

USO DEL ÁCIDO TARTÁRICO EN ORINA COMO BIOMARCADOR DEL CONSUMO DE VINO

TRABAJO DE FIN DE MÁSTER

María Alejandra Viveros Palomares

Tutora:

PhD student. Inés Domínguez López

Dirigido por:

Dra. Rosa M Lamuela Raventos

Facultad de Farmacia y Ciencias de la Alimentación
Universidad de Barcelona

MÁSTER EN NUTRICIÓN Y METABOLISMO



TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
1. Introducción.....	1
2. Metodología.....	2
2.1. Diseño del estudio	2
2.2. Determinación de ácido tartárico.....	3
2.2.1. Preparación de la muestra	3
2.2.2. Análisis LC–ESI-MS/MS.....	3
2.2.3. Análisis estadístico.....	4
3. Resultados.....	5
3.1. Características generales.....	5
3.2. Relación entre los niveles de ácido tartárico en orina y el consumo de vino basal.....	7
3.3. El uso de ácido tartárico como biomarcador del consumo de vino.....	7
3.4. Niveles de ácido tartárico en orina y el consumo de vino después de un año.....	8
4. Discusión	9
5. Conclusiones.....	12
6. Referencias	12
Lista de abreviaciones	15

1. Introducción

Los polifenoles son un grupo de sustancias presentes en la naturaleza, sintetizados como metabolitos secundarios por las plantas en situaciones de estrés o adversas como presencia de patógenos, o bajo condiciones climáticas cambiantes. Su consumo se ha correlacionado con una disminución de factores de riesgo de enfermedades crónicas como la enfermedad cardiovascular, diabetes, cáncer, aterosclerosis, entre otras(1). Entre los alimentos, fuente de polifenoles, se encuentran alimentos de origen vegetal, como hortalizas, frutas, frutos secos, aceite de oliva y el vino tinto, los polifenoles más importantes por su posible efecto de este último son el resveratrol, las antocianinas, catequinas y los taninos, el resveratrol es un compuesto al que se le ha descrito una actividad biológica relacionada con las enfermedades cardiovasculares como la mejoría de la función endotelial y el metabolismo de la glucosa; la reducción de la inflamación y regulación de los niveles de lípidos en sangre (2).

El consumo de vino durante las comidas es una característica común cuando se sigue un patrón de dieta mediterránea, en mayor cantidad en países que por sus características climáticas y tradición son productores de este producto como es el caso de Italia, Francia y España (3). Esta dieta mediterránea es una de las dietas más recomendadas y mejor estudiadas para la salud cardiovascular. Se caracteriza por un consumo de grasas monoinsaturadas provenientes de aceite de oliva, frutas, hortalizas, cereales integrales, legumbres/frutos secos y un consumo moderado de vino como se menciona anteriormente.

En estudios epidemiológicos, se ha evidenciado como el consumo de vino tinto entre 1 ó 2 copas al día durante las comidas, se asocia a un menor riesgo de enfermedades cardiovasculares, menor mortalidad total en pacientes con infarto

agudo de miocardio, todo esto acompañado además de hábitos de vida saludable. Entre estas investigaciones, en España, se realizó el estudio PREDIMED (PREvención con Dieta MEDiterránea) donde se buscaba identificar las asociaciones entre el consumo de la dieta mediterránea con prevención eventos cardiovasculares y como a partir de esto se puede realizar prevención primaria (4). Sin embargo, la utilización de biomarcadores que estimen la ingesta de alimentos y algunos componentes específicos como en este caso, son algo limitados (5). Por esta razón, en el presente subestudio, se tomó una muestra del estudio PREDIMED, para llevar a cabo la evaluación del consumo de vino utilizando como biomarcador los niveles de ácido tartárico, en orina y como este puede ser el método más fiable, sensible y robusto para determinar su consumo ya que es el principal ácido orgánico del vino, está presente a nivel de gramos en una unidad/copa de vino, y en cambio no es un compuesto común en otros alimentos (6).

