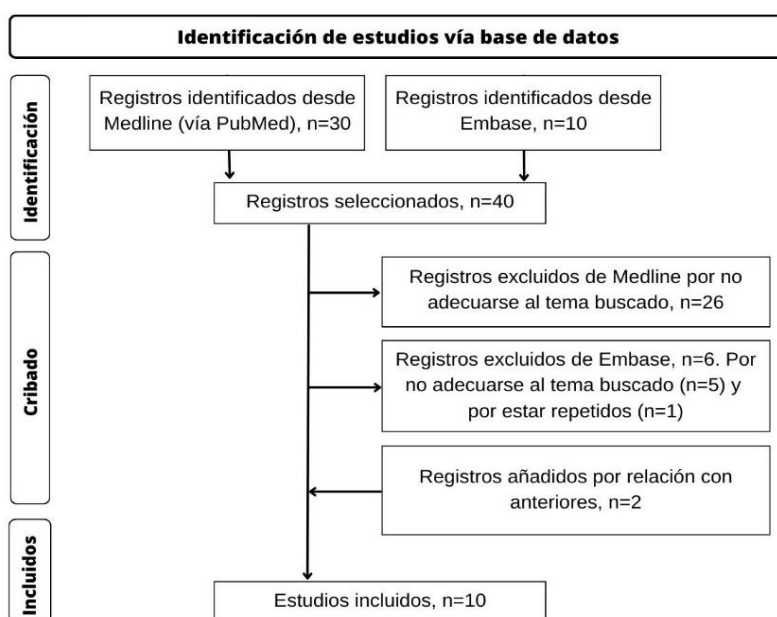
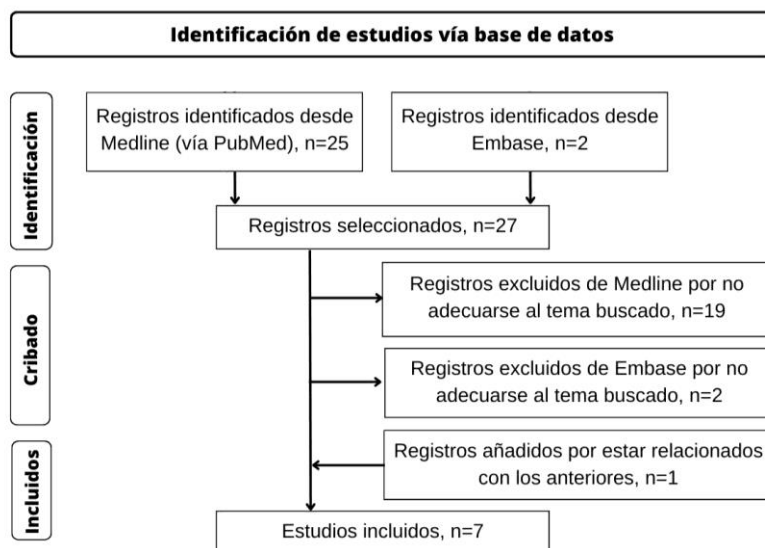


Figura 3. Diagrama de flujo para búsqueda bibliográfica sobre depresión.



**Figura 4.** Diagrama de flujo para búsqueda bibliográfica sobre Alzheimer.

También se ha realizado la búsqueda en la base de datos *The Cochrane Library*, pero no se han encontrado artículos diferentes a los ya seleccionados de las bases de datos anteriores.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 1. EVALUAR LA RELACIÓN QUE EXISTE ENTRE EL TIPO DE NUTRICIÓN Y EL SISTEMA INMUNE.

En un ensayo clínico llevado a cabo por Castro-Sepúlveda y colaboradores<sup>13</sup> se seleccionaron 6 sujetos sanos y se les hizo ayunar durante 16h, e inmediatamente después consumieron una carga oral de glucosa de 75g. Se tomaron muestras de sangre tanto en condiciones de ayuno como después de la glucosa para obtener las células mononucleares de sangre periférica (PBMCs).

Con este estudio se pretende investigar la respuesta de la dinámica mitocondrial en la transición metabólica del ayuno a la alimentación en PBMCs. Estas son linfocitos y monocitos responsables de modular tanto respuestas humorales como celulares. Los pacientes en condiciones de ayuno mostraron un menor cociente respiratorio, menor concentración de glucosa y lactato y mayores

concentraciones de ácidos grasos no esterificados y  $\beta$ -hidroxibutirato. Sin embargo, después de la carga oral de glucosa mostraron un aumento de la distancia y una reducción de las interacciones entre la mitocondria y el retículo endoplasmático (RE). También, se observó una reducción de la fosforilación oxidativa debido al cambio de oxidación de ácidos grasos por glucosa y una reducción de la alineación, el número y la densidad de la cresta mitocondrial.

Con los resultados obtenidos se demuestra que la transición del ayuno a la alimentación reduce las interacciones entre mitocondrias y RE, induce la fisión mitocondrial y reduce la densidad de las crestas mitocondriales en las PBMC humanas. Estos resultados reflejan como la dinámica mitocondrial está relacionada con el metabolismo humano y puede ser un punto de partida interesante en el estudio de patologías asociadas a una mala flexibilidad metabólica en los humanos.

Al igual que el estudio anterior, en otro estudio aleatorizado de Kolobaric´ y colaboradores<sup>7</sup> demostraron cómo el tipo de nutrición tiene efectos sobre las células del sistema inmune.

En este estudio de doble ciego un grupo de 19 sujetos alimentados con huevos de gallinas suplementadas con ácido n3-poliinsaturado (PUFA) presentó mayores niveles de prostanoïdes antiinflamatorios y un aumento de los niveles de oxilipina en comparación con el grupo control de 21 sujetos, alimentado de huevos de gallinas sin suplemento. Además, el grupo de experimentación también presentó un aumento del factor de crecimiento  $\beta$ -1 y una disminución de la secreción de interleuquina 6 (IL-6).

Como conclusión se demuestra como una dieta suplementada con ácido n3-poliinsaturado modifica la respuesta del sistema inmune mediante la disminución de la respuesta inflamatoria a través de lípidos mediadores y la secreción de citoquinas de los linfocitos T en humanos sin otras comorbilidades.

El estudio aleatorizado de Azizi Jalilian y colaboradores<sup>14</sup> respalda estos resultados ya que demuestra como un tipo de suplementación nutricional disminuye la secreción de IL-6, entre otras citoquinas inflamatorias. Sin embargo, en este caso no son sujetos sanos, sino que está realizado sobre pacientes con COVID-19.

En este ensayo de doble ciego se midieron los efectos de la *Nutricion Bio-shield Superfood* (NBS) sobre la función del sistema inmune en 47 pacientes con COVID-19. Para ello, se hizo un seguimiento de 4 semanas. El grupo de intervención recibió 2g/día de (NBS) a parte de un tratamiento antivírico habitual. El grupo control recibió el mismo tratamiento antivírico sin ningún suplemento adicional. Se tomaron muestras de sangre antes y después de la intervención y se midieron los niveles en suero de algunas citoquinas. En los resultados obtenidos se observó una mayor disminución de los niveles de citoquinas proinflamatorias después de la intervención en los participantes que recibieron la suplementación. La mayor diferencia entre los grupos fue en los niveles de IL-2, IL-6, IL-17 y TNF- $\alpha$ , ya que es de 0.91, 10.28, 6.25 y 8.12 pg/ml respectivamente. Se calculó teniendo en cuenta el incremento de cada grupo entre los niveles basales y después de la intervención. (Tabla 1).

Los resultados de este estudio muestran que la respuesta inmune de los pacientes que reciben NBS durante 4 semanas (grupo de intervención) es inducida de una forma menos exacerbada que el grupo control, por lo que esta suplementación combinada con la terapia vírica habitual podría prevenir una respuesta inflamatoria exagerada frente a la COVID-19.

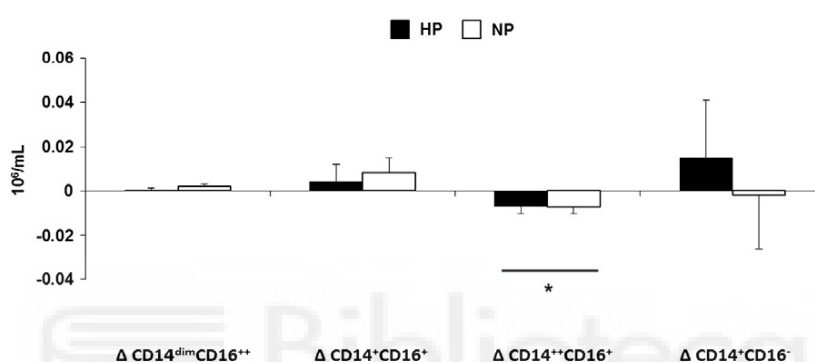
	Grupo control			Grupo intervención			$\Delta$ grupos
	Nivel basal	4 sem.	$\Delta$ niveles	Nivel basal	4 sem.	$\Delta$ niveles	$\Delta$ intervención - $\Delta$ control
<b>IL-2 (pg/mL)</b>	5.99	3.06	2.93	6.03	2.19	3.84	0.91
<b>IL-6 (pg/mL)</b>	36.48	10.57	25.91	41.04	4.85	36.19	10.28
<b>IL-17 (pg/mL)</b>	32.74	10.03	22.71	37.33	8.37	28.96	6.25
<b>TNF-<math>\alpha</math> (pg/mL)</b>	35.08	6.39	28.69	41.21	4.40	36.81	8.12
<b>IFN-<math>\gamma</math> (pg/mL)</b>	22.95	4.83	18.12	22	4.36	17.64	0.48

**Tabla 1.** Niveles de citoquinas proinflamatorias en sangre antes (niveles basales) y después de la intervención (4 semanas) y su diferencia en ese intervalo ( $\Delta$  niveles) en ambos grupos de estudio. Diferencia entre los dos intervalos de ambos grupos ( $\Delta$ intervención -  $\Delta$ control). Tomado de Farid Azizi Jalilian y colaboradores, 2022<sup>14</sup>.

