



FIGURA 1. Frutos de diferentes variedades de cacao. Foto: Phillstone (licencia CC).

Cacao, actualización de sus propiedades beneficiosas para la salud humana

Isabel Andújar
M^º Carmen Recio
José Luis Ríos

Departament de Farmacologia
Facultat de Farmàcia
Universitat de València
Burjassot (Valencia)

Dirección de contacto:

J.L. Ríos Cañavate
Departament de Farmacologia
Facultat de Farmàcia
Universitat de València
Av. Vicent Andrés Estellés s/n
45100 Burjassot (Valencia)

E-mail: riosjl@uv.es
Teléfono: +34 963544973

Resumen

Las semillas de cacao (*Theobroma cacao* L., Esterculiáceas) y sus derivados, además de su valor nutritivo, tienen un gran interés por sus propiedades farmacológicas. En su composición destacan tres grupos de principios: bases nitrogenadas, lípidos y compuestos fenólicos, principalmente catequinas y sus oligómeros, las proantocianidinas (de dímeros a decámeros). Los polifenoles del cacao poseen actividad antioxidante, reducen la oxidación del colesterol-LDL, incrementan los niveles de colesterol-HDL, reducen la glucemia basal y postprandial, incrementan la secreción de insulina y mejoran la sensibilidad a la misma. Todos estos efectos metabólicos, junto a la inhibición de la lipoxigenasa, incremento del óxido nítrico y la disminución de la agregación plaquetaria, le confieren propiedades protectoras cardíacas y vasculares. Además disminuye la síntesis de mediadores proinflamatorios e incrementa la de los antiinflamatorios e inhibe factores de transcripción implicados en la inflamación y carcinogénesis, lo que le confiere propiedades antiinflamatorias y quimiopreventivas del cáncer. También se han descrito un efecto neuroprotector.

Palabras clave

Cacao, *Theobroma cacao*, polifenoles, antioxidante, antiinflamatorio, prevención cardiovascular, prevención del cáncer.

Cacau, uma revisão das suas propriedades benéficas para a saúde humana

Resumo

As sementes do cacau (*Theobroma cacao* L., Sterculiaceae) e seus derivados, para além do seu valor nutritivo, apresentam um grande interesse devido às suas propriedades farmacológicas. Na sua composição destacam-se três grupos principais de constituintes: bases nitrogenadas, lípidos e e polifenóis, principalmente catequinas e respectivos oligômeros, as proantocianidinas (desde dímeros a polímeros). Os polifenóis do cacau possuem actividade antioxidante, reduzem a oxidação do colesterol LDL, aumentam os níveis de colesterol HDL, e diminuem os valores basais e pós-prandiais de glucose no sangue, aumentam a secreção de insulina e melhoraram a sensibilidade à mesma. Todos estes efeitos metabólicos, juntamente com a inibição da lipoxigenase, o incremento do óxido nítrico e a diminuição da agregação plaquetária, conferem ao cacau propriedades protectoras cardíacas e vasculares. Além disso, estes polifenóis diminuem a síntese de mediadores pró-inflamatórios e aumentam a de anti-inflamatórios, e inibem factores de transcrição envolvidos na inflamação e na carcinogénese, o que confere propriedades anti-inflamatórias e quimiopreventivas. Também foram descritas propriedades neuroprotectoras.

Palavras-chave

Cacau, *Theobroma cacao*, polifenóis, antioxidante, anti-inflamatória, prevenção cardiovascular, quimioprevenção.

Introducción

Tras el descubrimiento y colonización de América se introdujeron el cacao y el chocolate en los hábitos alimentarios de Europa y del resto del mundo. Ya en las culturas precolombinas se consideraba al cacao como un alimento con propiedades medicinales, y en la actualidad se está redescubriendo su potencial uso terapéutico, especialmente en patologías cardiovasculares ⁽¹⁾. *Theobroma cacao* L. (Esterculiáceas), sus productos y sus derivados, son hoy día apreciados por su valor nutritivo, siendo un alimento muy valorado para niños y mayores. También tienen interés sus propiedades farmacológicas, destacando el efecto cardioprotector debido principalmente a su contenido en polifenoles. Estos compuestos poseen propiedades antioxidantes y antiradicalarias ⁽²⁻⁴⁾, lo cual está en parte relacionado con el efecto protector en la oxidación del colesterol-lipoproteína de baja densidad (LDL) ⁽⁵⁾, que conjuntamente con las propiedades antiagregantes plaquetarias

Cocoa, an update of its beneficial properties for human health.

Abstract

In addition to its nutritional value, Cocoa seeds (*Theobroma cacao* L., Sterculiaceae) and its derivatives also have a great interest due to its pharmacological properties. Three groups of constituents stand out: nitrogen bases, lipids and polyphenols, mainly catechins and their oligomers proanthocyanidins (dimers to decamers). The phenolic compounds in cocoa have anti-oxidant properties, reduce LDL-cholesterol oxidation, increase HDL-cholesterol levels, reduce the basal and postprandial glycaemia, and increase the secretion of insulin, improving the sensibility to it. These metabolic effects, together with the inhibition of lipoxygenase, the increase of nitric oxide and the reduction of platelet aggregation, confer cocoa good vascular and cardiac protective properties. Moreover, these polyphenols decrease the synthesis of pro-inflammatory mediators and increase that of anti-inflammatory mediators. Furthermore, they inhibit transcription factors implicated in inflammation and carcinogenesis, conferring anti-inflammatory and cancer chemopreventive properties to cocoa. Its neuroprotective effects have also been reported.

Keywords

Cocoa, polyphenols, *Theobroma cacao*, antioxidant, anti-inflammation, cardiovascular prevention, cancer prevention.

⁽⁶⁾ le confieren acción protectora cardiovascular ⁽⁵⁾. También se han descrito las propiedades inmunomoduladoras ^(6, 8,9), antiinflamatorias ⁽⁷⁻⁹⁾ y preventivas del cáncer ^(8,10).

En la presente revisión se recopilan las principales informaciones publicadas sobre aspectos medicinales del cacao y, aunque se haga una mención previa a la fracción lipídica (manteca de cacao) y compuestos nitrogenados (xantinas), se centrará fundamentalmente en la fracción polifenólica, por ser la de mayor potencial farmacológico ⁽¹¹⁾.

Composición química de las semillas de cacao

En el cacao se han identificado cerca de 400 componentes diferentes, destacando tres grupos de principios: bases nitrogenadas, lípidos y polifenoles.

Bases nitrogenadas

La semilla de cacao sin procesar contiene aminas biogénicas (como feniletilaminas, tiramina, triptamina y serotoni-

na) y sus precursores (fenilalanina, tirosina y triptófano) en concentraciones considerables que aumentan durante la fermentación de las semillas y disminuyen con el tostado y alcalinización ⁽¹²⁾. Entre las bases nitrogenadas, destacan las metilxantinas (teobromina y cafeína, principalmente). Dependiendo del origen, la semilla de cacao sin procesar puede contener cantidades variables de xantinas. De forma aproximada, se puede considerar que la semilla posee un 3% de bases xánticas, destacando su presencia en los cotiledones, donde la teobromina es mayoritaria (1,3% aproximadamente), siendo el contenido de cafeína del 0,7%. La presencia en el tegumento es netamente inferior, siendo del 0,9% y 0,3%, para teobromina y cafeína, respectivamente ⁽¹³⁻¹⁵⁾.

Lípidos (manteca de cacao)

La semilla de cacao contiene algo más del 60% de materia grasa, principalmente en el cotiledón, donde se encuentra en un 57%, frente al 6% del tegumento. La fracción lipídica, denominada manteca de cacao, está constituida principalmente por glicéridos heterogéneos en los que predominan los ácidos palmítico (25,2%), esteárico (35,5%) y oleico (35,2%). Los triglicéridos predominantes están formados por palmítico:oleico:esteárico (40%), esteárico:oleico:esteárico (30%) y palmítico:oleico:palmítico (15%). La fracción utilizada en la fabricación del chocolate posee un punto de fusión de 34 °C, lo que le permite ser sólido a temperatura ambiente pero fundir a la temperatura corporal ⁽¹⁶⁻¹⁸⁾.

Polifenoles

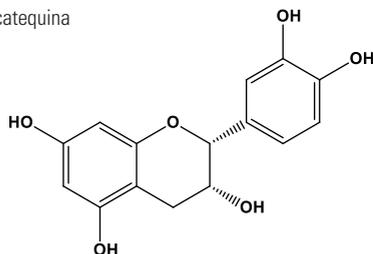
El contenido de sustancias polifenólicas en la semilla de cacao sin procesar varía según la procedencia, aunque se puede considerar una media aproximada que correspondería a los siguientes porcentajes: catequinas (3%), proantocianidinas (4,6%) y heterósidos de la cianidina (0,4%), todo

ello referido a semilla total sin manipular. Tras el procesado de las semillas de cacao se produce un descenso del 90% del conjunto de sustancias polifenólicas presentes en las mismas, ya que ese alto contenido inicial en polifenoles le confiere una sabor extremadamente amargo. Sin embargo, estas sustancias están siendo objeto de atención por parte de la industria alimentaria como complementos nutricionales, ya que tanto su alto contenido en polifenoles como el gran poder antioxidante de éstos hace de este subproducto del procesado de las semillas uno de los más interesantes de la industria agroalimentaria del cacao ^(9, 19-22).

