

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE VETERINARIA
TRABAJO FIN DE GRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS
ALIMENTOS



PAPEL DEL HIDROXITIROSOLO DEL ACEITE DE OLIVA
VIRGEN EXTRA EN LA PREVENCIÓN DEL ESTRÉS
OXIDATIVO ASOCIADO AL ENVEJECIMIENTO Y SU
IMPLICACIÓN EN LAS PRINCIPALES ENFERMEDADES
NEURODEGENERATIVAS

Alba González Serrano

Madrid, curso académico 2024-25

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE VETERINARIA
TRABAJO FIN DE GRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS
ALIMENTOS



PAPEL DEL HIDROXITIROSOLO DEL ACEITE DE OLIVA
VIRGEN EXTRA EN LA PREVENCIÓN DEL ESTRÉS
OXIDATIVO ASOCIADO AL ENVEJECIMIENTO Y SU
IMPLICACIÓN EN LAS PRINCIPALES ENFERMEDADES
NEURODEGENERATIVAS

MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DEL GRADO EN CIENCIA Y
TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

AUTORA: Alba González Serrano

BAJO LA DIRECCIÓN

TUTOR: Ildefonso Rodríguez Ramiro

Departamento de Nutrición y Ciencia de los Alimentos (Facultad de Farmacia)

Madrid, 2025

DECLARACIÓN RESPONSABLE SOBRE AUTORÍA Y USO ÉTICO DE HERRAMIENTAS DE INTELIGENCIA ARTIFICIAL (IA)

Yo, Alba González Serrano, con DNI/NIE/PASAPORTE 02308733Q

declaro de manera responsable que el Trabajo Fin de Grado, titulado “Papel del Hidroxitirosol del Aceite de Oliva Virgen Extra en la Prevención del Estrés Oxidativo asociado al Envejecimiento y su Implicación en las principales Enfermedades Neurodegenerativas”

es el resultado de mi trabajo intelectual personal y creativo, y ha sido elaborado de acuerdo con los principios éticos y las normas de integridad vigentes en la comunidad académica y, más específicamente, en la Universidad Complutense de Madrid.

Soy, pues, autor del material aquí incluido y, cuando no ha sido así y he tomado el material de otra fuente, lo he citado o bien he declarado su procedencia de forma clara -incluidas, en su caso, herramientas de inteligencia artificial-. Las ideas y aportaciones principales incluidas en este trabajo, y que acreditan la adquisición de competencias, son mías y no proceden de otras fuentes o han sido reescritas usando material de otras fuentes.

Asimismo, aseguro que los datos y recursos utilizados son legítimos, verificables y han sido obtenidos de fuentes confiables y autorizadas. Además, he tomado medidas para garantizar la confidencialidad y privacidad de los datos utilizados, evitando cualquier tipo de sesgo o discriminación injusta en el tratamiento de la información.

En Madrid, a 15 de Junio de 2025

FIRMA DIGITAL

VISTO BUENO DEL TUTOR

El (los) tutores del TFG de la presente memoria da(n) su Visto Bueno para su presentación y defensa en la convocatoria de julio correspondiente al curso académico 2024/2025.

TUTOR (1): Prof. Dr. Ildefonso Rodríguez Ramiro

Fdo.:

DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN Y CIENCIA DE LOS ALIMENTOS

AGRADECIMIENTOS

A mis padres y a mi hermano, gracias por creer en mí y ser mi pilar en todo momento. Vuestro apoyo y amor incondicional me han ayudado a convertirme en mi mejor versión.

A mis abuelas, Pilar y Natividad, cuyas luchas silenciosas frente al Alzheimer y el Parkinson me impulsaron a acercarme más a vosotras a través de este trabajo. Aunque la enfermedad haya transformado aspectos de quienes fuisteis, mi amor por vosotras permanece intacto.

A mis amigas de la universidad, gracias por acompañarme a lo largo de estos cuatro años de carrera y por convertir este camino en una etapa tan especial y bonita.

En Madrid, a 15 de Junio de 2025

ÍNDICE

1. RESUMEN	1
1. ABSTRACT	2
2. INTRODUCCIÓN	3
2.1 Envejecimiento y estrés oxidativo (EO)	3
2.1.1 Especies reactivas de oxígeno (ROS) y sistema antioxidante endógeno	5
2.1.2 Enfermedades neurodegenerativas (END) y neuroinflamación	6
2.1.2.1.1 Enfermedad de Alzheimer (EA) y enfermedad de Parkinson (EP)	7
2.2 Aceite de oliva y envejecimiento	9
2.2.1 Compuestos fenólicos del aceite de oliva virgen extra (AOVE)	10
2.2.1.1 Farmacocinética y biodisponibilidad del hidroxitirosol (HT)	14
3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	17
4. METODOLOGÍA	18
5. RESULTADOS	19
5.1 Estudios in vitro sobre el efecto antioxidante y antiinflamatorio del hidroxitirosol (HT) en microglía y células neuronales	19
5.2 Estudios in vivo del hidroxitirosol (HT) en enfermedades neurodegenerativas (END)	21
5.3 Evidencia clínica del hidroxitirosol (HT) en humanos	23
6. DISCUSIÓN	26
6.1 Relación entre los modelos (in vitro, in vivo y humanos) y mecanismos de acción del hidroxitirosol (HT).	26
6.2 Dosis efectiva, ingesta recomendada de hidroxitirosol (HT) y la adquirida con la dieta mediterránea (DM)	28
6.2.1 Seguridad y perfil toxicológico del hidroxitirosol (HT).	29
7. CONCLUSIONES	31
7. CONCLUSIONS	32
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33

SIGLAS/ACRÓNIMOS

α -Syn – α -sinucleína

AESAN – Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición

ADH – Enzima alcohol deshidrogenasa

AGMI – Ácidos Grasos Monoinsaturados

AGPI – Ácidos Grasos Poliinsaturados

ALDH – Aldehído Deshidrogenasa

AOVE – Aceite de Oliva Virgen Extra

AOV – Aceite de Oliva Virgen

A β – Péptido beta-amiloide

APP – Proteína Precursora amiloide

BHE – Barrera Hematoencefálica

CF – Compuestos Fenólicos

DOPAC – Ácido 3,4-Dihidroxifenilacético

DA - Dopamina

DOPAL – 3,4-Dihidroxifenilacetaldehído

DM – Dieta Mediterránea

EA – Enfermedad de Alzheimer

ECV – Enfermedad Cardiovascular

EO – Estrés Oxidativo

EP – Enfermedad de Parkinson

HO – Hemo oxigenasas

HT – Hidroxitirosol

HTA – Acetato de hidroxitirosol

HVA – Ácido Homovanílico

LPS – Lipopolisacáridos

LDL – Low Density Lipoprotein

MAO – Monoamino Oxidasa

MAPK – Proteína Quinasa Activada por Mitógenos

MDA - Malondialdehído

MMP – Potencial de membrana mitocondrial

NOAEL – Nivel Sin Efecto Adverso Observado

END – Enfermedad Neurodegenerativa

NFT – Ovillos Neurofibrilares

NF- κ B – Factor nuclear kappa B

OLE – Oleuropeína

OMS – Organización Mundial de la Salud

ONU – Organización de las Naciones Unidas

PN – Placas Neuríticas

ROS – Especies Reactivas de Oxígeno

SIRT - Sirtuinas

SNC – Sistema Nervioso Central

1. RESUMEN

El hidroxitirosol es uno de los principales compuestos fenólicos presentes en el aceite de oliva virgen extra, destacado por su papel bioactivo dentro del patrón alimentario de la Dieta Mediterránea. Este compuesto ejerce acciones que contribuyen a reducir la inflamación crónica y el estrés oxidativo asociado al envejecimiento, así como a mitigar el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas como Alzheimer y Parkinson. Estudios *in vitro*, en modelos animales y en ensayos clínicos demuestran su capacidad para atravesar la barrera hematoencefálica, alcanzando el sistema nervioso central y ejerciendo efectos neuroprotectores en tejidos y órganos diana. Ha demostrado poseer propiedades antioxidantes y antiinflamatorias, actuando mediante la activación del eje Nrf2/HO-1 que favorece la polarización microglial hacia un fenotipo antiinflamatorio M2, activando vitagenes esenciales en la defensa celular frente al daño oxidativo o modulando la degradación de proteínas tóxicas, como la α -sinucleína, inhibiendo su agregación. Asimismo, se ha comprobado que posee un perfil de seguridad alto, incluso a dosis elevadas, sin evidencias de bioacumulación ni toxicidad significativa. Esta revisión analiza la farmacocinética, biodisponibilidad y mecanismos moleculares del hidroxitirosol sobre las principales enfermedades neurodegenerativas. Los resultados de esta revisión contribuyen a potenciar el uso del hidroxitirosol como posible suplemento nutricional o agente terapéutico preventivo de daños neuronales y cognitivos, destacando su potencial como nutracéutico y alimento funcional dentro de la dieta mediterránea, para el mantenimiento de un envejecimiento saludable.

Palabras clave: Hidroxitirosol, estrés oxidativo, aceite de oliva virgen extra.

1. ABSTRACT

Hydroxytyrosol is one of the main phenolic compounds present in extra virgin olive oil, noted for its bioactive role within the Mediterranean Diet. This compound exerts actions that contribute to reducing chronic inflammation and oxidative stress associated with aging, as well as mitigating the development of neurodegenerative diseases such as Alzheimer's and Parkinson's. In vitro studies, in animal models, and in clinical trials demonstrate its ability to cross the blood-brain barrier, reaching the central nervous system and exerting neuroprotective effects on target tissues and organs. It has been shown to possess antioxidant and anti-inflammatory properties, acting through the activation of the Nrf2/HO-1 axis that favors microglial polarization toward an anti-inflammatory M2 phenotype, activating essential vitamins in cellular defense against oxidative damage, and modulating the degradation of toxic proteins, such as α -synuclein, inhibiting its aggregation. Furthermore, it has been shown to have a high safety profile, even at high doses, with no evidence of bioaccumulation or significant toxicity. This review analyses the pharmacokinetics, bioavailability, and molecular mechanisms of hydroxytyrosol in major neurodegenerative diseases. The results of this review contribute to promoting the use of hydroxytyrosol as a potential nutritional supplement or therapeutic agent to prevent neuronal and cognitive damage, highlighting its potential as a nutraceutical and functional food within the Mediterranean diet for maintaining healthy aging.

Keywords: Hydroxytyrosol, oxidative stress, extra virgin olive oil.

2. INTRODUCCIÓN

2.1 Envejecimiento y estrés oxidativo (EO)

Atendiendo al incremento de la esperanza de vida, se plantean nuevas oportunidades y desafíos para la salud pública. La iniciativa “Década del Envejecimiento Saludable (2021-2030)” promovida por la Organización Mundial de la Salud (OMS) e incluida en la Agenda 2030, tiene como finalidad promover acciones que mejoren la calidad de vida de las personas mayores. En este sentido, la OMS define el envejecimiento saludable como “el proceso de promover y preservar la capacidad funcional que permite el bienestar en la vejez.” Esta capacidad funcional está influenciada por los atributos mentales, físicos y sociales que mantienen la autonomía de las personas a lo largo de su vida (OMS, s. f.; United Nations, 2024).

Desde un enfoque biológico, el envejecimiento se define como un proceso gradual de deterioro de las capacidades físicas y mentales, consecuencia de la acumulación progresiva de daños a niveles moleculares y celulares a lo largo del tiempo (OMS, 2024). Uno de los mecanismos más representativos implicados en este proceso es el estrés oxidativo (EO), fenómeno que se presenta cuando el organismo produce una cantidad excesiva de especies reactivas de oxígeno (ROS) en células y tejidos, superando la capacidad del sistema antioxidante de defensa para neutralizarlos. Este desequilibrio compromete la integridad celular al inducir daños estructurales significativos que incrementan la susceptibilidad y vulnerabilidad a enfermedades asociadas al envejecimiento, como es el caso de las enfermedades neurodegenerativas (END) (Hajam et al., 2022; Hussain et al., 2016).

Diversos procesos biológicos del envejecimiento descritos por López-Otín et al. (2013) en su artículo “*The Hallmarks of Aging*” presentan una estrecha relación entre el EO y la neurodegeneración. Entre estas características distintivas destacan la inestabilidad genómica, provocada por el daño oxidativo al ADN, que favorece la acumulación de mutaciones que comprometen la función celular; el acortamiento de telómeros, proceso que limita la capacidad de replicación celular y conduce a la senescencia celular; la disfunción mitocondrial, muy importante dado que las mitocondrias son la principal fuente de ROS y su sobreproducción agrava el daño oxidativo. Una característica especialmente relevante en la enfermedad de

Alzheimer (EA) y la enfermedad de Parkinson (EP) es la pérdida de proteostasis, proceso que induce la acumulación de proteínas mal plegadas, fenómeno central en ambas patologías (López-Otín et al., 2013). En la revisión más reciente, gracias a los avances en la investigación con modelos animales y humanos, se han incorporado marcadores nuevos del envejecimiento, con especial relevancia para las END. Entre estos destacan la macroautofagia deteriorada y la inflamación crónica, ambos relacionados con el EO (López-Otín et al., 2023).

Debido al elevado requerimiento de oxígeno, su abundante contenido lipídico y su limitada capacidad antioxidante intrínseca, el cerebro constituye un órgano especialmente vulnerable al EO. Esta predisposición implica que el daño oxidativo cerebral mediado por la acumulación de ROS puede comprometer las funciones habituales del sistema nervioso central (SNC) participando en END como la EA o la EP (Salim, 2017). Por tanto, la incorporación de antioxidantes externos puede ser clave para contrarrestar el EO.

2.1.1 Especies reactivas de oxígeno (ROS) y sistema antioxidante endógeno

Las ROS son moléculas altamente reactivas derivadas del oxígeno, como el radical hidroxilo (-OH), el ion superóxido (O_2^-) y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2). Estas especies se generan principalmente como subproductos del metabolismo oxidativo, especialmente en la cadena de transporte de electrones mitocondrial. En condiciones normales, su producción es limitada y desempeñan funciones esenciales para el organismo, como la regulación de la homeostasis celular, la expresión génica, la defensa inmune frente a agentes biológicos externos y la señalización celular (Andreo-López et al., 2023; Batarfi et al., 2024; Carvajal Carvajal, 2019).