En pacientes con sobrepeso, se ha realizado un estudio prospectivo aleatorio de doble ciego<sup>15</sup> donde se demostró la disminución de monocitos proinflamatorios causada por una intervención dietética. Para ello, un grupo 32

adultos con un índice de masa corporal entre 25-38 kg/m<sup>2</sup> (con sobrepeso u obesidad) se sometieron a una dieta con restricción calórica, 14 sujetos a una dieta alta en proteínas y 18 a una normal, durante 16 semanas. Se tomaron muestras de sangre en ayunas en la semana 3 del inicio de la intervención nutricional (datos basales) y en la semana 16.

Después de la intervención se observó una modificación en el número de monocitos. Disminuyó el número de linfocitos CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup>, mientras que el número de linfocitos CD14<sup>dim</sup>CD16<sup>++</sup>, CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>, y CD14<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup> no sufrió cambios, independientemente de si la dieta era alta o baja en proteínas. (Fig. 5).



**Figura 5.** Cambios en la subpoblación de monocitos con una dieta alta en proteínas (HP) y una dieta con aportes normales de proteínas (NP). Tomado de Jung Eun Kim y colaboradores, 2017<sup>15</sup>

Con los datos obtenidos basales y post-intervención se hizo una asociación entre el perfil lipídico y el número de monocitos, teniendo en cuenta que estos se dividen en tres subpoblaciones: clásica (CD14<sup>++</sup>CD16<sup>-</sup>), no clásica (CD14<sup>+</sup>CD16<sup>++</sup>) e intermedia (CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup>).

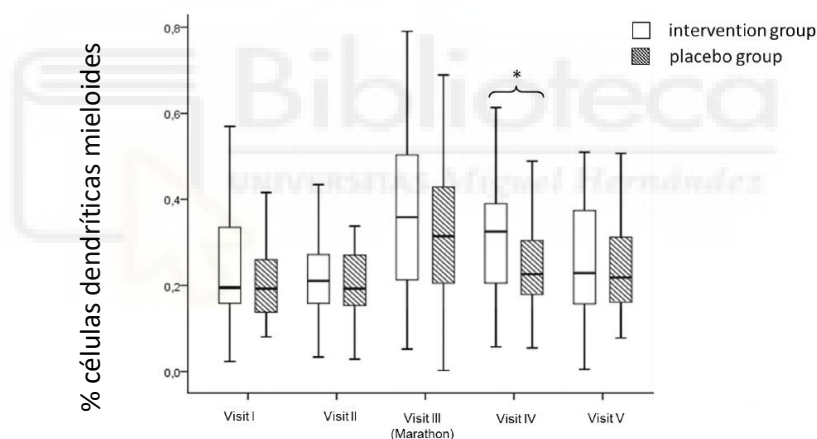
Las células CD14<sup>dim</sup>CD16<sup>++</sup> presentan una asociación negativa con el colesterol total (CT) y los triglicéridos. CD14<sup>dim</sup>CD16<sup>++</sup> no están asociadas con los lípidos y las lipoproteínas mientras que CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup> presentan una asociación positiva con CT, LDL, CT/HDL ratio, y LDL/HDL ratio. Además, no se observó asociación entre CD14<sup>++</sup>CD16<sup>-</sup> y los lípidos y lipoproteínas. Los cambios en el número de monocitos no están asociados a los lípidos.

La pérdida de peso independientemente de una restricción calórica con una dieta alta o baja en proteínas mejora la inmunidad a través de la disminución parcial de monocitos proinflamatorios como son los linfocitos CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup>. La

principal limitación de este estudio es que está hecha en sujetos con un IMC 25-38 kg/m<sup>2</sup> por lo que la asociación entre el número de monocitos y los lípidos plasmáticos solo se ha demostrado para adultos con sobrepeso y obesos.

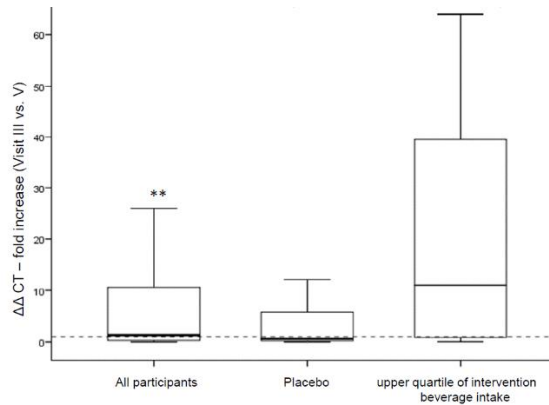
Para relacionar suplementación nutricional y ejercicio físico intenso, y su relación con el sistema inmunitario, se llevó a cabo un estudio<sup>16</sup> con dos grupos de participantes: 42 recibieron una suplementación con polifenoles (grupo intervención) y 58 recibieron placebo (grupo control).

Se analizaron los efectos dosis-dependientes de la suplementación con polifenoles. Para ello, se midió el número de células dendríticas mieloides y se observó en el grupo de intervención una disminución del 0.23% de las células dendríticas 24h después de someterse a una maratón (visita IV) comparado con una disminución del 0.33% en el grupo control. Por lo que la disminución en el grupo de intervención es menor. (0.33 vs. 0.23 %,  $p < 0.05$ ; figura 6).



**Figura 6.** Porcentaje de células dendríticas mieloides en ambos grupos de intervención y en los diferentes momentos del estudio. Tomado de Korbinian Lackermair y colaboradores, 2017<sup>16</sup>.

En cuanto al Toll-like receptor 7 (TLR7) no se observaron diferencias importantes entre ambos grupos. La principal diferencia fue que el cuartil del grupo de intervención que tomó mayor cantidad de polifenoles mostró un mayor aumento en la expresión de TLR7 72h después del maratón comparado con la cantidad de TLR7 justo después de la maratón. Este aumento no se observó en el grupo control (Fig 7).



**Figura 7.** Cambios en la expresión de TLR7 en ambos grupos de intervención. Tomado de Korbinián Lackermair y colaboradores, 2017<sup>16</sup>.

Como conclusión el estrés físico generado en este caso por una maratón afecta a las células dendríticas circulantes, aumentando las mieloides y disminuyendo las plasmocitoides. Esto, puede explicar la mayor susceptibilidad a contraer una infección vírica después del ejercicio físico excesivo. Este estudio demuestra que la suplementación con polifenoles no puede atenuar estos efectos, sin embargo, sí que consigue una mayor regeneración del receptor TLR7, receptor de antígenos después del ejercicio físico intenso.

Otro estudio de 2018<sup>17</sup> demuestra como la inclusión de nueces en la dieta (aportando el 15% de la energía) durante 2 años ayuda a mantener la longitud de los telómeros de los leucocitos. Para ello, se seleccionaron 149 participantes, 80 consumieron dieta con suplemento de nueces (grupo intervención) y 69 dieta normal (grupo control). Después de 2 años con la dieta se valoró la longitud de los telómeros y se comparó con la longitud al inicio del estudio.

Los resultados obtenidos fueron los siguientes: los cambios medidos de las kilobases (kb) de los telómeros después de los dos años de intervención fueron de 0.01 kb para el grupo de la intervención y 0.29 kb para el grupo control. Ambos resultados se dan con un intervalo de confianza del 95%. Se observa un menor cambio en el grupo de intervención, lo que muestra un efecto de conservación.

Los valores en porcentaje de los telómeros con una longitud menor de 3kb fue del 0.88% para el grupo de intervención y 2.98% para el grupo control, ambos con un intervalo de confianza del 95%. Se observa un menor porcentaje de



telómeros cortos en el grupo de intervención, lo que un efecto protector de la longitud de estos. (Tabla 2).

	Grupo intervención	Grupo control
<b>Cambios en las kb de los telómeros</b>	0.01kb	0.29 kb
<b>% de telómeros de longitud ≤ 3kb</b>	0.88%	2.98%

**Tabla 2.** Cambios en las kilobases de los telómeros después de dos años de intervención en ambos grupos. Porcentaje de telómeros con una longitud igual o inferior a 3 kb después de dos años de intervención en ambos grupos. Tomado de Tania-Marisa Freitas-Simoes y colaboradores, 2018<sup>17</sup>

Estos resultados sugieren que las nueces favorecen la prevención del acortamiento de los telómeros. Por lo tanto, incluir nueces, ricas en n-3PUFA y antioxidantes, de forma habitual en la dieta retrasa el acortamiento de los telómeros de los leucocitos y podría tener un impacto positivo en enfermedades derivadas del envejecimiento.

De la misma forma, un ensayo realizado en 2019<sup>18</sup> también demostró la influencia de la dieta sobre los telómeros de linfocitos CD8+, ya que se demuestra como la actividad de la telomerasa puede verse incrementada, y en consecuencia un mantenimiento y protección de los telómeros, con la ingesta de hojas cocinadas de *Brassica carinata*.

En este ensayo cruzado controlado, aleatorizado, de simple ciego participaron 22 sujetos. Cada sujeto asistió a dos fases de intervención de 5 días separadas por una fase de 9 días. Durante la fase de intervención los sujetos consumieron una porción de *B. carinata*, ya sea cruda o cocinada.

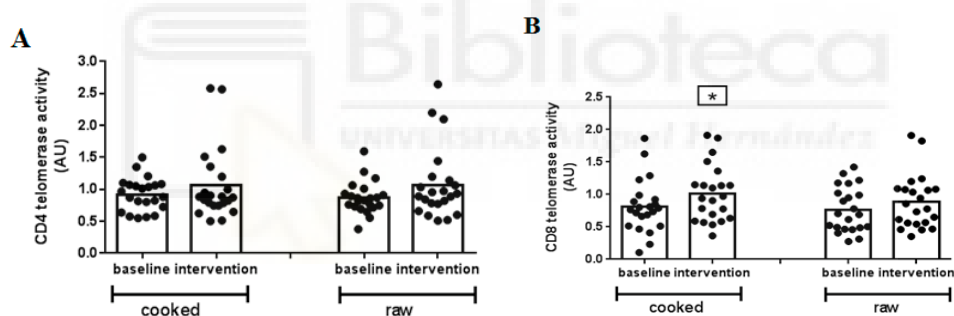
Se comparó el número de células entre la muestra de base (recogida antes de la intervención nutricional) con la muestra después de tomar la *B. carinata* cocinada. Se obtuvo un ligero aumento en el número de células CD4+ (1.4 vs.  $1.3 \pm 0.7 \times 10^6$  células CD4+/mL) mientras que el número de células CD8+ presentó una ligera disminución (0.7 vs  $0.6 \pm 0.4 \times 10^6$  células CD8+/mL).

