

REAL ACADEMIA DE DOCTORES DE ESPAÑA

**EL CONOCIMIENTO DE LA ACCIÓN
BIOLÓGICA Y DEL POTENCIAL
FARMACOLÓGICO DEL ACEITE
DE OLIVA VIRGEN EXTRA**

DISCURSO

PRONUNCIADO POR EL

EXCMO. SR. DR. DON JESÚS DE LA OSADA GARCÍA

EN LA TOMA DE POSESIÓN COMO ACADÉMICO DE NÚMERO
EL DÍA 14 DE ENERO DE 2009

Y CONTESTACIÓN DE LA ACADÉMICA

EXCMA. SRA. DRA. DOÑA EVANGELINA PALACIOS ALAIZ



MADRID

2009

Depósito legal: M.
Imprime: REALIGRAF, S. A.
Pedro Tezano, 26
28039 Madrid

ÍNDICE

Discurso del Excmo. Sr. Dr. D. Jesús de la Osada García	5
I. Dieta mediterránea y salud cardiovascular.....	13
II. Composición química del aceite de oliva	19
II.1. Composición de la fracción saponificable.....	19
Ácidos grasos	19
Triacilgliceroles	20
II.2. Composición de la fracción insaponificable	21
Hidrocarburos.....	22
Clorofilas y otros pigmentos.....	23
Tocoferoles.....	23
Compuestos terpénicos	24
Alcoholes alifáticos	26
Esteroles	26
Ésteres no glicéridos	27
Compuestos fenólicos.....	27
Componentes volátiles.....	29
III. Elaboración y categorías del aceite de oliva	31
Proceso de obtención del aceite de oliva.....	31
Categorías del aceite de oliva.....	32
El proceso de refinado.....	34
IV. El efecto de la dieta mediterránea sobre la enfermedad cardiovascular	37

V. Bibliografía	55
Discurso de contestación de la Excma. Sra. Dra. Dña. Evangelina Palacios Alaiz	77

DISCURSO
DEL
EXCELENTÍSIMO SEÑOR DOCTOR
DON JESÚS DE LA OSADA GARCÍA

Excelentísimo Señor Presidente

**Excelentísimos e Ilustrísimos Señoras y Señores Académicos
Señoras y Señores:**

Es para mí un honor optar a ser recibido en esta ilustre Corporación como Académico, y lo es todavía más al ser mi directora de tesis y maestra doña Evangelina Palacios Alaiz, quien efectúe la contestación en este acto. Debo confesar que a la vez que una enorme satisfacción, por la distinción que supone el haber sido elegido para la medalla número 116, siento el abrumador peso de la responsabilidad que ello me exige, dada la relevancia de las personalidades que componen esta Real Academia y especialmente la persona que ocupó anteriormente dicha medalla, el Profesor Santos-Ruiz. Confío en que, guiado por su inspiración, junto con mi esfuerzo y entendimiento pueda desarrollar una labor que no decepcione a los que me han propuesto y aceptado como miembro.

No puedo por menos que expresar mi profundo agradecimiento a todos los miembros de esta Real Academia de Doctores por su magnánima evaluación de mis méritos, lo que les ha conducido a emitir su voto favorable a mi candidatura, y así aceptarme como Miembro de Número de esta Real Academia de Doctores de España. De forma especial quiero personalizarlo en los Excelentísimos Señores Académicos que en su día me avalaron porque creyeron en mí y me consideraron digno de estar entre ellos en esta Docta Corporación: Doña Evangelina Palacios Alaiz, sin cuya guía científica y generosidad difícilmente hubiera podido desarrollar mi labor; Doña María Cascales Agosto, maestra y amiga, cuya genialidad científica continuamente nos desafiaba y planteaba nuevos retos con esa vitalidad y pasión tan suyas, lo que han contribuido a que hoy esté aquí,

y a Don Angel Sánchez de la Torre que tan amablemente me brindó su apoyo.

A la Profesora Dña. Evangelina Palacios-Alaiz, referencia inestimable de mi formación como bioquímico, como docente y como persona, deseo darle adicionalmente las gracias de todo corazón por haber aceptado amablemente responder a este discurso de ingreso, por su ayuda a lo largo de los últimos treinta años y por su maravillosa, honesta y serena amistad. Sería en 1978 cuando, tras recibir una beca colaboración, descubrí que la profesora que me había apoyado en la solicitud, había dejado la Facultad de Madrid y que era un huérfano en busca de tutor científico. Fue entonces cuando la Dra. Palacios me escuchó, me acogió en su grupo y me permitió realizar aquellos mis primeros experimentos que constituirían mi tesina y posteriormente se completarían para configurar mi Tesis doctoral. A ella le debo mi formación como profesor universitario, el rigor y la cuidadosa elaboración de la lógica del discurso académico, que hoy pretendo hacerlos míos, pero que son indudablemente el fruto de la semilla de su esfuerzo y dedicación. Su ejemplo personal de dedicación y de trabajo con los estudiantes marcaron tal impronta en mí que fueron y son una guía para mi diario acontecer y una parte de mí mismo. Y por su supuesto, por esa honestidad y generosidad para con el prójimo que hacen de ella una persona íntegra, una referencia para imitar, pero que seguramente nunca alcanzaré a pesar de mis intentos.

En este momento tan emotivo de mi vida profesional, quiero igualmente expresar mi profunda gratitud a todas aquellas personas e instituciones que, a lo largo de mi trayectoria, han contribuido a que hoy pueda dirigirme a ustedes. Como no podría ser de otra manera, a mis Profesores en las aulas de la Facultad de Farmacia por transmitirme una visión de la realidad biológica que ha sido enormemente útil para desarrollar mi actividad investigadora. A mis compañeros del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Farmacia de Madrid por aquellos maravillosos años de realización de la Tesis Doctoral y muy especialmente a la Dra. Aylagas sin cuya ayuda no hubiera podido compatibilizar la elaboración de la Tesis con la formación como Farmacéutico Interno y Residente (FIR). A mis jefes de la entonces Clínica Puerta de Hierro de Madrid por toda su ayuda, apoyo y comprensión para completar la especialidad de Bioquímica clínica. A los Profesores Dres Ordovás y Schaefer del

Human Nutrition Research Center de la Universidad de Tufts en Boston por darme la oportunidad de realizar mi formación posdoctoral y por todas sus enseñanzas. A los Profesores Dres Maeda y Smithies de la Universidad de North Carolina en Chapel Hill por permitirme completar mi formación posdoctoral, abrirme su laboratorio para trabajar en todo momento en una colaboración permanente, y sobre todo por la abrumadora confianza que me dispensan al aceptar a mis doctorandos para continuar su formación. Por último, no puedo por menos que agradecer a mis amigos y compañeros del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular de la Universidad de Zaragoza, y muy en particular a los miembros de la sede en la Facultad de Veterinaria, cuya generosidad, capacidad, profesionalidad y amistad contribuyen a transformar en un verdadero placer el trabajo cotidiano con su carga de docencia, investigación y gestión.

No puedo omitir el agradecimiento a mis colaboradores, con los que aprendo diariamente gracias a su pujanza e ilusión, y me proporcionan la satisfacción de pensar que estoy contribuyendo a su formación. Por todas las alegrías y los sinsabores compartidos, quiero hacerles partícipes del alto honor que recibo y que hubiera sido imposible de alcanzar sin su trabajo y lealtad.

