

Efectos saludables del aceite de oliva: La perspectiva desde la Nutrigenómica

José López-Miranda

Unidad de Lípidos y Arteriosclerosis.

Departamento de Medicina.

Hospital Universitario Reina Sofía. Universidad de Córdoba, España.

En la última década ha crecido el interés por la Dieta Mediterránea (DM), incluso entre nutricionistas ajenos a nuestro ámbito geográfico. Ello es debido, en gran medida, a que su consumo se vincula a una mayor longevidad, mejor calidad de vida y menor incidencia de enfermedades cardiovasculares, cáncer o deterioro cognitivo, a pesar de ser un modelo de alimentación con un elevado contenido graso, en contraste con las dietas recomendadas durante décadas por los nutricionistas anglosajones¹. Por otra parte, la DM comparte muchas de las características de otras dietas saludables, como la vegetariana, la de los países latinos o las de las poblaciones orientales², pero el hecho de que tenga un alto contenido en grasa le da un interés gastronómico especial, ya que aumenta su palatabilidad y explica que goce de gran aceptación popular. Ahora bien, la mayor parte de su contenido graso procede de un solo alimento, el aceite de oliva, lo que explica que sea una dieta pobre en grasa saturada y rica en monoinsaturada (MONO), en especial en ácido oleico. Adicionalmente, las características gastronómicas de dicho alimento favorecen que se consuman con más facilidad distintos productos vegetales, como las frutas, verduras, legumbres, hortalizas y cereales, alimentos con alto contenido en hidratos de carbono de baja carga glucémica y de gran potencialidad saludable³. Gracias a ello los beneficios de la DM no se deben exclusivamente al aceite de oliva, sino al conjunto global de la dieta. Durante muchos siglos la producción de aceite de oliva se circunscribía a la cuenca del Mar Mediterráneo, por lo que una dieta de esas características sólo era posible en los países de su entorno. En los últimos años, y gracias a la moderna tecnología, se dispone para la nutrición humana de otros aceites, con una composición grasa parecida, como son los procedentes de ciertas semillas, con variedades altas en oleico, como el girasol, soja y colza. Ello ha generado un nuevo concepto de DM, de lo que son ejemplos la Dieta del Estudio de Lyon y la Dieta Indomediterránea, en los que el ácido oleico alimentario no procede predominantemente del aceite de oliva sino de distintas variedades de semillas^{4,5}. Sin embargo, esos aceites tienen una diferencia fundamental con el procedente de la aceituna, y es que este último es un zumo natural, que contiene cientos de microcomponentes no grasos, de gran interés biológico, entre los que se incluyen la vitamina E, los carotenos, el escualeno, la clorofila y, en especial, los compuestos fenólicos. Dentro de ellos los más numerosos pertenecen a tres clases, los fenoles simples (tirosoles e hidroxitirosoles), los secoroides (la oleuropeína y sus formas conjugadas) y los lignanos⁶. En contraposición con ello, los

aceites procedentes de semillas han de ser refinados antes de su consumo, por lo que carecen de la gran mayoría de sus microcomponentes originales, con lo que son casi exclusivamente una fuente de grasa. Por otra parte, desde el Estudio de los Siete Países y los conocidos trabajos de Keys, surgió un gran interés por clarificar el efecto de la grasa MONO sobre el metabolismo del colesterol^{7,8}. Posteriormente, en especial en la última década, se ha desarrollado un nuevo paradigma, con la demostración de que los efectos de la dieta van mucho más allá del colesterol e, incluso, de los factores de riesgo tradicionales^{9,10,11,12,13}.

Aceite de oliva y factores de riesgo cardiovascular

Los beneficios más conocidos de la dieta rica en MONO, sobre los niveles plasmáticos de colesterol, fueron los primeros que generaron interés por la DM. Como corolario de ello, el 1 de noviembre del 2004, la FDA (Food and Drug Administration) americana autorizó la difusión de mensajes saludables sobre el aceite de oliva, señalando que dos cucharaditas diarias (23 gramos) pueden reducir el riesgo coronario, cuando reemplaza a la misma cantidad de grasa saturada¹⁴. Es de notar que el informe se apoyó en 73 ensayos clínicos, destacando cuatro de ellos por su especial calidad, siendo dos de ellos de nuestro propio grupo, uno de otro autor español y el cuarto de un grupo americano^{15,16,17,18}. Gracias a ello quedó establecido que el consumo de dicho alimento mantiene el colesterol HDL y reduce el colesterol LDL, cuando sustituye a una fuente de grasa saturada. Pero además, los MONO disminuyen los triglicéridos al sustituir a los hidratos de carbono, en el contexto de las dietas pobres en grasa. Puesto que este efecto sobre el colesterol LDL y HDL se ha demostrado con aceites ricos en MONO, cualquiera que fuera su origen, este efecto no es exclusivo del aceite de oliva sino que lo producen otros aceites refinados, ricos en ácido oleico¹⁹. No obstante, hay datos experimentales que indican que los polifenoles de los aceites virgen y extravirgen podrían influir adicionalmente en el metabolismo lipídico, reduciendo la actividad de la HMG-CoA reductasa y modificando los niveles lipídicos²⁰. Además recientemente en el estudio EUROLIVE se ha demostrado que los aceites de oliva ricos en compuestos fenólicos inducen un mayor aumento en los niveles de HDL-c asociado a una reducción del daño oxidativo y del estrés oxidativo. Además de los efectos sobre el metabolismo lipídico tradicional, el aceite de oliva puede influenciar el metabolismo lipídico postprandial, como han mostrado recientes estudios.