También se comparó el número de células de la muestra de base con la muestra después de tomar la *B. carinata* cruda y se observó una ligera disminución en ambos tipos de células: ( $1.3 \pm 0.5 \times 10^6$  células CD4+/mL vs  $1.2 \pm 0.6 \times 10^6$

células CD4+/mL y  $0.7 \pm 0.4 \times 10^6$  células CD8+/mL vs  $0.6 \pm 0.4 \times 10^6$  células CD8+/mL).

Después de la intervención nutricional y medir el efecto de la intervención nutricional sobre la actividad de la telomerasa en las células T, no se obtuvieron cambios muy significativos en la actividad de la telomerasa para los linfocitos CD4+ (Fig 8A).

Sin embargo, en los linfocitos CD8+ la actividad de la telomerasa sí que sufrió modificaciones importantes. En los grupos que tomaron *B. carinata* cocinada la actividad es  $0.81 \pm 0.41$  AU y en los que la consumieron cruda es  $0.77 \pm 0.35$  AU. Después de la intervención nutricional, se observó un aumento del 25% en la actividad de la telomerasa en los sujetos que tomaron *B. carinata* cocinada ( $1.02 \pm 0.44$  AU), marcado en la figura 4B por un asterisco. Por el contrario, este aumento no fue tan significativo en los sujetos que habían ingerido *B. carinata* cruda ( $0.89 \pm 0.42$  AU) (Fig 8B.)



**Figura 8. A.** Actividad de la telomerasa en células CD4+ en el grupo que tomó *B. carinata* cocinada y cruda respectivamente antes y después de la intervención nutricional. **B.** Actividad de la telomerasa en células CD8+ en el grupo que tomó *B. carinata* cocinada y cruda respectivamente antes y después de la intervención nutricional. Hoai Thi Thu Tran y colaboradores, 2019<sup>18</sup>

El resultado de este estudio evidencia que la actividad de la telomerasa en las células T puede ser modificada en un periodo corto de tiempo (menos de una semana) por una intervención nutricional (ingesta de hojas vegetales cocinadas de la especie *B. carinata*).

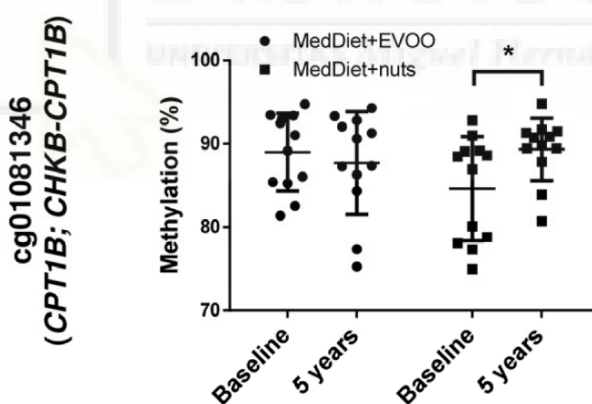
La regulación del mantenimiento de los telómeros juega un papel fundamental ya que el sistema inmunitario depende en gran medida de la expansión clonal y la división celular. Por eso, el aumento endógeno de la actividad de la telomerasa

se asocia una mejora de la función del sistema inmune ya que ayuda a mantener la función de los linfocitos citotóxicos y potencia su función antiviral.

En un estudio multicéntrico aleatorizado<sup>19</sup> se demostró como la metilación del ADN en los glóbulos blancos periféricos puede ser modificada por una intervención nutricional. Para ello, se reclutaron 36 sujetos y se sometieron a tres tipos de intervención nutricional. Un grupo control, un grupo con dieta mediterránea suplementada con aceite de oliva virgen extra (MedDiet + AOVE) y el tercer grupo con dieta mediterránea suplementada con nueces (MedDiet + frutos secos).

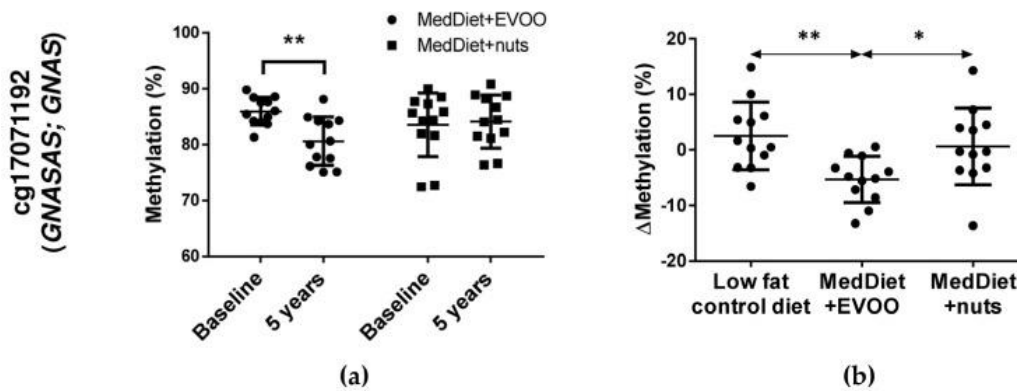
En este estudio se midió la metilación en dos sitios CpGs, la cual provoca un silenciamiento estable de genes.

Por un lado, el CpG: cg01081346 del gen CPT1B presentó un aumento de la metilación con la dieta Med + frutos secos después de 5 años de intervención y mostró grandes diferencias de metilación comparada con los grupos con las otras dos dietas (Fig. 9).



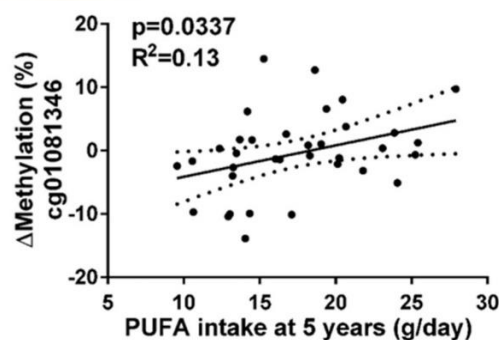
**Figura 9.** Cambios en la metilación del CpG del gen CPT1B. Media de metilación y desviación estándar (DS) de cada grupo dietético al inicio y a los 5 años. Tomado de Ana Arpón y colaboradores, 2017<sup>19</sup>.

Por otro lado, el CpG: cg17071192 del gen GNAS presentó una disminución de la metilación con la dieta Med+AVOE a lo largo de la intervención y mostró diferencias importantes en la metilación respecto a los otros dos grupos. (Fig. 10).



**Figura 10.** Cambios significativos de metilación del CpG gen GNASAS. Media de metilación y SD de cada grupo dietético al inicio y a los 5 años. Tomado de Ana Arpón y colaboradores, 2017<sup>19</sup>.

Por último, para saber la relación que existe entre los ácidos grasos poliinsaturados (presentes tanto en el AOVE como en los frutos secos) y los cambios en la metilación, se midió la regresión entre la metilación en CpGs y los lípidos totales, los ácidos grasos saturados, los ácidos grasos monoinsaturados (MUFA) y los ácidos grasos poliinsaturados consumidos durante los 5 años. Los resultados muestran que la metilación del cg01081346 está asociada a los ácidos grasos poliinsaturado, sin embargo, el cg17071192 no presenta esta asociación (Fig. 11).



**Figura 11.** Gráfico de regresión entre la metilación de cg01081346 y el consumo de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) a cinco años. Las líneas de puntos a ambos lados de la línea sólida (línea de regresión lineal) representan una banda de confianza del 95 %. Tomado de Ana Arpón y colaboradores, 2017<sup>19</sup>.

Este estudio demuestra que una intervención con MedDiet + AOVE y MedDiet + frutos secos influye en la metilación de genes en glóbulos blancos de sangre periférica y esto podría deberse al perfil de ácidos grasos que forman

tanto el AOVE como los frutos secos. Además, los cambios de metilación aparecen en genes relacionados con el metabolismo, la diabetes y la inflamación. Por lo tanto, esto puede aportar efectos beneficiosos sobre la salud mediante mecanismos epigenéticos, ya que la dieta tiene la influye en la metilación de ciertos genes.

En relación con la asociación entre la dieta y la expresión génica, existe otro estudio transversal<sup>20</sup> que aporta con sus resultados exploratorios una línea de análisis muy útil para futuras investigaciones.

La dieta puede alterar la expresión génica de las células inmunitarias involucradas en la susceptibilidad a la enfermedad cardiovascular aterosclerótica, sin embargo, todavía falta una asociación sólida que demuestre esta relación entre la dieta y la expresión génica relacionada con las células inmunitarias en humanos.

Por ello, en este estudio controlado aleatorizado de doble ciego se examinó la asociación entre tres patrones dietéticos (PD) y los perfiles de expresión génica en células mononucleares de sangre periférica (PBMC) en una población de adultos sanos (130 mujeres y 105 hombres). Se detectaron tres patrones dietéticos en la población de estudio que reflejan las dietas *occidental*, *vegetariana* y *baja en carbohidratos*.

Se observó una asociación negativa entre el número de monocitos y el patrón dietético vegetariano. Además, para las mujeres el patrón dietético *vegetariano* se asoció con un gran grupo de genes (unos 600) involucrados principalmente en la regulación de la transcripción del ADN. En los hombres, el patrón dietético *occidental* se asoció con un grupo más pequeño de genes (36) involucrados principalmente en la regulación de procesos metabólicos e inflamatorios.

Los resultados sugieren que la dieta puede afectar a varios tipos celulares y vías específicas. Los cambios más significativos se observaron en la proporción de monocitos, en las vías de transcripción génica y en las vías de regulación de procesos metabólicos e inflamatorios.