Una vez procesadas las semillas de cacao, éstas sufren una variación muy importante en el contenido en polifenoles, pero en todos los casos se pueden destacar tres grupos relevantes presentes: catequinas, que constituyen aproximadamente el 37% del total del polifenoles de la semilla de cacao, antocianósidos (4%) y proantocianidinas (58%). Del grupo de las catequinas destacan la (-)-epicatequina (35%) que es la más abundante, mientras que la (+)-catequina, la (+)-galocatequina y la (-)-epigalocatequina se encuentran en pequeña proporción. En cuanto a los antocianósidos, el predominio corresponde a los heterósidos 3- α -L-arabinósido y 3- β -D-galactósido de cianidina. Finalmente, el grupo de proantocianidinas está formado por diferentes oligómeros, destacando los dímeros y trímeros de catequina, aunque existen diferentes tipos, llegando hasta los decámeros. Los monómeros se unen mediante enlaces C4→C8 y C4→C6, dando lugar a las procianidinas, siendo las principales las denominadas B1, B2, B3, B4, B5, C1, y D ⁽²⁾ (FIGURA 2).

Como ya se ha comentado, la proporción de polifenoles varía considerablemente en función del origen y el procesado de la semilla. Así, el contenido en (-)-epicatequina puede variar de 16,5 mg/g en caso de semillas fermentadas y desengrasadas procedentes de Costa Rica a 2,7 mg/g si

(-)-Epicatequina



(+)-Catequina

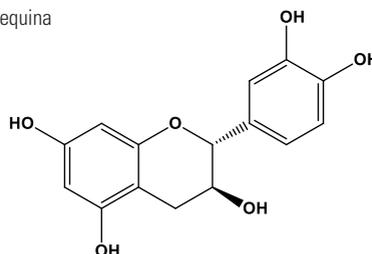
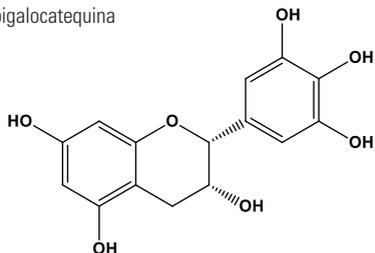
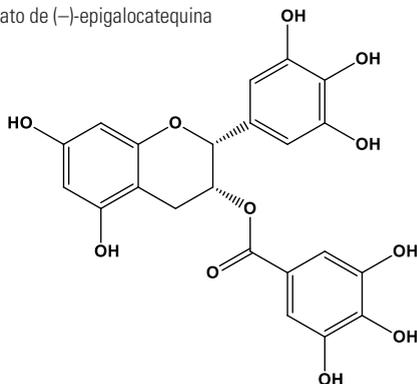


FIGURA 2. Estructura química de los principales polifenoles del cacao.

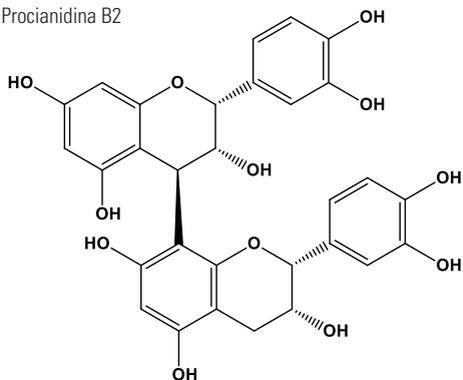
(+)-Epigallocatequina



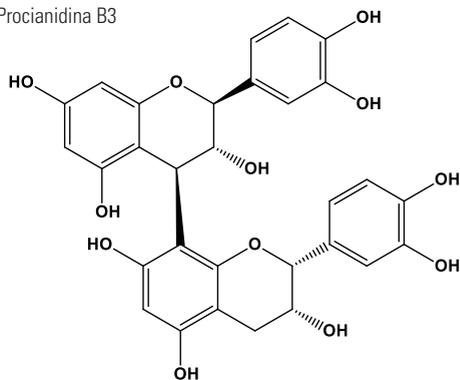
Galato de (-)-epigallocatequina



Procianidina B2



Procianidina B3



Procianidina C1

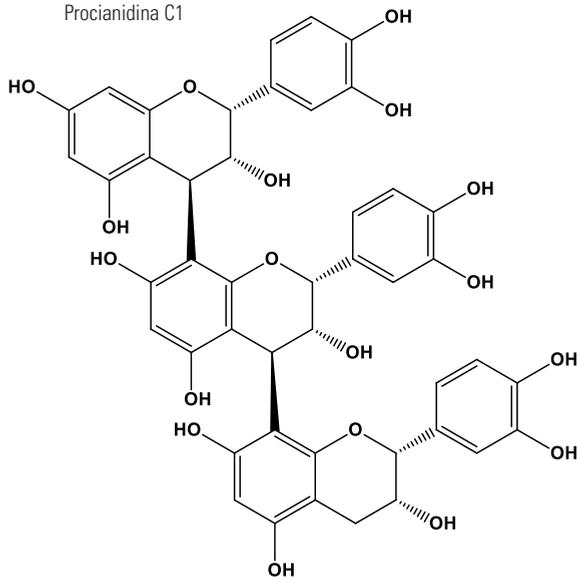


FIGURA 2. CONTINUACIÓN.

la semilla procede de Jamaica. En el caso del proceso de manipulación, el contenido final de polifenoles en semillas secas desengrasadas puede variar del 6% en las no fermentadas al 5% en las fermentadas, mientras que en semilla fresca el contenido es del 15-20%. Esto es debido a que en el proceso de fermentación las epicatequinas son reducidas aproximadamente entre un 10 y un 20%, los antocianósidos desaparecen y las proantocianidinas disminuyen de 3 a 5 veces ⁽²⁾.

Propiedades farmacológicas de las semillas de cacao

Aunque existen tres grupos principales de sustancias activas en las semillas de cacao, la presente revisión se centrará principalmente en los componentes fenólicos, que se expondrán en un apartado específico, tratando brevemente en el presente la aportación de los otros grupos de sustancias al conjunto de propiedades de las semillas de cacao.

Manteca de cacao

La manteca de cacao es un lípido natural derivado de las semillas de cacao al que se le atribuyen propiedades hidratantes dérmicas ⁽²³⁾. Mujeres de diferentes culturas la emplean habitualmente, ya que existe la creencia de que la aplicación de la manteca de cacao sobre la piel ayuda a prevenir el desarrollo de las estrías durante el embarazo. Algunos médicos y matronas aconsejan a sus pacientes utilizar manteca de cacao, antes, durante o después del embarazo, incluso para la prevención o tratamiento de las estrías ^(23, 24). Sin embargo, ensayos clínicos realizados en diferentes grupos étnicos concluyen que la aplicación de manteca de cacao no previene la aparición de estrías en el embarazo ni mejora su evolución ⁽²³⁻²⁵⁾.

Bases nitrogenadas

El chocolate es uno de los pocos alimentos a los que se les suele atribuir el calificativo de "adictivo". Esta adicción al chocolate probablemente es debida a sus características organolépticas (el azúcar y la grasa que contienen le proporcionan una gran palatabilidad, además de su textura y aroma), aunque algunos autores también destacan que el chocolate contiene sustancias con potencial actividad farmacológica y que serían las responsables de ese efecto "adictivo" ^(12, 26, 27). Entre estas sustancias se encuentran las metilxantinas, teobromina y cafeína, ambas con efectos fisiológicos sobre la modulación del sistema nervioso central (entre los que se incluyen los cambios de humor), contractilidad del músculo cardíaco y esquelético, relajación musculatura lisa bronquial y gastrointestinal, así como

Akt	Proteína cinasa B
AP-1	Proteína activadora 1
Apo	Apolipoproteína
COX	Ciclooxigenasa
CYP	Citocromo P450
DSS	Sulfato sódico de dextrano
ER- α	Receptor estrogénico- α
ERK	Factor de señalización extracelular regulada por proteína cinasa
HDL	Lipoproteína de alta densidad
ICAM-1	Molécula de adhesión intercelular-1
I κ B	Inhibidor de NF- κ B
JNK	Cinasa c-Jun N-terminal
LDL	Lipoproteína de baja densidad
LOX	Lipoxigenasa
LT	Leucotrieno
MAPK	Proteína cinasa activada por mitógenos
MCP-1	Proteína quimioatrayente de monocitos 1
MMP	Metaloproteínasa de la matriz
NF- κ B	Factor de transcripción nuclear- κ B
NO	Óxido nítrico
NOS	Óxido nítrico sintasa
PARP-1	Poli(ADP-ribosa) polimerasa-1
PGE ₂	Prostaglandina E ₂
PI3K	Fosfoinositol- 3-cinasa
PLA ₂	Fosfolipasa A ₂
ROS	Especies reactivas de oxígeno
STAT-3	Transductor de señales y activador de la transcripción-3
TGF- β ₁	Factor de crecimiento transformante- β ₁
TNF- α	Factor de necrosis tumoral- α
TPA	13-acetato de 12-O-tetradecanoilforbol
VEGF	Factor de crecimiento endotelial vascular
VSMC	Células de musculatura lisa vascular humana

TABLA 1. Abreviaturas utilizadas en el artículo.