La protección de las mitocondrias frente al daño inducido por ROS se debe al sistema de defensa antioxidante endógenos celulares. Este sistema está conformado por enzimas antioxidantes específicas, como la superóxido dismutasa, la catalasa o la glutatión peroxidasa, así como compuestos no enzimáticos de moléculas con poder reductor, como el glutatión reducido. Además, ciertos componentes de la dieta contribuyen a la acción antioxidante, como la vitamina E, el ácido ascórbico o los compuestos fenólicos (CF), entre otros (Carvajal Carvajal, 2019; Hajam et al., 2022; Salim, 2017).

A medida que envejecemos, se produce una disminución en la funcionalidad mitocondrial, motivada por diversos mecanismos como la acumulación de mutaciones en el ADNmt, el cual carece de histonas protectoras y presenta una capacidad limitada de reparación, o la pérdida de la proteostasis. Estos cambios favorecen la permeabilización accidental de las membranas mitocondriales, desencadenando la inflamación e incluso la muerte celular (López-Otín et al., 2023). La reducción de la expresión del sistema de defensa antioxidante endógeno y el exceso de ROS prolongado agravan el EO, contribuyendo al deterioro celular y la evolución de procesos degenerativos (López-Otín et al., 2013).

Esta pérdida de la homeostasis celular favorece el daño oxidativo irreversible en lípidos, proteínas y ADN, alterando funciones vitales y contribuyendo al desarrollo de END. Además, variaciones temporales en el estado redox de las células alteran vías de señalización como las de las proteínas quinasa activadas por mitógenos (MAPK), activando factores de transcripción como el factor nuclear kappa B (NF-κB), que está relacionado con la producción de citoquinas proinflamatorias en el cerebro y, por tanto, está relacionado con la neuroinflamación (Ahmed et al., 2020; Batarfi et al., 2024). Uno de los biomarcadores más utilizados para evaluar el daño inducido por ROS en el contexto de deterioro cognitivo son los productos derivados de la peroxidación lipídica, como el malondialdehído (MDA), que reflejan el nivel de daño oxidativo en los lípidos celulares y tisulares. Este proceso implica la activación de la esfingomielinasa, la liberación de ceramidas y, finalmente, la apoptosis. La acumulación de estos productos se ha asociado con la aparición y progresión de END (Hajam et al., 2022).

La alteración de la homeostasis redox activa diversas vías de acción celular sensibles al EO, lo que contribuye tanto a la respuesta inflamatoria como a la adaptación celular. Entre estas vías destaca la inducción de los vitagenes, un conjunto de genes que, al activarse, promueven la expresión de proteínas citoprotectoras implicadas en mecanismos moleculares de defensa y protección celular. Entre estos, se incluyen las sirtuinas (SIRT-1 y SIRT-2), las proteínas de choque térmico (Hsp) y las hemo oxigenasas (HO) (Gallardo-Fernández et al., 2019, 2023; Hornedo Ortega & Espinosa Oliva, 2024; Leri et al., 2020).

2.1.2 Enfermedades neurodegenerativas (END) y neuroinflamación

Las END son un grupo de enfermedades complejas caracterizadas por la pérdida progresiva e irreversible de neuronas en el SNC. Actualmente, no existe cura para estas patologías, que afectan a millones de personas en todo el mundo. Entre ellas, la EA y la EP son las más prevalentes, ambas con etiologías multifactoriales y complejas (OMS, 2023).

Para comprender mejor la patogenia de las END, es fundamental entender el concepto de neuroinflamación. Esta constituye un conjunto de respuestas inmunitarias del SNC ante lesiones, infecciones o procesos patológicos asociados. Las principales células gliales encargadas de este mecanismo de defensa para mantener la homeostasis cerebral son la microglía y los astrocitos. Su activación puede adoptar un carácter neurotóxico cuando se expresan los fenotipos M1 en microglía y A1 en astrocitos, o neuroprotector, en los casos de los fenotipos M2 y A2, respectivamente (Gao et al., 2023; Kwon & Koh, 2020).

La microglía tiene actividad fagocítica y se activa por diversos estímulos, incluidas las proteínas anómalas como la α -sinucleína (relacionada con la EP) o el péptido β -amiloide (relacionado con la EA). Sin embargo, cuando la activación microglial es excesiva o persistente, se asocia con una transición al fenotipo M1. Este estado se caracteriza por la producción y secreción de mediadores inflamatorios como ROS, citoquinas proinflamatorias (IL-1 β , TNF α) y óxido nítrico (Calabrese et al., 2018; Marogianni et al., 2020). Tales compuestos pueden inducir EO y dañar las neuronas dopaminérgicas del cerebro, contribuyendo así a la neurodegeneración. Asimismo, esta activación sostenida del estado M1, neurotóxico, puede inducir la activación del inflammasoma NLRP3, lo que amplifica la respuesta inflamatoria y genera un ambiente neurotóxico mediante la producción de citoquinas, promoviendo un ciclo de inflamación crónica que daña las neuronas y avanza la progresión de las END (Gao et al., 2023). Los astrocitos reactivos de tipo A1 participan en la amplificación de la respuesta inflamatoria en el SNC. Una vez activados, pueden contribuir al daño neuronal mediante una regulación alterada del equilibrio iónico (Na⁺, K⁺, Ca²⁺) cerebral y del metabolismo de neurotransmisores. Además, comprometen la integridad de la barrera hematoencefálica (BHE), facilitando la infiltración de células inmunitarias y moléculas inflamatorias. Todo ello potencia la neuroinflamación (Calabrese et al., 2018; Gao et al., 2023; Kwon & Koh, 2020).

2.1.2.1.1 Enfermedad de Alzheimer (EA) y enfermedad de Parkinson (EP)

La EA es la forma más común de demencia, representando entre un 60-70% de los casos a nivel mundial (García Morales et al, 2021). La hipótesis de la cascada amiloide es una de las teorías más aceptadas que explican la fisiopatología del Alzheimer. Propone que, la acumulación anormal de péptidos beta-amiloide ($A\beta$) provoca la formación tóxica de placas neuríticas (PN) en el espacio extracelular neuronal (Micheli et al., 2023; von Bernhardt M., 2005).

El $A\beta$ es un péptido derivado del procesamiento progresivo de la proteína precursora $A\beta$ (APP), una proteína transmembrana ampliamente expresada en el SNC, donde desempeña funciones relacionadas con la neuroplasticidad. En la EA, se activa una ruta denominada vía amiloidogénica en la que la APP es escindida secuencialmente por las enzimas β -secretasa (BACE1) y γ -secretasa, liberando péptidos $A\beta$. La figura 2.1 ilustra cómo estas secretasas cortan la APP en sitios alternativos a los de la vía no amiloidogénica, dando lugar a péptidos de mayor longitud, destacando el $A\beta_{40}$ y el $A\beta_{42}$. El $A\beta_{42}$ se considera la isoforma más tóxica y más insoluble, además, tiene una alta tendencia a la agregación. Su acumulación progresiva genera las PN, unas placas que intervienen en la comunicación interneuronal, desencadenando una serie de procesos neurotóxicos como la disfunción sináptica, la inflamación y la inducción del EO, contribuyentes en la pérdida progresiva de la función cognitiva, característica de la EA (García-Morales et al., 2021; Hajam et al., 2022; Micheli et al., 2023; von Bernhardt M., 2005).

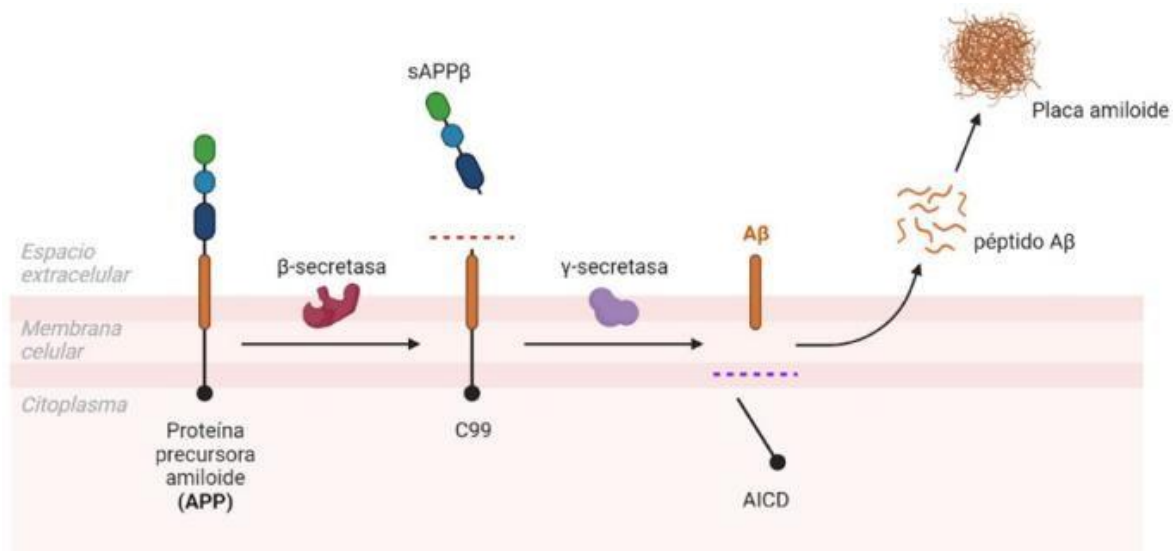


Figura 2.1. Procesamiento de la proteína APP por la vía amiloidogénica (Andreo-Lopez et al., 2023).

Otro mecanismo patológico característico de la EA, especialmente en etapas más avanzadas de la enfermedad, es la formación de ovillos neurofibrilares (NFT). La proteína Tau se expresa predominantemente en el SNC y se localiza en los axones de las neuronas, estabilizando los microtúbulos. El $A\beta$ se ha asociado con la formación de NFT, ya que pueden activar quinasas

como la GSK3 β y la CDK5, capaces de inducir la hiperfosforilación de la proteína Tau. Esta modificación patológica altera la conformación normal de Tau, provocando un desprendimiento de los microtúbulos, lo que interfiere con el transporte axoplásmico y la función sináptica. Posteriormente, las Tau hiperfosforiladas tienden a agregarse entre sí, formando los NFT (véase Figura 2.2). Estos ovillos se acumulan en el citoplasma neuronal, causando la pérdida sináptica y la muerte neuronal (García-Morales et al., 2021; von Bernhardi M., 2005).

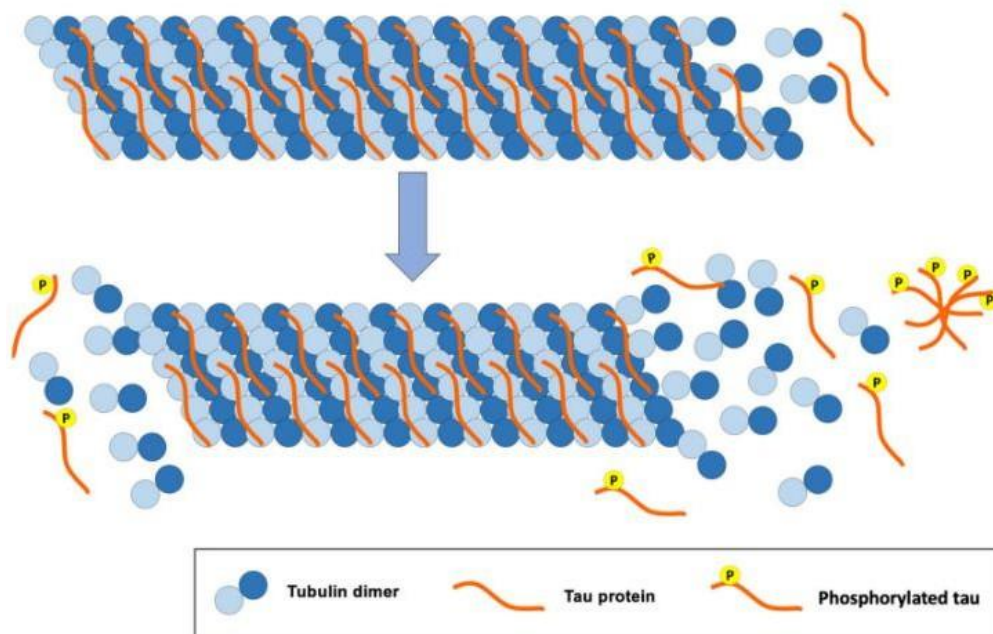


Figura 2.2. Consecuencias de la hiperfosforilación de la proteína Tau en la estructura de los microtúbulos y su agregación, conformando los ovillos neurofibrilares (García-Morales et al., 2021).

La EP es la segunda END más prevalente, después de la EA, afectando al 1% de la población mundial mayor de 65 años (Hornedo Ortega & Espinosa Oliva, 2024). Se caracteriza por la degeneración progresiva de las neuronas dopaminérgicas en el mesencéfalo, especialmente en la sustancia negra, una región clave para la coordinación motora (Giovanni Brunetti et al., 2020; Hajam et al., 2022). El principal sello histopatológico de la EP es la acumulación excesiva de la proteína α -sinucleína (α -Syn) mal plegada en las neuronas dopaminérgicas, formando fibrillas e inclusiones celulares denominadas cuerpos de Lewy (Beitz, 2014; Hornedo Ortega & Espinosa Oliva, 2024).

Por otra parte, la enzima monoamino oxidasa (MAO) es responsable de catalizar la desaminación oxidativa de neurotransmisores monoaminérgicos como la dopamina, generando subproductos tóxicos como el 3,4-Dihidroxifenilacetaldehído (DOPAL), y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), una ROS con capacidad de inducir EO si no es neutralizado. Este proceso contribuye a la degeneración dopaminérgica observada en la EP (Pathania, 2021; Burke et al.

2003). En condiciones fisiológicas, los aldehídos producidos por MAO tipo B son metabolizados con rapidez a través de la enzima aldehído deshidrogenasa (ALDH) en la sustancia negra, dando lugar a compuestos menos tóxicos como el Ácido 3,4-Dihidroxifenilacético (DOPAC) (Masato et al., 2019; Youdim & Bakhle, 2006).