La lipemia postprandial es la situación metabólica habitual en la que se encuentra el ser humano a lo largo del día, y se caracteriza por un aumento de los triglicéridos totales y de las lipoproteínas ricas en triglicéridos de origen intestinal y hepático. Diversos estudios sugieren que dichas partículas contribuyen al desarrollo de la arteriosclerosis. Por otra parte la lipemia postprandial está influenciada por el tipo de grasa presente en la dieta²¹. Los quilomicrones que se originan tras la ingesta del aceite de oliva entran más rápidamente en la circulación y son aclarados de forma precoz que aquellos que se originan tras la ingesta de la grasa saturada²² o poliinsaturada, como el aceite de cártamo. El metabolismo acelerado de los quilomicrones otorgaría al aceite de oliva una característica menos aterogénica, incluso si la magnitud de la lipemia postprandial fuera similar que la originada por otros tipos de grasa. Por otra parte, diferentes tipos de

aceites ricos en MONO pueden originar niveles similares de lípidos plasmáticos, en el estado basal y, sin embargo, la respuesta postprandial puede ser diferente. En este sentido, Abia et al. demostraron que el consumo del aceite de oliva virgen, comparado con el aceite de girasol alto en oleico, reduce la respuesta de las lipoproteínas ricas en triglicéridos durante el postprandio²³. Esto sugiere que existen otros factores en la composición del aceite de oliva que pueden ser responsables de estos efectos metabólicos. Un nuevo concepto, que actualmente está en estudio, es el de la influencia de la dieta habitual sobre la respuesta postprandial a la ingesta lipídica. Silva et al. compararon una dieta rica en grasa saturada (dieta control) frente a otras dos, con un contenido moderado o alto en MONO²⁴. Tras la intervención, las ricas en grasa MONO redujeron la producción de apoB-48, lo que sugiere que el tamaño de los quilomicrones se incrementa con dicha grasa, concluyendo que origina quilomicrones de mayor tamaño y potencialmente menos aterogénicos.

Otro factor de riesgo, también muy vinculado a la dieta, es la presión arterial. Su posible modificación por el aceite de oliva es menos conocida que lo que sucede con el metabolismo lipídico, aunque desde hace años se ha sugerido en estudios observacionales y, últimamente, en la cohorte española del Proyecto SUN²⁵. Algunos ensayos clínicos, realizados recientemente en personas sanas, han profundizado igualmente en el beneficio de la DM, mostrando una reducción de los niveles tensionales, en comparación con dietas pobres en grasa, o ricas en saturada^{26,27}. Un efecto similar se ha constatado en diabéticos tipo 2²⁸ y, en un estudio muy interesante, Ferrara et al²⁹ refrendó el efecto beneficioso del aceite de oliva en pacientes hipertensos, al ver que, los que seguían una dieta rica en grasa poliinsaturada, requerían más tratamiento antihipertensivo que los que consumían aceite de oliva. También se ha demostrado que la ingesta isocalórica de este alimento, comparado con el de girasol, reduce la presión sistólica en ancianos hipertensos³⁰, lo que no se ha confirmado al comparar los aceites de oliva virgen y de soja, en pacientes hipertensos³¹. Pero los datos más recientes y especialmente interesantes son los de Esposito et al. quienes mostraron, en un total de 180 pacientes con síndrome metabólico, que una DM se asociaba a una significativa reducción de la presión sistólica y diastólica a largo plazo (dos años), además de inducir otros muchos efectos antiinflamatorios y metabólicos, como luego comentaremos³². Aunque en el modelo global de DM hay otros nutrientes que podrían reducir las cifras tensionales, el aporte tan importante de calorías que supone el aceite de oliva le da un protagonismo especial a este alimento. Más recientemente Psaltopoulou T et al., en una cohorte griega perteneciente al estudio EPIC, que incluía a más de 20.000 personas, observaron que la adherencia a la DM se asociaba a cifras tensionales más bajas, siendo el aceite de oliva un predictor individual de dicho efecto³³. Pero también existen trabajos que sugieren que tal acción no tendría que ser exclusiva de la grasa MONO, sino de los microcomponentes del aceite de oliva virgen. En un ensayo clínico, realizado en mujeres hipertensas, se constató que el beneficio tensional se evidenciaba especialmente con este tipo de aceite, y no cuando se consume aceite de girasol alto en oleico³⁴. Aunque esos hallazgos no siempre se han confirmado en personas sanas³⁵, cabe la posibilidad de que los componentes no grasos pudieran tener un efecto hipotensor propio. Ello sugiere el estudio de Fitó et al., quienes observaron

que el aceite de oliva, con elevado contenido en compuestos fenólicos, reducía la presión sistólica en pacientes hipertensos, con enfermedad coronaria, al compararlo con un aceite refinado del mismo origen³⁶. Tal vez tales efectos varían entre grupos de población, lo que puede limitar la generalización de los resultados, aunque el tema podría ser mucho más complejo, como se deduce del estudio de Soriguer et al.³⁷. En él se encontró una relación inversa entre el consumo de MONO, en una población bien controlada, y los niveles de tensión arterial, asociándose el riesgo de hipertensión con la presencia de compuestos polares en el aceite utilizado para freír. En el futuro merecerá la pena profundizar en estas observaciones que atañen al modo como se procesan los alimentos.