Tras la revisión de estos estudios se ha podido comprobar como la dieta puede afectar a los humanos a nivel intracelular en células del sistema inmune, como a la dinámica mitocondrial de glóbulos blancos periféricos en el estudio Mauricio Castro-Sepúlveda y colaboradores<sup>13</sup>. También se demuestra que es capaz de modificar la respuesta inmunitaria mediante la disminución de interleuquinas inflamatorias IL-6 en los estudios de Kolobarić y colaboradores<sup>7</sup> y de Farid Azizi Jalilian y colaboradores<sup>14</sup>.

Además, también se relaciona en el número de células inmunitarias, como en la disminución de monocitos proinflamatorios en el estudio de Jung Eun Kim y colaboradores<sup>15</sup>. Sin embargo, en el estudio de Korbinian Lackermair y colaboradores<sup>16</sup> aunque no se consigue demostrar un mantenimiento de las células dendríticas sí que se demuestra que la dieta ayuda a regenerar el TLR7.

Por último, se ha demostrado la influencia de la dieta tanto en el estudio de Arpón y colaboradores<sup>19</sup> como en el de Christensen y colaboradores<sup>20</sup> en la expresión de genes que regulan procesos inflamatorios.

## **2. ESTUDIAR EL IMPACTO DEL AYUNO SOBRE LA RESPUESTA INFLAMATORIA.**

En un estudio piloto<sup>5</sup> se evaluaron los efectos del ayuno de 24h en individuos sanos. Para ello, 21 sujetos se sometieron a 24h de ayuno, se tomaron muestras de sangre tras una noche de ayuno (niveles basales), después del día de ayuno (estado ayuno) y pasadas 3 horas de la ingesta (estado de realimentación).

Se observó una disminución en los niveles de IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-5 y IFN- $\gamma$  cuando se activan las células T en el estado de ayuno en comparación con el resto de los estados nutricionales.

Además, durante el estado de ayuno hubo una elevación en los niveles de la proteína IGFB1, lo que provoca una menor capacidad de respuesta de los linfocitos CD4+ al disminuir la liberación de IFN- $\gamma$ , IL-4 y IL-17. Por el contrario, en estado de realimentación se elevó la proteína PYY, que aumenta la capacidad de respuesta de las células CD4+ y la secreción de IFN- $\gamma$ , IL-4 y IL-17.

Por último, en periodos de realimentación también se induce la expresión de las proteínas IL1RL1 y MFGE8 que ambas inducen secreción de IFN- $\gamma$  y IL-17.(Tabla 3).

Proteínas	Ayuno	Realimentación	Efectos
<b>IGFBP1</b>	Aumento		Menor respuesta CD4+: disminuye IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-17
<b>PYY</b>		Disminución	Mayor respuesta CD4+: aumenta IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-17
<b>IL1RL1</b>		Disminución	aumenta IFN- $\gamma$ , IL-17
<b>MFGE8</b>		Disminución	aumenta IFN- $\gamma$ , IL-17

**Tabla 3.** Variación en los niveles de proteínas en ambos estados nutricionales y los efectos que provoca. Tomado de Kim Han y colaboradores, 2021<sup>5</sup>

Se observó una mayor respuesta reguladora de los genes después del ayuno de 24h lo que respalda la idea de que la adaptación al estrés metabólico (ayuno) produce efectos inmunomoduladores.

Al comparar los tres estados nutricionales basal, ayuno y realimentación se observa que el estado de ayuno media en la disminución de la activación de las células T CD4 +. Esta disminución de su activación es conferida por la elevación de la proteína IGFBP.

Además, en este estudio se amplía la comprensión de los puntos de control regulatorio en la inmunomodulación dependiente de la carga de nutrientes al identificar que las proteínas circulantes, IGFBP1, PYY, IL1RL1 y MFGE8, pueden afectar a los CD4 +. Como conclusión se deduce que la restricción de calorías, mediante intervenciones como el ayuno intermitente, tiene efectos de mejora sobre la inflamación.

En un estudio de cohortes<sup>21</sup> en el que participaron 446 sujetos, el grupo de intervención formado por 301 participantes, recibió una dieta baja en carbohidratos y alta en proteínas durante 26 semanas. En la semana 1 hicieron 3 comidas diarias, de la semana 2 a la 4 hacen 2 comidas al día y de la semana 5 a la 26 hacen 1 comida al día.

Los resultados observados en este estudio fue una disminución de la proteína C reactiva (PCR) y de IL-6 después de las 26 semanas de intervención. Por tanto, este tipo de intervención logra una disminución de los marcadores inflamatorios.

Los mismos resultados fueron obtenidos en el estudio de cohortes de seguimiento longitudinal de Alam y colaboradores<sup>22</sup> en el que 78 adultos se sometieron a ayuno de 16 h durante 29 días consecutivos. Se tomaron muestras de sangre en tres puntos distintos del estudio; antes de empezar el ayuno (niveles basales), 4 semanas después (fin del ayuno), y un mes después (post-ayuno).

Los resultados mostraron una disminución del nivel de proteína C reactiva (PCR) durante el periodo de ayuno y una disminución de TNF- $\alpha$ . Se observó un aumento de IL-8 y IL-6, lo que sugiere que algunos marcadores inflamatorios pueden estar aumentados debido a este ayuno intermitente (Tabla 4). Como conclusión general el ayuno circadiano recurrente presenta beneficios ya que protege frente a la inflamación sistémica de bajo grado y al estrés oxidativo, por lo que podrían beneficiarse especialmente aquellos sujetos adultos que tengan parámetros inflamatorios fuera de lo normal.

Proteínas	Ayuno
CRP	↓
TNF- $\alpha$	↓
IL-6	↑
IL-8	↑

**Tabla 4.** Variación en los niveles de marcadores inflamatorios después de la intervención de ayuno. Tomado de Iftikhar Alam y colaboradores, 2019<sup>22</sup>.

En concordancia a estos resultados, la revisión sistemática con metaanálisis de Wang y colaboradores de 2020<sup>4</sup> concluye que una disminución calórica con dietas como el ayuno intermitente disminuyen la concentración de Proteína Reactiva C. Sin embargo, no demuestra un aumento de IL-6 ni una disminución de TNF- $\alpha$  como en el estudio anterior.

Los niveles de Proteína C Reactiva también fueron evaluados en otro estudio<sup>23</sup> en el que 7 personas se sometieron a ayuno durante 10 días. Se realizó la biopsia del tejido adiposo (TA) en la mañana de la admisión (nivel basal, a t=0), la

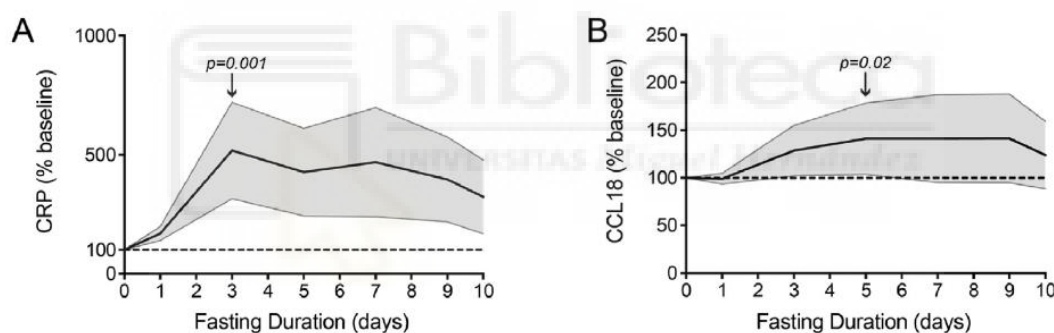


mañana después de la admisión (día 1) y la mañana del último día de ayuno (día 10).

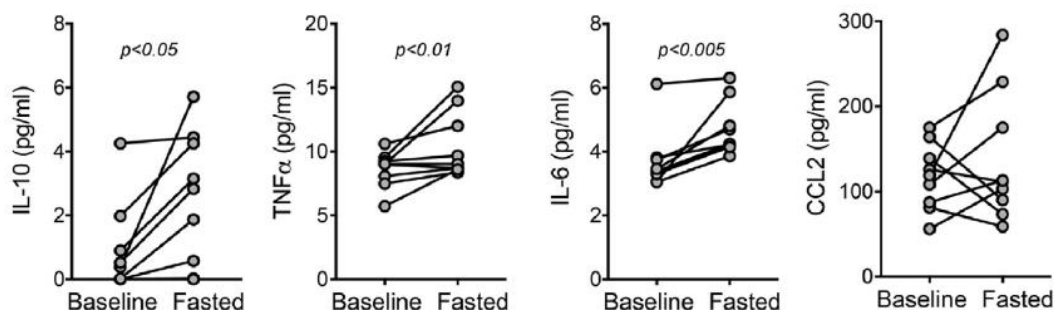
Se obtuvieron unos niveles superiores de proteína reactiva C (PR-C) y CCL18 durante el ayuno comparados con los niveles basales, obteniendo un pico en el día 3 y día 5 respectivamente. (Fig. 12).

También se midió durante el ayuno otros mediadores inflamatorios y se observó un aumento en la transcripción de citoquinas proinflamatorias en el TA. Los niveles de IL-10, IL-6 y TNF- $\alpha$  aumentaron respecto a sus valores basales mientras que CCL2 no sufrió cambios. (Fig. 13).

Con los resultados obtenidos parece que el ayuno prolongado conduce a una inflamación metabólica. Sin embargo, este estudio está limitado por el número de participantes y esto podría explicar la diferencia con los resultados de niveles de proteína reactiva C con los dos estudios anteriores<sup>4,22</sup>.



**Figura 12.** A. Niveles en suero de proteína reactiva C expresados en % respecto a los niveles basales. B. Niveles en suero de proteína CCL18 expresados en % respecto a los niveles basales. Línea central= media. Sombreado= intervalo de confianza del 95%. Línea discontinua= niveles basales. Tomado de Pouneh K. Fazeli y colaboradores, 2020<sup>23</sup>.