Mi última mención va dirigida a mi familia. A mis padres por la bendición que supone el tenerlos aquí, partícipes del honroso recibimiento de esta Corporación, y que sin cuya generosidad, esfuerzo y comprensión me hubiera sido imposible alcanzar ninguna meta. A mi hermana, porque pese a la diferencia de edad, ha existido siempre entre nosotros un gran entendimiento y amistad. Y, finalmente, a mi esposa María Victoria, colaboradora y amiga, sin cuya compañía no puedo entender mi vida.

En esta disertación, intentaré resumir nuestro conocimiento sobre el zumo de un fruto, cuyo árbol tuvo un origen divino ya que, según la mitología griega, surgió de la tierra cuando la diosa Atenea clavó su lanza, y que nos acompaña formando parte del paisaje mediterráneo. Gracias a todos los que me escuchan por el afecto y apoyo que con su presencia me brindan.

**EL CONOCIMIENTO DE LA ACCIÓN BIOLÓGICA
Y DEL POTENCIAL FARMACOLÓGICO
DEL ACEITE DE OLIVA
VIRGEN EXTRA**

I. DIETA MEDITERRÁNEA Y SALUD CARDIOVASCULAR

A lo largo de la historia ha habido cambios importantes en nuestro estilo de vida y nutrición ¹. El primero de ellos ocurrió hace once mil años, en el extremo oriental del Mediterráneo, donde se produjo una radical transformación en la forma de vivir y de comer del ser humano ². Así el hombre cazador y recolector pasó a ser agricultor y ganadero, con lo que la variedad y disponibilidad de alimento aumentó. A partir de entonces, la influencia de las distintas civilizaciones que han existido y diversos episodios históricos, como las cruzadas en el medioevo, fueron introduciendo nuevos productos en la alimentación europea. Hay que destacar el descubrimiento de América porque sin la patata, el tomate, el maíz, el pimiento o el chocolate nos resulta difícil imaginar la alimentación de nuestros antepasados. Más tarde, la llegada de la revolución industrial supuso, de nuevo, una importante alteración de los hábitos alimentarios, al poder disponer de una gran parte de los alimentos de una forma elaborada. Este bosquejo de nutrición a lo largo de la historia evidencia que en todo momento, el ser humano ha consumido los alimentos que ha tenido a su disposición y que este proceso adaptativo continúa. Actualmente en los países industrializados se está produciendo un importante cambio en el estilo de vida con una excesiva ingesta de calorías acompañada de una disminución de la actividad física ³, factores ambos que propician la aparición de la actual epidemia de obesidad.

Es a partir de la segunda mitad del siglo pasado cuando se establece una relación entre el consumo de alimentos y las enfermedades cardiovasculares (CV). De esta forma se generó un estado de opinión que trata de dilucidar cuál de las diferentes formas de alimentación puede ser la óptima ⁴. Aunque hasta ahora ha sido difícil conocer la dieta prudente o “ideal” para re-

ducir el riesgo de enfermedades como la aterosclerosis coronaria ⁵, sería necesario cambiar los hábitos alimentarios hacia una dieta más moderada y equilibrada como es el caso de la dieta mediterránea ^{6, 7, 8}.

Con el término “dieta mediterránea” nos referimos genéricamente al patrón de alimentación de los países del área del mar Mediterráneo, y concretamente al principio de la década de los años sesenta ⁹. En esta zona, la incidencia de las enfermedades coronarias, algunos cánceres y otras enfermedades crónicas relacionadas con la dieta como la hiperlipidemia, diabetes u obesidad, era la más baja del mundo para la época y tenían la mayor esperanza de vida adulta a pesar de los limitados servicios médicos ⁹. La dieta mediterránea, cuyos componentes principales podemos apreciar en la figura 1, presenta una baja cantidad de nutrientes no saludables y altos contenidos de los llamados saludables. En concreto se caracteriza por lo siguiente ¹⁰:

- Bajo consumo de carne y productos cárnicos.
- Consumo moderado de pescado, leche y productos lácteos, estos últimos principalmente en forma de queso y yogurt.
- Ingesta moderada de alcohol, limitada prácticamente al vino en las comidas.
- Abundancia de comida de origen vegetal (fruta, verdura, pan, cereales, patatas, legumbres, nueces y semillas), mínimamente procesada, fresca y cultivada localmente.
- Aceite de oliva como principal fuente de grasa, la cual representaba el 30% de las calorías totales ingeridas. ¹¹

Las propiedades saludables de la dieta mediterránea se evidenciaron en el Estudio de los Siete Países o “Seven Countries Study”, iniciado por Angel Keys en la década de los setenta. Fue diseñado para investigar la relación entre la dieta y las ECV comparando 14 poblaciones pertenecientes a siete países (Estados Unidos, Finlandia, Holanda, Yugoslavia, Italia, Grecia y Japón). Los resultados mostraron que los individuos estudiados en Creta presentaban las menores tasas de enfermedad cardiovascular y cáncer, comparados con las otras regiones del estudio ¹³, y con-

FIGURA 1. Pirámide alimenticia representando la dieta tradicional mediterránea ¹²



cluyeron que este hecho podía deberse al bajo consumo de grasas saturadas y al elevado consumo de ácido oleico, aportado por la ingesta de aceite de oliva. Más recientemente, los resultados obtenidos tras 25 años de seguimiento de los participantes de dicho estudio han indicado que la frecuencia de estas enfermedades es mucho menor en los países europeos del sur que en aquellos países europeos situados al norte ¹⁴.

El primer estudio clínico que apoyaba los beneficios de la dieta mediterránea fue el “Lyon Diet Heart Study” ¹⁵, en el cual 605 pacientes que habían sufrido infarto de miocardio fueron distribuidos al azar en dos grupos de ensayo, uno control con una dieta semejante a la recomendada por la Asociación Americana del Corazón y otro grupo con dieta mediterránea. Tras

27 meses de ensayo los resultados obtenidos fueron un descenso del 73 % en la tasa de eventos coronarios y un descenso del 70% de la mortalidad total, ambos en el grupo de dieta mediterránea. En este caso, los efectos beneficiosos observados fueron asociados al elevado consumo de los ácidos oleico y α -linolénico, y al bajo consumo de grasas saturadas y ácido linoleico.

Por otra parte, el ensayo Indo-Mediterráneo (*The Indo-Mediterranean Diet Heart Study*) analizó el efecto de una dieta de tipo mediterráneo rica en ácido α -linolénico sobre la progresión de enfermedad coronaria en pacientes de alto riesgo ¹⁶. Los resultados revelaron una reducción significativa de los marcadores de mortalidad coronaria, del número de muertes súbitas por enfermedad cardíaca e infartos de miocardios no fatales, así como una disminución de la concentración plasmática de colesterol. Además, los resultados tras la intervención dietética fueron más beneficiosos en aquellos pacientes con enfermedad preexistente comparados con los del grupo control. El estudio concluyó que una dieta de tipo mediterráneo rica en ácido linolénico podría ser más efectiva en la prevención primaria y secundaria de las enfermedades cardiovasculares que la dieta recomendada en el programa nacional de educación sobre colesterol (National Cholesterol Education Program, NCEP-1), del Instituto americano del corazón, pulmón y sangre.

Otro estudio con más de 22.000 personas realizado en Grecia por Trichopoulou y cols. ¹⁷ asociaba igualmente el seguimiento de la dieta mediterránea con una menor mortalidad total y una menor mortalidad debida a enfermedades cardiovasculares y a cáncer.