2. Metodología

2.1. Diseño del estudio

El estudio PREDIMED es un ensayo clínico, de grupos paralelos, multicéntrico, aleatorizado, controlado, que tuvo como objetivo evaluar el efecto de la dieta mediterránea sobre la prevención primaria de la enfermedad cardiovascular, se realizó entre 2003 y 2009. Los participantes eran hombres (de 55 a 80 años) y mujeres (de 60 a 80 años) que tenían diabetes mellitus tipo 2 o al menos 3 de los factores de riesgo cardiovasculares principales: tabaquismo, hipertensión, lipoproteínas de baja densidad (LDL) elevadas, lipoproteínas de alta densidad (HDL) bajas, sobrepeso u obesidad y/o antecedentes familiares de cardiopatía coronaria prematura (4).

El presente subestudio del ensayo PREDIMED, forma parte de un diseño de casos-cohortes donde se analizó el ácido tartárico urinario de muestras basales y anuales de 1197 participantes. Los participantes fueron seleccionados al azar y se analizaron muestras de orina al inicio del estudio y al año de intervención.

2.2. Determinación de ácido tartárico.

2.2.1. Preparación de la muestra

Las muestras de orina (20µL) se diluyeron 1:50 con ácido fórmico al 0,5% en agua, y 10µL de una solución con estándar interno, DL-(±)-ácido tartárico-2,3-d₂. La dilución de la muestra se pasó a través de un filtrado y posteriormente analizado por cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem de ionización por electrospray LC-ESI-MS/MS. Se realizó la corrección de los datos de ácido tartárico en orina mediante la medición de creatinina en orina, medida según el método de Jaffé adaptado por Medina-Remon et al. (6).

2.2.2. Análisis LC-ESI-MS/MS

Las muestras diluidas y filtradas se analizaron mediante un método rápido basado LC-ESI-MS/MS. Este método fue desarrollado y evaluado previamente en nuestro grupo de investigación (7).

Se utilizó la columna de fase reversa Atlantis TE C18, 100 mm× 2,1 mm, 3µm (Waters, Milford, MA, EE. UU.) acoplada para detección al espectrómetro de masas triple cuadrupolo API 3000 (Applied Biosystems, Foster City, CA, EE.UU.). El espectrómetro de masas se usó en modo de ionización por electropulverización negativa. La columna se mantuvo con una temperatura de 25 °C a lo largo del análisis. Las fases móviles A y B fueron ácido fórmico al 0,5 % en agua y ácido fórmico al 0,5 % en acetonitrilo, respectivamente. Se utilizó el siguiente gradiente lineal: mantenimiento al 100 % de A durante 3,7 min, disminución al 10 % de A

durante 1.5 min, retorno a las condiciones iniciales durante 1,8 min. El flujo se fijó en 350 $\mu\text{L}/\text{min}$ y el volumen de inyección fue de 2 μL (6).

Adición post-columna de acetonitrilo (250 $\mu\text{L}/\text{min}$) se llevó a cabo para mejorar la eficiencia de ionización del analito. Se usaron las siguientes transiciones MS/MS para la cuantificación y confirmación, respectivamente: m/z 149/87 y m/z 149/73 para el ácido tartárico, y m/z 151/88 y m/z 151/74 para el isótopo deuterado (6).

2.2.3. Análisis estadístico

Los análisis estadísticos se realizaron con Stata 16.0 (Stata-Corp LP, Tx. EE.UU.). Las características basales de los participantes se presentan como medias y desviaciones estándar (DE) para variables continuas; y porcentajes para variables categóricas.

Los valores individuales iniciales y finales del consumo de vino se ajustaron en función de la energía basal (8). Se calcularon los cambios en el consumo de vino y los intervalos de los niveles ácido tartárico en orina (valor de un año menos el valor inicial). Los valores basales y los cambios se normalizaron y escalaron en múltiplos de 1-DE con transformación normal inversa de Blom (9).

Se utilizaron modelos de regresión lineal ajustados multivariantes para evaluar las asociaciones entre el consumo de vino ajustado y el ácido tartárico en orina y sus cambios después de 1 año.