Otro factor de riesgo cardiovascular principal es la diabetes mellitus tipo 2. En un estudio ya clásico se demostró que una dieta rica en MONO (33% del aporte calórico diario), redujo las necesidades de insulina en pacientes diabéticos, en comparación con otra rica en hidratos de carbono³⁸. Diferentes estudios posteriores parecían corroborar tales datos, y un metaanálisis mostró que la grasa MONO, comparada con los hidratos de carbono, mejoró tanto el perfil lipídico como el índice glucémico, sin diferencias en los niveles de insulina basales y en los de hemoglobina glicada³⁹. Desde entonces se han completado varios ensayos clínicos, con resultados dispares, al no confirmar siempre diferencias en el control glucémico, o en el perfil lipídico, de enfermos o de personas en alto riesgo de desarrollar diabetes tipo 2^{40,41,42}. En un trabajo posterior de nuestro grupo, en una población joven y sana, no se observaron diferencias en la sensibilidad periférica a la insulina tras la ingesta de una dieta rica en MONO, frente otra rica en hidratos de carbono⁴³. Otra cuestión diferente es lo que sucede con los saturados, como recientemente, en el estudio KANWU, han demostrado Vessby et al. Al modificar la proporción de ácidos grasos, disminuyendo los saturados y aumentando los MONO, se mejora la sensibilidad a la hormona en personas sanas, aunque no se modificó su secreción⁴⁴. Por tanto, la ingesta de grasa saturada puede aumentar la resistencia a la insulina, mientras que la MONO la disminuye, estando condicionado el efecto de los hidratos de carbono a la sensibilidad previamente subyacente a la acción de la hormona. Además recientemente en el estudio PREDIMED se ha demostrado que el consumo de una dieta mediterránea rica en aceite de oliva y en frutos secos reduce el riesgo de desarrollar una diabetes tipo 2 en comparaci

Efectos del aceite de oliva sobre otros mecanismos de la arteriosclerosis.

A partir de los llamativos resultados del “Estudio del Corazón de Lyon”, en que el beneficio cardiovascular quedaba sin explicar por la modificación de los factores de riesgo, se comenzó a pensar que la intervención dietética induce efectos mucho más complejos que la acción sobre las lipoproteínas. A partir de ahí se ha desarrollado una extensa investigación, confirmándose los múltiples efectos “pleiotrópicos” de la grasa MONO, como antes hemos apuntado. Pero además, existen datos que sugiriendo que, en el caso del aceite de oliva virgen, se producirían beneficios adicionales, dependientes también de sus componentes minoritarios, como seguidamente comentaremos.

Aceite de oliva, endotelio y mecanismos de la aterogénesis.

La alteración inicial, que precede al desarrollo de arteriosclerosis, es la afectación endotelial, lo que condiciona que sus células expresen en la superficie moléculas, que favorecen la adhesión de las células mononucleares circulantes. De este modo se iniciaría el proceso inflamatorio que conduce a la pérdida de sus propias funciones. Entre ellas es especialmente relevante la respuesta vasodilatadora dependiente del óxido nítrico, y la capacidad de reducir el riesgo trombogénico, al cual nos hemos referido. El mecanismo celular que media la expresión de los genes de respuesta inflamatoria, tanto en el endotelio como en las demás células que participan en la inflamación de la pared vascular, depende de los factores de transcripción, entre los que es especialmente conocido el NF- κ B, mediador que es sensible a los cambios oxidativos. En este campo tiene especial interés la demostración de que la suplementación con ácido oleico, a un medio de cultivo de células endoteliales, reduce la activación transcripcional del citado factor en dichas células, de un modo similar a como lo hace un ácido graso omega-3, el alfa linolénico, y al contrario del efecto proinflamatorio del ácido linoleico⁴⁵. Este hecho es congruente con la demostración previa de Carluccio et al., quienes observaron, también en un modelo de cultivo de células endoteliales, que la incorporación de ácido oleico a los lípidos de la membrana celular disminuyó la expresión de la molécula de adhesión VCAM-1, la primera que se expresa en la superficie de las células, cuando se inicia su activación⁴⁶. Esta acción antiinflamatoria de los MONO también explica que, el enriquecimiento de las partículas de LDL con ácido oleico, durante el consumo de distintos tipos de dieta, disminuyera su capacidad para inducir quimiotaxis y adhesión de los monocitos⁴⁷. En un paso más, nosotros hemos observado recientemente que la ingesta de aceite de oliva reducía la expresión de NF- κ B en células mononucleares, obtenidas durante la fase postprandial de personas sanas, de un modo similar a lo que también se observaba con la ingesta de ácido linolénico, y al contrario del efecto proinflamatorio de la grasa saturada. Pero además, en ese mismo estudio, el aceite de oliva redujo el nivel plasmático de otra molécula de adhesión, el ICAM-1⁴⁸. Este efecto antiinflamatorio se ha observado, en el caso de la DM, tanto en estudios observacionales como de intervención. Especialmente relevante es el trabajo, antes mencionado, y publicado por Esposito et al. al observar, en un ensayo clínico sobre 180 pacientes con síndrome metabólico, de dos años de duración, que la DM redujo la prevalencia de dicho síndrome, mejorando la sensibilidad a la insulina y disminuyendo los niveles de PCR e interleucinas 6, 7, 18.