**Figura 13.** Niveles en suero de IL-10, TNF- $\alpha$ , IL-6 y CCL2 a nivel basal y tras los 10 días de intervención. Todos los resultados son estadísticamente significativos menos los niveles de CCL2. Tomado de Pouneh K. Fazeli y colaboradores, 2020<sup>23</sup>.

Al igual que en el trabajo de Alam y colaboradores<sup>22</sup> en el que se observó una disminución de TNF- $\alpha$ , en el estudio de Abdulsada y colaboradores<sup>24</sup> se observa una correlación positiva entre el ayuno y esta citocina proinflamatoria.

En el estudio participaron 28 sujetos, 14 con síndrome metabólico y 14 sanos, que se sometieron a ayuno de 14h diarias durante 4 semanas consecutivas. Se recogieron muestras antes de empezar el ayuno, justo al terminar la 4<sup>o</sup> semana de ayuno y una semana después. En las muestras se midió el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) en el suero de los sujetos. Pasadas las semanas de ayuno se observó una reducción BDNF en el suero. Además, esta reducción presentó una correlación positiva con los niveles de TNF- $\alpha$ , lo que indica que BDNF es un biomarcador de inflamación y disfunción endotelial a parte de su acción neurotrófica y anoxigénica ya conocida.

Por el contrario, en el estudio de Mooren y colaboradores<sup>25</sup> se observa una disminución en los niveles de TNF- $\alpha$ . En este estudio, 14 voluntarios sanos se sometieron a condiciones de ayuno durante 36 horas y pasado ese tiempo a una prueba física de 30-60 minutos de bicicleta. Una semana después, comiendo su dieta habitual, se volvieron a someter a la misma prueba física. Se tomaron muestras de ambas intervenciones (ayuno y alimentación normal), antes del ejercicio físico (muestra basal), justo después del ejercicio y 1 hora después.

En los niveles basales después de someterse al ayuno, los sujetos presentaron niveles más bajos de apoptosis de las células T, de respuesta proliferativa de los linfocitos, de IL-6 y de MCP-1, de insulina y de leptina. Por el contrario, presentaron niveles más altos de explosión oxidativa de neutrófilos y sustancias reactivas del ácido barbitúrico en comparación a los niveles basales sin someterse a ayuno.

Después del ejercicio físico, los sujetos que hicieron ayuno mostraron niveles más altos de apoptosis de células T, explosión oxidativa de neutrófilos, TBARS, TNF- $\alpha$  y MCP-1 y niveles más bajos de respuesta proliferativa de linfocitos, IL-6, insulina y leptina en comparación a la intervención sin ayuno (Tabla 5).

	Niveles basales	Niveles después del ejercicio físico
	con ayuno vs sin ayuno	con ayuno vs sin ayuno
<b>Proliferación de linfocitos</b>	↓	↑
<b>Apoptosis linfocitos T</b>	↓	↑
<b>Explosión oxidativa linfocitos</b>	↑	↑
<b>IL-6</b>	↓	↓
<b>MCP-1</b>	↓	↑
<b>insulina</b>	↓	↓
<b>leptina</b>	↓	↓
<b>TNF-α</b>	↑	↑
<b>TBRAS</b>	↑	↑

**Tabla 5.** Comparación de distintos parámetros celulares en sujetos que se someten a ayuno vs sujetos que no se someten a ayuno en ambos momentos de la intervención (niveles basales y niveles después del ejercicio físico). Tomado de Frank C. Mooren y colaboradores, 2019<sup>25</sup>.

Analizando los resultados de los niveles basales después de un ayuno de 36 horas se observa un aumento de TNF- $\alpha$  al igual que en el estudio de Wang y colaboradores<sup>4</sup> y en el de Fazeli y colaboradores<sup>23</sup>.

Sin embargo, los niveles de IL-6 disminuyen al contrario que en el estudio de Fazeli y colaboradores<sup>23</sup> y en el de Alam y colaboradores<sup>22</sup> y en el de Wang y colaboradores<sup>4</sup> en el que se mantuvieron constantes. Esto puede deberse al método de ayuno al que se someten los individuos, ya que es un ayuno intenso de 36h, no es un ayuno intermitente como en los otros estudios.

En otro estudio<sup>26</sup> llevado a cabo en 12 voluntarios sanos, de los cuales se recogieron muestras de sangre 3h después de comer y después de 19h de ayuno, se observó una disminución de las células CD14+ y CD16+ después de la intervención. También se obtuvo una disminución de células dendríticas de tipo CD141+, mientras que el número de neutrófilos no se vio afectado. Además, el nivel plasmático de CCL2 (también llamado MCP-1) se redujo en 8 de 12 sujetos en ayunas.

El estudio demuestra un efecto drástico del ayuno a corto plazo en la reserva de monocitos en sangre y tejidos. Estos resultados coinciden con los obtenidos en el estudio anterior ya que también demostraba una disminución de la proliferación de linfocitos y de los niveles de MCP-1.

El estudio de Mindikoglu y colaboradores<sup>27</sup> demuestra como el ayuno intermitente aumenta la apoptosis celular y con esto ayuda a reducir la inflamación.

El estudio fue realizado en 14 pacientes sanos sometidos durante 30 días consecutivos a un ayuno diario de más de 14h. Los resultados obtenidos mostraron un aumento promedio de 40 veces en el nivel de ASGR2 GP al final de la 4<sup>o</sup> semana de ayuno intermitente en comparación con el nivel anterior al ayuno.

El gen ASGR2 codifica para una de las subunidades del receptor de asialoglicoproteína que se expresa abundantemente en el hígado. Este receptor desempeña un papel fundamental en la eliminación de los restos de células apoptóticas y la regulación inmunitaria en el hígado. Por tanto, estos hallazgos sugieren que el ayuno intermitente puede mejorar la eliminación hepática de los restos de células apoptóticas y gracias a esto reducir la inflamación y optimizar la función inmunológica.

Tras la revisión de estos estudios se demuestra que el ayuno intermitente disminuye la activación de los linfocitos CD4+ disminuyendo la secreción de citocinas proinflamatorias y regulando la inflamación<sup>5</sup>.

Además, también tiene efecto sobre otros marcadores inflamatorios como la Proteína Reactiva C que disminuye tras un ayuno intermitente<sup>4,21,22</sup>. Sin embargo, en el estudio de Fazeli y colaboradores<sup>23</sup> se ve aumentada y esto puede ser debido al pequeño tamaño muestral.

Por otro lado, el ayuno circadiano recurrente protege frente a la inflamación sistémica de bajo grado mediante la disminución de TNF- $\alpha$ <sup>22</sup>, esta disminución también podemos observarla en el estudio de Abdulsada y colaboradores<sup>24</sup>. Sin embargo, en tres estudios<sup>4,23,25</sup> esta citoquina aparece aumentada respecto al estado basal, esto puede deberse a las diferencias en las condiciones del ayuno en la intervención o al limitado tamaño muestral de los estudios.

Así mismo, los niveles de IL-6 se ven disminuidos tras el ayuno<sup>25</sup>. Sin embargo, en otros dos estudios<sup>22,23</sup> se ven aumentados, lo que podría estar provocado por el protocolo de ayuno intermitente de esos estudios.

Por último, cabe mencionar que tras el ayuno intermitente disminuyen los niveles de MCP-1 o CCL2<sup>21,25</sup>.

### **3. ANALIZAR EL EFECTO DEL AYUNO EN DIVERSAS PATOLOGÍAS NEURODEGENERATIVAS Y PSIQUIÁTRICAS.**

#### **3.1. EFECTO DEL AYUNO EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER.**

La mayoría de las enfermedades neurodegenerativas, incluida la enfermedad de Alzheimer, están caracterizadas por trastornos metabólicos que pueden estar relacionados tanto con el desarrollo como con la progresión de la enfermedad. Estas enfermedades comparten características patológicas como la agregación de proteínas, disfunción mitocondrial, estrés oxidativo y neuroinflamación, que pueden ser inducidos, o desencadenar, una crisis energética<sup>9</sup>.

En condiciones fisiológicas normales, el cerebro utiliza principalmente glucosa para la generación de ATP. Sin embargo, en situaciones en las que la glucosa es escasa, por ejemplo, durante un ayuno prolongado, los cuerpos cetónicos se convierten en una importante fuente de energía para el cerebro.

La mayoría de los estudios clínicos demuestran que tratamientos cetogénicos en pacientes que ya tienen deterioro cognitivo por la enfermedad de Alzheimer (EA) mejoran las funciones cognitivas relacionadas con la memoria y el lenguaje, aunque actualmente no se dispone de estudios clínicos definitivos a gran escala. Por tanto, el estudio de las neurocetoterapias como tratamiento modificador de la EA está justificado ya que ha demostrado modular directa e indirecta las vías antioxidantes y de la inflamación.

Sin embargo, aunque la evidencia de las dietas cetogénicas en la enfermedad de Alzheimer es muy prometedora, hasta la fecha no se ha recomendado el ayuno prolongado para la producción de cetonas ya que este tipo de intervención pone en riesgo el estado nutricional en los ancianos con la enfermedad de Alzheimer<sup>9,28</sup>.

Por otro lado, en un estudio de experimentación con animales<sup>29</sup> se comparan los efectos de la dieta sobre ratas a las que se les ha inducido la enfermedad de

Alzheimer mediante una infusión con  $\beta$ -amiloide. El grupo control sigue una dieta *ad libitum* y el grupo de intervención sigue un ayuno intermitente. Para evaluar los efectos del ayuno intermitente se miden citocinas inflamatorias y la memoria espacial.

Los ratones con enfermedad de Alzheimer que han hecho ayuno intermitente presentan niveles de TNF- $\alpha$  y de cortisol en suero inferiores en comparación con aquellos con *ad libitum*. Además, presentan mayores concentraciones de  $\beta$ -hidroxibutirato. Estos resultados explican el efecto antiinflamatorio del ayuno intermitente.