El modelo 1 se ajustó por edad y sexo. En el modelo 2 se añadieron el nivel educativo, hábito tabáquico, índice de masa corporal (IMC) y actividad física. Por último, en el modelo 3 se añadieron la ingesta total de energía, el consumo de uvas y pasas. El análisis de las diferencias después de 1 año también se ajustó por grupo de intervención en todos los modelos. Se utilizaron estimadores de varianza robustos para tener en cuenta el centro de reclutamiento. Para mostrar la

relación entre el consumo de vino y el ácido tartárico urinario, se tuvo en cuenta los mL de vino al día (1 unidad equivalente a 100 mL).

Los valores se muestran como intervalos de confianza (IC) del 95 % y la significación para todas las pruebas estadísticas se basó en el conjunto de contraste bilateral en $p < 0,05$ (6).

3. Resultados

3.1. Características generales.

La población estudio presenta las características generales resumidas en la Tabla 1. Se puede observar que la población femenina fue mayor con un 53,6%, los participantes tenían una edad media de $68,3 \pm 6,1$ años, y un consumo de energía de 2298 Kcal/día, un consumo promedio para adultos entre esta edad (10); el IMC indica un sobrepeso en la población según los criterios establecidos por la Organización Mundial de la Salud (11). Sin embargo, se encuentra en el límite superior entre el sobrepeso y la obesidad.

Los niveles de ácido tartárico en orina fueron de 13,0 $\mu\text{g}/\text{mg}$ creatinina, el consumo de vino fue de 61,5 mL/día, teniendo en cuenta que se estimó que una copa contiene 100 mL, el consumo de este fue de más de media copa al día.

Respecto a los estilos de vida de la población, se identificó un bajo consumo de tabaco con un 14,4% de fumadores habituales; la mayoría de la población presentaba diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) (53,8%), hipertensión arterial (HTA) (83,4%) e hipercolesterolemia (67,8%), entendible al ser estos, parte de los criterios de inclusión.

Tabla 1. Características basales de la población estudio (n= 1197)

Edad (años)	68,3 ± 6,1
Actividad Física (MET·min/semana)	245,6 ± 243,2
Energía total (Kcal/día)	2298,0 ± 620,0
IMC (kg/m ²)	29,9 ± 3,7
Ácido tartárico (µg/mg creatinina)	13,0 ± 23,8
Consumo de vino (mL/día)	61,5 ± 105,6

Sexo, femenino (%)	53,6
Hábito tabáquico (%)	14,4
Escolaridad media - alta (%)	21,5
DMT2 (%)	53,8
HTA (%)	83,4
Hipercolesterolemia (%)	67,8

IMC: índice de masa corporal; DMT2: diabetes mellitus tipo 2; HTA: hipertensión arterial. Los datos se expresan como la media ± DE para variables continuas y porcentaje (%) para variables categóricas.

3.2. Relación entre los niveles de ácido tartárico en orina y el consumo de vino basal

En la Tabla 2 se muestra la asociación entre el consumo de vino basal ajustado y los niveles de ácido tartárico en orina. En todos los modelos se identificó que hay una relación significativa entre los niveles de ácido tartárico en orina y la ingesta de vino ajustado ($\beta = 0,004$ (IC 95%: 0,004; 0,005) por 1-DE, p -valor = 0,001).

Tabla 2. Regresión lineal multivariable ajustada entre el consumo de vino ajustado en función de la energía inicial consumida y las concentraciones urinarias de ácido tartárico a nivel basal.

	β (IC 95%) por incremento 1-DE	p - valor	β (IC 95%) para terciles de consumo de vino			p -trend
			1	2	3	
Ácido Tartárico						
<i>Modelo 1</i>	0,004 (0,004; 0,005)	<0,001	Ref.	0,007 (-0,109; 0,124)	0,805 (0,619; 0,991)	<0,001
<i>Modelo 2</i>	0,004 (0,004; 0,005)	<0,001	Ref.	0,012 (-0,100; 0,125)	0,800 (0,611; 0,989)	<0,001
<i>Modelo 3</i>	0,004 (0,004; 0,005)	<0,001	Ref.	0,081 (-0,009; 0,171)	0,850 (0,679; 1,021)	<0,001

El modelo 1 se ajustó por edad y sexo, el modelo 2 se ajustó además por nivel de educación, hábito tabáquico, IMC y actividad física, el modelo 3 se ajustó además por ingesta total de energía, uvas y pasas. Se utilizaron estimadores de varianza robustos para tener en cuenta el centro de reclutamiento.