FIGURA 3. Cacaotero con frutos de cacao. Foto: Tibor (licencia CC).

sobre la diuresis ⁽²⁷⁾. En el caso de la teobromina, aunque en la actualidad no se le da consideración de fármaco, sí se ha descrito una actividad inhibitoria de la enzima poli (ADP-ribosa) polimerasa-1 (PARP-1), implicada en procesos inflamatorios agudos y crónicos como pueden ser el infarto, isquemia-reperusión, diabetes y la enfermedad pulmonar obstructiva crónica ⁽²⁸⁾. Algunos autores atribuyen a la teobromina un efecto vasodilatador, aunque existe cierta controversia porque generalmente los efectos del chocolate sobre la hemodinámica se han atribuido a la fracción polifenólica sin tener en cuenta el potencial efecto de la teobromina ⁽¹²⁾. Se ha descrito también un efecto antitusivo de la teobromina por inhibición vagal, siendo su efecto superior al de la codeína en tos inducida por aerosol de capsaicina en voluntarios sanos, pero con la ventaja respecto a la codeína de no presentar efectos secundarios ⁽²⁹⁾. Además, la teobromina es endurecedora del esmalte dental, con una potencia superior a la del fluoruro sódico ⁽¹²⁾.

Aparte de las metilxantinas, en el cacao se pueden encontrar otras moléculas potencialmente psicoactivas, como

son la feniletilamina (estructura básica de estimulantes del sistema nervioso y alucinógenos, como la anfetamina o la mescalina), tiramina, serotonina y su precursor, triptófano, anandamida, salsolinol y tetrahydro- β -carbolinas. Tradicionalmente se ha intentado justificar la "adicción" al chocolate por la presencia de estas sustancias. Sin embargo, no sólo su concentración no es suficiente para ejercer un efecto biológico, sino que además estas aminas biogénicas son metabolizadas por la enzima monoaminoxidasa presente tanto en el intestino delgado como en el hígado y riñones ⁽¹²⁾. En un estudio doble ciego llevado a cabo por Smit *et al.* ⁽³⁰⁾, se comprobó que la combinación de cafeína (19 mg) y teobromina (250 mg) (equivalente al contenido aproximado en 50 g de chocolate negro), mostraba efectos significativos sobre la capacidad de reacción, el estado de alerta y la velocidad de procesamiento de información. Estos resultados confirman que la actividad psicoactiva del chocolate se debería únicamente a la presencia de teobromina y/o cafeína, no teniendo un efecto significativo la presencia de otros psicoactivos potenciales. Además, esa misma combinación de metilxantinas era responsable de la apatencia por el chocolate, lo cual explicaba por qué en general existe una preferencia del chocolate con leche frente al chocolate blanco y por qué el chocolate negro, a pesar de su amargor, suele tener un sabor al que nos acostumbramos fácilmente ⁽³¹⁾.

De los tres tipos de sustancias mayoritarias presentes en las semillas de cacao, nos vamos a centrar en los polifenoles, ya que es el grupo de principios con mayor potencial farmacológico en el ámbito de la fitoterapia ⁽³²⁾.

Propiedades de los polifenoles del cacao

Se han descrito diferentes propiedades para el chocolate, el cacao y especialmente para los polifenoles presentes en el mismo (FIGURA 4).

Propiedades antioxidantes

Los polifenoles del cacao tienen mayor poder antioxidante que los de otras especies utilizadas con tal fin, como el té verde, el té negro, el vino tinto o el zumo de granada. Por ejemplo, la dosis habitual ingerida de cacao posee unas 4-5 veces más poder antioxidante que el té negro, 2-3 veces más que el té verde o 2 veces más que el vino tinto ⁽³³⁾. El efecto antioxidante de los polifenoles de cacao tiene una gran relevancia en la funcionalidad de diferentes procesos patológicos, ya que actúan como captadores de los radicales superóxido, hipocloroso y peroxinitrito, e inhiben la peroxidación lipídica. El radical peroxinitrito está



FIGURA 4. Propiedades de los polifenoles del cacao.

implicado en un amplio rango de efectos patológicos, como diabetes, hipertensión, artritis, colitis y diversas complicaciones cardíacas y renales, por lo que su inhibición puede proporcionar protección frente al daño producido por este radical ⁽³⁾. La actividad antioxidante ha sido claramente demostrada para el compuesto mayoritario, la (-)-epicatequina, en células endoteliales de aorta de ratón, donde inhibe la nitración inducida por peroxinitrito de los residuos tirosina en las proteínas ⁽³⁴⁾. En el caso del radical superóxido, éste se produce con un fin protector tras la estimulación de leucocitos polimorfonucleares; sin embargo, su sobreproducción está implicada en el inicio y mantenimiento del proceso inflamatorio, por lo que su inhibición puede actuar como protector en diversas patologías inflamatorias ⁽³⁾.

Los extractos enriquecidos en polifenoles obtenidos de las semillas desengrasadas del cacao inhiben la peroxidación lipídica en homogenados de cerebro de rata y en plasma, efecto que no depende de una posible acción quelante de los compuestos fenólicos, ya que carecen del mismo, sino de sus propiedades antioxidantes ⁽³⁾. Estudios complementarios realizados con liposomas de fosfatidilcolina y compuestos aislados, como el dímero procianidina B2 y el trímero procianidina C1, demuestran que la inhibición de

la peroxidación puede ser debida a su interacción con los fosfolípidos de membrana, probablemente a través de su parte polar, pudiendo así prevenir el ataque de oxidantes y otras moléculas que afecten a la integridad de la bicapa lipídica ⁽³⁵⁾ (TABLA 2).

Efectos metabólicos y endocrinos

- Metabolismo de la glucosa

El efecto de los polifenoles sobre el metabolismo glucídico se ha demostrado tanto en animales como en humanos. En ambos casos el consumo de polifenoles resulta en una reducción de la glucemia basal y postprandial, mejorándose tanto la sensibilidad a la insulina como su secreción. Los distintos mecanismos que se han descrito para explicar estos efectos incluyen: la inhibición de la digestión de carbohidratos y de la absorción de glucosa en el intestino, la estimulación de la secreción de insulina desde las células β pancreáticas, la modulación de la liberación de glucosa desde el hígado, la activación de los receptores de insulina, la recaptación en los tejidos sensibles a la insulina y la modulación de las vías de señalización intracelular y de expresión génica de la insulina ^(36, 37) (FIGURA 5).

Todos estos efectos positivos sobre la homeostasis de la glucosa están apoyados, a su vez, por evidencias epidemiológicas en pacientes con dietas enriquecidas en polifenoles ⁽³⁷⁾. En un ensayo clínico aleatorizado y cruzado realizado con pacientes hipertensos e intolerancia a la glucosa, se observó que el grupo tratado con chocolate negro enriquecido en polifenoles (100 g/día durante 15 días) presentaba un descenso en la resistencia a la insulina, incrementando la sensibilidad a la misma y las funciones de la células β ⁽³⁸⁾. Es importante destacar la posible saturación dosis-efecto de este tipo de compuestos, ya que se ha demostrado en un ensayo aleatorizado, cruzado y doble ciego que 500 mg de polifenoles en 20 g de chocolate negro tienen el mismo efecto que 1.000 mg en esa misma cantidad de chocolate negro, tanto en la glucemia como

	Ensayos <i>in vitro</i>	Efecto
(-)-Epicatequina ⁽³⁴⁾	Células endoteliales de aorta de ratón	Inhibe la nitración de residuos tirosina inducida por peroxinitrito
Extracto semillas desengrasadas ⁽³⁾	Homogenados de cerebro de rata y en plasma	Inhibe la peroxidación lipídica
Procianidina B2 y procianidina C1 ⁽³⁵⁾	Liposomas de fosfatidilcolina	Inhibe la peroxidación lipídica

TABLA 2. Propiedades antioxidantes de los compuestos fenólicos del cacao.

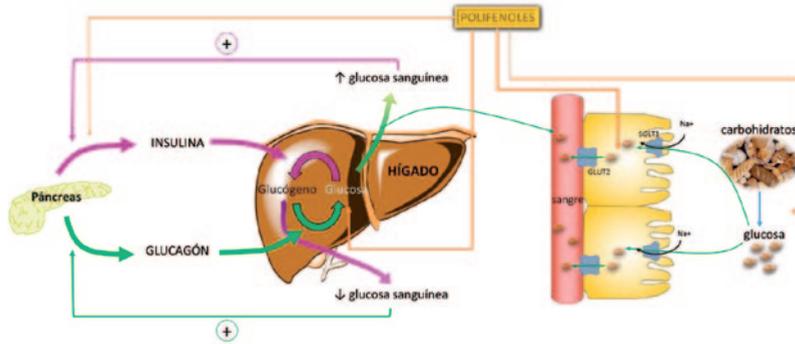


FIGURA 5. Metabolismo hepático de la glucosa. SGLT1 = Cotransportador de sodio-glucosa-1. GLUT2 = Transportador de glucosa-2.

en otros parámetros estudiados, como la presión arterial ⁽³⁹⁾ (TABLA 3).

- Metabolismo lipídico

In vitro, los extractos de semilla de cacao enriquecidos en polifenoles son potentes inhibidores de enzimas digestivos como la α -amilasa y la lipasa pancreáticas y la fosfolipasa A₂ (PLA₂). Este efecto depende del grado de polimerización de las procianidinas presentes en el extracto o fracción, siendo en general mayor al incrementar el número de unidades ⁽⁴⁰⁾.