Para evaluar la memoria de los ratones se utiliza el Test de Morris. Este consiste en dejar una plataforma flotando en el agua donde el ratón puede ponerse a salvo, tras unos días se esconde dicha plataforma y se valora el tiempo que tarda el ratón en volver al lugar donde estaba previamente la plataforma. Se observa que los ratones con enfermedad de Alzheimer que hacen ayuno intermitente tardan menos tiempo en encontrar el lugar donde estaba la plataforma en comparación con aquellos ratones con la enfermedad y *con ad libitum*. Esto muestra el efecto protector del ayuno intermitente sobre la pérdida de memoria en la enfermedad.

El efecto protector sobre la memoria también se demuestra en otro estudio<sup>30</sup> de un mes de duración en el que utilizaron la misma prueba para la evaluación, el Test de Morris, y la prueba del laberinto en Y.

Se trata de un estudio experimental en animales en el que se utilizan dos tipos de ratones; *Wild Type* (WT) y ratones AppNL-G-F, a los que se les ha inducido la enfermedad de Alzheimer. Ambos grupos se someten a dos tipos de dieta; *ad libitum* y ayuno intermitente de 24h dos días por semana durante 1 mes. Pasado ese mes se evalúa el comportamiento mediante una serie de pruebas.

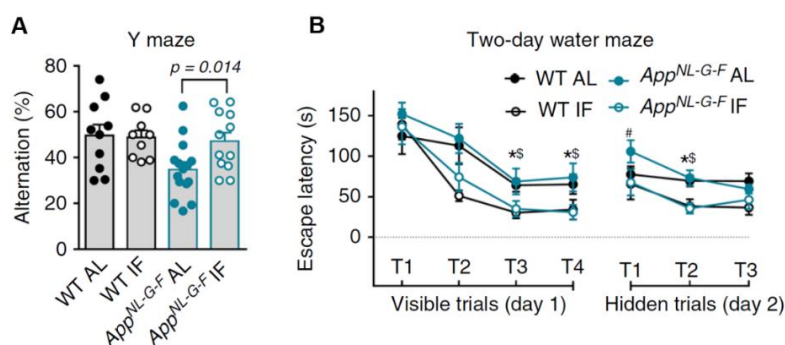
Se mide la orientación espacial con el “Laberinto en Y” y el “Test acuático de Morris”. En el laberinto en Y, los ratones AppNL-G-F con ayuno intermitente obtuvieron resultados significativamente mejores que los ratones AppNL-G-F con *ad libitum* (Fig. 14A).

En la prueba del laberinto acuático de Morris el día 1, los ratones con ayuno intermitente encontraron antes la plataforma para ponerse a salvo. Esto indica que el ayuno intermitente ayuda al aprendizaje espacial. En el día 2, los ratones AppNL-G-F con *ad libitum* mostraron un mayor tiempo de latencia para encontrar la plataforma escondida en comparación con los del ayuno intermitente. Esto indica una disminución de las disfunciones cognitivas con el ayuno intermitente (Fig. 14B).

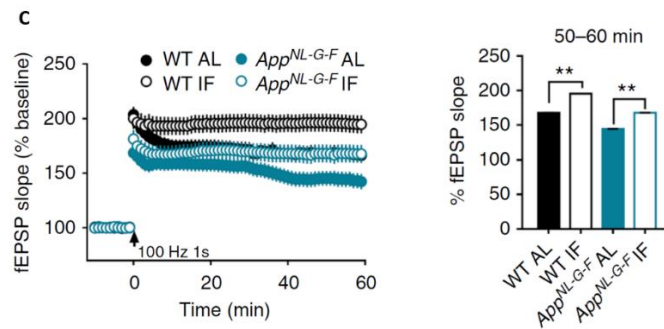
Para determinar si el aprendizaje espacial y los déficits de memoria en ratones AppNL-G-F con ayuno intermitente se asocian con mejoras en la plasticidad sináptica, se evalúa la transmisión sináptica basal y la potenciación a largo plazo, que consiste en una comunicación sináptica duradera entre dos neuronas como consecuencia de una estimulación eléctrica de alta frecuencia.

No se encontraron diferencias en la transmisión sináptica basal entre los dos tipos de dietas. Sin embargo, se observa que los ratones con ayuno intermitente muestran un incremento significativo en la potenciación sináptica a largo plazo. En las gráficas (Fig. 14C) se observa el potencial postsináptico excitatorio en ambos grupos de ratones. Con ayuno intermitente es mayor y se mantiene más en el tiempo en comparación a los grupos con *ad libitum*.

Por tanto, el estudio demuestra que el ayuno intermitente reduce la hiperexcitabilidad neuronal, así como los déficits en aprendizaje y memoria que se dan en la enfermedad de Alzheimer.



**Figura 14. A.** Resultados del laberinto en Y. Porcentaje de alternancia en los dos tipos de ratones y con o sin intervención de ayuno. **B.** Resultados del laberinto acuático de Morris. Tiempo de latencia que tarda en escapar del agua en los diferentes tipos de ratones y con o sin intervención de ayuno. WT: Wild Type (sin Alzheimer); AppNL-G-F (con Alzheimer); AL: ad libitum; I: intermittent fasting, ayuno intermitente; EPSP: Excitatory Postsynaptic Potential. Resultados de la visita del día 1 y del día 2. Tomado de Yong Liu y colaboradores, 2019<sup>30</sup>.



**Figura 10. C.** Potencial postsináptico excitatorio (EPSP) en ambos grupos de ratones con ayuno intermitente y sin ayuno. Tomado de Yong Liu y colaboradores, 2019<sup>30</sup>.

En relación con la capacidad del ayuno intermitente sobre la reducción de la hiperexcitabilidad neuronal, el artículo de Mattson y colaboradores<sup>31</sup> respalda estos resultados.

Muchos estudios en humanos y animales demuestran que la hiperexcitabilidad de las redes neuronales corticales se produce al principio de la EA. Se ha demostrado que la hiperexcitabilidad puede aumentar la producción de  $\beta$ -amiloide ( $A\beta$ ) y causar patología de Tau. Al mismo tiempo, esta agregación de  $A\beta$  puede hacer que las neuronas sean vulnerables a la hiperexcitabilidad. Debido a su elevada frecuencia de disparo y la alta demanda energética, las interneuronas GABAérgicas son más vulnerables al estrés oxidativo, metabólico e iónico durante el envejecimiento.

La situación fisiológica y bioenergética que provoca el ayuno intermitente y el ejercicio pueden mejorar el tono GABAérgico y proteger contra la hiperexcitabilidad y la degeneración neuronal en modelos animales de EA.

Existe otro estudio<sup>32</sup> que demuestra el efecto neuroprotector de la restricción calórica, pero en este caso no se mide mediante pruebas de memoria experimentales sino mediante la modulación de la autofagia en partes específicas del cerebro.

Para ello, se estudia in vivo un conjunto de 48 ratones a los que a algunos de ellos se les induce toxicidad neuronal mediante la inyección de Paraquat. Esto les provoca una disminución de la apoptosis y la peroxidación de lípidos causando neurodegeneración.



Los ratones están divididos en 4 grupos de 12. Grupo 1 (control): *ad libitum*; Grupo 2: ayuno intermitente; Grupo 3: *ad libitum* + Paraquat (PQ); Grupo 4: ayuno intermitente + Paraquat.

Los resultados obtenidos muestran que 48h de ayuno intermitente durante esas 3 semanas disminuyeron notablemente los marcadores de daño oxidativo y apoptosis en el hipocampo.

El grupo con PQ + ayuno intermitente presentó niveles inferiores de 4-hidroxinonenal (4HNE) en comparación con el grupo PQ + *ad libitum* en la región de hipocampo. Lo mismo ocurre con la expresión del citocromo c en el hipocampo, se observa una disminución de su expresión en el grupo con PQ + ayuno intermitente en comparación al grupo con PQ + *ad libitum*.

Estos datos sugieren, con la disminución de 4HNE (un marcador de daño oxidativo y apoptosis) y el aumento del citocromo c, que el ayuno intermitente tiene un papel neuroprotector especialmente en la región del hipocampo.

Además, se observa como los grupos con ayuno intermitente presentan niveles inferiores de proteínas p62 tanto en el hipocampo como en el cerebelo.

La proteína p62 es continuamente degradada por autofagia, por lo que se utiliza como marcador autofágico. Una disminución en los niveles totales de p62 indicaría una inducción del proceso autofágico. Por tanto, esta disminución sugiere un aumento de la macroautofagia degradativa en estas partes del cerebro en respuesta al ayuno intermitente.

Este estudio demuestra que la macroautofagia y la autofagia inducida por chaperonas tiene un efecto neuroprotector, por tanto, defiende la reducción de calorías o el ayuno intermitente controlado como estrategia terapéutica en todos los estados de enfermedad de Alzheimer gracias a su poder de potenciación de la macroautofagia y la autofagia inducida por chaperonas.

El ayuno intermitente da como resultado un proteoma sérico que protege contra la disfunción cognitiva, la enfermedad de Alzheimer y varias enfermedades neuropsiquiátricas<sup>27</sup>.

En relación con la enfermedad de Alzheimer, algunos estudios han investigado como la expresión del gen HOMER1 puede disminuir en el hipocampo en pacientes con la enfermedad.

Además, la proteína HOMER1 puede interactuar con otras proteínas implicadas en la enfermedad de Alzheimer, como la proteína precursora de amiloide (APP), precursor de  $\beta$ -amiloide.

Se ha demostrado como el ayuno intermitente provoca del nivel de HOMER1 y una reducción significativa en el nivel de APP al final de la 4ª semana de ayuno intermitente de 30 días en comparación con el nivel previo al ayuno.

Estos hallazgos sugieren que el ayuno intermitente de 30 días desde el amanecer hasta el anochecer puede tener implicaciones en la mejora de la función cognitiva, la prevención y el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer y varios trastornos neuropsiquiátricos, incluida la depresión mayor.

Los estudios revisados en animales y las revisiones respaldan que el ayuno intermitente protege frente a la pérdida de memoria en la EA<sup>28</sup>, mejora el aprendizaje espacial y protege frente a la disfunción cognitiva que causa esta enfermedad<sup>27,30</sup>. Esta protección puede ejercerse a través de un incremento de la autofagia celular. Además, también se ha demostrado que disminuye la hiperexcitabilidad neuronal que puede hacer más vulnerables a las neuronas en la acumulación de placas  $\beta$ -amiloides<sup>30,31</sup>.