3.3. El uso de ácido tartárico como biomarcador del consumo de vino

En el modelo con el ajuste más complejo (sexo, edad, actividad física, consumo de energía, IMC, hábito tabáquico, escolaridad), se identificó que los participantes presentaron mayores concentraciones de ácido tartárico en orina al consumir mayor cantidad de vino, una vez se divide por terciles se puede identificar la

relación lineal. En la Figura 1 se muestra la sensibilidad y especificidad de este biomarcador, con un área bajo la curva (AUC por sus siglas en inglés) de 0,867 lo que indica que es un buen biomarcador de consumo de vino

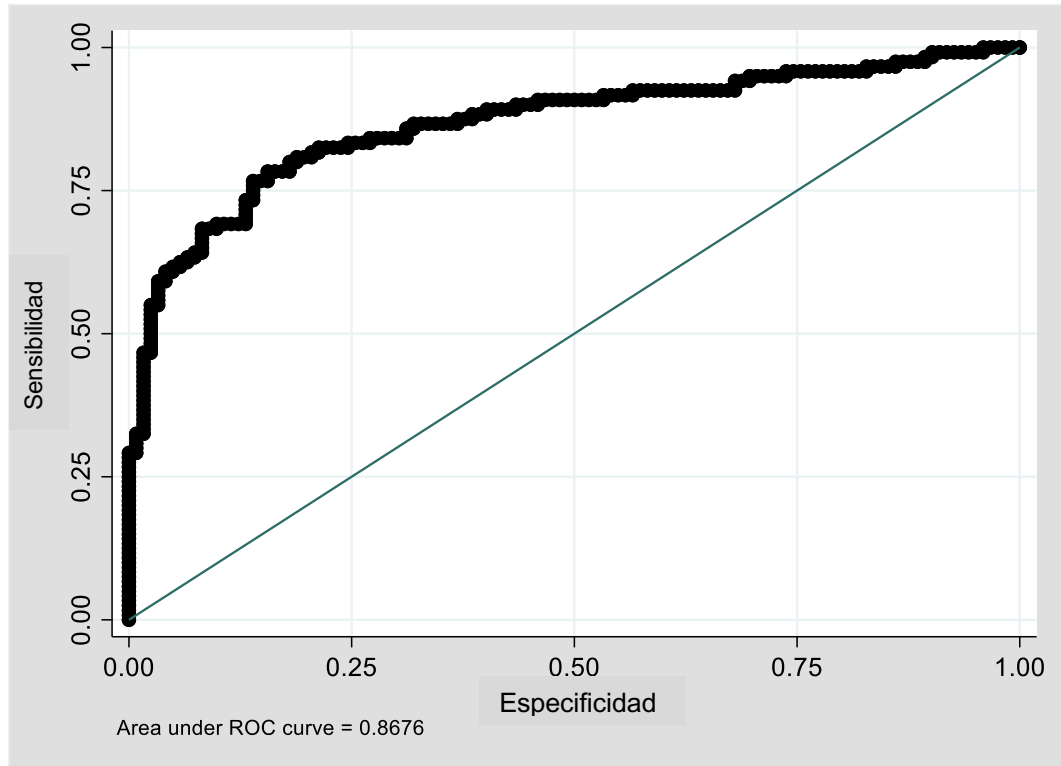


Figura 1. Curva ROC, comparación entre ácido tartárico y consumo de vino

3.4. Niveles de ácido tartárico en orina y el consumo de vino después de un año.

La Tabla 3 describe la asociación entre las diferencias en un año de consumo de vino y niveles de ácido tartárico en orina. Las concentraciones urinarias de ácido tartárico evaluadas después de un año, al igual que a nivel basal, indican que existe una asociación positiva después de ajustar por todas las covariables ($\beta=0,002$ (IC 95%: 0,001; 0,003) por 1-DE, p -valor = 0,027). Al organizarlo por terciles se puede observar que el incremento del consumo de vino y de ácido tartárico es lineal porque el valor de la *p de tendencia* es 0,017