La pérdida progresiva de estas neuronas dopaminérgicas se asocia con un aumento significativo del EO, consecuencia de la disfunción mitocondrial provocada por una disminución de la actividad del complejo I de la cadena respiratoria, lo que favorece la acumulación de ROS. Esta acción provoca una disminución significativa de los niveles de dopamina en el cerebro, principal responsable de la sintomatología motora típica de la enfermedad; temblores y rigidez muscular, como se representa en la Figura 2.3 (Beitz, 2014; OMS, 2023). Esto contribuye a la inflamación y degeneración neuronal (Giovanni Brunetti et al., 2020; Hajam et al., 2022; Hornedo Ortega & Espinosa Oliva, 2024).

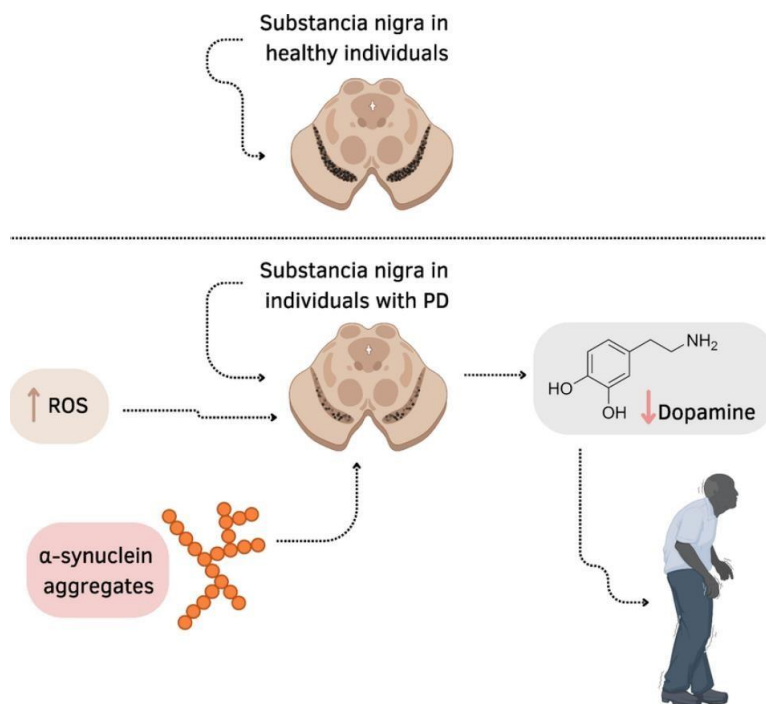


Figura 2.3. Fisiopatología de la enfermedad de Parkinson (L. Silva et al., 2024).

2.2 Aceite de oliva y envejecimiento

La dieta mediterránea (DM) es un patrón alimentario tradicional de las regiones cercanas al

Mar Mediterráneo, especialmente en países como España, donde el cultivo del olivo y uso del aceite de oliva virgen extra (AOVE) forman parte esencial de la identidad cultural (Maria Dolores, 2015). Está caracterizada por un elevado consumo de alimentos de origen vegetal: cereales, verduras, legumbres, frutos secos, semillas y aceitunas, del cual extraemos la principal fuente de grasa vegetal de la cocina mediterránea, el aceite de oliva (González Santiago, 2005).

Tras la II Guerra Mundial, diversos estudios comenzaron a examinar los efectos que determinados patrones alimentarios tradicionales podrían tener sobre la salud. Estos hallazgos impulsaron investigaciones famosas e influyentes como el “Estudio de los Siete Países” dirigido por el Dr. Ancel Keys, cuyos resultados evidenciaron el papel protector de la DM frente a enfermedades cardiovasculares (ECV), posicionándose como un modelo nutricional de alta calidad a nivel internacional (AESAN, 2021). En este sentido, la DM ha sido reconocida como uno de los patrones más saludables al estar vinculada a una menor tasa de morbilidad, mortalidad y fragilidad asociadas al envejecimiento (Andreo-López et al., 2023).

En este contexto el AOVE, se ha consolidado como el símbolo nutricional por excelencia de la DM, no solo por su valor culinario, sino también por su riqueza en compuestos bioactivos, especialmente compuestos fenólicos, con propiedades antioxidantes y antiinflamatorias. Su consumo habitual se ha asociado con una menor incidencia de enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas y metabólicas, contribuyendo así a una mayor longevidad y calidad de vida en quienes siguen este patrón alimentario (Andreo-López et al., 2023; Colomer, 2008; Leri et al., 2020; Martínez-González et al., 2015). A raíz de estos hallazgos, se ha incentivado la realización de investigaciones más específicas orientadas a analizar en profundidad los CF del AOVE y sus beneficios.

2.2.1 Compuestos fenólicos del aceite de oliva virgen extra (AOVE)

El AOVE es la única grasa vegetal extraída del zumo natural de aceituna mediante procesos mecánicos en frío, sin disolventes, lo que garantiza su pureza y calidad. Según la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN), es la categoría de mayor calidad del aceite de oliva, con un grado de acidez <0,8 % (AESAN, 2021; Guadalquivir, 2024). En cambio, el AOV tiene un control menos riguroso; su nivel de acidez puede llegar hasta un 2%,

puede contener más impurezas y suele ser menos estable que el AOVE al presentar un perfil fenólico más bajo, afectando así sus propiedades antioxidantes (AESAN, 2021). El AOVE contiene entre un 97% y un 99% de fracción saponificable rica en ácido oleico (55-83%) y 1-3% de fracción insaponificable con compuestos bioactivos (Alemán Jiménez, 2022; González Santiago, 2005). A diferencia de los aceites refinados (grado de acidez $\leq 0,3\%$), el AOVE conserva más compuestos fenólicos y antioxidantes, lo cual se atribuye a las altas temperaturas del proceso de refinado. Este tratamiento provoca la pérdida de una gran parte de la fracción insaponificable, incluyendo los polifenoles. Sin embargo, este proceso puede revalorizar aceites de baja calidad, como el aceite de oliva lampante (grado de acidez $>2\%$), haciéndolos apto para el consumo humano (Lucci et al., 2020; AESAN, 2021).

Los CF son considerados metabolitos secundarios propios de las plantas, ya que desempeñan diversas funciones metabólicas, tanto no solo en crecimiento y reproducción, sino también defendiéndose y adaptándose al entorno (Maria Dolores, 2015). Se caracterizan por su estructura molecular, que presenta uno o más grupos hidroxilo (-OH) unidos a un anillo aromático, formando el denominado grupo fenol (Lozano Sánchez, 2013). Por tanto, los polifenoles son compuestos que contienen dos o más CF en su estructura. Su clasificación se realiza atendiendo a su estructura química. Esta se divide en: flavonoides, lignanos, alcoholes fenólicos, secoiridoides y ácidos fenólicos (Alemán Jiménez, 2022).

Entre los constituyentes fenólicos del aceite de oliva, véase Figura 2.4, los componentes principales son el tirosol, el hidroxitirosol (HT), ambos incluidos en el grupo de alcoholes fenólicos, y la oleuropeína (OLE), en el grupo secoiridoides, ya que son los compuestos que se encuentran en concentraciones más altas. El HT y tirosol guardan similitudes en su estructura, con la diferencia de que el HT posee un grupo -OH adicional en la posición meta (Alemán Jiménez, 2022; Tuck & Hayball, 2002).

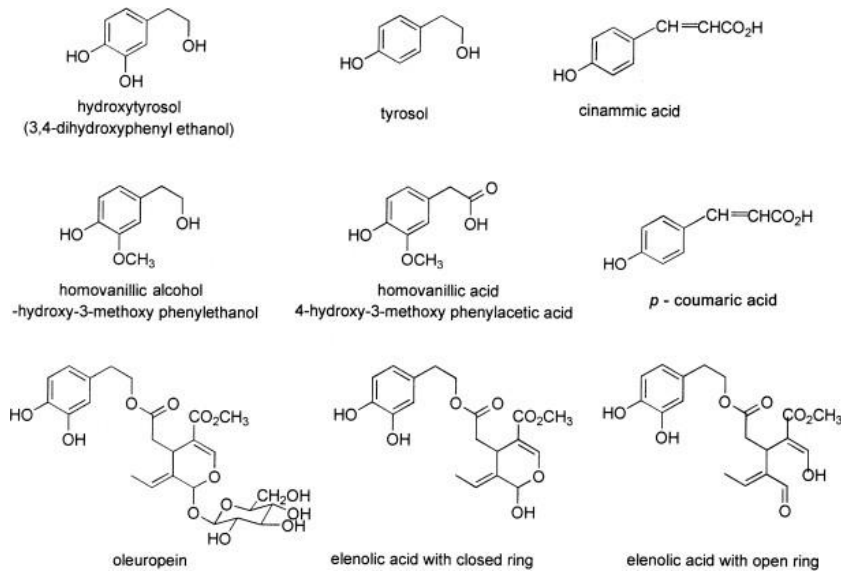


Figura 2.4. Constituyentes fenólicos mayoritarios del aceite de oliva (Tuck & Hayball, 2002)

La OLE es el principal compuesto hallado en las hojas y las aceitunas del olivo. Durante la maduración del fruto y su procesamiento en aceite se degrada por la acción de la enzima β -glucosidasa (véase Figura 2.5). Esta enzima se localiza en el mesocarpio y su actividad aumenta cuando se rompe el tejido celular, durante el procesado y triturado de la aceituna, transformando el OLE en HT, glucosa y ácido elenólico (AESAN, 2021). De forma análoga, tras la ingestión de la OLE, esta es metabolizada por la acción combinada de la microbiota intestinal y los jugos gástricos, generando HT como uno de sus principales metabolitos (Velotti & Bernini, 2023).

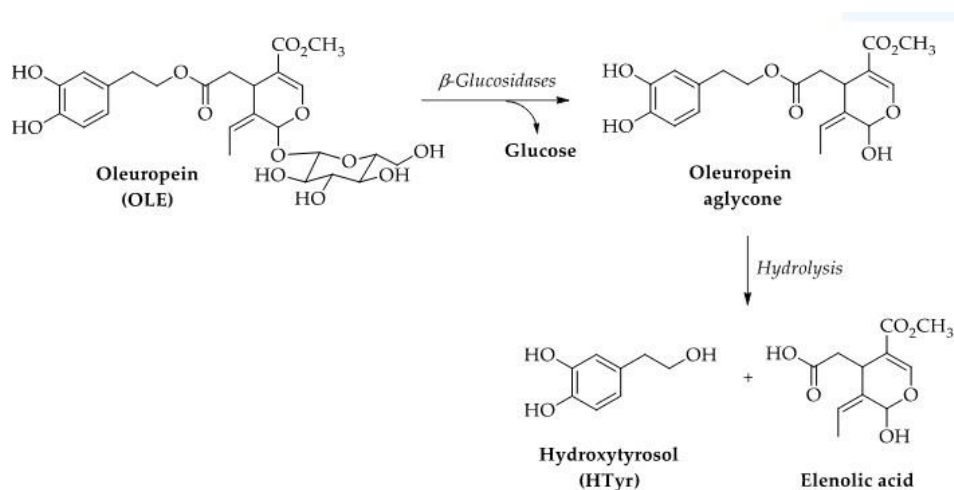


Figura 2.5. Hidrólisis enzimática de la Oleuropeína por β -glucosidasa durante la extracción del AOVE, generando HT, glucosa y ácido elenólico. (Micheli et al., 2023)

El HT, también conocido como 3,4-dihidroxifeniletanol (3,4-DHPEA) o DOPET, es el principal alcohol fenólico del AOVE y se considera uno de los antioxidantes naturales más potentes descritos (Cicerale et al., 2012). Se forma de manera natural durante el procesado del

AOV, tanto en sistemas de centrifugación de dos como de tres fases, siendo el primero el más empleado para la producción de AOVE (Britton et al., 2019). Por su carácter polar, el HT se libera durante la molienda, el batido y la centrifugación de la pasta de aceituna, acumulándose en subproductos como el alperujo y las aguas residuales, que representan una fuente valiosa para su extracción (AESAN, 2021; Lozano Sánchez, 2013). Por otra parte, debido a su carácter anfipático, una parte del HT permanece en el aceite de oliva (González Santiago, 2005). Su contenido en aceite varía desde 3 a 25.6 mg/kg, dependiendo del tipo de aceite, la variedad, el clima y el momento de recolección (Micheli et al., 2023).

Como se muestra en la Figura 2.6, el HT presenta una estructura química sencilla. Está compuesto por un grupo catecol (o-dihidroxifenilo), al que se le atribuye su elevada efectividad antioxidante, unido a un grupo etanol (Velotti & Bernini, 2023). Esta configuración estructural le permite neutralizar especies reactivas de oxígeno (ROS) gracias a su capacidad de donar átomos de hidrógeno, formando enlaces de hidrógeno intramoleculares entre los grupos hidroxilo (-OH) y los radicales fenoxilo, favoreciendo así la estabilización de estos radicales (Alemán Jiménez, 2022; Karković Marković et al., 2019).

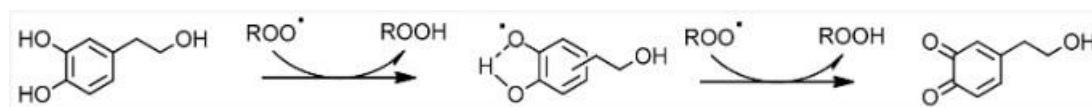


Figura 2.6. Estructura química del hidroxitirosol y mecanismo de eliminación de radicales libres por parte del HT, estabilizando el radical ROO mediante la transferencia de hidrógeno (Karković Marković et al., 2019).

La actividad antioxidante del HT no solo se ejerce de forma directa sobre ROS, sino que también actúa a través de la regulación de sistemas endógenos de defensa antioxidante, mostrando actividades antiinflamatorias y cardioprotectoras (Alemán Jiménez, 2022; Batarfi et al., 2024; Colomer, 2008; Velotti & Bernini, 2023).