Aunque se ha descrito que los polifenoles del cacao incrementan la producción de apolipoproteína (Apo)A1 y disminuyen la de ApoB (*in vitro*) ^(41, 42), el efecto *in vivo* es en algunos casos contradictorio. Por ejemplo, en un ensayo clínico se observó que los niveles de colesterol-lipoproteína de alta densidad (HDL) fueron significativamente mayores en pacientes que recibieron dosis altas de cacao disuelto en leche (42 g/día durante 4 semanas) frente a los que recibieron sólo leche, mientras que los niveles de colesterol-LDL oxidado disminuyeron. Los niveles de triglicéridos, colesterol total, colesterol-LDL, ApoA1 y ApoB, o la relación LDL-HDL no fueron modificados ⁽⁴³⁾. En un metanálisis de ensayos clínicos aleatorizados y controlados se demostró que el colesterol-LDL disminuyó significativamente en los pacientes que recibieron cacao, mientras que el colesterol total solo se redujo de forma marginal y el colesterol-HDL no se vio afectado ⁽⁴⁴⁾. Al analizar el efecto sobre el perfil lipídico de pacientes con diabetes tipo 2 (ensayo aleatorizado, controlado con placebo, doble ciego y cruzado) tratados con dosis altas de polifenoles de cacao (16,6 mg de epicatequina en 45 g de chocolate) frente a dosis bajas (< 2 mg de epicatequina en 45 g de chocolate), se demostró

que los niveles de colesterol-HDL eran significativamente superiores en los individuos que recibieron chocolate enriquecido en polifenoles, presentando un descenso de la relación colesterol total/HDL, sin afectar a otros parámetros como la resistencia a la insulina o la glucemia ⁽²¹⁾. En un cuarto ensayo clínico con pacientes hipertensos e intolerancia a la glucosa, se observó que en el grupo tratado con polifenoles disminuyó el colesterol total y el colesterol-LDL con respecto al grupo control ⁽³⁸⁾ (TABLA 3).

Salud cardiovascular

El efecto beneficioso del cacao sobre la salud cardiovascular ha sido descrito desde los primeros tiempos de su conocimiento. De hecho se sabe que los indígenas Kuna de Panamá presentan mejores valores de presión arterial y menor índice de mortalidad por causas cardiovasculares que otros indígenas americanos con hábitos de vida similares pero que no incluyen el cacao en su dieta. Estos efectos positivos han sido también ratificados en estudios epidemiológicos de las culturas occidentales ⁽⁴⁵⁾ y en diferentes ensayos clínicos, en los cuales se ha demostrado que cacao y chocolate pueden ejercer efectos beneficiosos en enfermos cardiovasculares, reduciendo la presión arterial, y disminuyendo los niveles de colesterol-LDL e incrementando el colesterol-HDL, además de las demostradas propiedades antiinflamatorias y antiagregantes plaquetarias ⁽⁴⁶⁾ (FIGURA 6). En efecto, se ha visto que el consumo de cacao disminuye la agregación plaquetaria e inflamación, así como la presión arterial tanto diastólica como sistólica, y el consumo de extractos enriquecidos en polifenoles disminuye el riesgo de enfermedad cardiovascular ⁽⁴⁷⁻⁴⁹⁾. Los mecanismos por los cuales producen esta protección son complejos, viéndose implicados diferentes mediadores,

la modificación del metabolismo lipídico y glucídico, y las propiedades antioxidantes.

Entre estos mecanismos, destaca la inhibición de la 5-lipoxigenasa (5-LOX), que provoca la disminución del leucotrieno B₄ (LTB₄) y cisteinil-leucotrienos, lo cual le confiere al cacao propiedades antiinflamatorias, vasoprotectoras y broncodilatadoras⁽⁵⁰⁾. También se produce un incremento en la actividad del óxido nítrico (NO) (crucial para la protección del sistema cardiovascular) a través de la reducción de la actividad arginasa, que aumenta los niveles de L-argini-

na, que es transformada en NO por la óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS) presente en el endotelio vascular^(46, 51, 52). El NO produce vasodilatación aórtica, mejorando la circulación cardiaca y el flujo cerebral tanto en individuos sanos como en pacientes con riesgos cardiovasculares, lo que indica que los polifenoles del cacao pueden ser beneficiosos como cardioprotectores, y antihipertensivos, y también pueden ser de utilidad en demencia e ictus en personas mayores⁽⁴⁵⁾. En un metanálisis realizado con 133 ensayos clínicos de pacientes con dietas enriquecidas en polifenoles del cacao se observó que el consumo del cacao

Metabolismo glucídico

Ensayos clínicos	Fuente de polifenoles del cacao	Efecto
Ensayo aleatorizado y cruzado en pacientes hipertensos con intolerancia a la glucosa ⁽³⁸⁾	Chocolate negro enriquecido en polifenoles (100 g/día durante 15 días)	Descenso en la resistencia a la insulina, incrementando la sensibilidad a la misma y las funciones de la células β

Metabolismo lipídico

Ensayos <i>in vitro</i>	Fuente de polifenoles del cacao	Efecto
Efecto sobre enzimas digestivas aisladas ⁽⁴⁰⁾	Extracto de cacao enriquecidos en polifenoles	Inhibición de α-amilasa y lipasa pancreáticas y de PLA ₂ secretada
Células HepG2 ⁽⁴²⁾	Metabolitos del cacao y epicatequina	Incremento de ApoA1 y disminución la ApoB

Ensayos clínicos	Fuente de polifenoles del cacao	Efecto
Pacientes con diabetes mellitus de alto riesgo con 3 o más factores de riesgo (aleatorizado y cruzado) ⁽⁴³⁾	Cacao disuelto en leche (42 g/día durante 4 semanas). Composición del cacao: polifenoles totales 495,2 mg	Incremento colesterol-HDL Disminución colesterol LDL-oxidado No varía colesterol-LDL ni colesterol total, tampoco la relación LDL/HDL, triglicéridos, ApoA1, ApoB,
Metanálisis de ensayos clínicos aleatorizados y controlados ⁽⁴⁴⁾	Diferentes dosis	Disminución colesterol-LDL Disminución colesterol total No varía colesterol-HDL
Pacientes con diabetes tipo 2 (ensayo aleatorizado, placebo-controlado doble ciego y cruzado) ⁽²¹⁾	Dosis altas de polifenoles de cacao (16,6 mg de epicatequinas en 45 g de chocolate) frente a dosis bajas (< 2 mg de epicatequinas en 45 g de chocolate)	Dosis altas de cacao: Incremento colesterol-HDL Disminución relación colesterol total/HDL No varía la resistencia a insulina ni la glucemia
Pacientes hipertensos e intolerancia a la glucosa (ensayo aleatorizado, doble ciego y cruzado) ⁽³⁸⁾	Chocolate negro (100 g) enriquecido en flavanoles (1008 mg de fenoles totales)	Disminución colesterol total Disminución colesterol-LDL

TABLA 3. Efectos metabólicos y endocrinos de los compuestos fenólicos del cacao.

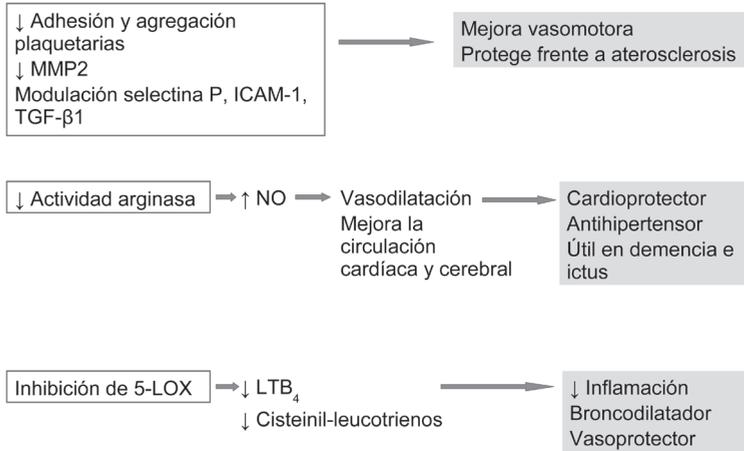


FIGURA 6. Efectos cardiovasculares de los fenoles del cacao.

conduce a una reducción de la presión arterial sistólica y diastólica ⁽⁵³⁾, y en un estudio con voluntarios sanos prehipertensos y pacientes hipertensos concluyó que la inclusión de polifenoles del cacao de forma moderada en la dieta puede mejorar o retardar la hipertensión ⁽⁵⁴⁾, aunque otros estudios no refieren diferencias entre los grupos tratados y los controles ⁽⁵⁵⁾.

En lo que respecta a las funciones plaquetarias, los polifenoles del cacao no sólo afectan a la agregación, sino también a la adhesión de las plaquetas. De hecho, en un ensayo clínico doble ciego paralelo, se ha demostrado que los sujetos sanos que consumen fenoles del cacao (234 mg/día), tras 28 días de tratamiento, presentan una disminución en la función plaquetaria ⁽⁴⁵⁾. Recientemente se ha realizado un ensayo clínico a doble ciego, aleatorizado y controlado con pacientes que padecían insuficiencia cardíaca congestiva, a los cuales se les administró chocolate enriquecido en polifenoles durante cuatro semanas, demostrándose que los pacientes que lo recibieron mejoraron la función vascular y se redujo la función plaquetaria ⁽⁵⁶⁾. Estos efectos son paralelos a la reducción significativa del estrés oxidativo y está positivamente correlacionada con la concentración plasmática de epicatequina ⁽⁴⁶⁾. Cuando se estudiaron los efectos en pacientes trasplantados (ensayo doble ciego, aleatorizado), se observó un incremento en el diámetro de la arteria coronaria, mejora de actividad vasomotora y descenso de la adhesión plaquetaria ⁽⁵⁷⁾.