Tabla 3. Regresión lineal multivariable ajustada entre las diferencias de 1 año de consumo de vino ajustado en función de la energía y las concentraciones urinarias de ácido tartárico

	β (IC 95%) por incremento 1-DE	p -valor	β (IC 95%) para terciles de consumo de vino			p -trend
			1	2	3	
Ácido tartárico						
<i>Modelo 1</i>	0,002 (<0,001; 0,003)	0,024	Ref,	0,257 (0,094; 0,420)	0,233 (0,059; 0,408)	0,016
<i>Modelo 2</i>	0,002 (<0,001; 0,003)	0,022	Ref,	0,254 (0,087; 0,422)	0,239 (0,063; 0,416)	0,015
<i>Modelo 3</i>	0,002 (<0,001; 0,003)	0,027	Ref,	0,254 (0,090; 0,418)	0,231 (0,035; 0,427)	0,017

El modelo 1 se ajustó por edad, sexo y grupo de intervención; el modelo 2 se ajustó además por nivel de educación, hábito tabáquico, IMC y actividad física, el modelo 3 se ajustó además por ingesta total de energía, uvas y pasas. Se utilizaron estimadores de varianza robustos para tener en cuenta el centro de reclutamiento.

4. Discusión

La recolección de información y datos de ingesta dietética presenta varios desafíos debido a que las herramientas para llevarlas a cabo son subjetivas como los cuestionarios de frecuencia de consumo de alimentos, los recordatorios de consumo de alimentos por 24 horas y los registros de consumo de alimentos por varios días. Todo esto está influenciado por la capacidad que tienen los participantes de recordar la cantidad de alimentos consumida, el tipo de alimento, sus características y el tamaño exacto de las porciones (5). La frecuencia de

consumo de alimentos puede mostrar la ingesta dietética habitual, mientras que los registros de alimentos y recordatorios de 24 horas pueden ser más precisos, pero no representativos de la ingesta habitual a lo largo del tiempo (8). Contrario a esto, los biomarcadores de ingesta de nutrientes pueden hacerlo de forma objetiva evitando los sesgos de las entrevistas y de esta forma poder asociar con mayor precisión la ingesta dietética con la enfermedad o con factores protectores de la enfermedad (12). Un claro ejemplo es el consumo de alcohol en general, para su estimación se han utilizado métodos como la prueba de identificación de trastornos por uso de alcohol por sus siglas en inglés (AUDIT-C) que consta de tres preguntas para hacer una detección práctica y válida (13). Sin embargo, sigue siendo un método que depende de la información suministrada por el consumidor, donde se pueden dar sesgos en personas que abusan de su consumo. Por ende, el uso de biomarcadores directos del consumo de bebidas alcohólicas es de gran utilidad para corroborar el consumo autoinformado y brindaría uniformidad de la información dentro y entre los estudios, puesto que en estudios sobre el alcohol y el riesgo de la enfermedad cardiovascular hay tendencia a incluir una medida para el consumo excesivo de alcohol (14).

En esta submuestra de participantes del estudio PREDIMED se pudo observar como las concentraciones de ácido tartárico en orina tuvieron una asociación positiva con el consumo de vino desde el inicio del estudio con las muestras basales y la asociación con las diferencias después de un año de intervención, lo cual demuestra que hay causalidad. Adicionalmente, se obtiene una curva de ROC con un área bajo la curva que indica la viabilidad de usar este biomarcador para identificar y cuantificar el consumo de vino. Esto se ha visto en estudios anteriores, donde se ha demostrado que es un biomarcador sensible y específico del consumo de vino puesto que es el principal ácido orgánico de las uvas y vino (7). Como se pudo observar en el estudio de García Pérez et al. donde identifican el ácido tartárico como el metabolito más discriminante en la orina después de la ingesta de uva tinta ya que fue el único que aumentó proporcionalmente al

consumo de esta fruta en todos los participantes durante la duración del estudio (15).