Además, se ha observado un efecto neuroprotector frente la peroxidación lipídica. Gracias a su estructura anfipática, bajo peso molecular y su similitud estructural con neurotransmisores, el HT tiene capacidad de atravesar la BHE y alcanzar el SNC con relativa facilidad. En conjunto, estos efectos contribuyen a la prevención del deterioro cognitivo asociado al envejecimiento y de END como la EA y EP (Alemán Jiménez, 2022; López-Otín et al., 2023; Micheli et al., 2023)

De acuerdo con los datos obtenidos en la base de Phenol-Explorer, el AOVE muestra la mayor concentración de CF en comparación a otras grasas vegetales (Neveu et al., 2010). En la tabla 2.1 se observa una diferencia significativa entre distintos tipos de aceites.

Tabla 2.1. Valores medios de compuestos fenólicos y antioxidantes de interés presente en el aceite de oliva en comparación con otros aceites (AESAN, 2021; Neveu et al., 2010)

Aceites	Polifenoles (mg/kg)	Tirosoles (mg/kg)	Hidroxitirosol (mg/kg)	Vitamina E (mg/kg)
Aceite de oliva refinado	371	336	6.8	Se pierde al refinar
Aceite de oliva virgen extra	624	595	7.7	183
Aceite de girasol	10	-	-	Se pierde al refinar
Aceite de colza	167	-	-	Se pierde al refinar
Aceite de nuez	360	-	-	108

Esta diferencia en CF entre distintos tipos de aceite se ha relacionado con su efecto beneficiosos frente al daño oxidativo (AESAN, 2021; Tuck & Hayball, 2002). En este sentido, el proyecto EUROLIVE (“The effect of olive oil on oxidative damage in European population”), desarrollado entre 2002-2004, evaluó los efectos beneficiosos de los CF presentes en el AOVE frente a otros aceites vegetales sobre el EO y diversos marcadores de riesgo cardiovascular. Durante el estudio, los participantes consumieron diariamente 25 mL de tres tipos de aceite de oliva en crudo, diferenciados por su contenido fenólico. Los resultados mostraron que los aceites con mayor concentración en CF, como el AOVE, ejercieron efectos positivos significativos sobre la salud cardiovascular, el daño oxidativo, la inflamación y la disfunción endotelial (Alemán Jiménez, 2022; Colomer, 2008; Maria Dolores, 2015). Sin embargo, la actividad antioxidante del HT no solo se ejerce de forma directa sobre ROS, sino que también actúa a través de la regulación de sistemas endógenos de defensa antioxidante, mostrando actividades antiinflamatorias y cardioprotectoras (Alemán Jiménez, 2022; Batarfi et al., 2024; Colomer, 2008; Velotti & Bernini, 2023).

2.2.1.1 Farmacocinética y biodisponibilidad del hidroxitirosol (HT)

Se entiende por farmacocinética al estudio cinético de la evolución temporal de un compuesto

y/o sus metabolitos en el organismo, abarcando fluidos, tejidos y órganos (Alemán-Jiménez et al., 2021). En el caso del HT, su biodisponibilidad aumenta en matrices oleosas debido a la protección proporcionada por la grasa a su degradación. En estudios como el de Alemán Jiménez et al. (2021) se evidenció como mejor fuente dietética para este compuesto el AOVE, sus resultados mostraron una mayor excreción de HT en orina que cuando se administraba en aceites enriquecidos o incorporado a alimentos, como el zumo de piña.

Según la literatura científica las concentraciones plasmáticas máximas (C_{max}) se alcanzaron entre los primeros 15 y 60 minutos posteriores a la ingesta de AOVE, mostrando así una rápida absorción (González-Santiago et al., 2010; Miró-Casas, et al., 2003; Rubió et al., 2012). En las 6 primeras horas se detectan en plasma y orina HT libre y sus principales metabolitos: sulfato de HT, acetato de HT (HTA) y ácido homovanílico (HVA) (Silva et al., 2018, Serreli & Deiana., 2020). A partir de las 6 horas, los niveles disminuyeron de forma gradual y se estima una excreción urinaria del HT administrado del 98% a las 8 horas (Miró-Casas, et al., 2003).

Tras su absorción intestinal, el HT pasa al torrente sanguíneo, donde alcanza rápidamente concentraciones plasmáticas máximas. Una vez en circulación, es sometido a diversos procesos de biotransformación. Estas transformaciones se localizan principalmente en el intestino y el hígado y se clasifican en dos fases metabólicas. Los metabolitos de fase I resultan de la oxidación, hidrólisis o reducción, en su mayoría catalizadas por las enzimas del citocromo P450. En la fase II, los productos de la fase I, así como parte del HT original, sufren reacciones de conjugación, como la metilación, glucuronidación o sulfatación de la molécula. Estas modificaciones favorecen la solubilidad del compuesto y permiten una rápida eliminación, principalmente a través de la orina (Caruso et al., 2001; Miró-Casas, et al., 2003; Sakavitsi et al., 2022; S. Silva et al., 2018).

El HT se ha identificado en el cerebro de forma endógena como un catabolito secundario de neurotransmisores catecolaminérgicos, tales como la dopamina (DA) (Caruso et al., 2001; Cicerale et al., 2012; Hornedo-Ortega et al., 2018; S. Silva et al., 2018). Se ha planteado que las bajas concentraciones de HT cerebrales podrían estar implicadas en procesos neurofisiológicos, incluyendo su interacción con el metabolismo oxidativo de la DA (López de

las Hazas et al., 2015). En este sentido, se ha descrito que el HT de la dieta una vez entra en el torrente sanguíneo, podría cruzar la BHE e interferir con las vías de degradación de la DA (véase Figura 2.7) (Serreli & Deiana, 2020, Velotti & Bernini, 2023). En concreto, el HT converge con la vía catabólica dopaminérgica y puede transformarse en 3,4-dihidroxifenilacetaldehído (DOPAL) y Ácido 3,4-dihidroxifenilacético (DOPAC) mediante la acción de dos enzimas clave, la enzima alcohol deshidrogenasa (ADH) y la aldehído deshidrogenasa (ALDH), respectivamente (Micheli et al., 2023; Sakavitsi et al., 2022).

En conclusión, dada la alta biodisponibilidad del HT, su capacidad de atravesar la BHE y alcanzar el cerebro, así como su interacción con la vía dopaminérgica, resulta fundamental revisar la implicación de este compuesto bioactivo del AOVE frente a END asociadas al envejecimiento.

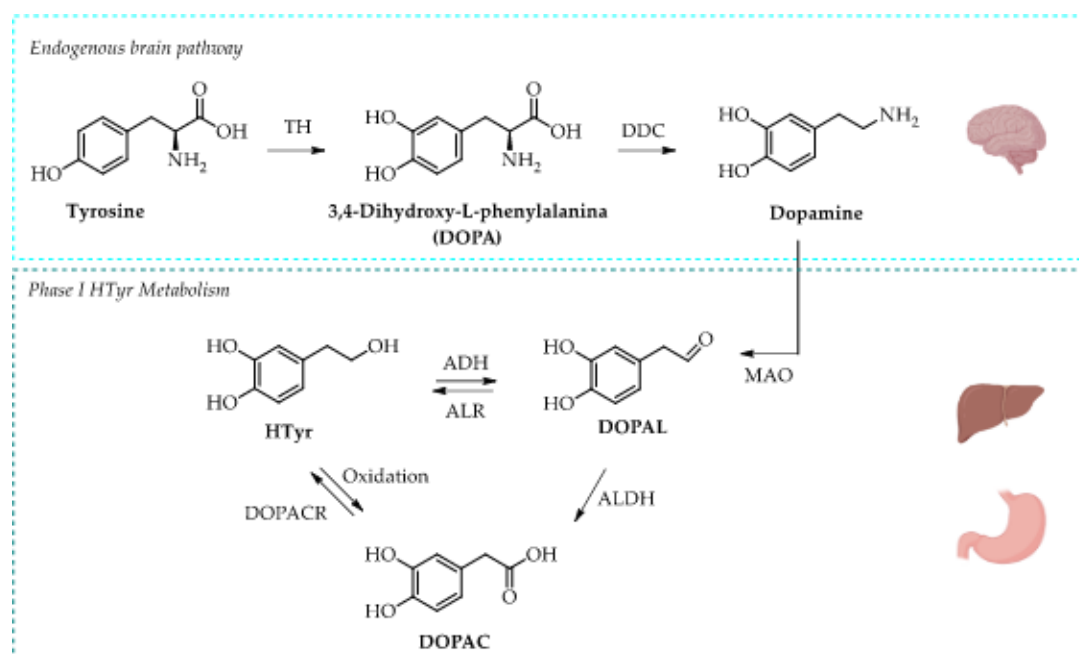


Figura 2.7 Metabolismo de HT de fase I cruzado con el metabolismo de la dopamina (Micheli et al., 2023). Abreviaturas: Tirosina hidroxilasa (TH), dopa descarboxilasa (DDC), monoaminoxidasa (MAO), aldehído reductasa (ALR), alcohol deshidrogenasa (ADH), aldehído deshidrogenasa (ALDH) y DOPAC reductasa (DOPACR).

3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

Debido al progresivo aumento de la esperanza de vida, el incremento de enfermedades crónicas y neurodegenerativas asociadas al envejecimiento representan uno de los mayores desafíos sanitarios y sociales del siglo XXI. Este fenómeno conlleva una mayor demanda de los servicios médicos, pudiendo resultar en una saturación de los sistemas de salud y/o un aumento del gasto público. En este contexto, es crucial comprender los mecanismos moleculares implicados en el envejecimiento, ya que su identificación permite la implementación de intervenciones eficaces mediante estrategias nutricionales, farmacológicas o genéticas, contribuyendo a un envejecimiento óptimo y saludable de la población.

La adopción de patrones dietéticos equilibrados, como es el caso de la dieta mediterránea, ha demostrado ser una herramienta esencial para fomentar el envejecimiento saludable. En particular, los compuestos bioactivos antioxidantes como el hidroxitirosol, un componente clave del aceite de oliva virgen extra, desempeña un papel crucial en la protección contra el estrés oxidativo y en la mitigación de enfermedades neurodegenerativas asociadas al envejecimiento como el Alzheimer y el Parkinson.

Por tanto, el objetivo general de este Trabajo Fin de Grado es realizar una revisión bibliográfica para evaluar el impacto del hidroxitirosol, principal compuesto fenólico del AOVE, frente al desarrollo de enfermedades neurodegenerativas influenciadas por procesos de estrés oxidativo asociados al envejecimiento. Para ello se proponen los siguientes objetivos específicos:

- I. Analizar los mecanismos moleculares del estrés oxidativo involucrados en la disfunción neuronal, la inflamación crónica y la muerte celular, con énfasis en su relación con las enfermedades neurodegenerativas.
- II. Revisar el impacto del HT presente en el AOVE en la mitigación del estrés oxidativo asociado al envejecimiento y en la prevención de las principales enfermedades relacionadas con la edad, mediante una revisión actualizada de estudios en modelos *in vivo* e intervenciones nutricionales realizadas en humanos.
- III. Determinar la disponibilidad, toxicidad y dosis mínima eficaz del HT basado en datos experimentales y clínicos disponibles, evaluando su aplicabilidad en humanos con el consumo de la DM, para uso terapéutico o como suplemento.

4. METODOLOGÍA

Este Trabajo Fin de Grado consiste en una revisión bibliográfica narrativa, guiada por la siguiente pregunta de investigación: ¿Cómo contribuye el hidroxitirosol presente en el aceite de oliva virgen extra en la prevención del estrés oxidativo y la protección frente a las enfermedades neurodegenerativas asociadas al envejecimiento?

Para la búsqueda de información científica se utilizaron las bases de datos PubMed, Web of Science y Scopus, a las que se accedió a través de la Biblioteca de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid. Además, se empleó la base de datos Phenol-Explorer, especializada en compuestos fenólicos presentes en alimentos, para obtener información actualizada sobre el metabolismo y el contenido de HT en el AOVE.

La selección de fuentes bibliográficas se restringió a artículos científicos, tesis y/o trabajos de investigación publicados entre el año 2000 hasta la actualidad, periodo que coincide con el creciente interés en el estudio del HT, un compuesto que hasta hace relativamente poco no era muy investigado. Los estudios seleccionados usan AOVE o suplementos de HT como matriz principal de administración.

Como estrategia de búsqueda, se utilizaron las siguientes combinaciones de palabras clave (disponibles en inglés o español) con AND/Y como operador booleano: “Hydroxytyrosol AND extra virgin olive oil”; “Hydroxytyrosol AND oxidative stress”; “Oxidative stress AND central nervous system”; “neurodegenerative diseases AND action mechanism AND diet”; “microglia AND neurodegenerative diseases”; “Alzheimer’s disease AND physiopathology”; “Parkinson’s disease AND physiopathology”; “Inflammation AND aging”; “Phenolic compounds AND olive oil and aging”; “hydroxytyrosol AND olive oil AND neurodegenerative diseases AND in vitro AND in vivo”; “antioxidant activity AND hydroxytyrosol”; “pharmacokinetics AND hydroxytyrosol AND metabolites AND olive oil”; “hydroxytyrosol AND metabolites AND olive oil AND absorption AND human”, etc.

Finalmente, para la organización de la bibliografía y gestión de referencias se empleó el software Zotero.

5. RESULTADOS

5.1 Estudios *in vitro* sobre el efecto antioxidante y antiinflamatorio del hidroxitirosol (HT) en microglía y células neuronales

Diversos estudios han investigado el efecto y los mecanismos de acción del HT presente en el AOVE mediante cultivos celulares *in vitro* (Tabla 5.1).

Los estudios realizados por Schaffer et al. (2010) y Hornedo Ortega et al. (2018) evaluaron el efecto neuroprotector del HT mediante un modelo celular neuronal PC12, una línea con características neuronales diseñada para evaluar la protección frente al EO. En el primer estudio, para determinar la citotoxicidad se analizaron diversos indicadores: la reducción del compuesto MTT (transformado en color púrpura por enzimas mitocondriales activas), los niveles de ATP (indicador de la actividad energética mitocondrial) y el mantenimiento del potencial de membrana mitocondrial (MMP). Tanto el tratamiento con HT puro como con un extracto rico en HT procedente de aguas residuales de almazara protegían las células neuronales frente al daño inducido por especies reactivas de oxígeno (ROS), demostrando ejercer un efecto antioxidante y citoprotector (Schaffer et al., 2010). Más recientemente, Hornedo Ortega et al. (2018) estudiaron el efecto inhibitorio del HT sobre la formación fibrilar de α -Syn, el principal sello histopatológico de la EP, desde etapas tempranas. Incluso con las concentraciones más bajas (25 μ M de HT) se inhibió en un 70%, alcanzando hasta un 89% en concentraciones mayores. Además, mediante las técnicas bioquímicas de electroforesis, fluorescencia y microscopía electrónica de transmisión (TEM) se demostró que el HT también desestabiliza las fibrillas ya preformadas, favoreciendo su disgregación. A una concentración de 25 μ M, el HT logró revertir completamente los efectos tóxicos de α -Syn, sugiriendo un potencial factor terapéutico.