Aunque aún nos movemos en un terreno bastante especulativo, el efecto antiinflamatorio del aceite de oliva habría que considerarlo en el contexto de la inflamación que se produce durante la ingesta de dietas de alta energía, capaces de promover una superproducción de especies reactivas de oxígeno y de inducir cambios en la Fracción 3 del complemento, con la consiguiente puesta en marcha de la disfunción endotelial, adhesión de leucocitos a la pared y consiguiente emigración al espacio subendotelial^{49,50}. Existen datos sugestivos de que las grasas con capacidad antioxidante o estabilizadoras de las membranas podrían proteger a las células endoteliales⁵¹. En este contexto, los MONO tendrían un menor efecto prooxidante,

evitando la activación de las células de la pared vascular. Esta capacidad se conoce desde hace años, cuando se demostró que las LDL aumentan su resistencia a la oxidación cuando la dieta tiene un mayor contenido en dicho tipo de grasa^{52,53,54}. Pero además, en el caso del aceite de oliva y por el efecto añadido de sus microcomponentes, su capacidad para amortiguar el ambiente prooxidante sería mayor, como se ha demostrado en los últimos años^{55,56,57,58}. De tales microcomponentes, la fracción probablemente más implicada, en dicha protección, son los compuestos fenólicos, entre los que predominan la oleuropeína, una aglicona en cuya hidrólisis se genera tirosol e hidroxitirosol, que en su forma libre y en sus formas secoroides y conjugadas representan el 80% de los compuestos fenólicos del aceite de oliva virgen. Estos productos se absorben en el intestino humano, de manera dosis dependiente, y en estudios experimentales han mostrado propiedades antioxidantes, actividad quimiopreventiva y capacidad para mejorar la función endotelial, disminuyendo la expresión de moléculas de adhesión celular, aumentando la disponibilidad de óxido nítrico y neutralizando los radicales libres intracelulares. Además, también pueden modificar la hemostasia, inhibiendo la agregación plaquetaria y mostrando propiedades antitrombóticas, tanto en estudios experimentales como de intervención humana⁵⁹. Se ha observado que la ingesta de aceite de oliva virgen, rico en dichos componentes, aumenta el contenido fenólico total de las LDL, por lo que serían susceptibles a ejercer su acción en la íntima arterial, donde se desarrolla la oxidación de las LDL. Por otra parte, existen estudios experimentales indicativos de que estos compuestos disminuyen *in vitro* la oxidación de las LDL⁶⁰, aunque el efecto antioxidante se detecta también *in vivo*, con un volumen de ingesta de aceite de oliva que entra dentro del consumo habitual. Por lo tanto la DM podría modular el estrés oxidativo celular, modificando las lipoproteínas y regulando a la baja los mediadores inflamatorios, amortiguando la activación de los genes implicados en la inflamación, probablemente a través del NF-κB u otros factores de transcripción. La riqueza en microcomponentes, del aceite de oliva virgen, es muy elevada y aún no conocemos el efecto de la mayoría de ellos, siendo posible incluso que actúen por un efecto directo, similar al de los antiinflamatorios no esteroideos, inhibiendo al sistema de las ciclooxigenasas, sin tener que mediar su acción por la acción antioxidante⁶¹.

Como antes indicamos, existen evidencias de que la capacidad vasodilatadora del endotelio, dependiente de la biodisponibilidad endotelial de óxido nítrico, es uno de los mecanismos que primero se altera cuando dicha estructura se lesiona. Este fenómeno es tan precoz que incluso se detecta en presencia de un factor de riesgo aislado, sin necesidad de que existe una alteración anatómica demostrable de la pared arterial. El interés de este fenómeno se justifica porque dicha alteración tiene carácter predictivo del riesgo de sufrir episodios coronarios, además de que se dispone de métodos no cruentos para su detección, aunque no estén validados para la toma de decisiones en la clínica^{62,63}. En los últimos años se ha demostrado que distintos nutrientes, en especial los de mayor capacidad antioxidante, el ácido fólico, la grasa omega-3 o alimentos como el vino o el té, pueden mejorar la respuesta vasodilatadora endotelial^{64,65}. El efecto vasodilatador de los MONO es menos conocido, ya que los estudios iniciales mostraron que la ingesta de cualquier tipo de grasa empeoraría la respuesta

vasodilatadora, corrigiéndose con la administración simultánea de antioxidantes, como vitamina E y C o una ensalada con vinagre⁶⁶. En un estudio de nuestro grupo observamos que un modelo de DM, en pacientes con hipercolesterolemia moderada, fue capaz de incrementar la dilatación dependiente del endotelio, respecto a una dieta rica en grasa saturada. Además, de un modo concordante, disminuyeron las cifras plasmáticas de P-selectina. Este estudio tiene el interés de que la dieta era rica en grasa, procedente en su mayoría del aceite de oliva virgen, desestimando la idea de que una ingesta elevada de grasa sería perjudicial. Para definir el posible papel de los MONO, y de los microcomponentes que existen en dicho alimento, hemos llevado a cabo un estudio, en pacientes con hipercolesterolemia, en el que observamos que la respuesta vasodilatadora, dependiente del endotelio, está condicionada por su riqueza en compuestos fenólicos. Pero además el aceite de oliva virgen indujo una mayor biodisponibilidad de óxido nítrico, reduciendo los niveles de marcadores de oxidación, como lipoperóxidos y F2- isoprostanos.