Actualmente, se está desarrollando en España un estudio de intervención para la prevención primaria de las enfermedades cardiovasculares a través de la dieta mediterránea (*Prevención con Dieta Mediterránea (PREDIMED)*) con una duración de cuatro años. En el estudio piloto participaron 772 personas asintomáticas con alto riesgo cardiovascular, las cuales fueron agrupadas aleatoriamente en tres grupos a los que se asignaron una dieta baja en grasa, una dieta mediterránea con aceite de oliva virgen extra, o una dieta mediterránea suplementada con frutos secos. Al cabo de los tres primeros meses de intervención, los grupos de dieta mediterránea presentaban valor medio me-

nor de la concentración de glucosa plasmática y de la relación colesterol/colesterol-HDL y reducción de la tensión arterial sistólica comparados con el grupo que seguía la dieta baja en grasa ¹⁸.

Todas estas evidencias han llevado a que la dieta mediterránea se convierta en un modelo dietético, a pesar de su elevado contenido graso ¹⁹. Este último hecho le da un mayor interés gastronómico por su mejor palatabilidad y por facilitar el consumo de productos vegetales con alto contenido en hidratos de carbono de baja carga glucémica y de gran potencial saludable ²⁰. Desgraciadamente en la actualidad, esta dieta mediterránea considerada beneficiosa se está viendo influenciada y modificada por una serie de factores como la globalización y el progreso tecnológico que han conducido a una mayor disponibilidad de alimentos y a una menor actividad física ³. Los patrones dietéticos en los países mediterráneos están cambiando rápidamente con un incremento del consumo de grasas saturadas y de carbohidratos refinados con el consiguiente aumento de la obesidad en estas zonas. Distintos autores ⁶⁻⁸ apuntan la necesidad de una vuelta a los hábitos alimentarios más moderados y equilibrados, y subrayan la importancia de conservar ciertas tradiciones dietéticas y de forma de vida que son esenciales para la salud de las generaciones venideras.

Al ser el aceite de oliva, en este tipo de dieta, el componente que más calorías aporta, se entiende el enorme interés suscitado por su estudio. En este trabajo les presentaré las características de este producto y sus propiedades, particularmente sus efectos en la prevención de las enfermedades cardiovasculares, la principal causa de mortalidad en los países industrializados en la actualidad ²¹.

II. COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL ACEITE DE OLIVA

Los constituyentes del aceite de oliva pueden clasificarse en dos grandes grupos: uno mayoritario, la fracción saponificable, y otro presente en menor proporción, los componentes minoritarios o fracción insaponificable ²²⁻²⁵.

II.1. Composición de la fracción saponificable

Está constituida principalmente por triglicéridos (ésteres de ácidos grasos y glicerol) y en menor medida por ácidos grasos libres junto con otros componentes minoritarios derivados como mono o diacilgliceroles, fosfátidos, ceras y ésteres de esteroles. Representa del 98,5 al 99,5 % del aceite ^{22, 24, 25}.

Ácidos grasos

Los aceites que se consumen rara vez contienen ácidos grasos con menos de 16 o con más de 20 átomos de carbono ³. Tal como se ilustra en la tabla 1, el aceite de oliva es particularmente rico en ácido oleico (monoinsaturado), contiene cantidades moderadas de ácidos palmítico y linoleico y un bajo porcentaje de ácido esteárico (saturados) y linolénico (poliinsaturados) ²⁶.

La composición en ácidos grasos, así como de los demás componentes, varía dependiendo de la zona de producción del aceite, de la latitud, del clima, de la variedad y del grado de madurez de las aceitunas en la recogida ^{24, 27}, como se aprecia en la Tabla 2.

Tabla 1. Distribución de los ácidos grasos presentes en el aceite de oliva. Adaptada de Boskou²⁶

Nombre común	Símbolo	Porcentaje
Mirístico	14:0	0,0-0,05
Palmítico	16:0	7,5-20,0
Palmitoleico	16:1n7	0,3-3,5
Margárico	17:0	0,0-0,3
Heptadecenoico	17:1	0,0-0,3
Esteárico	18:0	0,5-5,0
Oleico	18:1n9	55,0-83,0
Linoleico	18:2n6	3,5-21,0
α-Linolénico	18:3n3	0,0-0,9
Araquídico	20:0	0,0-0,6
Eicosenoico	20:1n9	0,0-0,4
Behénico	22:0	0,0-0,2
Lignocérico	24:0	0,0-0,2

Tabla 2. Porcentaje de los ácidos grasos oleico y linoleico en algunas de las variedades de aceite de oliva producidas en España. Fuente Civantos y cols.²³

Variedades	Oleico	Linoleico
Picual	78,3	5,1
Hojiblanca	75,7	9,2
Cornicabra	80,3	5,6
Arbequina	70,2	11,4
Empeltre	74,6	9,4

Triacilgliceroles

La mayoría de los ácidos grasos están presentes en el aceite de oliva en forma de triacilgliceroles, los cuales constituyen el 98% de la composición total del aceite. La distribución de los ácidos grasos en estos triglicéridos sigue un patrón en el que el ácido graso que ocupa la posición central en la molécula de gli-

cerol siempre es insaturado, generalmente el ácido oleico ^{28, 29}. La distribución de las especies de triglicéridos se presenta en la tabla 3.

TABLA 3. *Composición y porcentaje de triacilglicerolos del aceite de oliva (O, ácido oleico; P, ácido palmítico; L, ácido linoleico S, ácido esteárico). Adaptada de ^{28, 29}*

Triglicéridos	Porcentaje
OOO	40-59
POO	15-22
OOL	12-20
POL	5,5-7
PLO	4-5
SOO	3-7
POP	2-4

II.2. Composición de la fracción insaponificable

El aceite de oliva, a diferencia de los aceites de semillas cuya extracción se realiza con disolventes y precisan de refinado, se obtiene por presión física del fruto de *Olea europea*. Esto permite que ciertos componentes presentes en el fruto y con interesantes propiedades biológicas puedan pasar al aceite en tanto que están ausentes en los procedentes de semillas. Muchos de estos compuestos se engloban en la categoría de fracción insaponificable y químicamente se aíslan tras la saponificación del aceite ³⁰. Esta fracción, también denominada genéricamente componentes minoritarios del aceite de oliva por la pequeña proporción que representan (1-2% del aceite), contiene una gran variedad de compuestos que cumplen una amplia diversidad de funciones y son responsables de la estabilidad del aceite y de sus características organolépticas. Estos componentes minoritarios, como veremos más adelante, se pierden en su mayoría mayoritariamente durante los procesos de refinado ³¹. En la tabla 4 se refleja la concentración de los más abundantes en el aceite de oliva virgen.

TABLA 4. *Composición química de los componentes minoritarios del aceite de oliva virgen extra* ³²

<i>Componentes minoritarios</i>	<i>Concentración (mg/kg)</i>
Hidrocarburos	1500-8000
Escualeno	1250-8000
Carotenos	0,5-5
Luteína	3-15
Compuestos terpénicos	1000-3000
Alcoholes alifáticos	100-200
Esteroles	800-2600
Compuestos fenólicos	20-900
Tocoferoles	50-300
Clorofilas A y B	0,2-5
Feofitinas A y B	0,2-20

Hidrocarburos

Una de las grandes diferencias entre el aceite de oliva virgen y el resto de aceites es la composición en hidrocarburos ³³ entre los que destaca el **escualeno** ³⁴⁻³⁶.

Escualeno

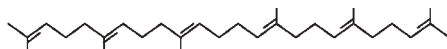
Es un hidrocarburo alifático insaturado con seis dobles enlaces conjugados (figura 2) que aparece en una elevada concentración en la fracción insaponificable del aceite de oliva (60-75%) tal como se recoge en la tabla 4 ³⁷. Puede constituir hasta el 90% de los hidrocarburos en el aceite de oliva virgen, mientras que en los aceites refinados su concentración se reduce drásticamente. Es un precursor isoprenoide de la biosíntesis del colesterol y otros esteroides en plantas y animales. También es un componente mayoritario de los lípidos de humanos ³¹.