En esta misma línea, Gallardo-Fernández (2023) analizaron el efecto de tres metabolitos derivados del HT (DOPAL, MOPET y MOPAL) sobre la agregación y toxicidad de las fibrillas de α -Syn. Mediante ensayos *in vitro*, se empleó el marcador ThT fluorescente (Thioflavina T), el cual se une a las fibrillas de α -Syn para monitorear su agregación. Tras 6 días de incubación, el metabolito DOPAL fue el compuesto más eficaz ya que logró inhibir por completo la

formación de fibrillas a bajas concentraciones (20 μM), además de desestabilizar las preformadas y disminuir su toxicidad junto a MOPET (100 y 150 μM). Por el contrario, MOPAL, derivado de la acción de la enzima COMT, no mostró capacidad para inhibir la formación de fibrillas de α -sinucleína en ninguna de las concentraciones evaluadas.

Bigagli et. al (2017) demostraron que la exposición a una dosis baja de HT (98% pureza), la cual alcanzamos con el consumo de AOV en la dieta, disminuían la producción de ROS, y reducían la síntesis de mediadores inflamatorios como PGE2 y óxido nítrico en un modelo de inflamación en macrófagos inducido por lipopolisacáridos (LPS). Además, el HT indujo la translocación nuclear del factor Nrf2, fortaleciendo así la respuesta antioxidante, y modulando la expresión de las vías proinflamatorias (Gallardo-Fernández et al., 2023).

En una revisión bibliográfica más reciente, se han descrito los efectos asociados al consumo de HT y oleuropeína (OLE) en la prevención de enfermedades asociadas al envejecimiento, como las END; incluyendo el Alzheimer y el Parkinson (Micheli et al., 2023). A continuación se extraen dos estudios:

- El estudio de Daccache et al. 2010 examinó la capacidad del HT para inhibir la agregación de la proteína Tau mutante (P301L), relacionada con la formación de ovillos neurofibrilares (NFT) en la EP. Utilizando técnicas bioquímicas de dispersión de luz y fluorescencia con tinción de tinina amarilla (ThS), se observó la capacidad inhibitoria de la agregación con un valor IC50, es decir, la concentración necesaria para reducir en un 50% la formación de filamentos de Tau in vitro, de aproximadamente 2mM. Las concentraciones de 1 a 4 mM sugirieron la capacidad de interactuar con los grupos amino de la proteína Tau, evitando su ensamblaje. Por tanto, su posible uso como nutracéutico en la prevención o retraso de la progresión de la EP es de gran relevancia.
- L. Zhang et. al (2019) investigaron el efecto antiinflamatorio del HT tanto en células BV2, unas células microgliales de origen murino específicas para estudiar la respuesta inflamatoria, como en la microglía primaria aislada de cerebros de ratón neonatal; tratadas y estimuladas con LPS o α -Syn, durante 6h. El tratamiento con HT promovió una transición del perfil microglial de su estado proinflamatorio (M1) al antiinflamatorio (M2), medidos con los marcadores CD86 y CD206, respectivamente. A su vez, este estudio observó una reducción en la producción de citoquinas proinflamatorias como TNF- α e IL-6, una reducción en la expresión del inflamasoma NLRP3, así como una disminución en la activación de NF- κ B y la producción de ROS, contribuyendo en la modulación del estrés oxidativo (EO).

Tabla 5.1 Efecto y mecanismos de acción del hidroxitirosol (HT) del AOVE en estudios *in vitro*.

ESTUDIOS <i>IN VITRO</i>						
Modelo celular	Enfermedad/condición de estudio	Dosis, administración y exposición	Mecanismo de acción	Marcadores analizados	Efecto del HT	Referencia
Células neuronales PC12	Neurodegeneración, simulando EO en las células = Alzheimer y Parkinson	10 μ M extracto de agua residual de olivo HT con un 45,5% del compuesto, sometido a EO (ROS: Fe ²⁺) durante 18h.	Neutraliza ROS; \downarrow EO. Inhibición de vías apoptóticas (caspasa-3); \downarrow apoptosis, \downarrow EO.	MMP, ATP y MMT, ROS	Efecto citoprotector y antioxidante	(Schaffer et al., 2010)
Macrófagos RAW 264.7 y monocitos humanos estimulados con LPS y PMA.	Respuesta inflamatoria, reducción producción ROS = Alzheimer y Parkinson	1, 5 y 10 μ M HT purificado 100%, 24 h	Participación en la activación de la vía Nrf2 Capacidad \downarrow ROS, \downarrow mediadores inflamatorios (IL-1 β , TNF- α)	Nrf2 nuclear, Nrf2 citoplasmático, TNF- α , IL-6, NO, PGE2	Efecto antiinflamatorio y antioxidante	(Bigagli et al., 2017)
Células murinas PC12	Formación fibrillas α -Syn; Enfermedad de Parkinson	Medio de cultivo celular con 7 μ M de α -Syn y 25-200 μ M de HT, incubación 48h	Inhibición formación fibrillas α -Syn desestabiliza fibrillas preformadas	Fibrillas α -Syn, ensayo MTT	Efecto neuroprotector y antioxidante	(Hornedo-Ortega, Cerezo, Troncoso, et al., 2018)
Proteínas Tau P301L <i>in vitro</i>	Enfermedad de Alzheimer	Hidroxitirosol purificado \approx 1-4 mM	Inhiben la formación de agregados Tau	TsH, IC50,	Efecto neuroprotector	(Micheli et al., 2023); (Daccache et al. 2010)
Células microgliales murinas BV2	Respuesta inflamatoria inducida por LPS o α -Syn = Enfermedad de Parkinson	Tratadas con LPS (1 μ g/mL) o fibrillas de α -Syn (5 μ M), con y sin HT (50 μ M), durante 6h.	\downarrow Activación microglia (\downarrow M1, \uparrow M2), \downarrow NLRP3, \downarrow NF- κ B, \downarrow ROS = \downarrow EO	TNF- α , IL-6 CD206 (M2) y CD86 (M1), microglía	Efecto antiinflamatorio y antioxidante	(Micheli et al., 2023); (L. Zhang et al., 2019)
Células neuronales PC12	Toxicidad inducida por α -sinucleína (α -syn) = Enfermedad de Parkinson	MOPET a 100 y 150 μ M o DOPAL a 20,50,100 y 150 μ M y 24 h de pretratamiento, con α -Syn (7 μ M)	DOPAL, MOPET = \downarrow formación α -Syn	SIRT-1, SIRT-2, Hsp70, Fibrillas α -Syn, MTT, HO-1	Efecto neuroprotector, inhibición formación fibrillas α -Syn	(Gallardo-Fernández et al. 2023)

Abreviaturas: ATP: adenosín trifosfato; CD206 (M2) y CD86 (M1): marcadores de microglía antiinflamatoria y proinflamatoria, respectivamente; ensayo MTT: ensayo de viabilidad celular basado en reducción del bromuro de tetrazolio; fibrillas α -Syn: fibrillas de alfa-sinucleína; HO-1: hemo oxigenasa-1; IC50: concentración inhibitoria media; IL-6: interleucina 6; MMP: potencial de membrana mitocondrial; MMT: monómero de metiltiazol; microglía: células inmunitarias del sistema nervioso central; Nrf2 nuclear y Nrf2 citoplasmático: factor nuclear eritroide 2 relacionado con el factor antioxidante 2 en su forma activa (nuclear) e inactiva (citoplasmática); NO: óxido nítrico; PGE2: prostaglandina E2; ROS: especies reactivas de oxígeno; SIRT-1 y SIRT-2: sirtuinas 1 y 2, proteínas reguladoras; TNF- α : factor de necrosis tumoral alfa; TsH: tiempo semivida.

5.2 Estudios *in vivo* del hidroxitirosol (HT) en enfermedades neurodegenerativas (END)

En la tabla 5.2 se recopilan los estudios *in vivo* y *ex vivo* más relevantes hasta la fecha, que han aportado una evidencia significativa sobre el efecto neuroprotector del HT en las principales END. El modelo murino es el más empleado en este tipo de investigaciones debido a su similitud neurobiológica con los humanos y su facilidad de manejo. En un estudio previo a la publicación de Schaffer et al. (2010), evidenciaron el efecto neuroprotector del HT, protegiendo las células neuronales y la microglía no solo *in vitro*, también *ex vivo*, tras una administración

oral subcrónica de 100 mg de extracto de HT por cada kg peso. Otro estudio que utilizó un modelo murino es el de Peng et. al (2016), específicamente utilizó ratones APP/PS1, un modelo animal representativo de la EA. Se dividieron en tres grupos, dos control; grupo ratones silvestres, grupo de ratones APP/PS1, y un grupo APP/PS1 que contaba con una ingesta diaria de 5 mg/kg de HT disuelto en una solución salina por sonda, durante 6 meses. El tratamiento crónico produjo mejoras tanto en la actividad cerebral (analizado con un encefalograma) como en el rendimiento cognitivo, medido con la prueba del laberinto acuático. Posteriormente, se realizó un análisis *ex vivo* del cerebro donde el HT no redujo la deposición de A β detectable ni la formación de placas amiloides. Sin embargo, ejerció un gran potencial neuroprotector al reducir el EO, modulando enzimas como la HO-1 y mejorando el equilibrio redox intracelular. Además, el grupo APP/PS1 + HT mostró una disminución de la inflamación mediada por NF- κ B y la inhibición del inflammasoma NLRP3, apoyando el papel antiinflamatorio del compuesto.

Giovanni Brunetti et. al (2020) utilizan en su estudio como modelo para la EP un nemátodo invertebrado, elegido por su similitud a nivel de órganos y tejidos con los mamíferos, y los humanos. Se trata del *Caenorhabditis elegans* (C. elegans), considerado un modelo óptimo para el estudio de los efectos neuroprotectores de los fenoles. Estos gusanos se expusieron a α -Syn o pesticidas, que dañan las mitocondrias para simular la EP, alterando su capacidad de movimiento y pudiendo así evaluar el efecto del compuesto. La administración de HT produjo un aumento la longevidad del nemátodo, mejorando el rendimiento en el movimiento y minimizando el daño neuronal. Asimismo, redujo la agregación de α -Syn y mejoró la resistencia al EO, mostrando un claro efecto neuroprotector y antioxidante.

En el estudio realizado por D'Andrea et. al (2020) se observó que el tratamiento con HT estimula la neurogénesis en el eje dentado del hipocampo, región que genera nuevas neuronas y que, con el envejecimiento, disminuye hasta un declive cognitivo. Se utilizaron ratones silvestres adultos y ancianos, así como un modelo murino de envejecimiento neuronal acelerado (Btg1). Los resultados destacaron que, el tratamiento con 100 mg/kg HT por 12 días activa la neurogénesis en adultos, ancianos y sin Btg1 al disminuir la apoptosis. También se ha comprobado una reducción en los marcadores de envejecimiento como la lipofuscina (pigmento) y el Iba1 (marcador actividad microglial) (Micheli et al., 2023).

Tabla 5.2 Estudios in vivo que evalúan el efecto del consumo de hidroxitirosol (HT) en modelos animales de enfermedades neurodegenerativas y toxicidad. Fuente: elaboración propia

ESTUDIOS IN VIVO						
Modelo animal	Enfermedad/condición de estudio	Dosis, administración y exposición	Mecanismo de acción	Marcadores analizados	Efecto del HT	Referencia
Modelo murino	Neurodegeneración, resistencia al EO = Alzheimer y Parkinson	Administración oral subcrónica de 100mg/ kg de extracto de HT durante 12 días.	↓ROS = ↓EO, ↓peroxidación lipídica:	EO, ROS	Efecto neuroprotector y antioxidante	(Schaffer et al., 2010)
Ratones APP/PS1 (modelo Alzheimer)	Enfermedad de Alzheimer	5 mg/kg/día por vía oral durante 6 meses	Mejora de función mitocondrial, ↓ EO, ↓ inflamación y apoptosis; sin efecto sobre Aβ	Actividad EEG, memoria, β-amiloide, inflamación, EO	Efecto cognitivo y neuroprotector	(Peng et al., 2016)
Nemátodo <i>C. elegans</i> (modelo Parkinson)	Enfermedad de Parkinson	250 µg/mL de HT	↓ agregación de α-Syn, ↑ resistencia al EO	ROS, % supervivencia, α-Syn	Efecto neuroprotector y antioxidante	(Giovanni Brunetti et al., 2020)
Ratones silvestres adultos, ancianos y Btg1 ^{-/-}	Envejecimiento neuronal y deterioro de la neurogénesis hipocampal = Alzheimer y Parkinson	100 mg/kg/día de HT por 12 días, administración oral	Adultos: ↑ Neurogénesis, ↑ plasticidad sináptica, ↑proliferación neuronal Ancianos y Btg1 ^{-/-} : ↓apoptosis, ↓Iba1	Caspasa 3, Iba1	Efecto neuroprotector	(Micheli et al., 2023); (D'Andrea et. Al, 2020)

Abreviaturas: EO: estrés oxidativo; ROS: especies reactivas de oxígeno; HT: hidroxitirosol; APP/PS1: modelo transgénico de ratón con mutaciones asociadas al Alzheimer; EEG: electroencefalograma; Aβ: beta-amiloide; α-Syn: alfa-sinucleína; SOD: superóxido dismutasa; CUMS: modelo de estrés crónico impredecible (Chronic Unpredictable Mild Stress); Iba1: marcador de activación microglial; Caspasa 3: enzima clave en la apoptosis; Btg1^{-/-}: ratones knockout con deficiencia del gen Btg1, modelo de envejecimiento cerebral acelerado; TNF-α: factor de necrosis tumoral alfa; IL-1β: interleucina 1 beta.