El efecto protector frente a la aterosclerosis está ampliamente documentado: las procianidinas inhiben la expresión y activación de la metaloproteínasa de la matriz (MMP)-2 en células de la musculatura lisa vascular humana (VSMC), así como su migración, procesos todos inducidos por la trombina ⁽⁵⁸⁾. Los polifenoles del cacao también pueden contribuir a la prevención de la aterosclerosis a través de la modulación de moléculas de adhesión como la selectina-P y la molécula de adhesión intercelular-1 (ICAM-1) ⁽²²⁾, así como a la modulación de la homeostasis asociada con la liberación y función del factor de crecimiento transformante (TGF) β_1 ⁽⁵⁹⁾.

En resumen, se puede considerar que las fracciones del cacao enriquecidas en polifenoles pueden tener efectos beneficiosos para la salud cardiovascular. Sin embargo, hay que considerar que existen limitaciones en los estudios realizados y en los ensayos clínicos publicados, ya que no se trata de un único preparado objeto de estudio, sino de diferentes preparados, que van desde el chocolate negro a extractos diversos, e incluso chocolate con leche. También es objeto de crítica el hecho de que diferentes estudios están apoyados por empresas agroalimentarias del sector, lo que indica un claro posicionamiento en los posibles resultados positivos. A pesar de ello, queda inequívocamente establecida la relación del contenido en polifenoles y los efectos beneficiosos cardiovasculares. Estudios específicos en un futuro próximo que permitan establecer una relación entre el contenido y dosis frente al efecto producido,



FIGURA 7. Futos de cacao. Foto: Zauber (licencia CC).



FIGURA 8. Fruto del cacao, sección transversal. Se observan las semillas en su interior. Foto: US Agricultural Research Service (Licencia CC).

serán positivos para el posible uso de los polifenoles del cacao como complemento fitoterápico y alimentario.

Propiedades antiinflamatorias

Anteriormente se ha comentado el efecto de los polifenoles del cacao sobre enzimas y mediadores lipídicos proinflamatorios⁽⁵⁰⁾ (TABLA 4). El efecto inhibitorio sobre 5-LOX, 12-LOX-1 y 15-LOX-1 demostrado *in vitro*⁽⁵⁰⁾ ha sido ratificado *in vivo*, con la disminución de los valores plasmáticos de LTC₄, LTD₄ y LTE₄, y el incremento de prostaciclina en pacientes tratados con polifenoles de cacao⁽⁷⁾. Los polifenoles del cacao también disminuyen la expresión de péptidos proinflamatorios en leucocitos estimulados, como la proteína quimioatrayente de monocitos 1 (MCP-1) o el factor de necrosis tumoral- α (TNF- α)⁽⁶⁰⁾ y las interleucinas IL-1 β e IL-2, estimulando a su vez la producción de las citocinas antiinflamatorias TGF- β e IL-4⁽⁷⁾. El factor de transcripción nuclear- κ B (NF- κ B), principal vía de activación de la expresión de estas proteínas, está regulado por los polifenoles del cacao a través de la estabilización del inhibidor del NF- κ B (I κ B) y la inhibición de los factores señalización extracelular regulada por proteína cinasa (ERK), cinasa c-Jun N-terminal (JNK) y p38 proteína cinasa activada por mitógenos (MAPK)⁽⁶¹⁾. Entre los compuestos estudiados que presentan esta actividad destacan la procianidina B2, (-)-epicatequina y (+)-catequina.

Una de las posibles aplicaciones terapéuticas del cacao recientemente estudiada es su empleo como protector

frente a la enfermedad inflamatoria intestinal. Entre los estudios que apuntan a esta posible utilidad, destacan los realizados *in vitro* por Romier-Crouzet *et al.*⁽⁶²⁾ y el estudio *in vivo* realizado por Andújar *et al.*⁽⁹⁾. El primero de ellos, realizado con células intestinales humanas (Caco-2) y empleando diferentes extractos enriquecidos en polifenoles, demostró que los polifenoles inducen la síntesis basal de prostaglandina E₂ (PGE₂) vía estimulación de la enzima ciclooxigenasa-1 (COX-1), implicada en el mantenimiento de la integridad de la mucosa intestinal^(62, 63). *In vivo*, se comprobó que el consumo de un extracto enriquecido en polifenoles por ratones Balb/C en los que se indujo una colitis ulcerosa por medio de la administración de sulfato sódico de dextrano (DSS), condujo a la reducción de los signos morfológicos de colitis, de la infiltración leucocitaria, de la producción de NO, de la expresión de COX-2 y de la expresión del transductor de señales y activador de la transcripción-3 (STAT-3), así como de la fosforilación del STAT1 α ⁽⁹⁾. La inhibición de estos factores de transcripción condujo a su vez a la reducción de la expresión de COX-2, IL-6, IL-1 β y TNF- α en el intestino. *In vitro*, se comprobó que dicho extracto enriquecido en polifenoles inhibía la producción de las citocinas proinflamatorias IL-1 β , IL-6 y TNF- α en macrófagos, tanto primarios como de la línea celular RAW 264.7.

Prevención del cáncer

Diferentes estudios han establecido una interesante relación entre polifenoles del cacao y quimioprevención.

Mediadores	↓ LTC ₄ ⁽⁷⁾
	↓ LTD ₄ ⁽⁷⁾
	↓ LTE ₄ ⁽⁷⁾
	↓ MCP-1 ⁽⁶⁰⁾
	↓ TNF- α ^(9, 60)
	↓ IL-1 β ^(7, 9)
	↓ IL-2 ⁽⁷⁾
	↓ IL-6 ⁽⁹⁾
	↓ NO ⁽⁹⁾
	↑ Prostaciclina ⁽⁷⁾
	↑ TGF- β ⁽⁷⁾
↑ IL-4 ⁽⁷⁾	
↑ PGE ₂ ^(62, 63)	
Enzimas	↓ 5-LOX ⁽⁵⁰⁾
	↓ 12-LOX-1 ⁽⁵⁰⁾
	↓ 15-LOX-1 ⁽⁵⁰⁾
	↑ COX-1 ^(62, 63)
	↓ COX-2 ⁽⁹⁾
	↓ Ornitina descarboxilasa ⁽⁶⁹⁾
↓ S-adenosilmetionina descarboxilasa ⁽⁶⁹⁾	
Factores de transcripción inhibidos	NF- κ B ⁽⁶¹⁾
	STAT-3 ⁽⁹⁾
	STAT-1 α ⁽⁹⁾
	AP-1 ⁽⁷³⁾
Proteín cinasas inhibidas	ERK ^(61, 64, 65)
	JNK ⁽⁶¹⁾
	p38 ⁽⁶¹⁾
	Akt ^(64, 65, 66)
	PI3K ⁽⁷³⁾
Otras	↓ Ciclina D1 ^(64, 65)
	↓ Bcl-X _L ^(64, 65)
	↑ Bax ^(64, 65)
	↑ Caspasa-3 ^(64, 65)
	↓ VEGF ⁽⁷³⁾
	↓ Ciclina D1 ^(64, 65)

TABLA 4. Efectos de los fenoles del cacao sobre mediadores implicados en inflamación y cáncer.

Las propiedades antioxidantes de los extractos de cacao enriquecidos en polifenoles pueden proteger a las células cuando el estrés oxidativo es el factor contribuyente al daño celular que causa la mutagénesis y carcinogénesis (TABLA 4). Así, la fracción enriquecida en polifenoles y también la procianidina B2 tienen un efecto protector frente al estrés oxidativo inducido por especies reactivas de oxígeno (ROS), y ejercen efectos antiproliferativos en cáncer de colon inducido por azoximetano, disminuyendo ERK, proteína cinasa B (Akt) y ciclina D1, así como los niveles de la proteína antiapoptótica Bcl-X_L e incrementan la proteína proapoptótica Bax y la actividad caspasa-3, lo que se traduce en el incremento de la actividad apoptótica de las células tumorales PC12 (feocromocitoma de rata) ^(64,65). La administración de polifenoles del cacao también disminuye la proliferación celular, la unión de GTP a la proteína Ras, fosforilación de Akt y la actividad transcripcional del NF- κ B en células Kras malignas activadas ⁽⁶⁶⁾.

Los polifenoles de cacao han demostrado otros efectos beneficios relacionados con la quimiopreención. Por ejemplo, inhiben el daño inducido por la mitomicina C al ADN en la médula ósea y células sanguíneas periféricas, probablemente a través de un efecto captador de radicales libres activos generados por la mitomicina C ⁽⁶⁷⁾, y previenen el incremento de ROS inducido por hidroperóxido de terbutilo en células de hepatoma humano HepG2 ⁽⁶⁸⁾. También disminuyen la actividad de las enzimas ornitina descarboxilasa y S-adenosilmetionina descarboxilasa, responsables de la síntesis de poliaminas, asociadas con el incremento del crecimiento celular y reducción de apoptosis ⁽⁶⁹⁾.

Otra propiedad relevante de los polifenoles del cacao es el potencial efecto antimutagénico. Efectivamente, diferentes estudios han puesto de manifiesto el efecto protector frente a mutágenos químicos como el benzo[a]pireno, el cual actúa a través del citocromo P450 (CYP). Las procianidinas del cacao inhiben el CYP evitando así la activación metabólica del agente carcinogénico ⁽⁷⁰⁾. En un estudio complementario con células de cáncer de mama (MCF-7 y SKBR3) que expresan el gen CYP1A1 se demostró que tanto el ARNm como la actividad enzimática de CYP1A1 están incrementadas en células tratadas con polifenoles. Además se observó que la combinación de polifenoles con tamoxifeno provoca una citotoxicidad sinérgica en ambas líneas celulares que se traduce en un incremento de la apoptosis de las células tumorales. Este efecto es estrógeno-dependiente, ya que la incubación de estrógeno junto a los derivados de cacao provoca la interacción con el receptor estrogénico (ER- α) provocando la inducción de

CYP1A1 en las células tumorales. Esta sinergia observada en el tratamiento concomitante con dosis no tóxicas de tamoxifeno abre excelentes posibilidades en el tratamiento futuro del cáncer de mama ⁽⁷¹⁾.