En resumen, la DM es un modelo de alimentación con abundante contenido en grasa MONO, capaz de inducir un amplio abanico de efectos biológicos sobre el sistema cardiovascular. Sin embargo, los estudios más recientes están definiendo gradualmente que hay algunos beneficios que dependen o se potencian con la ingesta de aceite de oliva rico en microcomponentes, como sucede con el aceite de oliva virgen. Por tanto este alimento tendría un doble beneficio, de una parte vinculado a su tipo de grasa y de otra dependiendo de su concentración en micronutrientes. Gracias a ello, el predominio de dicho alimento en nuestra dieta, favorecerá un mejor perfil lipídico, un ambiente menos protrombótico, tendrá un efecto antioxidante y antiinflamatorio, con mayor capacidad para proteger el endotelio. En el futuro, la aplicación de los enfoques disponibles de genómica funcional, las técnicas proteómicas, la metabonómica y la biología de sistemas, en su conjunto, facilitarán una comprensión más integral de sus efectos saludables. En cualquier caso parece evidente que la grasa fundamental de la DM debe ser el aceite de oliva y no otra fuente de grasa, aunque tengan un elevado contenido en ácido oleico.

Con el fin de avanzar en las evidencias clínicas, se han puesto en marcha varias iniciativas, dos de las cuales están lideradas en España. La primera que se inició, el estudio PREDIMED (PREvención con DIeta MEDiterránea), es un ensayo de intervención destinado a valorar la incidencia de enfermedades cardiovasculares en personas sin enfermedad previa (prevención primaria), comparando los efectos de una dieta baja en grasas con dos modelos de dieta mediterránea (una con mayor contenido en aceite de oliva y otra con mayor proporción de frutos secos). Dentro de este estudio, algunos resultados de cortes transversales y corto seguimiento ofrecen datos esperanzadores. El menor consumo de aceite de oliva se asoció a un mayor grosor de intima media (un factor de riesgo establecido para enfermedad cardiovascular). Además la Dieta Mediterránea reduce los niveles plasmáticos de glucosa, tensión arterial sistólica y proteína C reactiva, frente a la dieta pobre en grasa y aumenta el índice colesterol HDL/colesterol total. Dentro de esta población, la adherencia a Dieta Mediterránea, por encima de la mediana, se asocia a una menor probabilidad de presentar de forma concomitante HTA, diabetes, hipercolesterolemia y obesidad (Odds

ratio 0,67; (CI 95%: 0.53-0.85)(78). Para el año 2012 se espera disponer de los resultados del estudio, tras un seguimiento de 5 años. El segundo ensayo clínico es complementario de éste, porque pretende demostrar el beneficio de la Dieta Mediterránea en pacientes con enfermedad cardiovascular previa (Prevención secundaria). Se trata del CORDIOPREV (CORonary Diet Intervention with Olive oil and cardiovascular PREVention), iniciado a comienzos del 2010, pretende incluir en torno a 1000 pacientes, que se seguirán durante 5 años, por lo que no es de esperar disponer de resultados clínicos hasta el 2016.



Efectos del aceite de oliva en el contexto de una dieta Mediterránea sobre el riesgo Cardiovascular

Bibliografía

- ¹ Perez-Jimenez F. International conference on the healthy effect of virgin olive oil. *Eur J Clin Invest* 2005;35:421-4.
- ² Hu F. The Mediterranean diet and mortality. Olive oil and beyond. *N Engl J Med* 2003;348:2595-2596.
- ³ Serra-Majem Ll, Cruz JN, Ribas L, Tur JA. Olive oil and the Mediterranean diet: beyond the rhetoric. *Eur J Clin Nut* 2003;57:2-7.
- ⁴ Singh RB, Dubnov G, Niaz MA, Ghosh S, Singh R, Rastogi SS et al. Effect of an Indo-Mediterranean diet on progression of coronary artery disease in high risk patients (Indo-Mediterranean Diet Heart Study): a randomised single-blind trial. *Lancet* 2002; 360:1455-61.
- ⁵ de Lorgeril M, Renaud S, Mamelle N, Salen P, Martin JL, Monjaud I Guidollet J, Touboul P, Delaye J. Mediterranean alpha-linolenic acid-rich diet in secondary prevention of coronary heart disease. *Lancet* 1994;343:1454-59.
- ⁶ Owen RW, Giacosa A, Hull WE, Haubner R, Wurtele G, Spiegelhalder B, Bartsch H. Olive-oil consumption and health: the possible role of antioxidants. *Lancet Oncol.* 2000;1:107-12.
- ⁷ Keys, A. Coronary heart disease in seven countries. *Circulation* 1970; 41:1-211.
- ⁸ Mensink RP, Zock PL, Kester AD, Katan MB. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. *Am J Clin Nutr* 2003;77:1146-55.
- ⁹ Pérez-Jiménez F, Fuentes F, Fernández de la Puebla R, López-Miranda J. Efectos pleiotrópicos de la grasa de la dieta sobre el riesgo cardiovascular. *Clin Invest Arterioscler* 2003;15: 27-32.
- ¹⁰ Pérez-Jiménez F, López-Miranda J, Mata P. Protective effect of dietary monounsaturated fat on arteriosclerosis: beyond cholesterol. *Atherosclerosis* 2002; 163:385-98.
- ¹¹ Mutanen M, Freese R. Fats, lipids and blood coagulation. *Curr Opini Lipidol* 2001; 12:25-29.
- ¹² Moreno JJ, Mitjavila MT. The degree of unsaturation of dietary fatty acids and the development of atherosclerosis. *J Nut Biochem.* 2003;14:182-195.