5.3 Evidencia clínica del hidroxitirosol (HT) en humanos

El estudio observacional de cohorte “Three City (3C) Study” fue pionero en explorar la relación entre el consumo habitual de aceite de oliva, como podría ser en la dieta mediterránea (DM), y el deterioro cognitivo en población anciana. Un seguimiento durante cuatro años de 9000 participantes sin demencia previa demostró que el consumo moderado o intensivo de aceite de oliva se asociaba con un menor riesgo de deterioro cognitivo, en comparación a aquellos que no lo consumían (Berr et al., 2009). Posteriormente, numerosos estudios (ver Tabla 5.3) han profundizado más en las propiedades de los CF del aceite de oliva, como el HT, para la prevención y desarrollo de END.

En un estudio aleatorizado, ciego y cruzado, Bender et al. (2023) demostraron que una dosis única de 30,6 mg de HT redujo significativamente los niveles de colesterol LDL oxidado (oxLDL), considerado un importante marcador de EO y riesgo cardiovascular. Curiosamente,

una dosis mayor (61,5 mg) no mostró efectos adicionales, lo que sugiere la existencia de un posible umbral de eficacia para este compuesto. De forma complementaria, Colica et al. (2017) realizaron un ensayo clínico controlado, cruzado y doble ciego durante tres semanas. Demostró que el consumo diario de 15 mg de HT mejoraba el perfil lipídico y reducía biomarcadores de daño oxidativo como el malondialdehído (MDA) y aumentaba la actividad de defensas antioxidantes endógenas, como la superóxido dismutasa (SOD1), los grupos tiol y el estado antioxidante total (TAS). Estos hallazgos coinciden con la revisión realizada por González-Santiago (2005), quien recopiló evidencias sobre el efecto del AOV rico en compuestos fenólicos en la reducción de la oxidación de LDL, la disminución de la peroxidación lipídica y el fortalecimiento del sistema antioxidante, incluso en dosis compatibles con la DM. En dicha revisión se destacó el estudio de Fitó et al. (2002), donde 16 voluntarios sanos presentaron un aumento transitorio de la peroxidación lipídica y una disminución temporal de las enzimas glutatión peroxidasa y glutatión reductasa tras la ingesta de 50 mL de AOVE. Sin embargo, estos efectos fueron transitorios, ya que se normalizaron pocas horas después de la administración.

Más allá del perfil lipídico y oxidativo, el estudio clínico más reciente encontrado, Loukou et al. (2024), evaluó por primera vez en seres humanos si el consumo diario de una bebida con extracto de hoja de olivo (OLE), complementando a una dieta mediterránea (DM), mejora la función cognitiva en personas con enfermedad de Alzheimer (EA) en etapa leve, en combinación con su tratamiento médico habitual. En este ensayo aleatorizado con 55 pacientes, Loukou et al. (2024) estableció dos grupos de estudio donde, el primer grupo consumió diariamente una bebida preparada con extracto de hoja de olivo y recibió orientación mensual para seguir una DM, mientras que en el segundo recibió únicamente las indicaciones dietéticas de la DM. Tras 6 meses, se volvió a evaluar el estado cognitivo de todos los participantes mediante pruebas neuropsicológicas, donde aquellos que consumieron el extracto de hoja de olivo (grupo 1) obtuvieron mejores resultados en la prueba MMSE (Mini-Mental State Examination), una herramienta que evalúa funciones cognitivas como la memoria y la atención. En este grupo, los valores del MMSE se mantuvieron estables (sin deterioro), mientras que en el grupo control (grupo 2) se observó un descenso promedio, indicando un empeoramiento cognitivo. Se demuestra así el efecto neuroprotector del HT en pacientes con Alzheimer en etapas leves y su influencia en la progresión clínica de las END.

Tabla 5.3 Estudios clínicos sobre la relación del hidroxitirosol (HT) con el estrés oxidativo y las enfermedades neurodegenerativas en humanos. Fuente: elaboración propia

ESTUDIOS CLÍNICOS				
Diseño de estudio	Enfermedad/condición de estudio	Dosis y administración	Resultados principales del consumo de HT	Referencia
Estudio aleatorizado, ciego y cruzado con 25 voluntarios sanos	Eficacia de suplementos ricos en HT en la reducción de la oxidación lipídica	25 mL de suplementos alimenticios acuosos, con HT como principal bioactivo (30,6-61,5 mg)	Reducción significativa de la oxidación lipídica en sangre	(Bender et al., 2023)
Ensayo cruzado, aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo con 28 voluntarios	Efecto antioxidante de una formulación farmacéutica a base de HT: EO, inflamación, ...	Cápsulas, 15 mg/día de HT durante 3 semanas	Reducción del EO y del riesgo cardiovascular	(Colica et al., 2017)
Revisión bibliográfica: Ensayo clínico, aleatorizado, cruzado 16 participantes	Cambios en los biomarcadores de EO y el perfil lipídico asociado al consumo de AOV	Dosis única de 12.7 mg CF contenido en 50 mL de AOV en pan vs. 25mL/día durante 7 días	↑peroxidación lipídica entre 4-6h y ↑actividad glutatión reductasa y glutatión peroxidasa	(González Santiago, 2005)
Estudio GOLDEN. “The Role of Greek Olive Leaf Extract in Patients with Mild Alzheimer’s Disease”. 55 Pacientes con EA leve	Enfermedad de Alzheimer, añadido a su tratamiento habitual	6 meses, dos grupos: bebida con extracto de hoja de olivo asociado a la dieta mediterránea	Consumo diario extracto mejoró significativa en todas las pruebas neuropsicológicas: memoria y rendimiento cognitivo	(Loukou et al., 2024)

6. DISCUSIÓN

6.1 Relación entre los modelos (in vitro, in vivo y humanos) y mecanismos de acción del hidroxitirosol (HT).

Las investigaciones con modelos celulares *in vitro* empleados para el estudio del papel del hidroxitirosol (HT), han permitido identificar los mecanismos moleculares mediante los cuales ejerce su efecto citoprotector frente al estrés oxidativo (EO) y las principales END: EP y EA.

Uno de los mecanismos centrales del HT es la activación del factor de transcripción Nrf2, un regulador clave de la respuesta antioxidante celular que controla la expresión de múltiples vitagenes antioxidantes, destacando la isoforma HO-1, que favorece la polarización de la microglía hacia un fenotipo antiinflamatorio M2 (Bigagli et al., 2017; Espada Serrano, 2010; Gallardo-Fernández et al., 2023; Hornedo Ortega & Espinosa Oliva, 2024). La activación de la vía Nrf2/HO-1 actúa como sensor dinámico y mecanismo protector frente al EO, induciendo la homeostasis celular (Espada Serrano, 2010; Gallardo-Fernández et al., 2023).

En modelos celulares de EA, el HT atenúa el daño neuronal inducido por el péptido β -amiloide ($A\beta$) mediante la activación de SIRT-1 y SIRT-2, y la inhibición del factor nuclear κB (NF- κB), reduciendo así la inflamación neurogénica y promoviendo la supervivencia celular (Gallardo-Fernández et al., 2019; Leri et al., 2020). Asimismo, reduce la producción de citoquinas proinflamatorias como TNF- α , IL-6 o IL-1 β e inhiben el inflamasoma NLRP3 (Bigagli et al., 2017; Micheli et al., 2023; Schaffer et al., 2010). Las concentraciones efectivas de HT empleadas en los estudios recopilados (véase Tabla 5.1), entre 5-50 μM , son suficientes para ejercer efectos significativos en la disminución de los niveles de ROS. Además, han demostrado la inhibición de la agregación de alfa-sinucleína (α -Syn) (Hornedo-Ortega et al., 2018; Karković Marković et al., 2019) y la hiperfosforilación de la proteína Tau (Micheli et al., 2023), procesos patológicos vinculados a la EP y EA, respectivamente.

El uso de modelos animales ha permitido confirmar que los resultados observados *in vitro* también se expresan en organismos completos. En ratones transgénicos APP/PS1 que reproducen la EA, el tratamiento con HT produjo mejoras en la memoria espacial y la función cognitiva, a pesar de no reducir la carga de placas de β -amiloide ($A\beta$) ya formadas. Estos

resultados sugieren que dosis de HT de 5 mg/kg/día no previenen la EA pero sí atenúan el EO mitocondrial inducido (Peng et al., 2016). No obstante, se observó una activación de las vías antioxidantes (HO-1) e inhibición de las inflamatorias (NLRP3/NF- κ B), demostrando su papel protector manteniendo la homeostasis redox (Calabrese et al., 2018; Marogianni et al., 2020; Peng et al., 2016). En el contexto de la EP, estudios con el nemátodo *C. elegans* (Giovanni Brunetti et al., 2020) confirmaron que el HT atenúa la agregación de la α -sinucleína humana y mejora la movilidad, demostrando un potente efecto neuroprotector frente al desarrollo de la enfermedad. De la misma forma, con el modelo murino Btg1 se ha observado un estímulo de la neurogénesis en el hipocampo, región primordial para la memoria, y un aumento en la actividad mitocondrial (Micheli et al., 2023). También se ha demostrado que el HT reduce la toxicidad de los agregados de α -Syn gracias a la capacidad de formación de un complejo estable con MAO-B (isoforma relacionada con la patogenia de la EP). Esta interacción permite al HT ocupar el sitio activo de la enzima, interfiriendo con su actividad catalítica y modulando favorablemente los niveles de dopamina en el SNC (Pathania et al., 2021). Curiosamente, el papel del DOPAL en la EP resulta complejo, ya que su efecto varía dependiendo de la concentración y el estado celular. En el estudio de Gallardo-Fernández (2023), demuestran que este metabolito derivado del HT inhibe la formación de fibrillas de α -Syn a bajas concentraciones. Contrariamente, la hipótesis del catecolaldehído considera que el DOPAL es un metabolito altamente tóxico implicado en la pérdida de neuronas dopaminérgicas en la EP (Goldstein et al., 2016). Por tanto, a niveles controlados, el DOPAL podría ejercer un efecto modulador beneficioso sin inducir neurotoxicidad.

La evidencia clínica actual respalda fuertemente el papel del HT como modulador de rutas celulares clave implicadas en el envejecimiento neuronal, la inflamación y el EO a través de suplementación o el consumo de la DM. La mayor parte de los estudios han demostrado mejoras en la reducción de biomarcadores de EO como el colesterol LDL oxidado o el malondialdehído (MDA), principalmente involucrados en la patogénesis de ECV, aunque estos marcadores son igualmente extrapolables en la prevención del envejecimiento celular (Bender et al., 2023; Colica et al., 2017). Por otro lado, el ensayo clínico de Loukou et al. (2024), basado en el análisis cognitivo, demostró el papel significativo del HT en la prevención de la EA.

Sin embargo, su potencial terapéutico parece residir más en su capacidad para restaurar la homeostasis redox que en una acción directa sobre dianas neuropatológicas específicas, como la agregación de A β o tau hiperfosforilada. Este matiz, evidente en el modelo animal de Peng et al. (2016) y posteriormente corroborado en humanos con el estudio GOLDEN (Loukou et al.,

2024) replantea el valor del HT desde una perspectiva nutracéutica: más como un modulador del entorno proinflamatorio y oxidativo que como un agente con capacidad de revertir (directamente) el daño neurotóxico. No obstante, para comprobar su utilidad clínica en END es necesario ampliar la evidencia mediante estudios de mayor duración, que abarque un mayor número de sujetos, que integren biomarcadores neuronales y moleculares específicos, cognitivos y un seguimiento mucho más preciso.

6.2 Dosis efectiva, ingesta recomendada de hidroxitirosol (HT) y la adquirida con la dieta mediterránea (DM)

Respecto a las ventajas descritas del consumo de HT, es importante conocer la cantidad y frecuencia de consumo recomendada para obtener los efectos saludables. En modelos animales, las dosis orales efectivas variaron entre los 5 y 250 mg/kg/día (Auñon-Calles et al., 2013). Además, López de las Hazas et al. (2015) ha demostrado su biodisponibilidad cerebral en modelos de rata, donde tanto el sulfato de HT o el acetato de hidroxitirosol (HTA) alcanzaron concentraciones cercanas a los 10µM, niveles “suficientes” para ejercer efectos antioxidantes y neuroprotectores (Rodríguez-Morató et al., 2017; Rubió et al., 2012; Serreli & Deiana, 2018). Aun considerándose un compuesto seguro, la determinación de su dosis mínima eficaz en humanos sigue sin conocerse. Desde un punto de vista traslacional, en los ensayos clínicos de Colica et. al (2017) y Bender et. al (2023) se han utilizado dosis de 15 mg/día y de 30,6 mg de HT, respectivamente, en forma de suplementos o mediante la dieta. No obstante, existe una aparente falta de correlación entre las dosis administradas y el efecto observado. Ensayos clínicos como el de Bender et. al (2023) demostraron que la dosis más alta necesariamente no generó mayores beneficios, de hecho, ya con dosis bajas eran observables efectos antioxidantes significativos; dosis equivalentes a las que se obtiene a través de la dieta mediterránea (DM). Esta relación dosis-respuesta no lineal podría limitar el potencial del HT como fármaco de intervención en fases avanzadas de Alzheimer o Parkinson. No obstante, la evidencia disponible respalda sólidamente el papel del HT como compuesto bioactivo dietario o nutracéutico, con un efecto preventivo y modulador de rutas claves implicadas en el envejecimiento neuronal, la inflamación crónica y el EO.