Carotenos

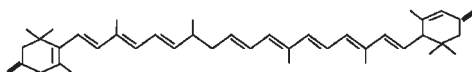
Son otra familia de compuestos presentes en la fracción de hidrocarburos del aceite de oliva virgen. Entre los mayoritarios

FIGURA 2. Estructura química de los hidrocarburos más abundantes en la fracción insaponificable del aceite de oliva virgen.

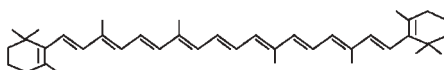
Escualeno (C₃₀H₅₀)



Luteína (C₄₀H₅₂O₂)



β-caroteno (C₄₀H₆₄)



encontramos la **luteína** (30-60%) y el **β-caroteno** (5-15%)^{24, 34, 38} (Fig. 12), que se pierden al refinar el aceite de oliva³⁹. Estos compuestos, además de proporcionar color a los vegetales que los contienen, poseen propiedades antioxidantes por su capacidad secuestrante del radical de oxígeno y de otros radicales libres^{40, 41}. El **β-caroteno** en particular juega un papel importante como precursor de la vitamina A. Otros hidrocarburos identificados en el aceite de oliva, aunque presentes en muy pequeña proporción, son el **licopeno** que junto con el β-caroteno y las clorofilas confieren el color amarillento a verdoso típico del aceite y algunos hidrocarburos aromáticos como el fenantreno, el antraceno y el pireno³¹.

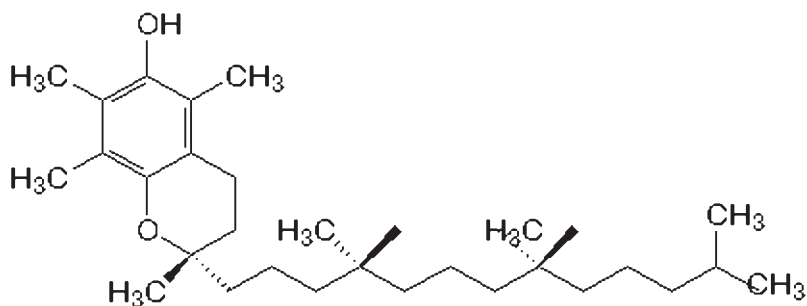
Clorofilas y otros pigmentos

La fracción clorofílica la integran las clorofilas a y b y sus derivados libres de magnesio, las feofitinas a y b^{24, 25}. En el aceite de oliva virgen son mayoritarias la feofitina a (20-40%) y la clorofila a (4-7%)³⁴. En aceites refinados el contenido en pigmentos disminuye notablemente. El color del aceite de oliva se debe principalmente a estos compuestos²⁷. En ausencia de luz las clorofilas podrían actuar como antioxidantes débiles, pero en su presencia estos compuestos pueden ser fuertes promotores de oxidación²⁴.

Tocoferoles

El contenido de tocoferoles en el aceite de oliva depende de la variedad de aceituna⁴² y es mayor en los aceites vírgenes de

FIGURA 3. Estructura química de la vitamina E o α -tocoferol.



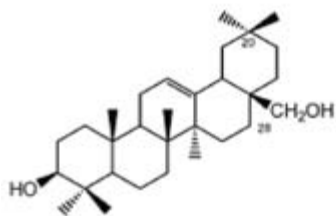
Vitamin E (α -tocoferol)

gran calidad ^{43,44}, mientras que en los aceites refinados disminuye notablemente su contenido ⁴⁵. El más abundante entre ellos es el α -tocoferol (52-87%), también están presentes el β -tocoferol (15-20%) y γ -tocoferol (7-23%) ²⁴. Los tocoferoles contribuyen a dar estabilidad al aceite y tienen un papel biológico beneficioso como antioxidantes. Pueden capturar radicales libres gracias al grupo hidroxilo libre presente en el anillo aromático. El isómero más abundante, el α , es el que presenta una mayor actividad biológica como vitamina E ³¹ y su estructura se representa en la figura 3.

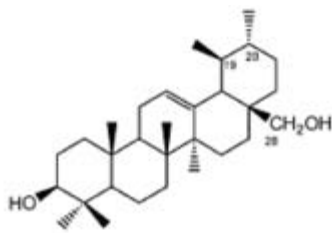
Compuestos terpénicos

Pertenecen al grupo de **triterpenos** pentacíclicos los dialcoholes eritrodiol y uvaol, y los ácidos oleanólico y maslínico. La presencia de eritrodiol y uvaol es más abundante en la piel del fruto, y por lo tanto, estos compuestos están presentes en mayor concentración en el aceite de orujo ⁴⁶, el cual se obtiene mediante procesos químicos de los restos de la aceituna una vez extraído el aceite mecánicamente. Así su concentración varía entre 10 y 120 mg/ kg de aceite. El aceite de orujo debe refinarse y mezclarse con aceite de oliva virgen para que sea considerado apto para el consumo. La cantidad total de alcoholes triterpénicos es un parámetro de pureza para detectar la presencia de aceite de orujo ⁴⁷ y por ello la Comunidad Europea,

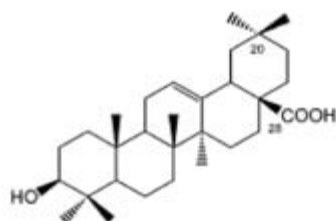
FIGURA 4. Estructuras químicas de los compuestos triterpénicos presentes en el aceite de oliva "orujo"⁴⁸.



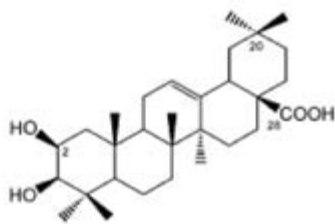
Eritrodiol (C₃₀H₅₀O₂)



Uvaol (C₃₀H₅₀O₂)



Ácido oleanólico



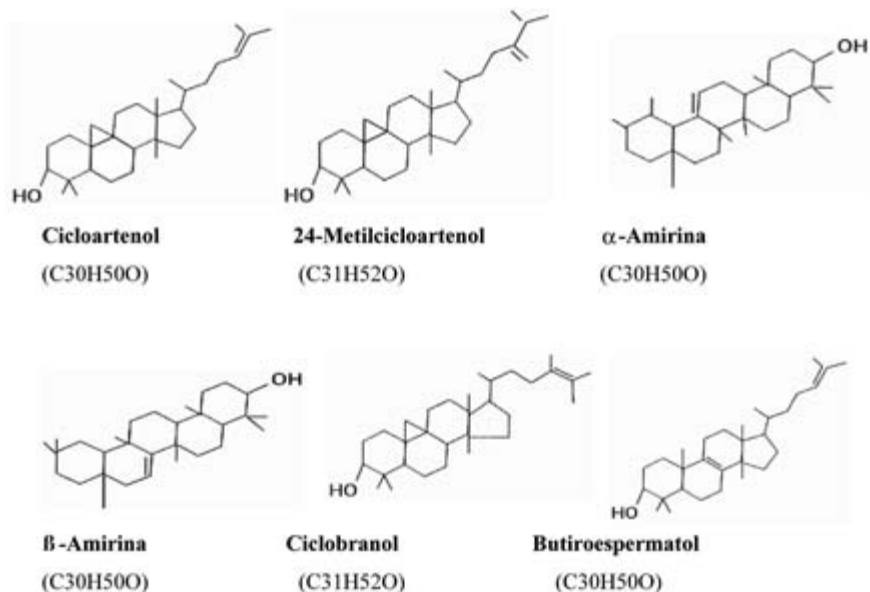
Ácido maslínico

el Internacional Olive Oil Council y el Codex Alimentarius de la FAO establecen límites en el porcentaje de estos compuestos presentes en el aceite de oliva.