¹³ Visioli F, Bogani P, Grande S, Galli C. Mediterranean food and health: building human evidence. *J Physiol Pharmacol.* 2005;56:37-49.

¹⁴ <http://www.fda.gov/bbs/topics/news/2004/NEW01129.html>

¹⁵ Jansen, S., Lopez-Miranda, J., Castro, P., Lopez-Segura, F., Marin, C., Ordovas, J.M., Paz E, Jimenez-Pereperez J, Fuentes F, Perez-Jimenez F. Low-fat and high-monounsaturated fatty acid diets decrease plasma cholesterol ester transfer protein concentrations in young, healthy, normolipemic men. *Am J Clin Nutr* 2000;72:36-41.

¹⁶ Fuentes, F, Jopez-Miranda, J, Sánchez, E, Sánchez, G, Paez, J, Paz-Rojas, E., Marin C, Gomez P, Jimenez-Pereperez J, Ordovas JM, Perez-Jimenez F. Mediterranean and low-fat diets improve endothelial function in hypercholesterolemic men. *Ann Intern Med* 2001;134:1115-19.

¹⁷ Mata P., Garrido J.A., Ordovas J.M., Blazquez E., Alvarez-Sala L.A., Rubio M.J., Alonso R, de Oya M. Effect of dietary monounsaturated fatty acids on plasma lipoproteins and apolipoproteins in women. *Am J Clin Nut* 1992;56:77-83.

¹⁸ Kris-Etherton P.M., Derr J., Mitchell D.C., Mustad V.A., Russell M.E., McDonnell ET, Salabsky D, Pearson TA. The role of fatty acid saturation on plasma lipids, lipoproteins, and apolipoproteins: I. Effects of whole food diets high in cocoa butter, olive oil, soybean oil, dairy butter, and milk chocolate on plasma lipids of young men. *Metabolism* 1993; 42:121-29.

¹⁹ Thijssen MA, Mensink RP. Small differences in the effects of stearic acid, oleic acid, and linoleic acid on the serum lipoprotein profile of humans. *Am J Clin Nutr.* 2005;82:510-6.

²⁰ Benkhalti F, Prost J, Paz E, Pérez-Jiménez F, El Modafar C, El Boustani S. Effects of feeding virgin olive oil or their polyphenols on lipid of rat liver. *Nut Res* 2002; 22:1067-75.

²¹ Williams, C. M. Dietary interventions affecting chylomicron and chylomicron remnant clearance. *Atherosclerosis* 1998;141:87-92.

²² Roche H. M., Zampelas A., Knapper J. M., Webb D., Brooks C., Jackson K. G., Wright J. W., Gould B. J., Kafatos A., Gibney M. J., Williams C. M. Effect of long-term olive oil dietary intervention on postprandial triacylglycerol and factor VII metabolism *Am J Clin Nutr* 1998;68:552-60.

²³ Abia R., Pacheco Y. M., Perona J. S., Montero E., Muriana F. J., Ruiz-Gutierrez V. The metabolic availability of dietary triacylglycerols from two high oleic oils during the

postprandial period does not depend on the amount of oleic acid ingested by healthy men *J Nutr* 2001;131:59-65.

²⁴ Silva K. D., Kelly C. N., Jones A. E., Smith R. D., Wootton S. A., Miller G. J., Williams C. M. Chylomicron particle size and number, factor VII activation and dietary monounsaturated fatty acids. *Atherosclerosis* 2003;166:73-84.

²⁵ Martinez-Gonzalez MA. The SUN cohort study (Seguimiento University of Navarra). *Public Health Nutr* 2006;9:127-31.

²⁶ Mensink R. P., Janssen M. C., Katan M. B. Effect on blood pressure of two diets differing in total fat but not in saturated and polyunsaturated fatty acids in healthy volunteers *Am J Clin Nutr* 1988;47:976-80.

²⁷ Salas J., Lopez Miranda J., Jansen S., Zambrana J. L., Castro P., Paniagua J. A., Blanco A., Lopez Segura F., Jimenez Pereperez J. A., Perez Jimenez F., Pereperez J. A. [The diet rich in monounsaturated fat modifies in a beneficial way carbohydrate metabolism and arterial pressure] *Med Clin (Barc)* 1999;113:765-69.

²⁸ Rasmussen O. W., Thomsen C., Hansen K. W., Vesterlund M., Winther E., Hermansen K. Effects on blood pressure, glucose, and lipid levels of a high-monounsaturated fat diet compared with a high-carbohydrate diet in NIDDM subjects *Diabet Care* 1993;16:1565-71.

²⁹ Ferrara L. A., Raimondi A. S., d'Episcopo L., Guida L., Dello Russo A., Marotta T. Olive oil and reduced need for antihypertensive medications *Arch Intern Med* 2000; 160:837-42.

³⁰ Perona J. S., Canizares J., Montero E., Sanchez-Dominguez J. M., Catala A., Ruiz-Gutierrez V. Virgin olive oil reduces blood pressure in hypertensive elderly subjects *Clin Nutr*, 2004; 23:1113-21.