La Agencia Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) ha respaldado estos beneficios mediante una declaración de propiedad saludable incluida en el Reglamento (UE) n° 432/2012, en la que se establece que una ingesta diaria mínima de 5 mg de HT y derivados por persona, procedentes de los polifenoles del AOVE, contribuye a la protección de los lípidos sanguíneos frente al EO (Reglamento (UE) n° 432/2012 de la Comisión, de 16 de mayo de 2012, por el que se establece una lista de declaraciones autorizadas de propiedades saludables de los alimentos distintas de las relativas a la reducción del riesgo de enfermedad y al desarrollo y la salud de los niños Texto pertinente a efectos del EEE, 2012). Esta cantidad es alcanzable con la adherencia a la DM: 2-3 cucharadas diarias, es decir, unos 25-30 mL AOVE aproximadamente, representan unos 5-10 mg de HT (AESAN, 2021). Sin embargo, el contenido fenólico del aceite de oliva virgen (AOV) se ve influenciado por múltiples factores agronómicos y tecnológicos. En consecuencia, es difícil garantizar una ingesta fija de fenoles a partir de un alimento sujeto a una alta variabilidad (S. Silva et al., 2018), aunque el AOVE siempre tendrá la mayor cantidad de HT (véase Tabla 2.1).

Consecuentemente, algunos autores señalaron que el contenido real de HT en la DM típica solo nos aportaría 2 mg/día, por lo que sería insuficiente para alcanzar la dosis reconocida por la EFSA. En estos casos se ha planteado la necesidad de complementar la dieta con suplementos a base de HT (Bender et al., 2023). De hecho, en el ensayo clínico de Loukou et al. (2024), sólo el grupo que consumió extracto de hoja de olivo junto a la DM mostró una estabilización cognitiva, algo que los pacientes con Alzheimer leve al consumir solo la DM no consiguieron.

Los suplementos de HT derivados del AOVE utilizados en los estudios mencionados han sido formulados específicamente para su investigación clínica y no se encuentran en el mercado. Algunas de las opciones comerciales disponibles son bajo las marcas HidroxiNua® 25 o ProHealth-Hydroxytyrosol Extreme™, con una dosis por cápsula de 25 y 100 mg de HT, respectivamente.

6.2.1 Seguridad y perfil toxicológico del hidroxitirosol (HT).

El perfil toxicológico del HT ha sido evaluado en diversos modelos preclínicos y ensayos celulares con el objetivo de determinar su seguridad para el consumo humano y su potencial

como agente antioxidante en la prevención de END. En líneas generales, los resultados apuntan a un perfil toxicológico muy favorable, con ausencia de efectos adversos significativos incluso a dosis elevadas.

El estudio de citotoxicidad y bioseguridad de Cortés Castell (2014), un ensayo *in vivo* con embriones peces cebra; modelo ampliamente aceptado en toxicología por su similitud genética con humanos. Los expusieron durante tres días (post fecundación) a concentraciones de hasta 100 mg/L del extracto rico en polifenoles de la aceituna sin que se observaran evidencias de toxicidad aguda ni subaguda durante el desarrollo embrionario (Cortés Castell, 2014).

Atendiendo a la toxicidad del HT, el estudio de Auñón-Calles et. al (2013) utiliza como modelo animal las Ratas Wistar Hannover. Durante 13 semanas, se administró diferentes concentraciones, 5, 50 y 500 mg/kg/día de HT disuelto en 10 mL de agua /kg peso corporal, a distintos grupos. No se registró ninguna muerte, ni alteraciones apreciables que pudieran considerarse tóxicas. De esta forma, los investigadores propusieron una dosis de 500 mg/kg/día como NOAEL (nivel sin efecto adverso observable). Además, a nivel celular, diversos ensayos *in vitro* han mostrado que el HT no induce citotoxicidad sobre las células neuronales (Micheli et al., 2023).

Respecto a su metabolismo, anteriormente se afirmó una rápida transformación en conjugados, glucurónicos y sulfatos, que se eliminan principalmente por vía renal, reduciendo así el riesgo de acumulación tisular y toxicidad a largo plazo (Caruso et al., 2001; Miró-Casas, et al., 2003; Sakavitsi et al., 2022; S. Silva et al., 2018).

Además, la calificación GRAS (“Generalmente Reconocido como Seguro”) otorgada por una entidad europea supone una garantía de seguridad, cumpliendo con los estándares de calidad, eficacia y ausencia de efectos adversos para el consumo humano (AESAN, 2021). Actualmente, la EFSA ha establecido una ingesta diaria máxima de 50 mg /kg peso corporal al día, basada en estudios de toxicidad oral subcrónica en roedores, ya que su perfil metabólico en humanos es comparable al observado en estudios *in vivo* en modelos murinos. Asimismo, la EFSA considera que el HT es seguro como nuevo alimento, ya que la ingesta estimada no supera la derivada del consumo habitual de aceite de oliva y aceitunas en la dieta mediterránea. Además, ha aprobado su incorporación en aceites de pescado y vegetales (hasta 215 mg/kg) y margarinas (175 mg/kg), dirigido a la población general (Turck et al., 2017).

7. CONCLUSIONES

Los resultados recogidos en esta revisión bibliográfica evidencian que el HT representa una oportunidad prometedora en la búsqueda de estrategias preventivas frente al deterioro cognitivo asociado a la edad. Aunque los estudios preclínicos obtienen resultados prometedores, se requiere una mayor investigación en humanos.

Actualmente, podemos concluir que:

- I. El hidroxitirosol presente en el aceite de oliva virgen extra ha demostrado un potente efecto neuroprotector mediante cuatro mecanismos clave: la neutralización de especies reactivas de oxígeno (ROS), la inhibición de vías inflamatorias mediadas por NF- κ B, la activación del factor de transcripción Nrf2/HO-1 y la modulación de la agregación de proteínas tóxicas como la α -sinucleína, implicada en la patogénesis del Parkinson. Estos mecanismos contribuyen a mitigar el estrés oxidativo y la inflamación, protegiendo frente al deterioro neuronal asociado al envejecimiento y a las principales enfermedades neurodegenerativas.

- II. Atendiendo a la evidencia científica actual, la EFSA ha reconocido el efecto protector del HT frente al estrés oxidativo, recomendando un consumo mínimo de 5 mg diarios de hidroxitirosol, cantidad fácilmente alcanzable mediante una adherencia adecuada a la Dieta Mediterránea.

- III. Por su perfil de seguridad, biodisponibilidad y efectos preventivos, el hidroxitirosol es un candidato prometedor tanto para su uso como nutracéutico como alimento funcional dentro de la dieta mediterránea, contribuyendo al mantenimiento de un envejecimiento saludable y a la prevención de las principales enfermedades neurodegenerativas.

7. CONCLUSIONS

The results of this literature review show that HT represents a promising opportunity in the search for preventive strategies against age-related cognitive decline. Although preclinical studies have yielded promising results, further human research is required.

Currently, we can conclude that:

- I. Hydroxytyrosol, present in extra virgin olive oil, has demonstrated a potent neuroprotective effect through four key mechanisms: neutralization of reactive oxygen species (ROS), inhibition of NF- κ B-mediated inflammatory pathways, activation of the Nrf2/HO-1 transcription factor, and modulation of the aggregation of toxic proteins such as α -synuclein, implicated in the pathogenesis of Parkinson's. These mechanisms contribute to mitigating oxidative stress and inflammation, protecting against neuronal decline associated with aging and major neurodegenerative diseases.

- II. Based on current scientific evidence, the EFSA has recognized the protective effect of HT against oxidative stress, recommending a minimum daily intake of 5 mg of hydroxytyrosol, an amount easily achievable through proper adherence to the Mediterranean Diet.

- III. Due to its safety profile, bioavailability, and preventive effects, hydroxytyrosol is a promising candidate for use both as a nutraceutical and as a functional food within the Mediterranean diet, contributing to the maintenance of healthy aging and the prevention of major neurodegenerative diseases.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AESAN. (2021). *Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre la valoración del aceite de oliva por sus características nutricionales en el sistema de etiquetado Nutri-Score (Informe número AESAN-2021-007)*. https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad_alimentaria/evaluacion_riegos/informes_comite/NUTRI-SCORE_ACEITE_OLIVA.pdf
- Ahmed, T., Zulfiqar, A., Arguelles, S., Rasekhian, M., Nabavi, S. F., Silva, A. S., & Nabavi, S. M. (2020). Map kinase signaling as therapeutic target for neurodegeneration. *Pharmacological Research, 160*, 105090. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2020.105090>
- Alemán Jiménez, C. (2022). *Influencia de la matriz alimentaria en la biodisponibilidad de metabolitos de hidroxitirosol y su capacidad moduladora de biomarcadores de estrés oxidativo e inflamación*. [doctoralThesis]. <https://repositorio.ucam.edu/handle/10952/5254>
- Alemán-Jiménez, C., Domínguez-Perles, R., Medina, S., Prgomet, I., López-González, I., Simonelli-Muñoz, A., Campillo-Cano, M., Auñón, D., Ferreres, F., & Gil-Izquierdo, Á. (2021). Pharmacokinetics and bioavailability of hydroxytyrosol are dependent on the food matrix in humans. *European Journal of Nutrition, 60*(2), 905-915. <https://doi.org/10.1007/s00394-020-02295-0>
- Andreo-Lopez, J., Bettinetti-Luque, M., Campos-Moreno, C., Gutierrez, A., & Baglietto-Vargas, D. (2023). Aβ aggregation and propagation in transgenic models of Alzheimer's disease. *ANALES RANM, 140*(140(01)), 49-58. <https://doi.org/10.32440/ar.2023.140.01.rev05>
- Andreo-López, M. C., Contreras-Bolívar, V., Muñoz-Torres, M., García-Fontana, B., & García-Fontana, C. (2023). Influence of the Mediterranean Diet on Healthy Aging. *International Journal of Molecular Sciences, 24*(5), 4491. <https://doi.org/10.3390/ijms24054491>
- Auñón-Calles, David, Lourdes Canut, y Francesco Visioli. «Toxicological evaluation of pure hydroxytyrosol». *Food and Chemical Toxicology 55* (1 de mayo de 2013): 498-504. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.01.030>.
- Batarfi, W. A., Yunus, M. H. M., Hamid, A. A., Lee, Y. T., & Maarof, M. (2024). Hydroxytyrosol: A Promising Therapeutic Agent for Mitigating Inflammation and Apoptosis. *Pharmaceutics, 16*(12), Article 12. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16121504>
- Beitz, J. M. (2014). Parkinson's disease: A review. *Frontiers in Bioscience-Scholar, 6*(1), Article 1. <https://doi.org/10.2741/S415>
- Bender, C., Candi, I., & Rogel, E. (2023). Efficacy of Hydroxytyrosol-Rich Food Supplements on

- Reducing Lipid Oxidation in Humans. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(6), Article 6. <https://doi.org/10.3390/ijms24065521>
- Berr, C., Portet, F., Carriere, I., Akbaraly, T. N., Feart, C., Gourlet, V., Combe, N., Barberger-gateau, P., & Ritchie, K. (2009). Olive Oil and Cognition: Results from the Three-City Study. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, 28(4), 357-364. <https://doi.org/10.1159/000253483>
- Bigagli, E., Cinci, L., Paccosi, S., Parenti, A., D'Ambrosio, M., & Luceri, C. (2017). Nutritionally relevant concentrations of resveratrol and hydroxytyrosol mitigate oxidative burst of human granulocytes and monocytes and the production of pro-inflammatory mediators in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages. *International Immunopharmacology*, 43, 147-155. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2016.12.012>
- Britton, J., Davis, R., & O'Connor, K. E. (2019). Chemical, physical and biotechnological approaches to the production of the potent antioxidant hydroxytyrosol. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(15), 5957-5974. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-09914-9>
- Burke, W. J., Li, S. W., Williams, E. A., Nonneman, R., & Zahm, D. S. (2003). 3,4-Dihydroxyphenylacetaldehyde is the toxic dopamine metabolite in vivo: implications for Parkinson's disease pathogenesis. *Brain Research*, 989(2), 205-213. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(03\)03354-7](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(03)03354-7)
- Calabrese, V., Santoro, A., Monti, D., Crupi, R., Di Paola, R., Latteri, S., Cuzzocrea, S., Zappia, M., Giordano, J., Calabrese, E. J., & Franceschi, C. (2018). Aging and Parkinson's Disease: Inflammaging, neuroinflammation and biological remodeling as key factors in pathogenesis. *Free Radical Biology and Medicine*, 115, 80-91. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.10.379>
- Caruso, D., Visioli, F., Patelli, R., Galli, C., & Galli, G. (2001). Urinary excretion of olive oil phenols and their metabolites in humans. *Metabolism*, 50(12), 1426-1428. <https://doi.org/10.1053/meta.2001.28073>
- Carvajal Carvajal, C. (2019). Especies reactivas del oxígeno: Formación, función y estrés oxidativo. *Medicina Legal de Costa Rica*, 36(1), 91-100. http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1409-00152019000100091&lng=en&nrm=iso&tlng=es
- Cicerale, S., Lucas, L., & Keast, R. (2012a). Antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory phenolic activities in extra virgin olive oil. *Current Opinion in Biotechnology*, 23(2), 129-135. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2011.09.006>