Los polifenoles del cacao también inhiben la transformación neoplásica inducida por 13-acetato de 12-*O*-tetradecanoilforbol (TPA) en células epidérmicas de ratón (JB6 P+) a través de la supresión de la actividad MEK, disminución de la expresión de COX-2, de la activación de los factores de transcripción AP-1 (proteína activadora 1), NF- κ B y de la fosforilación de MEK, ERK y p90s6 cinasa ribosómica, todos ellos mediadores implicados en inflamación y cáncer ⁽⁷²⁾. En un trabajo complementario con esta misma línea celular, se observó que en las células tratadas con polifenoles se inhibió la inducción del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) inducida por TNF- α , así como la activación de los factores de transcripción AP-1 y NF- κ B, los cuales son clave en la expresión de la proteína VEGF. Además suprime la actividad fosfoinositol-3-cinasa (PI3K) por unión directa a la misma. La inhibición directa de la actividad PI3K y MEK1 a través de la reducción de la expresión de VEGF puede ser uno de los puntos principales en las propiedades quimiopreventivas de los polifenoles del cacao ⁽⁷³⁾. Estos efectos pueden tener interés en patologías cardiovasculares, artritis reumatoide y psoriasis, pero la inhibición de la angiogénesis a través de la reducción de la expresión de VEGF puede ser el efecto fundamental de la disminución del crecimiento tumoral, ya que la creación de nuevos vasos sanguíneos es imprescindible para el crecimiento del tumor.

Otras propiedades farmacológicas

El consumo de cacao, especialmente de fracciones enriquecidas en polifenoles, tiene propiedades anticariogénicas ⁽⁷⁴⁻⁷⁶⁾, puede mejorar la respuesta inmune ^(6, 77, 78), proteger al sistema nervioso, provocar efecto saciante y mejorar las funciones cognitivas y el humor ⁽⁷⁹⁾. También se han descrito efectos frente a la obesidad, debido a la capacidad de los polifenoles del cacao para suprimir la síntesis de ácidos grasos y estimular la generación de energía celular en la mitocondria ⁽⁷⁵⁾.

En cuanto a los efectos a nivel del sistema nervioso, diferentes estudios y ensayos clínicos demuestran que la ingesta de polifenoles del cacao reduce los síntomas de la fatiga crónica ⁽⁸⁰⁾. Además, en pacientes con enfermedades neurodegenerativas se ha observado una mejora en la respuesta cognitiva ⁽⁸¹⁾.



FIGURA 9. Semilla seca de cacao. Foto: S. Cañigüeral.

Se ha descrito también un posible efecto protector frente a malaria, pudiendo ser en parte debido al incremento de NO en plasma así como a la mejora de la respuesta inmune ⁽⁸²⁾. Igualmente tiene un efecto positivo sobre la piel, ya que la protege de los daños provocados por radiación ultravioleta ⁽⁷⁹⁾ y tiene un efecto positivo sobre los glucosaminoglicanos y colágenos I, II y IV, asociados con el tono y elasticidad de la piel ⁽⁸³⁾.

En el caso de la caries dental, históricamente se ha considerado el consumo de chocolate como negativo para la salud dental. Sin embargo, este efecto se debe a la alta concentración de agentes cariogénicos, especialmente el azúcar, y no se produce con el chocolate negro de alta pureza, o las fracciones enriquecidas en polifenoles. De hecho, el cacao contiene inhibidores de la enzima dextranosucrasa, responsable de la formación de los polisacáridos de la placa dental a partir de la sacarosa. Además, los polifenoles del cacao tienen propiedades bactericidas frente a diferentes gérmenes responsables de la caries ⁽⁷⁴⁾, disminuyen el estrés oxidativo gingival causado por la periodontitis ⁽⁷⁵⁾ y tienen un



FIGURA 10. Semillas de cacao tostadas. Foto: Alejandro Linares García (licencia CC).

efecto inmunomodulador, especialmente debido al aumento de IL-5 inducido por procianidinas de bajo peso (monómeros a tetrámeros). Esta citocina está implicada en la diferenciación de linfocitos B y en la producción de IgA, considerada protectora frente a la enfermedad periodontal ⁽⁷⁶⁾.

Biodisponibilidad de los polifenoles del cacao

Una de las mayores críticas que recibe el uso de polifenoles del cacao como posible agente terapéutico es su potencial baja biodisponibilidad. Sin embargo, diferentes estudios demuestran que sí existe absorción intestinal de cantidades con potencial farmacológico. Por ejemplo, la epicatequina y procianidinas de bajo peso molecular son excretadas por orina tras su consumo ⁽⁸⁴⁾. Los estudios de biodisponibilidad realizados demuestran que los polifenoles del cacao siguen una farmacocinética común, siendo las moléculas pequeñas absorbidas en el intestino delgado, mientras que las moléculas complejas son hidrolizadas y transformadas por la microflora intestinal antes de su absorción ⁽⁸⁵⁾. Sin embargo, existe una importante contro-

versia, ya que mientras unos estudios indican que los oligómeros de procianidinas son hidrolizados a monómeros y dímeros en el medio ácido gástrico ⁽⁸⁶⁾, otros autores han descrito la estabilidad de las procianidinas en el pH gástrico, realizando el tránsito intestinal sin ser afectadas ⁽⁸⁷⁾, y siendo la microflora la única encargada de su transformación y posterior absorción.

Un ensayo clínico realizado por Tomás-Barberán *et al.* ⁽²⁰⁾ con voluntarios sanos, demostró que la biodisponibilidad de los polifenoles del cacao se puede mejorar mediante un procesado adecuado del producto. Para favorecer la absorción o evitar los problemas debidos a su posible absorción errática, Vitaglione ⁽⁸⁸⁾ propone el encapsulado de los polifenoles del cacao para que sean liberados en el intestino y así incrementar su biodisponibilidad.

Conclusiones

El chocolate negro y los extractos de cacao enriquecidos en polifenoles tienen un alto potencial para la salud humana. Además de las conocidas propiedades antioxidantes, los polifenoles del cacao poseen otras propiedades independientes de ésta, como la inhibición de diversos factores de transcripción, lo que en conjunto le confiere efectos beneficiosos a nivel cardiovascular, en patologías inflamatorias y en la prevención del cáncer. En efecto, los polifenoles del cacao inducen vasodilatación coronaria, incrementan los niveles de NO endotelial con la consecuente relajación vascular y mejora de su función, y disminuyen la adhesión plaquetaria. Además reducen los niveles de colesterol-LDL y su oxidación, y aumentan el colesterol-HDL. También tienen propiedades antiinflamatorias que ejercen a través de la inhibición de STAT-3 y STAT1 α , lo cual produce una disminución en la expresión de la enzima COX-2 y reduce la producción de las citocinas proinflamatorias IL-6, IL-1 β y TNF- α . El efecto sobre estos mismos mediadores es una de las posibles causas de su potencial quimiopreventivo, tal como se ha demostrado en estudios con diferentes líneas tumorales. De especial interés es el efecto sobre el cáncer de colon, ya que los polifenoles de cacao poseen un efecto protector en casos de inflamación intestinal aguda, evitando la cronificación y su evolución a formas cancerígenas. Independientemente, ejerce un efecto antiproliferativo, que se produce por el bloqueo del ciclo celular en la fase G₂/M y la inducción de muerte celular no apoptótica. En resumen, la ciencia moderna está demostrando que el cacao, alimento tónico reservado a la realeza de las culturas precolombinas, en efecto posee propiedades beneficiosas para la salud y merece profundizar en su estudio.