³¹ Trifiletti A, Scamardi R, Gaudio A, Lasco A, Frisina N. Hemostatic effects of diets containing olive or soy oil in hypertensive patients. *J Thromb Haemost.* 2005; 3:179-80.

³² Esposito K., Marfella R., Ciotola M., Di Palo C., Giugliano F., Giugliano G., D'Armiento M., D'Andrea F. and Giugliano D. Effect of a mediterranean-style diet on endothelial dysfunction and markers of vascular inflammation in the metabolic syndrome: a randomized trial. *JAMA* 2004; 292:1440-46.

³³ Psaltopoulou T, Naska A, Orfanos P, Trichopoulos D, Mountokalakis T, Trichopoulou A. Olive oil, the Mediterranean diet, and arterial blood pressure: the

Greek European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) study. *Am J Clin Nutr* 2004;80:1012-8.

³⁴ Ruiz-Gutierrez V., Muriana F. J., Guerrero A., Cert A. M., Villar J. Plasma lipids, erythrocyte membrane lipids and blood pressure of hypertensive women after ingestion of dietary oleic acid from two different sources *J Hypertens* 1996;14:1483-90.

³⁵ Espino A, Lopez Miranda, Castro P, Rodriguez M, Lopez Segura F, Blanco A, Jimenez Pereperez JA, Ordovás JM, Pérez Jiménez F. Monounsaturated fatty acid enriched diets lower plasma insulin levels and blood pressure in healthy young men. *Nutr Metab Cardiovas Dis* 1996;6:147-54.

³⁶ Fito M, Cladellas M, de la Torre R, Marti J, Alcantara M, Pujadas-Bastardes M, Marrugat J, Bruguera J, Lopez-Sabater MC, Vila J, Covas MI; The members of the SOLOS Investigators. Antioxidant effect of virgin olive oil in patients with stable coronary heart disease: a randomized, crossover, controlled, clinical trial. *Atherosclerosis* 2005;181:149-58.

³⁷ Soriguer F, Rojo-Martinez G, Dobarganes MC, Garcia Almeida JM, Esteva I, Beltran M et al. Hypertension is related to the degradation of dietary frying oils. *Am J Clin Nutr*. 2003;78:1092-97.

³⁸ Garg A, Bonanome A, Grundy SM, Zhang Z-J, Unger RH. Comparison of high-carbohydrate diet with a high-monounsaturated-fat diet in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1988;319:829-34.

³⁹ Garg A. High-monounsaturated-fat diets for patients with diabetes mellitus: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr* 1998;67:577-82.

⁴⁰ Rodriguez-Villar C, Manzanares JM, Casals E, Perez-Heras A, Zambon D, Gomis R, Ros E. High-monounsaturated fat, olive oil-rich diet has effects similar to a high-carbohydrate diet on fasting and postprandial state and metabolic profiles of patients with type 2 diabetes. *Metabolism* 2000;49:1511-17.

⁴¹ Luscombe ND, Noakes M, Clifton PM. Diets high and low in glycemic index versus high monounsaturated fat diets: effects on glucose and lipid metabolism in NIDDM. *Eur J Clin Nutr* 1999;53:473-78.

⁴² Thomsen C, Rasmussen O, Christiansen C, Pedersen E, Vesterlund M, Storm H, Ingerslev J, Hermansen K. Comparison of the effects of a monounsaturated fat diet and

a high carbohydrate diet on cardiovascular risk factors in first degree relatives to type-2 diabetic subjects. *Eur J Clin Nutr* 1999;53:818-23.

⁴³ Pérez-Jiménez F, López-Miranda J, Pinillos MD, Perez-Jimenez F, Lopez-Miranda J, Pinillos MD, Gomez P, Paz-Rojas E, Montilla P, Marin C, Velasco MJ, Blanco-Molina A, Jimenez Pereperez JA, Ordovas JM et al. A Mediterranean and a high-carbohydrate diet improve glucose metabolism in healthy young persons. *Diabetologia* 2001;44:2038–43.

⁴⁴ Vessby B, Unsitupa M, Hermansen K, Riccardi G, Rivellese AA, Tapsell LC, Nalsen C, Berglund L, Louheranta A, Rasmussen BM, Calvert GD, Maffetone A, Pedersen E, Gustafsson IB, Storlien LH; KANWU Study. Substituting dietary saturated for monounsaturated fat impairs insulin sensitivity in healthy men and women: The KANWU Study. *Diabetologia* 2001;44:312-19.

⁴⁵ Toborek M, Lee YW, Garrido R, Kaiser S, Hennig B. Unsaturated fatty acids selectively induce an inflammatory environment in human endothelial cells. *Am J Clin Nutr* 2002; 75:119-25.

⁴⁶ Carluccio MA, Massaro M, Bonfrate C, Siculella L, Maffia M, Nicolardi G, Distante A, Storelli C, De Caterina R. Oleic acid inhibits endothelial activation: a direct vascular antiatherogenic mechanism of a nutritional component in the Mediterranean diet. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:220-28.

⁴⁷ Tsimikas S, Philis-Tsimikas A, Alexopoulos S, Sigari F, Lee C, Reaven PD. LDL isolated from Greek subjects on a typical diet or from American subjects on an oleate-supplemented diet endues less monocyte chemotaxis and adhesion when exposed to oxidative stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:122-30.