Por otra parte, Vázquez Fresno et al. en su estudio sobre biomarcadores combinados con una submuestra aleatoria de participantes del estudio PREDIMED, y un grupo de intervención con vino. Evaluó un modelo que incluía tartrato y glucurónido de etilo donde obtiene un AUC de 0,924 para el estudio PREDIMED, lo que indica también su utilidad para evaluar la exposición al vino (16).

Sin embargo, sigue siendo una ventaja el uso del ácido tartárico en orina como un biomarcador individual frente a la utilización de cuestionarios para evaluar el consumo de vino en la población y evitar subestimación del mismo. (4)

El consumo moderado de vino se ha asociado con beneficios en la salud cardiovascular, mejoras en el perfil lipídico, arteriosclerosis, reducción del riesgo de hipertensión y DMT2 como fue descrito por Kim et al (17). Todo esto atribuido a los beneficios de los polifenoles que se encuentran en el vino (1,17). Sin embargo, se debe tener en cuenta la cantidad consumida de vino debido a la cantidad de alcohol que este contiene. Por lo tanto, debe ser de manera habitual pero responsable, evitando sobrepasar el límite de riesgo (18).

Este estudio tiene como fortalezas su naturaleza longitudinal, que permite establecer una relación causal entre el incremento en el consumo de vino y la excreción de ácido tartárico por orina, con un análisis de muestras biológicas, siendo el primer estudio usando el ácido tartárico en orina como biomarcador con un tamaño muestral grande. Sin embargo, dentro de las debilidades se encuentra la intervención en población adulta mayor, con enfermedades crónicas como DMT2, HTA, hipercolesterolemia siendo parte de criterios de inclusión del estudio PREDIMED, por lo que no se puede extrapolar a toda la población.

5. Conclusiones

Es el primer estudio longitudinal con un tamaño muestral grande donde se evidenció que el ácido tártrico en orina es un buen biomarcador del consumo de vino.

El consumo moderado de vino se ha visto asociado a factores protectores de diferentes enfermedades crónicas, el siguiente paso es investigar como la excreción del ácido tartárico se correlaciona con parámetros de salud y aumentar la investigación para establecer nuevos marcadores de ingesta de alimentos que puedan ser no invasivos, rápidos, precisos y además de eso económicamente viables.

6. Referencias

1. Snopek L, Mlcek J, Sochorova L, Baron M, Hlavacova I, Jurikova T, et al. Contribution of Red Wine Consumption to Human Health Protection. *Molecules : A Journal of Synthetic Chemistry and Natural Product Chemistry* [Internet]. 2018 [citado 2022 Aug 31];23(7):1–16. Disponible en: </pmc/articles/PMC6099584/>
2. Vilahur G, Badimon L. Antiplatelet properties of natural products. *Vascul Pharmacol* [Internet]. 2013 Sep [citado 2022 Aug 31];59(3–4):67–75. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23994642/>
3. Salcedo Delgado Directora J, Rubio Aranda E. EFECTOS BENEFICIOSOS DEL CONSUMO MODERADO DE VINO TINTO SOBRE LA SALUD CARDIOVASCULAR - HEALTH EFFECTS OF MODERATE RED WINE CONSUMPTION ON CARDIOVASCULAR HEART TRABAJO DE FIN DE GRADO (MEDICINA).