### **3.2. EFECTO DEL AYUNO EN LA DEPRESIÓN.**

Los estudios preclínicos y clínicos muestran como la restricción calórica y el ayuno intermitente presenta efectos beneficiosos para la salud, incluidos los síntomas de la depresión. Se producen cambios neurobiológicos y neuroquímicos que podrían ser los responsables de la mejora de diversos síntomas, como los cambios en el estado de ánimo, la anhedonia, la disfunción cognitiva y cambios en el sistema inmunitario.

Aunque sigue habiendo problemas para trasladar los estudios de animales a humanos, los resultados son prometedores. Por ello, se necesita mejorar el

diseño, la duración y el número de estudios clínicos y seguir investigando la asociación entre la restricción calórica, el ayuno intermitente y la mejora de los síntomas de la depresión.

Estos resultados son respaldados por la revisión sistemática de Berthelot y colaboradores<sup>33</sup> en la que se demostró que los grupos que realizaron ayuno intermitente tenían niveles más bajos de ansiedad, depresión e índice de masa corporal en comparación con los controles sin aumento de la fatiga. Además, estas intervenciones de ayuno fueron seguras, incluso en pacientes con diabetes tipo II.

En un estudio transversal se demuestra como el ayuno intermitente mejora los síntomas cognitivo-afectivos en pacientes con síntomas de depresión moderada/grave<sup>34</sup>.

Para ello, se evaluaron los parámetros metabólicos, las hormonas del estrés y los niveles del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) en el suero de pacientes hospitalizados con depresión (grupo MDD, n=21) y voluntarios sanos (grupo control, n=28) antes y después de un periodo de ayuno de 72 h.

La gravedad de la depresión se evaluó mediante la puntuación total del Inventario de Depresión de Beck (BDI)-2 y las subpuntuaciones cognitivo-afectiva y somática.

En el grupo control, el ayuno elevó las puntuaciones totales del BDI-2 y las subpuntuaciones somáticas. Sin embargo, en el grupo con depresión, el ayuno aumentó los síntomas somáticos, pero disminuyó los cognitivo-afectivos.

Los análisis mostraron que los síntomas cognitivo-afectivos disminuyeron en los pacientes con síntomas moderados/graves, pero no en los que presentaban síntomas leves. Además, este efecto se asoció con cambios diferenciales en los niveles de BDNF.

En conclusión, el ayuno mejoró las subpuntuaciones cognitivo-afectivas en pacientes con depresión mayor con síntomas moderados/graves que no habían respondido a tratamientos previos. Las intervenciones que modulan el metabolismo energético podrían mejorar directamente los síntomas cognitivo-

afectivos y/o aumentar terapéutica en pacientes con depresión de moderada a grave.

En un ensayo prospectivo de cohortes<sup>35</sup> se estudiaron 80 pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal que se sometieron a ayuno intermitente durante el mes de Ramadán. Se midieron los síntomas clínicos de la enfermedad y el grado de depresión de los pacientes mediante la escala de depresión de Hamilton. Los resultados en la escala fueron similares antes y después del Ramadán por lo que no se observó influencia del ayuno sobre la depresión asociada a la enfermedad.

Por tanto, en pacientes diagnosticados con colitis ulcerosa, el ayuno intermitente durante 1 mes se asocia con un empeoramiento de la clínica, sin embargo, no se observan efectos negativos en los marcadores inflamatorios ni en la depresión.

Estos resultados son compatibles con el estudio de Jahrami y colaboradores<sup>36</sup> ya que se demuestra la seguridad del ayuno intermitente en varones con trastorno de depresión mayor.

En este estudio cuasiexperimental sin aleatorización se sometieron 50 sujetos a un régimen de ayuno de 14h diarias durante 4 semanas (grupo de ayuno), mientras que los otros 50 participantes (grupo control) a una dieta en la que podían comer a cualquier hora del día.

Los síntomas depresivos se midieron con el *Cuestionario Sobre la Salud del paciente-9* (PHQ-9), el cual tiene una sensibilidad del 88% y una especificidad del 88% para los trastornos de depresión mayor. Se compararon los resultados tras la intervención entre ambos grupos y no se observaron cambios significativos en los síntomas de depresión. Por tanto, el régimen de ayuno intermitente es una práctica segura para adultos varones con depresión mayor.

En concordancia con estos resultados, el estudio prospectivo observacional de Yousuf y colaboradores<sup>37</sup> no solo demostró que el ayuno intermitente es seguro sino también que mejora los síntomas de la depresión.

En el estudio participaron 150 sujetos con diabetes mellitus, 50 formaban el grupo control y el resto se sometió a 12h diarias de ayuno durante el mes de

Ramadán. En la visita pre-Ramadán (1 mes antes del Ramadán) el porcentaje de participantes del grupo de ayuno con síntomas de depresión fue del 45% y el del grupo control del 34%. Después del Ramadán, el porcentaje de pacientes del grupo de ayuno que presentaba estos síntomas disminuyó hasta el 23% de los participantes y del grupo control hasta el 30% (Tabla 6). El nivel de depresión se midió con la escala DASS-21, una versión más corta de DASS-42, y tiene una sensibilidad del 78-89% y una especificidad del 71-76%.

Con estos resultados se demuestra que hay una mejora importante en los síntomas de depresión en personas con diabetes después del Ramadán.

% de participantes con síntomas de depresión	Intervención	Pre-Ramadán	Post-Ramadán
	Grupo de ayuno		45%
	Grupo control	34%	30%

**Tabla 6.** Porcentaje de participantes de ambos grupos con síntomas de depresión antes y después de la intervención. Tomado de Sanobia Yousuf y colaboradores, 2021<sup>37</sup>.

El estudio prospectivo de cohortes de Al-Ozairi y colaboradores<sup>38</sup> respalda estos los resultados, ya que demuestra una disminución de los síntomas de depresión en personas con diabetes mellitus tipo II tras el Ramadán.

Se tomaron datos de 463 pacientes con diabetes mellitus tipo II un mes antes del Ramadán y 4-6 semanas después. Para medir los síntomas de depresión se utilizó el cuestionario sobre la salud del paciente-9 (PHQ-9). La puntuación media del cuestionario PHQ-9 antes de empezar el mes de Ramadán se calculó con la desviación estándar (DE) y fue de  $6.05 \pm 5.28$  puntos, siendo el valor 10 el máximo en cuanto a síntomas de depresión. Después del mes de Ramadán la media fue de  $2.48 \pm 3.99$  puntos, con una diferencia de  $-3.57$  puntos (95% de intervalo de confianza) (Tabla 7).

Estos resultados demuestran que tras el Ramadán los síntomas de depresión de personas con diabetes mellitus tipo II disminuyen.

Grupo de ayuno n=463	Puntuación del cuestionario PHQ-9	DE Pre-Ramadán	DE Post-Ramadán	Diferencia (IC 95%)
		$6.05 \pm 5.28$	$2.48 \pm 3.99$	$-3.57 (-4.14 \text{ a } -3.01)$

**Tabla 7.** Desviación estándar de la puntuación del cuestionario PHQ-9 en el grupo de ayuno antes y después de la intervención y la diferencia entre ambas. Tomado de Ebaa Al-Ozairi y colaboradores, 2019<sup>38</sup>.

Por otro lado, según un estudio<sup>27</sup> donde se analizó el genoma completo de 1527 pacientes con trastornos bipolares y 1159 pacientes con depresión unipolar recurrente, se asoció un polimorfismo de nucleótido único (SNP) ubicado en el gen SYNE1 con el riesgo de depresión bipolar y depresión mayor recurrente. En este estudio se encontró una reducción significativa en el nivel de SYNE1 GP una semana después del ayuno intermitente de 30 días en comparación con el nivel antes del ayuno, lo que parece indicar una reducción del riesgo de padecer depresión.

## CONCLUSIONES

Las conclusiones de este Trabajo Fin de Grado son:

- Tanto el tipo de alimentación como las diferentes formas de ayuno tienen un efecto modulador sobre el sistema inmunitario.
- Ciertos componentes específicos de la dieta tienen la capacidad de influir en el sistema inmunitario de los humanos por diferentes mecanismos, tanto a nivel intracelular como en la producción de citoquinas proinflamatorias y en la expresión de genes que regulan la respuesta inflamatoria.
- Las dietas basadas en un ayuno intermitente han demostrado modular los niveles de linfocitos T CD4+ y la secreción de TNF- $\alpha$  e IL-6, observando en la mayoría de los casos una disminución de estos marcadores de inflamación. Sin embargo, algunos estudios han obtenido resultados opuestos que pueden estar debidos tanto al limitado tamaño muestral como al protocolo de estudio.
- El ayuno intermitente ha demostrado mejorar la sintomatología de enfermedades neurodegenerativas y psiquiátricas como son el Alzheimer y la depresión. En la enfermedad de Alzheimer protege a las neuronas gracias al incremento de la autofagia celular y a una disminución de la hiperexcitabilidad. Del mismo modo, los estudios en sujetos con depresión