⁴⁸ Bellido C, Lopez-Miranda J, Blanco-Colio LM, Perez-Martinez P, Muriana FJ, Martin-Ventura JL, et al. Butter and walnuts, but not olive oil, elicit postprandial activation of nuclear transcription factor kappaB in peripheral blood mononuclear cells from healthy men. *Am J Clin Nutr* 2004;80:1487-91.

⁴⁹ Charo IF, Ransohoff RM. The many roles of chemokines and chemokine receptors in inflammation. *N Engl J Med*. 2006;354:610-21.

⁵⁰ van Oostrom AJ, Alipour A, Plokker TW, Sniderman AD, Cabezas MC.

The metabolic syndrome in relation to complement component 3 and postprandial lipemia in patients from an outpatient lipid clinic and healthy volunteers. *Atherosclerosis* (In press). 2006

⁵¹ Henning B, Toborek M, McClain CJ. High-energy diets, fatty acids and endothelial cell function: implications for atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 2001; 20:97-105.

⁵² Rodriguez-Villar C, Perez-Heras A, Mercade I, Casals E, Ros E. Comparison of a high-carbohydrate and a high-monounsaturated fat, olive oil-rich diet on the susceptibility of LDL to oxidative modification in subjects with Type 2 diabetes mellitus. *Diabet Med* 2004;21:142-9.

⁵³ Khan-Merchant N, Penumetcha M, Meilhac O, Parthasarathy S.

Oxidized fatty acids promote atherosclerosis only in the presence of dietary cholesterol in low-density lipoprotein receptor knockout mice. *J Nutr* 2002;132:3256-62.

⁵⁴ Mata P, Varela O, Alonso R, Lahoz C, de Oya M, Badimon L. Monounsaturated and polyunsaturated n-6 fatty acid-enriched diets modify LDL oxidation and decrease human coronary smooth muscle cell DNA synthesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997;17:2088-95.

⁵⁵ Weinbrenner T, Fito M, de la Torre R, Saez GT, Rijken P, Tormos C, Coolen S, Albaladejo MF, Abanades S, Schroder H, Marrugat J, Covas MI. Olive oils high in phenolic compounds modulate oxidative/antioxidative status in men. *J Nutr.* 2004;134:2314-21.

⁵⁶ Fito M, Cladellas M, de la Torre R, Marti J, Alcantara M, Pujadas-Bastardes M, Marrugat J, Bruguera J, Lopez-Sabater MC, Vila J, Covas MI; The members of the SOLOS Investigators. Antioxidant effect of virgin olive oil in patients with stable coronary heart disease: a randomized, crossover, controlled, clinical trial. *Atherosclerosis* 2005;181:149-58.

⁵⁷ Ruano J, Lopez-Miranda J, Fuentes F, Moreno JA, Bellido C, Perez-Martinez P, Lozano A, Gomez P, Jimenez Y, Perez Jimenez F. Phenolic content of virgin olive oil improves ischemic reactive hyperemia in hypercholesterolemic patients. *J Am Coll Cardiol* 2005;46:1864-68.

⁵⁸ Sola R, La Ville AE, Richard JL, Motta C, Bargallo MT, Girona J, Masana L, Jacotot B. Oleic acid rich diet protects against the oxidative modification of high density lipoprotein. *Free Radic Biol Med* 1997;22:1037-45.

-
- ⁵⁹ Owen RW, Mier W, Giacosa A, Hull WE, Spiegelhalder B, Bartsch H. Phenolic compounds and squalene in olive oils: the concentration and antioxidant potential of total phenols, simple phenols, secoiridoids, lignans and squalene. *Food Chem Toxicol* 2000;38:647-59.
- ⁶⁰ Moreno JA, Lopez-Miranda J, Gomez P, Benkhalti F, El Boustani ES, Perez-Jimenez F. [Effect of phenolic compounds of virgin olive oil on LDL oxidation resistance]. *Med Clin (Barc)* 2003;120:128-31.
- ⁶¹ Beauchamp GK, Keast RS, Morel D, Lin J, Pika J, Han Q, Lee CH, Smith AB, Breslin PA. Phytochemistry: ibuprofen-like activity in extra-virgin olive oil. *Nature* 2005;437:45-6.
- ⁶² Vogel RA. Brachial artery ultrasound: A noninvasive tool in the assessment of triglyceride-rich lipoproteins. *Clin Cardiol* 1999;22:34-9.
- ⁶³ Suwaidi JA, Hamasaki S, Higano ST, Nishimura RA, Holmes DR Jr. Long-term follow-up of patients with mild coronary artery disease and endothelial dysfunction. *Circulation* 2000;101:948-54.
- ⁶⁴ West SG. Effect of diet on vascular reactivity: an emerging marker for vascular risk. *Curr Atheroscler Rep* 2001;3:446-55.
- ⁶⁵ Mori TA, Watts GF, Burke V, Hilme E, Puddey IB, Beilin LJ. Differential effects of eicosapentanoic acid and docosahexanoic acid on vascular reactivity of the forearm microcirculation in hyperlipidemic overweight men. *Circulation* 2000;102:1264-69.
- ⁶⁶ Vogel R. Antioxidants are useful in preventing cardiovascular disease: a debate. *Pro antioxidants. Can J Cardiol* 1999;15:23-5.