Tanto el ácido oleanólico como su derivado el ácido maslínico están ampliamente distribuidos en el reino vegetal, principalmente el primero. El ácido oleanólico se ha aislado en más de 120 especies vegetales, identificado en su forma libre o como una aglicona de multitud de saponinas triterpenoides en plantas medicinales, contribuyendo como un componente activo al efecto farmacológico o biológico de dichas plantas. Por su parte, el interés por conocer el potencial biofarmacéutico del ácido maslínico ha crecido en los últimos años. Se han realizado distintos estudios químicos y farmacológicos y se ha patentado a nivel internacional su extracción junto al oleanólico del orujo⁴⁹.

Otros compuestos terpénicos son los **alcoholes triterpénicos** que presentan una estructura tetracíclica o pentacíclica³¹ como se puede apreciar en la figura 5.

FIGURA 5. Alcoholes triterpénicos presentes en el aceite de oliva³¹.



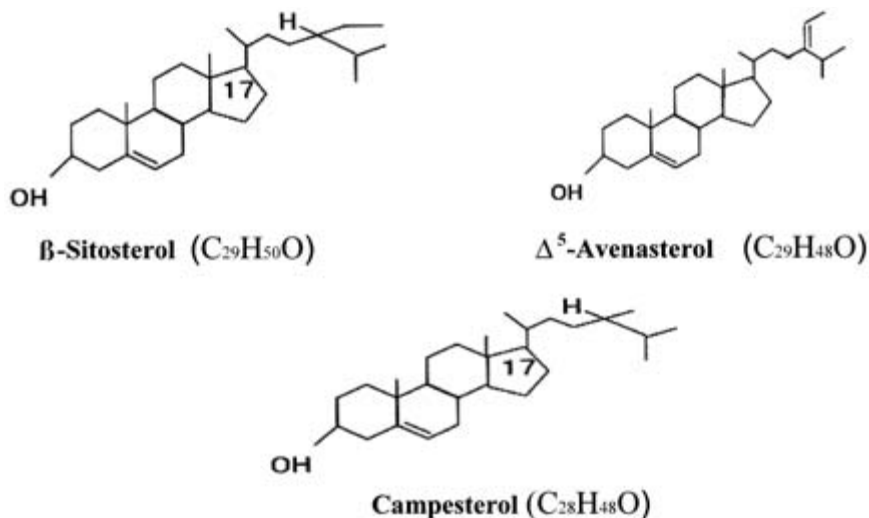
Alcoholes alifáticos

Esta fracción está constituida por alcoholes saturados de cadena lineal con número par de átomos de carbono y con longitudes entre 18 y 28 átomos de carbono. Los mayoritarios son el hexacosanol, octacosanol y tetracosanol. También pueden estar presentes en forma de trazas el tricosenol, pentacosanol y heptacosanol^{37, 50}.

Esteroles

Los fitoesteroles son los homólogos en plantas del colesterol en animales siendo los más abundantes en el aceite de oliva virgen: el β-sitosterol (75-90%), el Δ⁵-avenasterol (5-36%) y el campesterol (aprox. 3%)²⁴. Se encuentran otros esteroles en menor proporción como el estigmasterol, el propio colesterol, Δ⁷-estigmasterol y Δ⁷-avenasterol⁵¹⁻⁵³. Son compuestos tetracíclicos cuya biosíntesis comienza con el escualeno.

FIGURA 6. Esteroles más abundantes en el aceite de oliva virgen ³¹.



Ésteres no glicéridos

Los alcoholes alifáticos, esteroles y alcoholes triterpénicos pueden encontrarse en el aceite de oliva virgen en su forma libre o bien esterificada con ácidos grasos dando lugar a los siguientes compuestos ³¹:

Ceras: son ésteres de alcoholes alifáticos de elevado número de carbonos (C₂₀-C₂₈) con ácidos grasos. Las más frecuentemente encontradas en el aceite de oliva virgen son las de C₄₀, C₄₂, C₄₄, C₄₆. Las ceras se encuentran en la piel de los frutos y tienen como función evitar pérdidas de agua en los mismos.

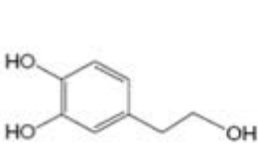
Ésteres de esteroles: Principalmente de sitosterol, campesterol y estigmasterol.

Ésteres de alcoholes triterpénicos: principalmente de los alcoholes cicloartenol y 24-metil-cicloartenol.

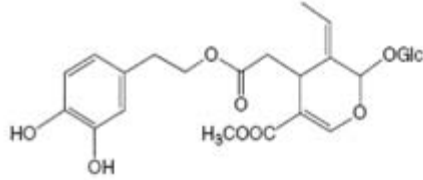
Compuestos fenólicos

Forman parte de la fracción polar y afectan a la estabilidad y sabor del aceite de oliva ²⁷. Su contenido depende de la combina-

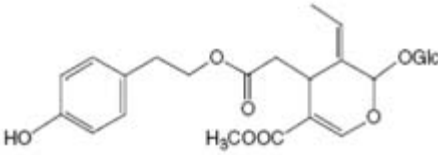
FIGURA 7. Estructura química de algunos de los componentes fenólicos más frecuentes en el aceite de oliva.



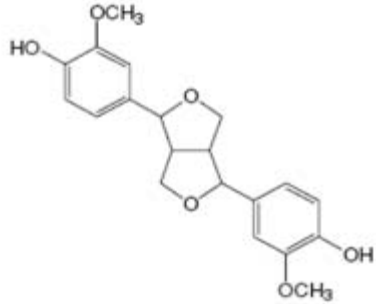
Hidroxitirosol (*fenol simple*)



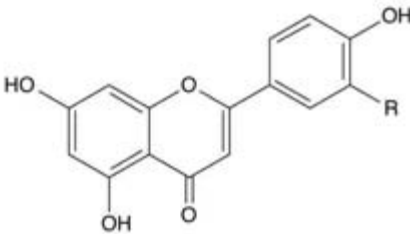
Oleuropeína (*Secoiridoide*)



Ligstrósido (*Secoiridoide*)



Pinorescinol (*Lignano*)



R=H Apigenina R=OH Luteolina (*Polifenoles flavonoides*)

ción de varios factores como la variedad, grado de maduración de la aceituna, clima y también de los procesos de extracción y almacenamiento⁵⁴⁻⁵⁶. El contenido total de fenoles es mayor en el aceite virgen extra que en el refinado ya que éstos generalmente se pierden en el proceso de refinado^{3,36}. El rango oscila normalmente de 50 a 200 mg/ kg de aceite, aunque hay aceites con cantidades de fenoles superiores a 1000 mg/ kg de aceite⁵⁴. Participan en las propiedades organolépticas del aceite⁵⁴ y presentan propiedades antioxidantes por lo que un alto contenido en polifenoles se asocia con una elevada resistencia a la oxidación de los

aceites^{54, 55}. Los principales componentes fenólicos del aceite de oliva se pueden clasificar en cuatro grupos y algunos compuestos representativos de cada grupo se muestran en la figura 7:

- 1) **Fenoles simples.** En este grupo se encontrarían los siguientes compuestos: el hidroxitirosol, el tirosol, el ácido vanílico, la vanillina, el ácido p-cumárico, el ácido ferúlico, el 4-etilfenol, los acetatos de tirosilo o de hidroxitirosilo etc.
- 2) **Polifenoles.** Con esta estructura se han hallado los flavonoides: apigenina y luteolina.
- 3) **Secoiridoides.** En esta categoría se encuadran: la oleuropeína glicosilada, la dimetiloleuropeína, la deacetoxioleuropeína, la 10-hidroxioleuropeína, el ligstrósido, el deacetoxiligstrósido, el ácido elenólico, las formas aldehídicas y dialdehídicas del ácido elenólico, el ligstrósido y la oleuropeína glicosiladas. Las formas dialdehídicas del ácido de-carboximetil elenólico unido a hidroxitirosol o a tirosol.
- 4) **Lignanos.** Se incluyen en esta categoría los compuestos: el (+)-pinoresinol y el (+)-1-acetoxipinoresinol.