Referencias bibliográficas

1. Keen CL. Chocolate: Food as medicine/medicine as food. *J Am Coll Nutr* 2001; 20: 436S-439S.
2. Wollgast J, Anklam E. Polyphenols in chocolate: Is there a contribution to human health?. *Food Res Int* 2000; 33: 449-459.
3. Schinella G, Mosca S, Cienfuegos-Jovellanos E, Pasamar MA, Muguerza B, Ramón D, Ríos JL. Antioxidant properties of polyphenol-rich cocoa products industrially processed. *Food Res Int* 2010; 43: 1614-1623.
4. Hatano T, Miyatake H, Natsume M, Osakabe N, Takizawa T, Ito H, Yoshida T. Proanthocyanidin glycosides and related polyphenols from cocoa liquor and their antioxidant effects. *Phytochemistry* 2002; 59: 749-758.
5. Weisburger JH. Chemopreventive effects of cocoa polyphenols on chronic diseases. *Exp Biol Med* 2001; 226: 891-897.
6. Steinberg FM, Bearden MM, Keen CL. Cocoa and chocolate flavonoids: implications for cardiovascular health. *J Am Diet Assoc* 2003; 103: 215-223.
7. Selmi C, Mao TK, Keen CL, Schmitz HH, Gershwin ME. The anti-inflammatory properties of cocoa flavanols. *J Cardiovasc Pharmacol* 2006; 47:S163-S171.
8. Dryden GW, Song M, McClain C. Polyphenols and gastrointestinal diseases. *Curr Opin Gastroenterol* 2006; 22: 165-170.
9. Andújar I, Recio MC, Giner RM, Cienfuegos-Jovellanos E, Laghi S, Muguerza B, Ríos JL. Inhibition of ulcerative colitis in mice after oral administration of a polyphenol-enriched cocoa extract is mediated by the inhibition of STAT1 and STAT3 phosphorylation in colon cells. *J Agric Food Chem* 2011; 59: 6474-6483.
10. Ren W, Qiao Z, Wang H, Zhu L, Zhang L. Flavonoids: Promising anticancer agents. *Med Res Rev* 2003; 23: 519-534.
11. Andújar I, Recio MC, Giner RM, Ríos JL. Cocoa polyphenols and their potential benefits for human health. *Oxid Med Cell Longev* 2012; 906252.
12. Smit HJ. Theobromine and the pharmacology of cocoa. *Handb Exp Pharmacol* 2011; 200:201-234.
13. Tytgat J, Van Boven M, Daenens P. Cannabinoid mimics in chocolate utilized as an argument in court. *Int J Legal Med* 2000; 113: 137-139.
14. James JS. Marijuana and chocolate. *AIDS Treat News* 1996; 257:3-4.
15. di Tomaso E, Beltramo M, Piomelli D. Brain cannabinoids in chocolate. *Nature* 1996; 382:677-678.
16. Beckett ST. Industrial chocolate manufacture and use. 2ª ed. Londres: Blackie Academic & Professional, 1994.
17. Minifie BW. Chocolate, cocoa, and confectionery science and technology. 3ª ed. Nueva York: Van Nostrand Reinhold, 1989.
18. Dand R. The international cocoa trade. Cambridge: Woodhead Publishing, 1993.
19. Rusconi M, Conti A. Theobroma cocoa L., the food of the Gods: A scientific approach beyond myths and claims. *Pharmacol Res* 2010; 61: 5-13.
20. Tomás-Barberán FA, Cienfuegos-Jovellanos E, Marín A, Muguerza B, Gil-Izquierdo A, Cerdá B, Zafrilla P, Morillas J, Mulero J, Ibarra A, Pasamar MA, Ramón D, Espín JC. A new process to develop a cocoa powder with higher flavonoid monomer content and enhanced bioavailability in healthy humans. *J Agric Food Chem* 2007; 55: 3926-3935.
21. Mellor DD, Sathyapalan T, Kilpatrick ES, Beckett S, Atkin SL. High-cocoa polyphenol-rich chocolate improves HDL cholesterol in type 2 diabetes patients. *Diabet Med* 2010; 27: 1318-1321.
22. Monagas M, Khan N, Andrés-Lacueva C, Casas R, Urpi-Sardá M, Llorach R, Lamuela-Raventós RM, Estruch R. Effect of cocoa powder on the modulation of inflammatory biomarkers in patients at high risk of cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* 2009; 90: 1144-1150.
23. Osman H, Usta IM, Rubeiz N, Abu-Rustum R, Charara I, Nassar AH. Cocoa butter lotion for prevention of striae gravidarum: a double-blind, randomised and placebo-controlled trial. *BJOG* 2008; 115: 1138-1142.
24. Buchanan K, Fletcher HM, Reid M. Prevention of striae gravidarum with cocoa butter cream. *Int J Gynaecol Obstet* 2010; 108: 65-68.
25. Moore J, Kelsberg G, Safranek S. Clinical Inquiry: Do any topical agents help prevent or reduce stretch marks?. *J Fam Pract* 2012; 61: 757-758.
26. Herraiz T. Tetrahydro- β -carbolines, potential neuroactive alkaloids, in chocolate and cocoa. *J Agric Food Chem* 2000; 48: 4900-4904.
27. Langer S, Marshall LJ, Day AJ, Morgan MR. Flavanols and methylxanthines in commercially available dark chocolate: a study of the correlation with nonfat cocoa solids. *J Agric Food Chem* 2011; 59: 8435-8441.
28. Geraets L, Moonen HJ, Wouters EF, Bast A, Hageman GJ. Caffeine metabolites are inhibitors of the nuclear enzyme poly(ADP-ribose)polymerase-1 at physiological concentrations. *Biochem Pharmacol* 2006; 72: 902-910.
29. Usmani OS, Belvisi MG, Patel HJ, Crispino N, Birrell MA, Korbonits M, Korbonits D, Barnes PJ. Theobromine inhibits sensory nerve activation and cough. *FASEB J* 2005; 19: 231-233.
30. Smit HJ, Gaffan EA, Rogers PJ. Methylxanthines are the psycho-pharmacologically active constituents of chocolate. *Psychopharmacology* 2004; 176: 412-419.
31. Smit HJ, Blackburn RJ. Reinforcing effects of caffeine and theobromine as found in chocolate. *Psychopharmacology* 2005; 181:101-106.
32. Andújar I, Ríos JL, Giner RM, Cerdá-Nicolás M, Recio MC. Beneficial effect of shikonin on experimental colitis induced by dextran sulfate sodium in BALB/c mice. *Evid Based Complement Alternat Med* 2012; 271606 (5 páginas).

33. Lee KW, Kim YJ, Lee HJ, Lee CY. Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *J Agric Food Chem* 2003; 51: 7292-7295.
34. Schroeder P, Klotz LO, Buchczyk DP, Sadik CD, Schewe T, Sies H. Epicatechin selectively prevents nitration but not oxidation reactions of peroxynitrite. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 285: 782-787.
35. Verstraeten SV, Hammerstone JF, Keen CL, Fraga CG, Oteiza PI. Antioxidant and membrane effects of procyanidin dimers and trimers isolated from peanut and cocoa. *J Agric Food Chem* 2005; 53: 5041-5048.
36. Rutter GA. Nutrient-secretion coupling in the pancreatic islet β -cell: Recent advances. *Mol Aspects Med* 2001; 22: 247-284.
37. Hanhineva K, Törrönen R, Bondia-Pons I, Pekkinen J, Kolehmainen M, Mykkänen H, Poutanen K. Impact of dietary polyphenols on carbohydrate metabolism. *Int J Mol Sci* 2010; 11: 1365-1402.
38. Grassi D, Desideri G, Necozione S, Lippi C, Casale R, Properzi G, Blumberg JB, Ferri C. Blood pressure is reduced and insulin sensitivity increased in glucose-intolerant, hypertensive subjects after 15 days of consuming high-polyphenol dark chocolate. *J Nutr* 2008; 138: 1671-1676.
39. Almoosawi S, Fyfe L, Ho C, Al-Dujaili E. The effect of polyphenol-rich dark chocolate on fasting capillary whole blood glucose, total cholesterol, blood pressure and glucocorticoids in healthy overweight and obese subjects. *Br J Nutr* 2010; 103: 842-850.
40. Gu Y, Hurst WJ, Stuart DA, Lambert JD. Inhibition of key digestive enzymes by cocoa extracts and procyanidins. *J Agric Food Chem* 2011; 59: 5305-5311.
41. Yasuda A, Natsume M, Osakabe N, Kawahata K, Koga J. Cocoa polyphenols influence the regulation of apolipoprotein in HepG2 and Caco2 cells. *J Agric Food Chem* 2011; 59: 1470-1476.
42. Oleaga C, Ciudad CJ, Izquierdo-Pulido M, Noé V. Cocoa flavanol metabolites activate HNF-3 β , Sp1, and NFY-mediated transcription of apolipoprotein AI in human cells. *Mol Nutr Food Res* 2013; 10 páginas.
43. Khan N, Monagas M, Andrés-Lacueva C, Casas R, Urpi-Sardá M, Lamuela-Raventós RM, Estruch R. Regular consumption of cocoa powder with milk increases HDL cholesterol and reduces oxidized LDL levels in subjects at high-risk of cardiovascular disease. *Nutr Metabol Cardiovasc Dis* 2012; 22: 1046-1053.
44. Jia L, Liu X, Bai YY, Li SH, Sun K, He C, Hui R. Short-term effect of cocoa product consumption on lipid profile: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr* 2010; 92: 218-225.
45. Corti R, Flammer AJ, Hollenberg NK, Lüscher TF. Cocoa and cardiovascular health. *Circulation* 2009; 119: 1433-1441.
46. Ding EL, Hutfless SM, Ding X, Girotra S. Chocolate and prevention of cardiovascular disease: A systematic review. *Nutr Metabol* 2006; 3: 2 (12 páginas).
47. Gómez-Mu M, González-Torres L, Bravo L, Vaquero MP, Bastida S, Sánchez-Muñiz FJ. Efectos beneficiosos del chocolate en la salud cardiovascular. *Nutr Hosp* 2011; 26: 289-292.
48. Khawaja O. Chocolate and coronary heart disease: a systematic review. *Curr Atheroscler Rep* 2011; 13: 447-452.
49. Habauzit V, Morand C. Evidence for a protective effect of polyphenols-containing foods on cardiovascular health: an update for clinicians. *Ther Adv Chronic Dis* 2012; 3: 87-106.
50. Sies H, Schewe T, Heiss C, Kelm M. Cocoa polyphenols and inflammatory mediators. *Am J Clin Nutr* 2005; 81: 304S-312S.
51. Schini-Kerth VB, Auger C, Etienne-Selloum N, Chataigneau T. Polyphenol-induced endothelium-dependent relaxations role of NO and EDHF. *Adv Pharmacol* 2010; 60: 133-175.
52. Quiñones M, Mugerza B, Miguel M, Aleixandre A. Evidence that nitric oxide mediates the blood pressure lowering effect of a polyphenol-rich cocoa powder in spontaneously hypertensive rats. *Pharmacol Res* 2011; 64: 478-481.
53. Rimbach G, Melchin M, Moehring J, Wagner AE. Polyphenols from cocoa and vascular health—A critical review. *Int J Mol Sci* 2009; 10: 4290-4309.
54. Grassi D, Desideri G, Ferri C. Blood pressure and cardiovascular risk: What about cocoa and chocolate?. *Arch Biochem Biophys* 2010; 501: 112-115.
55. Ried K, Frank OR, Stocks NP. Dark chocolate or tomato extract for prehypertension: a randomised controlled trial. *BMC Complement Altern Med* 2009; 9:22 (12 páginas).
56. Flammer AJ, Sudano I, Wolfrum M, Thomas R, Enseleit F, Périat D, Kaiser P, Hirt A, Hermann M, Serafini M, Lévêques A, Lüscher TF, Ruschitzka F, Noll G, Corti R. Cardiovascular effects of flavanol-rich chocolate in patients with heart failure. *Eur Heart J* 2012; 33: 2172-2180.
57. Flammer AJ, Spiekler L, Hermann M, Ruschitzka F, Noll G, Corti R. Dark chocolate improves coronary vasomotion and reduces platelet reactivity. *Circulation* 2007; 116: 2376-2382.
58. Lee KW, Kang NJ, Oak MH, Hwang MK, Kim JH, Schini-Kerth VB, Lee HJ. Cocoa procyanidins inhibit expression and activation of MMP-2 in vascular smooth muscle cells by direct inhibition of MEK and MT1-MMP activities. *Cardiovasc Res* 2008; 79: 34-41.
59. Mao TK, Van De Water J, Keen CL, Schmitz HH, Gershwin ME. Cocoa flavonols and procyanidins promote transforming growth factor- β 1 homeostasis in peripheral blood mononuclear cells. *Exp Biol Med* 2003; 228: 93-99.
60. Ramiro E, Franch A, Castellote C, Pérez-Cano F, Permanyer J, Izquierdo-Pulido M, Castell M. Flavonoids from Theobroma cocoa down-regulate inflammatory mediators. *J Agric Food Chem* 2005; 53: 8506-8511.
61. Zhang WY, Liu HQ, Xie KQ, Yin LL, Li Y, Kwik-Urbe CL. Procyanidin dimer B2 [epicatechin-(4b-8)-epicatechin] suppresses the expression of cyclooxygenase-2 in endotoxin-treated monocytic cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 345: 508-515.
62. Romier-Crouzet B, Van De Walle J, During A, Joly A, Rousseau C, Henry O, Larondelle Y, Schneider YJ. Inhibition of inflammatory mediators by polyphenolic plant extracts in human intestinal Caco-2 cells. *Food Chem Toxicol* 2009; 47: 1221-1230.