4. Estruch R, Ros E, Salas-Salvadó J, Covas MI, Corella D, Arós F, et al. Primary Prevention of Cardiovascular Disease with a Mediterranean Diet Supplemented with Extra-Virgin Olive Oil or Nuts. *N Engl J Med* [Internet]. 2018 Jun 21 [citado 2022 Jul 6];378(25):e34. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29897866/>
5. Hedrick VE, Dietrich AM, Estabrooks PA, Savla J, Serrano E, Davy BM. Dietary biomarkers: advances, limitations and future directions. *Nutr J* [Internet]. 2012 Dec 14 [citado 2022 Aug 12];11(1):1–14. Disponible en: <https://nutritionj.biomedcentral.com/articles/10.1186/1475-2891-11-109>
6. Domínguez-López I, Parilli-Moser I, Arancibia-Riveros C, Tresserra-Rimbau A, Martínez-González MA, Ortega-Azorín C, et al. Urinary Tartaric Acid, a Biomarker of Wine Intake, Correlates with Lower Total and LDL Cholesterol. *Nutrients* [Internet]. 2021 Aug 1 [citado 2022 Jul 6];13(8). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34445043/>
7. Regueiro J, Vallverdú-Queralt A, Simal-Gándara J, Estruch R, Lamuela-Raventós RM. Urinary tartaric acid as a potential biomarker for the dietary assessment of moderate wine consumption: a randomised controlled trial. *British Journal of Nutrition* [Internet]. 2014 May 14 [citado 2022 Aug 12];111(9):1680–5. Disponible en: <https://www.cambridge.org/core/journals/british-journal-of-nutrition/article/urinary-tartaric-acid-as-a-potential-biomarker-for-the-dietary-assessment-of-moderate-wine-consumption-a-randomised-controlled-trial/037DE7537F259389C14DEB74B905A7EB>
8. Willett W, Lenart E. Reproducibility and Validity of Food Frequency Questionnaires. *Nutritional Epidemiology* [Internet]. 2012 Nov 7 [citado 2022 Aug 21]; Disponible en: <https://academic.oup.com/book/27443/chapter/197315205>
9. Blom G. *Statistical Estimates and Transformed Beta-variables*. Almqvist and Wiksells; 1959. 175 p.
10. FAO. Consumo recomendado de nutrientes [Internet]. 1990 [citado 2022 Aug 21]. Disponible en: <https://www.fao.org/3/w0073s/w0073s1a.htm>

11. Obesidad y sobrepeso [Internet]. [citado 2022 Aug 12]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
12. McCabe-Sellers B. Advancing the art and science of dietary assessment through technology. *J Am Diet Assoc* [Internet]. 2010 Jan [citado 2022 Aug 21];110(1):52–4. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20102827/>
13. Bush K, Kivlahan DR, McDonnell MB, Fihn SD, Bradley KA. The AUDIT Alcohol Consumption Questions (AUDIT-C): An Effective Brief Screening Test for Problem Drinking. *Arch Intern Med* [Internet]. 1998 Sep 14 [citado 2022 Aug 26];158(16):1789–95. Disponible en: <https://jamanetwork.com/journals/jamainternalmedicine/fullarticle/208954>
14. Piano MR. Alcohol's Effects on the Cardiovascular System. *Alcohol Res* [Internet]. 2017 [citado 2022 Aug 26];38(2):219. Disponible en: </pmc/articles/PMC5513687/>
15. Garcia-Perez I, Posma JM, Chambers ES, Nicholson JK, C. Mathers J, Beckmann M, et al. An Analytical Pipeline for Quantitative Characterization of Dietary Intake: Application To Assess Grape Intake. *J Agric Food Chem* [Internet]. 2016 Mar 23 [citado 2022 Aug 24];64(11):2423–31. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26909845/>
16. Vázquez-Fresno R, Llorach R, Urpi-Sarda M, Khymenets O, Bulló M, Corella D, et al. An NMR metabolomics approach reveals a combined-biomarkers model in a wine interventional trial with validation in free-living individuals of the PREDIMED study. *Metabolomics* 2014 11:4 [Internet]. 2014 Oct 11 [citado 2022 Aug 24];11(4):797–806. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11306-014-0735-x>
17. Kim JH, Auger C, Kurita I, Anselm E, Rivoarilala LO, Lee HJ, et al. Aronia melanocarpa juice, a rich source of polyphenols, induces endothelium-dependent relaxations in porcine coronary arteries via the redox-sensitive activation of endothelial nitric oxide synthase. *Nitric Oxide* [Internet]. 2013 [citado 2022 Jul 24];35:54–64. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23973200/>

Lista de abreviaciones

AUC: Área bajo la curva

AUDIT-C: Prueba de identificación de trastornos por uso de alcohol

DE: Desviación estándar

DMT2: Diabetes Mellitus Tipo 2

HDL: Lipoproteínas de alta densidad

HTA: Hipertensión arterial

IC: Intervalos de confianza

IMC: Índice de masa corporal

LDL: Lipoproteínas de baja densidad

LC-ESI-MS/MS: Cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem de ionización por electrospray

PREDIMED: Prevención con dieta mediterránea