Componentes volátiles

Son compuestos de bajo peso molecular (menos de 300 Da) que se evaporan a temperatura ambiente y de los que se han identificado más de 100 diferentes en el aceite de oliva²⁷. Su formación está relacionada con procesos enzimáticos que ocurren tanto en el procesamiento como en el almacenamiento del fruto y del aceite y contribuyen al aroma y a la calidad del aceite de oliva^{57, 58}. Por tanto su presencia en los aceites depende de la variedad, condiciones climáticas y calidad del aceite²⁵. Dentro de este grupo hay alcoholes, ésteres, fenoles, derivados de fenoles y aldehídos, entre otros compuestos²⁷. Destacan el hexanal, *trans*-2-hexenal, hexan-1-ol y 3-metilbutan-1-ol que se encuentran en la mayoría de los aceites de oliva de Europa⁵⁷ y son responsables de los sabores y aromas afrutados de algunos aceites^{24, 25}.

III. ELABORACIÓN Y CATEGORÍAS DEL ACEITE DE OLIVA

Proceso de obtención del aceite de oliva

El aceite de oliva virgen es el zumo oleoso de las aceitunas separado de los demás componentes de este fruto. Se denomina proceso de elaboración de aceite de oliva virgen al conjunto de operaciones mecánicas y/o físicas que, partiendo íntegramente de aceitunas y desarrollándose específicamente bajo condiciones adecuadas, para no alterar la calidad, produce la separación de la fracción oleosa del resto de los constituyentes⁵⁹. Debido a la importancia que tiene el tratamiento del aceite en la composición final del mismo haremos una breve descripción de los procedimientos que permiten su obtención.

Tras la recolección del fruto, las aceitunas han de transportarse cuanto antes a la almazara para evitar el deterioro de los frutos que podría afectar a la calidad del aceite. Se separan y lavan y se procede a su molturación y al batido. La molturación consiste en la trituración de la aceituna entera con objeto de facilitar la separación del aceite del resto del fruto. La masa de aceituna molida se bate para facilitar que las gotas de aceite se vayan uniendo formando una fase oleosa mayor, más fácil de separar de la fase acuosa (alpechín o agua vegetativa) y de la fase sólida (orujo, es decir, restos de piel, hueso y pulpa)⁶⁰. El siguiente paso es la centrifugación, la separación de dichas fases. Si se utiliza el sistema de tres fases la parte líquida estará formada por el agua de vegetación o fase acuosa denominada alpechín (que contiene algo de aceite) y el aceite (que contiene algo de agua), mientras que si se emplea el sistema de dos fases, la parte líquida sólo está formada por aceite, ya que el agua de vegetación de la aceituna o alpechín estará contenida en el orujo⁵⁹.

Categorías del aceite de oliva

En el mercado se pueden encontrar envasadas cuatro categorías de aceite: aceite de oliva virgen extra, aceite de oliva virgen, aceite de oliva y aceite de orujo de oliva^{3, 61} y que se reflejan en negrita en la tabla 5.

TABLA 5. *Clasificación del aceite de oliva según la norma comercial aplicable a los aceites de oliva y los aceites de orujo de oliva del Consejo Oleícola Internacional*⁶².

<i>Clasificación del aceite de oliva</i>	<i>Acidez % (como ácido oleico libre)</i>
<i>Aceite de oliva virgen extra</i>	0'8 (max)
<i>Aceite de oliva virgen</i>	2'0 (max)
Aceite de oliva virgen ordinario	3'3 (max)
Aceite de oliva virgen lampante	3'3 (min)
Aceite de oliva refinado	0'3 (max)
<i>Aceite de oliva</i>	1'0 (max)
Aceite de orujo de oliva refinado	0'3 (max)
<i>Aceite de orujo de oliva</i>	1'0 (max)

— Aceite de oliva virgen

Es el obtenido del fruto del olivo únicamente por procedimientos mecánicos u otros procedimientos físicos, en condiciones, especialmente térmicas, que no impliquen la alteración del aceite y que no hayan tenido más tratamiento que el lavado, la decantación, la centrifugación y el filtrado. Dentro están incluidos los siguientes aceites:

Aceite de oliva virgen extra

Aceite de oliva virgen de sabor absolutamente irreprochable, con valoración organoléptica igual o superior a 6'5 puntos y con una acidez igual o menor a 1. Es el aceite que conserva la mayor cantidad de la fracción insaponificable y el que posee la mayor cantidad de antioxidantes.

Aceite de oliva virgen

Aceite de oliva virgen de buen sabor, con valoración organoléptica igual o superior a 5'5 puntos y con acidez menor o igual a 2. Posee buenas características químicas, pero ha sufrido algún cambio organoléptico.

Aceite de oliva virgen corriente

Aceite de oliva de buen sabor cuya puntuación organoléptica es igual o superior a 3'5 puntos y con una acidez menor o igual a 3. Presenta alteraciones sensibles, bien sea en los parámetros físico-químicos o sensoriales. No puede comercializarse como tal pero puede utilizarse sin necesidad de refinado en la composición tanto de los aceites de orujo de oliva como en los aceites de oliva, si sus características organolépticas son adecuadas. Asimismo puede refinarse para la obtención de aceite de oliva refinado.

Aceite de oliva virgen lampante

Aceite de oliva virgen de sabor defectuoso, cuya puntuación organoléptica es inferior a 3'5 puntos o su acidez es superior a 3'3. Es el peor de los aceites de oliva vírgenes. No se puede consumir en la forma que se obtiene y necesariamente ha de someterse a un proceso de refinado, para poder consumirlo. El aceite de oliva refinado así obtenido, que presenta unas características sensoriales prácticamente nulas, sin apenas sabor ni color, no se comercializa y sirve para la composición de otros aceites.

— Aceite de oliva

Se trata de un aceite de composición, es decir, se compone de un aceite refinado que se enriquece con aceite de oliva virgen apto para el consumo en la forma en que se obtiene. Las proporciones de cada aceite utilizado son variables, en función de las características se pretendan obtener. Su acidez no debe sobrepasar 1'5 y las características sensoriales serán irreprochables.