han demostrado, una mejora de los síntomas, aunque esta no se ve reflejada en todos los estudios. Por ello, basándonos en los resultados obtenidos y la falta de conclusiones claras en humanos son necesarios más estudios que confirmen estos datos prometedores.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Bhatti SI, Mindikoglu AL. The impact of dawn to sunset fasting on immune system and its clinical significance in COVID-19 pandemic. *Metab Open*. marzo de 2022;13:100162.
2. Igwe O, Sone M, Matveychuk D, Baker GB, Dursun SM. A review of effects of calorie restriction and fasting with potential relevance to depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. diciembre de 2021;111:110206.
3. Estrada-deLeón DB, Struijk EA, Caballero FF, Ortolá R, Guallar-Castillón P, Banegas JR, et al. Association of prolonged nightly fasting with cardiovascular, renal, inflammation, and nutritional status biomarkers in community-dwelling older adults. *Am J Clin Nutr*. mayo de 2022;115(5):1282-9.
4. Wang X, Yang Q, Liao Q, Li M, Zhang P, Santos HO, et al. Effects of intermittent fasting diets on plasma concentrations of inflammatory biomarkers: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrition*. noviembre de 2020;79-80:110974.
5. Han K, Singh K, Rodman MJ, Hassanzadeh S, Baumer Y, Huffstutler RD, et al. Identification and Validation of Nutrient State-Dependent Serum Protein Mediators of Human CD4+ T Cell Responsiveness. *Nutrients*. 28 de abril de 2021;13(5):1492.
6. Ella K, Sűdy R, Bűr Z, Kos B, Kisiczki S, Mcsai A, et al. Time restricted feeding modifies leukocyte responsiveness and improves inflammation outcome. *Front Immunol*. 2 de noviembre de 2022;13:924541.
7. Kolobari N, Drenjanevi I, Mati A, ŐuŐnjara P, Mihaljevi Z, Mihalj M. Dietary Intake of n-3 PUFA-Enriched Hen Eggs Changes Inflammatory Markers' Concentration and Treg/Th17 Cells Distribution in Blood of Young Healthy Adults—A Randomised Study. *Nutrients*. 28 de mayo de 2021;13(6):1851.
8. Takekawa D, Kudo T, Saito J, Kimura F, Nikaido Y, Sawada K, et al. Higher plasma leptin and lower C-peptide levels are associated with depression: A cross-sectional study. *J Affect Disord*. enero de 2019;243:70-4.
9. Jensen NJ, Wodschow HZ, Nilsson M, Rungby J. Effects of Ketone Bodies on Brain Metabolism and Function in Neurodegenerative Diseases. *Int J Mol Sci*. 20 de noviembre de 2020;21(22):8767.
10. de Cabo R, Mattson MP. Effects of Intermittent Fasting on Health, Aging, and Disease. Longo DL, editor. *N Engl J Med*. 26 de diciembre de 2019;381(26):2541-51.
11. Verdile G, Keane KN, Cruzat VF, Medic S, Sabale M, Rowles J, et al. Inflammation and Oxidative Stress: The Molecular Connectivity between Insulin Resistance, Obesity, and Alzheimer's Disease. *Mediators Inflamm*. 2015;2015:1-17.
12. Raison CL, Capuron L, Miller AH. Cytokines sing the blues: inflammation and the pathogenesis of depression. *Trends Immunol*. enero de 2006;27(1):24-31.

13. Castro-Sepúlveda M, Morio B, Tuñón-Suárez M, Jannas-Vela S, Díaz-Castro F, Rieusset J, et al. The fasting-feeding metabolic transition regulates mitochondrial dynamics. *FASEB J.* 2021;35(10):e21891.
14. Azizi Jalilian F, Keshavarz G, Khazaei S, Nezamdoost M, Hashemi SH, Mamani M, et al. The effects of nutrition bio-shield superfood powder on immune system function: A clinical trial study among patients with COVID-19. *Front Immunol.* 25 de agosto de 2022;13:919402.
15. Kim JE, Lin G, Zhou J, Mund JA, Case J, Campbell WW. Weight loss achieved using an energy restriction diet with normal or higher dietary protein decreased the number of CD14 ++ CD16 + proinflammatory monocytes and plasma lipids and lipoproteins in middle-aged, overweight, and obese adults. *Nutr Res.* abril de 2017;40:75-84.
16. Lackermair K, Scherr J, Waidhauser G, Methe H, Hoster E, Nieman DC, et al. Influence of polyphenol-rich diet on exercise-induced immunomodulation in male endurance athletes. *Appl Physiol Nutr Metab.* octubre de 2017;42(10):1023-30.
17. Freitas-Simoes TM, Cofán M, Blasco M, Soberón N, Foronda M, Serra-Mir M, et al. Walnut Consumption for Two Years and Leukocyte Telomere Attrition in Mediterranean Elders: Results of a Randomized Controlled Trial. *Nutrients.* 4 de diciembre de 2018;10(12):1907.
18. Tran H, Schreiner M, Schlotz N, Lamy E. Short-Term Dietary Intervention with Cooked but Not Raw Brassica Leafy Vegetables Increases Telomerase Activity in CD8+ Lymphocytes in a Randomized Human Trial. *Nutrients.* 5 de abril de 2019;11(4):786.
19. Arpón A, Milagro F, Razquin C, Corella D, Estruch R, Fitó M, et al. Impact of Consuming Extra-Virgin Olive Oil or Nuts within a Mediterranean Diet on DNA Methylation in Peripheral White Blood Cells within the PREDIMED-Navarra Randomized Controlled Trial: A Role for Dietary Lipids. *Nutrients.* 23 de diciembre de 2017;10(1):15.
20. Christensen JJ, Ulven SM, Thoresen M, Westerman K, Holven KB, Andersen LF. Associations between dietary patterns and gene expression pattern in peripheral blood mononuclear cells: A cross-sectional study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* octubre de 2020;30(11):2111-22.
21. Kempf K, Röhling M, Banzer W, Braumann K, Halle M, McCarthy D, et al. High-Protein, Low-Glycaemic Meal Replacement Decreases Fasting Insulin and Inflammation Markers—A 12-Month Subanalysis of the ACOORH Trial. *Nutrients.* 23 de abril de 2021;13(5):1433.
22. Alam I, Gul R, Chong J, Tan CTY, Chin HX, Wong G, et al. Recurrent circadian fasting (RCF) improves blood pressure, biomarkers of cardiometabolic risk and regulates inflammation in men. *J Transl Med.* diciembre de 2019;17(1):272.
23. Fazeli PK, Zhang Y, O'Keefe J, Pesaresi T, Lun M, Lawney B, et al. Prolonged fasting drives a program of metabolic inflammation in human adipose tissue. *Mol Metab.* diciembre de 2020;42:101082.
24. Abdulsada MM, Wilhelm ZR, Opekun AR, Devaraj S, Jalal PK, Mindikoglu AL. The effect of four-week intermittent fasting from dawn to sunset on circulating brain-derived neurotrophic factor levels in subjects with metabolic syndrome and healthy subjects. *Metab Open.* marzo de 2021;9:100070.
25. Mooren FC, Krueger K, Ringseis R, Eder K, Liebisch G, Conrad K, et al. Combined effects of moderate exercise and short-term fasting on markers of immune function in healthy human subjects. *Am J Physiol-Regul Integr Comp Physiol.* 1 de junio de 2020;318(6):R1103-15.
26. Jordan S, Tung N, Casanova-Acebes M, Chang C, Cantoni C, Zhang D, et al. Dietary Intake Regulates the Circulating Inflammatory Monocyte Pool. *Cell.* agosto de 2019;178(5):1102-1114.e17.



27. Mindikoglu AL, Abdulsada MM, Jain A, Choi JM, Jalal PK, Devaraj S, et al. Intermittent fasting from dawn to sunset for 30 consecutive days is associated with anticancer proteomic signature and upregulates key regulatory proteins of glucose and lipid metabolism, circadian clock, DNA repair, cytoskeleton remodeling, immune system and cognitive function in healthy subjects. *J Proteomics*. abril de 2020;217:103645.
28. Taylor MK, Swerdlow RH, Sullivan DK. Dietary Neuroketotherapeutics for Alzheimer's Disease: An Evidence Update and the Potential Role for Diet Quality. *Nutrients*. 15 de agosto de 2019;11(8):1910.
29. Park S, Shin BK. Intermittent fasting with a high-protein diet mitigated osteoarthritis symptoms by increasing lean body mass and reducing inflammation in osteoarthritic rats with Alzheimer's disease-like dementia. *Br J Nutr*. 14 de enero de 2022;127(1):55-67.
30. Liu Y, Cheng A, Li YJ, Yang Y, Kishimoto Y, Zhang S, et al. SIRT3 mediates hippocampal synaptic adaptations to intermittent fasting and ameliorates deficits in APP mutant mice. *Nat Commun*. 23 de abril de 2019;10(1):1886.
31. Mattson MP. Involvement of GABAergic interneuron dysfunction and neuronal network hyperexcitability in Alzheimer's disease: Amelioration by metabolic switching. En: *International Review of Neurobiology* [Internet]. Elsevier; 2020 [citado 17 de mayo de 2023]. p. 191-205. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0074774220300064>
32. Ntsapi CM, Loos B. Neurons die with heightened but functional macro- and chaperone mediated autophagy upon increased amyloid- $\beta$  induced toxicity with region-specific protection in prolonged intermittent fasting. *Exp Cell Res*. noviembre de 2021;408(2):112840.
33. Berthelot E, Etchecopar-Etchart D, Thellier D, Lancon C, Boyer L, Fond G. Fasting Interventions for Stress, Anxiety and Depressive Symptoms: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients*. 5 de noviembre de 2021;13(11):3947.
34. Stapel B, Fraccarollo D, Westhoff-Bleck M, Bauersachs J, Lichtinghagen R, Jahn K, et al. Impact of fasting on stress systems and depressive symptoms in patients with major depressive disorder: a cross-sectional study. *Sci Rep*. 10 de mayo de 2022;12(1):7642.
35. Negm M, Bahaa A, Farrag A, Lithy RM, Badary HA, Essam M, et al. Effect of Ramadan intermittent fasting on inflammatory markers, disease severity, depression, and quality of life in patients with inflammatory bowel diseases: A prospective cohort study. *BMC Gastroenterol*. 24 de abril de 2022;22(1):203.
36. Jahrami H, BaHammam AS, Haji EA, Bragazzi NL, Rakha I, Alsabbagh A, et al. Ramadan Fasting Improves Body Composition without Exacerbating Depression in Males with Diagnosed Major Depressive Disorders. *Nutrients*. 7 de agosto de 2021;13(8):2718.
37. Yousuf S, Syed A, Ahmedani MY. To explore the association of Ramadan fasting with symptoms of depression, anxiety, and stress in people with diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*. febrero de 2021;172:108545.
38. Al-Ozairi E, AlAwadhi MM, Al-Ozairi A, Taghadom E, Ismail K. A prospective study of the effect of fasting during the month of Ramadan on depression and diabetes distress in people with type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*. julio de 2019;153:145-9.