- Colica, C., Di Renzo, L., Trombetta, D., Smeriglio, A., Bernardini, S., Cioccoloni, G., Costa de Miranda, R., Gualtieri, P., Sinibaldi Salimei, P., & De Lorenzo, A. (2017). Antioxidant Effects of a Hydroxytyrosol-Based Pharmaceutical Formulation on Body Composition, Metabolic State, and Gene Expression: A Randomized Double-Blinded, Placebo-Controlled Crossover Trial. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, 2473495. <https://doi.org/10.1155/2017/2473495>
- Colomer, M. F. (2008). *Efecto del aceite de oliva y sus compuestos fenólicos en la reducción del estrés oxidativo y los factores de riesgo cardiovascular*. <https://www.elsevier.es/es-revista-endocrinologia-nutricion-12-pdf-S1575092208706764>
- Cortés Castell, E. (2014). EVALUACIÓN DE LA CITOTOXICIDAD Y BIOSEGURIDAD DE UN EXTRACTO DE. *NUTRICIÓN HOSPITALARIA*, 6, 1388-1393. <https://doi.org/10.3305/nh.2014.29.6.7141>
- Espada Serrano, S. (2010). *Regulación de la vía NRF2/HO-1 por receptores acoplados a proteínas G heterotrimericas y efecto farmacológico del ácido nordihidroguayarático relevancia en neuroprotección frente a estrés oxidativo* [Http://purl.org/dc/dcmitype/Text, Universidad Autónoma de Madrid]. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=27942>
- Gallardo-Fernández, M., Hornedo-Ortega, R., Cerezo, A. B., Troncoso, A. M., & García-Parrilla, M. C. (2019). Melatonin, protocatechuic acid and hydroxytyrosol effects on vitagenes system against alpha-synuclein toxicity. *Food and Chemical Toxicology*, 134, 110817. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.110817>
- Gallardo-Fernández, M., Hornedo-Ortega, R., Cerezo, A. B., Troncoso, A. M., & Garcia-Parrilla, M. C. (2023). Hydroxytyrosol and dopamine metabolites: Anti-aggregative effect and neuroprotective activity against α -synuclein-induced toxicity. *Food and Chemical Toxicology*, 171, 113542.
- Gao, C., Jiang, J., Tan, Y., & Chen, S. (2023). Microglia in neurodegenerative diseases: Mechanism and potential therapeutic targets. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 8(1), 359. <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01588-0>
- García-Morales, V., González-Acedo, A., Melguizo-Rodríguez, L., Pardo-Moreno, T., Costela-Ruiz, V. J., Montiel-Troya, M., & Ramos-Rodríguez, J. J. (2021). Current Understanding of the Physiopathology, Diagnosis and Therapeutic Approach to Alzheimer's Disease. *Biomedicines*, 9(12), Article 12. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9121910>
- Giovanni Brunetti, Gabriele Di Rosa, Mario Scuto, Manuela Leri, & Giovanni Brunetti. (2020). *Healthspan Maintenance and Prevention of Parkinson's-like Phenotypes with Hydroxytyrosol*

and Oleuropein Aglycone in *C. elegans*. <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/7/2588>

Goldstein, D. S., Jinsmaa, Y., Sullivan, P., Holmes, C., Kopin, I. J., & Sharabi, Y. (2016). 3,4-Dihydroxyphenylethanol (Hydroxytyrosol) Mitigates the Increase in Spontaneous Oxidation of Dopamine During Monoamine Oxidase Inhibition in PC12 Cells. *Neurochemical Research*, 41(9), 2173-2178. <https://doi.org/10.1007/s11064-016-1959-0>

González Santiago, M. P. (2005). *Estudio de los efectos cardiovasculares y la absorción oral del hidroxitirosol en modelos animales y humano* [Doctoral thesis, Granada: Universidad de Granada]. <https://digibug.ugr.es/handle/10481/610>

González-Santiago, M., Fonollá, J., & Lopez-Huertas, E. (2010). Human absorption of a supplement containing purified hydroxytyrosol, a natural antioxidant from olive oil, and evidence for its transient association with low-density lipoproteins. *Pharmacological Research*, 61(4), 364-370. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2009.12.016>

Guadalquivir, B. del. (2024, mayo 10). ¿Qué supone la denominación ‘virgen extra’ al aceite de oliva? BALCÓN DEL GUADALQUIVIR. <https://www.balcondelguadalquivir.com/que-supone-la-denominacion-virgen-extra-al-aceite-de-oliva/>

Hajam, Y. A., Rani, R., Ganie, S. Y., Sheikh, T. A., Javaid, D., Qadri, S. S., Pramodh, S., Alsulimani, A., Alkhanani, M. F., Harakeh, S., Hussain, A., Haque, S., & Reshi, M. S. (2022). Oxidative Stress in Human Pathology and Aging: Molecular Mechanisms and Perspectives. *Cells*, 11(3), 552. <https://doi.org/10.3390/cells11030552>

Hornedo Ortega, R., & Espinosa Oliva, A. M. (2024). Hydroxytyrosol and Parkinson’s disease: Protective actions against alpha-synuclein toxicity. *Neural Regeneration Research*, 19(7), 1427. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.387987>

Hornedo-Ortega, R., Cerezo, A. B., Troncoso, A. M., & Garcia-Parrilla, M. C. (2018). Protective effects of hydroxytyrosol against α -synuclein toxicity on PC12 cells and fibril formation. *Food and Chemical Toxicology*, 120, 41-49. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.06.059>

Hussain, T., Tan, B., Yin, Y., Blachier, F., Tossou, M. C. B., & Rahu, N. (2016). Oxidative Stress and Inflammation: What Polyphenols Can Do for Us? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 7432797. <https://doi.org/10.1155/2016/7432797>

Karković Marković, A., Torić, J., Barbarić, M., & Jakobušić Brala, C. (2019). Hydroxytyrosol, Tyrosol and Derivatives and Their Potential Effects on Human Health. *Molecules*, 24(10), Article 10. <https://doi.org/10.3390/molecules24102001>

Kwon, H. S., & Koh, S.-H. (2020). Neuroinflammation in neurodegenerative disorders: The roles of microglia and astrocytes. *Translational Neurodegeneration*, 9(1), 42.

<https://doi.org/10.1186/s40035-020-00221-2>

- Leri, M., Scuto, M., Ontario, M. L., Calabrese, V., Calabrese, E. J., Bucciantini, M., & Stefani, M. (2020). Healthy Effects of Plant Polyphenols: Molecular Mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(4), Article 4. <https://doi.org/10.3390/ijms21041250>
- López-Otín, C., Blasco, M. A., Partridge, L., Serrano, M., & Kroemer, G. (2013). The Hallmarks of Aging. *Cell*, 153(6), 1194-1217. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.05.039>
- López-Otín, C., Blasco, M. A., Partridge, L., Serrano, M., & Kroemer, G. (2023). Hallmarks of aging: An expanding universe. *Cell*, 186(2), 243-278. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.11.001>
- Loukou, S., Papantoniou, G., Pantazaki, A., & Tsolaki, M. (2024). The Role of Greek Olive Leaf Extract in Patients with Mild Alzheimer’s Disease (the GOLDEN Study): A Randomized Controlled Clinical Trial. *Neurology International*, 16(6), Article 6. <https://doi.org/10.3390/neurolint16060095>
- Lozano Sánchez, J. (2013). *Aceite de oliva como alimento funcional: Nuevas perspectivas analíticas y tecnológicas* [Doctoral thesis, Universidad de Granada]. <https://digibug.ugr.es/handle/10481/23490>
- Lucci, P., Bertoz, V., Pacetti, D., Moret, S., & Conte, L. (2020). Effect of the Refining Process on Total Hydroxytyrosol, Tyrosol, and Tocopherol Contents of Olive Oil. *Foods*, 9(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/foods9030292>
- Maria Dolores, F. F. (2015). Hidroxitirosol, el mejor antioxidante natural y el más desconocido: Estudio comparativo con otros antioxidantes. *11 Julio 2015*.
- Marogianni, C., Sokratous, M., Dardiotis, E., Hadjigeorgiou, G. M., Bogdanos, D., & Xiromerisiou, G. (2020). Neurodegeneration and Inflammation—An Interesting Interplay in Parkinson’s Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(22), Article 22. <https://doi.org/10.3390/ijms21228421>
- Martínez-González, M. A., Salas-Salvadó, J., Estruch, R., Corella, D., Fitó, M., & Ros, E. (2015). Benefits of the Mediterranean Diet: Insights From the PREDIMED Study. *Progress in Cardiovascular Diseases*, 58(1), 50-60. <https://doi.org/10.1016/j.pcad.2015.04.003>
- Masato, A., Plotegher, N., Boassa, D., & Bubacco, L. (2019). Impaired dopamine metabolism in Parkinson’s disease pathogenesis. *Molecular Neurodegeneration*, 14(1). <https://doi.org/10.1186/s13024-019-0332-6>
- Micheli, L., Bertini, L., Bonato, A., Villanova, N., Caruso, C., Caruso, M., Bernini, R., & Tirone, F.

- (2023). Role of Hydroxytyrosol and Oleuropein in the Prevention of Aging and Related Disorders: Focus on Neurodegeneration, Skeletal Muscle Dysfunction and Gut Microbiota. *Nutrients*, 15(7), 1767. <https://doi.org/10.3390/nu15071767>
- Miró-Casas, E., Maria-Isabel, C., Farre, M., Fito, M., Ortuño, J., Tanja, W., & Peret, R. (2003). Hydroxytyrosol disposition in humans. *Clinical Chemistry*, 49(6), 945-952. <https://www.proquest.com/docview/214004865/abstract/F62A122F712F47BCPQ/1>
- Neveu, V., Perez-Jiménez, J., Vos, F., Crespy, V., du Chaffaut, L., Mennen, L., Knox, C., Eisner, R., Cruz, J., Wishart, D., & Scalbert, A. (2010). Phenol-Explorer: An online comprehensive database on polyphenol contents in foods. *Database*, 2010, bap024. <https://doi.org/10.1093/database/bap024>
- OMS. (s. f.). *Década del Envejecimiento Saludable (2021-2030)*. Recuperado 14 de marzo de 2025, de <https://www.who.int/es/initiatives/decade-of-healthy-ageing>
- OMS. (2023, agosto 9). *Enfermedad de Parkinson*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/parkinson-disease>
- OMS. (2024). OMS. «Aging and Health» World Health Organization. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/ageing-and-health>
- Pathania, A., Kumar, R., & Sandhir, R. (2021). Hydroxytyrosol as anti-parkinsonian molecule: Assessment using in-silico and MPTP-induced Parkinson's disease model. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 139, 111525. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111525>
- Peng, Y., Hou, C., Yang, Z., Li, C., Jia, L., Liu, J., Tang, Y., Shi, L., Li, Y., Long, J., & Liu, J. (2016). Hydroxytyrosol mildly improve cognitive function independent of APP processing in APP/PS1 mice. *Molecular Nutrition & Food Research*, 60(11), 2331-2342. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201600332>
- Peñarrieta, J. M., Tejada, L., Mollinedo, P., Vila, J. L., & Bravo, J. A. (2014). PHENOLIC COMPOUNDS IN FOOD. 31/12/2024, 31(2), 66-68. https://www.researchgate.net/publication/282442904_PHENOLIC_COMPOUNDS_IN_FOOD
- Reglamento (UE) n ° 432/2012 de la Comisión, de 16 de mayo de 2012 , por el que se establece una lista de declaraciones autorizadas de propiedades saludables de los alimentos distintas de las relativas a la reducción del riesgo de enfermedad y al desarrollo y la salud de los niños Texto pertinente a efectos del EEE, 136 OJ L (2012). <http://data.europa.eu/eli/reg/2012/432/oj/spa>

- Rodríguez-Morató, J., Robledo, P., Tanner, J.-A., Boronat, A., Pérez-Mañá, C., Oliver Chen, C.-Y., Tyndale, R. F., & De La Torre, R. (2017). CYP2D6 and CYP2A6 biotransform dietary tyrosol into hydroxytyrosol. *Food Chemistry*, *217*, 716-725. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.026>
- Rubió, L., Valls, R.-M., Macià, A., Pedret, A., Giralt, M., Romero, M.-P., De La Torre, R., Covas, M.-I., Solà, R., & Motilva, M.-J. (2012). Impact of olive oil phenolic concentration on human plasmatic phenolic metabolites. *Food Chemistry*, *135*(4), 2922-2929. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.07.085>
- Sakavitsi, M. E., Breynaert, A., Nikou, T., Lauwers, S., Pieters, L., Hermans, N., & Halabalaki, M. (2022). Availability and Metabolic Fate of Olive Phenolic Alcohols Hydroxytyrosol and Tyrosol in the Human GI Tract Simulated by the In Vitro GIDM-Colon Model. *Metabolites*, *12*(5), 391. <https://doi.org/10.3390/metabo12050391>
- Salim, S. (2017). Oxidative Stress and the Central Nervous System. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *360*(1), 201-205. <https://doi.org/10.1124/jpet.116.237503>
- Schaffer, S., Müller, W. E., & Eckert, G. P. (2010). Cytoprotective effects of olive mill wastewater extract and its main constituent hydroxytyrosol in PC12 cells. *Pharmacological Research*, *62*(4), 322-327. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2010.06.004>
- Serreli, G., & Deiana, M. (2018). Biological Relevance of Extra Virgin Olive Oil Polyphenols Metabolites. *Antioxidants*, *7*(12), Article 12. <https://doi.org/10.3390/antiox7120170>
- Silva, L., Guedes, E., Fernandes, I., Leal, L., Pereira, G., & Gubert, P. (2024). Exploring *Caenorhabditis elegans* as Parkinson's Disease Model: Neurotoxins and Genetic Implications. *Neurotoxicity Research*, *42*. <https://doi.org/10.1007/s12640-024-00686-3>
- Silva, S., Garcia-Aloy, M., Figueira, M. E., Combet, E., Mullen, W., & Bronze, M. R. (2018). High Resolution Mass Spectrometric Analysis of Secoiridoids and Metabolites as Biomarkers of Acute Olive Oil Intake—An Approach to Study Interindividual Variability in Humans. *Molecular Nutrition & Food Research*, *62*(2), 1700065. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201700065>
- Tuck, K. L., & Hayball, P. J. (2002). Major phenolic compounds in olive oil: Metabolism and health effects. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, *13*(11), 636-644. [https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(02\)00229-2](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(02)00229-2)
- Turck, Dominique, Jean-Louis Bresson, Barbara Burlingame, Tara Dean, Susan Fairweather-Tait,

Marina Heinonen, Karen Ildico Hirsch-Ernst, et al. «Safety of Hydroxytyrosol as a Novel Food Pursuant to Regulation (EC) No 258/97». *EFSA Journal* 15, n.º 3 (2017): e04728. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4728>.

United Nations. (2024, julio). *World Population Prospect 2024*. <https://www.un.org/development/desa/pd/content/world-population-prospects-2024-summary-results-0>

Velotti, F., & Bernini, R. (2023). Hydroxytyrosol Interference with Inflammaging via Modulation of Inflammation and Autophagy. *Nutrients*, 15(7), 1774. <https://doi.org/10.3390/nu15071774>

Von Bernhardt M., R. (2005). Mecanismos neurobiológicos de la enfermedad de Alzheimer. *Revista chilena de neuro-psiquiatría*, 43(2), 123-132. <https://doi.org/10.4067/S0717-92272005000200005>

Youdim, M. B. H., & Bakhle, Y. S. (2006). Monoamine oxidase: isoforms and inhibitors in Parkinson's disease and depressive illness. *British Journal Of Pharmacology*, 147(S1). <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706464>