— Aceite de orujo de oliva:

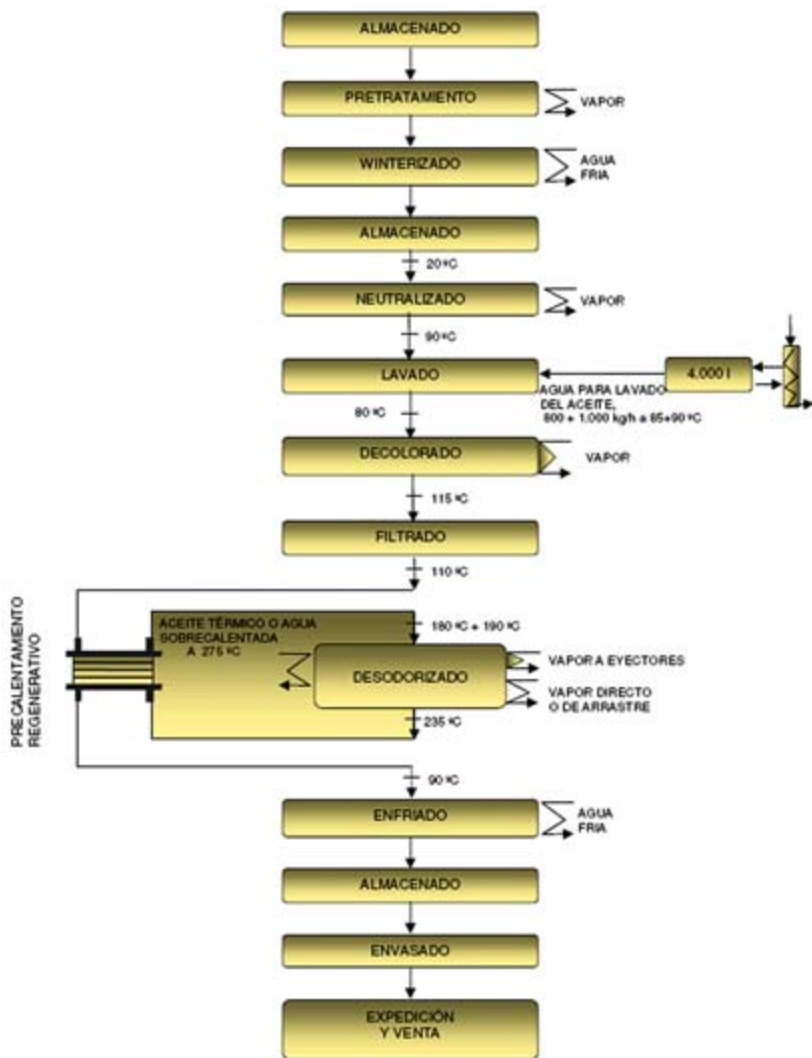
Es un aceite de composición integrado por aceite de orujo refinado enriquecido con aceite de oliva virgen apto para el consumo en la forma en que se obtiene. La acidez no puede sobrepasar 1'5 y sus características sensoriales serán irreprochables. Por su parte, el aceite de orujo refinado proviene de la refinación del aceite de orujo crudo.

El proceso de refinado

Tal como hemos mencionado anteriormente, grandes cantidades de aceite de oliva, en principio vírgenes, deben ser adecuadamente procesadas a través de la refinación por su elevada acidez o sus malas cualidades organolépticas^{63, 64}. Tan sólo el aceite de oliva virgen de determinada calidad se puede utilizar directamente para su consumo inmediato a diferencia de otros tipos de aceite de oliva de calidad inferior llamados lampantes, los aceites de orujo de oliva y todo el resto de aceites de origen vegetal, que deben sufrir un proceso de refinación adecuado. La refinación es un proceso complejo que consta de varias etapas, en cada una de las cuales se va cambiando la composición del aceite. En la actualidad se aplican dos tipos de refinaciones, la química y la física⁵⁹.

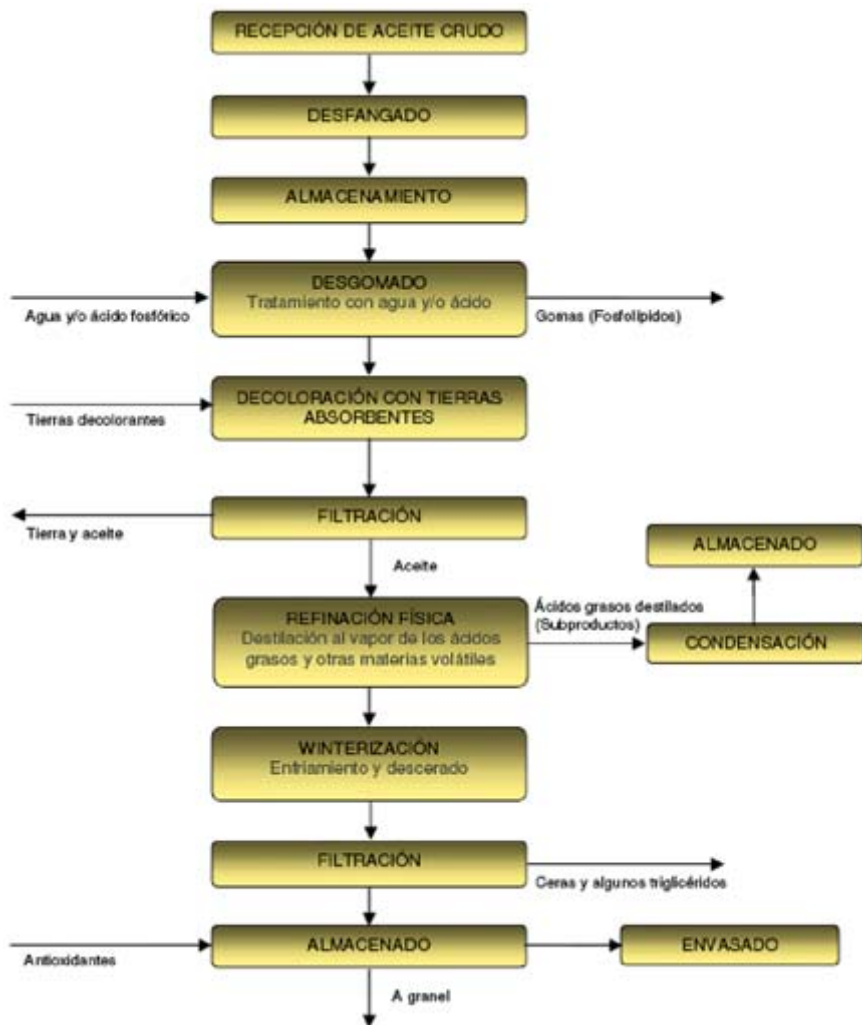
Refinación química Comienza con las etapas de desgomado y neutralización, que permiten eliminar los fosfolípidos y los ácidos grasos libres en forma de jabones⁵⁹. Los restos del hidróxido sódico utilizado se eliminan tras un lavado con agua y el consiguiente secado. Posteriormente, se efectúa la decoloración, que elimina pigmentos como clorofilas, carotenos y xantofilas, para lo que se emplean tierras absorbentes, como carbón activo y arcillas o tierras activadas. El aceite decolorado puede ser sometido a una desodorización, que se lleva a cabo mediante destilación por arrastre con vapor de agua u otros gases. Este proceso elimina aromas pero también afecta de manera especial a los componentes de la fracción insaponificable. Cuando los aceites que se están refinando tienen un alto contenido en ceras y compuestos de elevado peso molecular que dan lugar a una gran viscosidad e incluso apariencia y consistencia sólida, se aplican unos procesos de descerado y fraccionamiento. Finalmente el aceite es filtrado. Un esquema del proceso se muestra en la figura 8.

FIGURA 8. Esquema de la refinación química (MAPA, Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación).



Refinación física: Este procedimiento no utiliza las etapas de neutralización, lavado y secado. Un esquema del proceso se presenta en la figura 9. En este caso la eliminación de los ácidos grasos libres se lleva a cabo a través de una destilación neutralizante en la que se destilan los ácidos grasos y al mismo tiempo se produce una desodorización del aceite ⁵⁹.

FIGURA 9. Esquema de la refinación física (MAPA, Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación).