63. Rodríguez-Ramiro I, Ramos S, López-Oliva E, Agis-Torres A, Bravo L, Goya L, Martín MA. Cocoa polyphenols prevent inflammation in the colon of azoxymethane-treated rats and in TNF- α -stimulated Caco-2 cells. *Br J Nutr* 2012; (10 páginas).
64. Cho ES, Lee KW. Cocoa procyanidins protect PC12 cells from hydrogen-peroxide-induced apoptosis by inhibiting activation of p38 MAPK and JNK. *Mutat Res* 2008; 640: 123-130.
65. Rodríguez-Ramiro I, Ramos S, López-Oliva E, Agis-Torres A, Gómez-Juaristi M, Mateos R, Bravo L, Goya L. Cocoa-rich diet prevents azoxymethane-induced colonic preneoplastic lesions in rats by restraining oxidative stress and cell proliferation and inducing apoptosis. *Mol Nutr Food Res* 2011; 55: 1895-1899.
66. Siddique HR, Liao DJ, Mishra SM, Schuster T, Wang L, Matter B, Campbell PM, Villalta P, Nanda S, Deng Y, Saleem M. Epicatechin-rich cocoa polyphenol inhibits Kras-activated pancreatic ductal carcinoma cell growth in vitro and in a mouse model. *Int J Cancer* 2012; 131: 1720-1731.
67. Yamagishi M, Osakabe N, Natsume M, Adachi T, Takizawa T, Kumon H, Osawa T. Anticlastogenic activity of cocoa: inhibitory effect of cocoa liquor polyphenols against mitomycin C-induced DNA damage. *Food Chem Toxicol* 2001; 39: 1279-1283.
68. Martín MA, Ramos S, Mateos R, Granado-Serrano AB, Izquierdo-Pulido M, Bravo L, Goya L. Protection of human HepG2 cells against oxidative stress by cocoa phenolic extract. *J Agric Food Chem* 2008; 56: 7765-7772.
69. Carnésecchi S, Schneider Y, Lazarus SA, Coehlo D, Gossé F, Raul F. Flavanols and procyanidins of cocoa and chocolate inhibit growth and polyamine biosynthesis of human colonic cancer cells. *Cancer Lett* 2002; 175: 147-155.
70. Ohno M, Sakamoto KQ, Ishizuka M, Fujita S. Crude cocoa Theobroma cocoa extract reduces mutagenicity induced by benzo[a]pyrene through inhibition of CYP1A activity in vitro. *Phytother Res* 2009; 23: 1134-1139.
71. Oleaga C, García M, Solé A, Ciudad CJ, Izquierdo-Pulido M, Noé V. CYP1A1 is overexpressed upon incubation of breast cancer cells with a polyphenolic cocoa extract. *Eur J Nutr* 2012; 51: 465-476.
72. Kang NJ, Lee KW, Lee DE, Rogozin EA, Bode AM, Dong Z. Cocoa procyanidins suppress transformation by inhibiting mitogen-activated protein kinase kinase. *J Biol Chem* 2008; 283: 20664-20673.
73. Kim JE, Son JE, Jung SK, Kang NJ, Lee CY, Lee KW, Lee HJ. Cocoa polyphenols suppress TNF- α -induced vascular endothelial growth factor expression by inhibiting phosphoinositide 3-kinase (PI3K) and mitogen activated protein kinase kinase-1 (MEK1) activities in mouse epidermal cells. *Br J Nutr* 2010; 104: 957-964.
74. Ferrazzano GF, Amato I, Ingenito A, De Natale A, Pollio A. Anticariogenic effects of polyphenols from plant stimulant beverages (cocoa, coffee, tea). *Fitoterapia* 2009; 80: 255-262.
75. Tomofuji T, Ekuni D, Irie K, Azuma T, Endo Y, Yamaki N, Sanbe T, Murakami J, Yamamoto T, Morita M. Preventive effects of a cocoa-enriched diet on gingival oxidative stress in experimental periodontitis. *J Periodontol* 2009; 80: 1799-1808.
76. Mao TK, Van de Water J, Keen CL, Schmitz HH. Effect of cocoa flavanols and their related oligomers on the secretion of interleukin-5 in peripheral blood mononuclear cells. *J Med Food* 2002; 5: 17-22.
77. Sanbongi C, Suzuki N, Sakane T. Polyphenols in chocolate, which have antioxidant activity, modulate immune functions in humans in vitro. *Cell Immunol* 1997; 177, 129-136.
78. Abril-Gil M, Massot-Cladera M, Pérez-Canoa FJ, Castellotea C, Francha A, Castell M. A diet enriched with cocoa prevents IgE synthesis in a rat allergy model. *Pharmacol Res* 2012; 65: 603-608.
79. Katz DL, Doughty K. Cocoa and chocolate in human health and disease. *Antiox Redox Signal* 2011; 15: 2779-2811.
80. Sathyapalan T, Beckett S, Rigby AS, Mellor DD, Atkin SL. High cocoa polyphenol rich chocolate may reduce the burden of the symptoms in chronic fatigue syndrome. *Nutr J* 2010; 9: 55 (5 páginas).
81. Bisson J F, Nejdí A, Rozan P, Hidalgo S, Lalonde R, Messaoudi M. Effects of long-term administration of a cocoa polyphenolic extract (Acticoa powder) on cognitive performances in aged rats. *Br J Nutr* 2008; 100: 94-101.
82. Addai FK. Natural cocoa as diet-mediated antimalarial prophylaxis. *Med Hypotheses* 2010; 74: 825-830.
83. Gasser P, Lati E, Peno-Mazzarino L, Bouzoud D, Allegaert L, Bernaert H. Cocoa polyphenols and their influence on parameters involved in ex vivo skin restructuring. *Int J Cosmet Sci* 2008; 30, 339-345.
84. Williamson G. Bioavailability and health effects of cocoa polyphenols. *Inflammopharmacology* 2009; 17: 111.
85. Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jiménez L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr* 2004; 79: 727-747.
86. Spencer JPE, Chaudry F, Pannala AS, Srai SK, Debnam E, Rice-Evans C. Decomposition of cocoa procyanidins in the gastric milieu. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 272: 236-241.
87. Rios LY, Bennett RN, Lazarus SA, Rémésy C, Scalbert A, Williamson G. Cocoa procyanidins are stable during gastric transit in humans. *Am J Clin Nutr* 2002; 76: 1106-1110.
88. Vitaglione P, Barone Lumaga R, Ferracane R, Sellitto S, Morrelló JR, et al. Human bioavailability of flavanols and phenolic acids from cocoa-nut creams enriched with free or microencapsulated cocoa polyphenols. *Br J Nutr*. 2013;109 (10): 1832-43. doi: 10.1017/S0007114512003881.
89. Pérez-Cano FJ, Massot-Cladera M, Franch A, Castellote C, Castell M. The effects of cocoa on the immune system. *Front Pharmacol*. 2013; 4: 71 (12 páginas). doi: 10.3389/fphar.2013.00071. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3671179/pdf/fphar-04-00071.pdf>