La refinación siempre lleva consigo la eliminación de sustancias de interés nutricional que pueden sufrir importantes pérdidas, llegando incluso a valores superiores al 50%. Los compuestos más afectados son los tocoferoles, hidrocarburos como el escualeno y compuestos fenólicos. También se puede ocasionar la formación de compuestos no deseables (cíclicos y ácidos grasos trans) y la pérdida de los aromas y colorantes ⁵⁹.

IV. EL EFECTO DE LA DIETA MEDITERRÁNEA SOBRE LA ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

Tal como vimos en el capítulo de la dieta mediterránea, ésta se caracteriza porque la mayor parte de su aporte graso proviene de un solo alimento, el aceite de oliva, lo que explica que sea una dieta pobre en grasa saturada y rica en monoinsaturada, especialmente en ácido oleico. Se caracteriza además por un bajo contenido en colesterol debido a que su base son alimentos vegetales y contiene una serie de nutrientes como carbohidratos y fibra, con efectos beneficiosos sobre el intestino, sobre la colesterolemia y la prevención de la enfermedad cardiovascular ⁶⁵. En Noviembre de 2004 la Administración de Fármacos y Alimentos de los Estados Unidos (US Food and Drug Administration, FDA) reconoció los efectos beneficiosos del aceite de oliva sobre los factores de riesgo cardiovascular atribuidos principalmente a su alto contenido en ácidos grasos monoinsaturados (MUFA), recomendando el consumo de dos cucharadas de aceite de oliva (23 g) diariamente. Pero el aceite de oliva virgen es un alimento funcional que además de MUFA tiene otros componentes minoritarios con importantes propiedades biológicas.

Efecto de los ácidos grasos saturados. Desde los estudios de Keys en la década de los sesenta, diversos estudios epidemiológicos han confirmado que el aporte calórico en forma de grasa saturada eleva el colesterol LDL ⁶⁶⁻⁶⁸, relacionando el consumo de grasa y de ciertos tipos de ácidos grasos con la enfermedad cardiovascular ^{13, 69-73}. La dieta tradicional mediterránea, debido a la baja ingesta de alimentos de origen animal, contiene menos de un 10% de ácidos grasos saturados ⁷⁴ y por lo tanto un mecanismo favorable. Además el reemplazar los SFA por MUFA, se ha observado un efecto hipocolesterolemizante ^{75, 76}.

Los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA). Son ácidos grasos esenciales ya que no pueden ser sintetizados *de novo* por el organismo y deben ser ingeridos a través de la dieta. Los dos principales son el ácido linoleico (C18:2) de la serie n-6 y el ácido linolénico (C18:3) de la serie n-3. El ácido linoleico es el precursor del ácido araquidónico (AA) (20:4, n-6), mientras que el linolénico lo es del eicosapentaenoico (EPA) (20:4, n-3).

Estudios *in vitro* sugieren que los PUFA de la serie n-6 tienen efecto pro-inflamatorio más acusado que los MUFA y que los SFA ⁷⁷. De hecho, el ácido linoleico tiene una gran capacidad de inducir estrés oxidativo en células endoteliales, induce la activación y la actividad transcripcional de NF-kB (este efecto es atenuado por la vitamina E ⁷⁸) e incrementa la producción de citoquinas inflamatorias como la IL-6 y la IL-8 ^{79, 80} involucradas en el inicio y progreso de la arteriosclerosis.

En contraposición, los PUFA de la serie n-3 se asocian con efectos protectores endoteliales. En particular el ácido docosahexaenoico (DHA, 22:6, n-3) disminuye la adhesión de monocitos al endotelio vascular ⁸¹⁻⁸⁴. Otro ácido graso de este tipo, el eicosapentaenoico (EPA, 20:4, n-3) favorece la función endotelial al aumentar la producción de óxido nítrico (NO). Aunque estos resultados *in vitro* son claramente prometedores, los estudios *in vivo* no son tan concluyentes. En un estudio con pacientes que recibieron ácidos grasos n-3 durante seis semanas ⁸⁵ no se encontró reducción de las moléculas de adhesión endoteliales, aunque sí se observó reducción de las mismas después de siete meses. En hombres fumadores, el suplemento con ácidos grasos n-3 en la dieta durante seis semanas redujo el factor protrombogénico de Von Willebrand ⁸⁶. Resultados similares se observaron por Johansen y cols. ⁸⁷.

Entre los mediadores inflamatorios liberados por el endotelio están los compuestos formados a partir del ácido graso n-6 ácido araquidónico (AA) por la acción de la ciclooxigenasa (COX) o la 5-lipooxigenasa (LOX): la prostaglandina E₂ (PGE₂), que puede causar dolor y vasodilatación, o el leucotrieno B₄ (LTB₄), que es quimiotáctico y activador de neutrófilos. El EPA también es un potencial sustrato de la COX que puede competir con el AA por la enzima dando lugar a la formación de prostaglandina E₃ (PGE₃), que aunque se sintetiza con mucha menor eficiencia ⁸⁸ presenta acciones totalmente contrarias:

antitrombóticas, vasodilatadoras, antiquimiotácticas y antiinflamatorias ⁸⁹. El EPA es igualmente sustrato para la LOX, que genera el leucotrieno B₅ (LTB₅), compuesto con menor actividad inflamatoria que el LTB₄ ^{90, 91}. Por lo tanto, incrementando el contenido de ácidos grasos de la serie n-3 en la dieta, el balance de eicosanoides producidos se dirige hacia una mezcla menos inflamatoria. En la dieta mediterránea el consumo moderado de pescados azules ricos en este tipo de ácidos grasos estaría consiguiendo el efecto antiinflamatorio.

Efecto cardioprotector del aceite de oliva como fuente de ácidos grasos monoinsaturados

El beneficio del consumo de aceite de oliva virgen está asociado a un descenso en los principales factores de riesgo cardiovascular ⁹² y a efectos en el metabolismo lipoproteico, el daño oxidativo, la inflamación, la disfunción endotelial, la presión arterial, la trombosis y el metabolismo de los carbohidratos ⁹³.

El ácido oleico es el principal ácido graso presente en el aceite de oliva y corresponde al 29% de la ingesta calórica diaria en algunos países mediterráneos. Se han realizado un gran número de estudios del papel de los MUFA sobre los lípidos plasmáticos, obteniéndose resultados diversos, desde efectos hipocolesterolémicos al utilizarlos como sustitutos de grasas saturadas a no observarse ningún efecto. Al sustituir los hidratos de carbono en dietas pobres en grasa por MUFA se observó reducción en el colesterol LDL y mantenimiento del colesterol unido a las HDL además de un descenso en los niveles de triglicéridos. Un metaanálisis de 10 estudios llevados a cabo en pacientes diabéticos mostró la primera evidencia de los beneficios de las dietas ricas en MUFA con respecto a las dietas ricas en carbohidratos, tanto para individuos sanos como para diabéticos ⁹⁴.

La lipemia postprandial es un factor de riesgo aterogénico asociado a cambios oxidativos ⁹⁵ el cual se ve influenciado por el tipo de grasa de la dieta ⁹⁶. Abia y cols ⁹⁷ demostraron que el consumo de aceite de oliva virgen comparado con el aceite de girasol con alto contenido en oleico reduce la respuesta de las lipoproteínas ricas en triglicéridos durante el posprandio. Esto sugiere que existen otros factores en la composición del aceite de oliva virgen que pueden ser causantes de estos efectos me-

tabólicos. Los quilomicrones que se originan tras la ingesta de aceite de oliva parecen entrar más rápidamente en la circulación y son eliminados de forma más rápida que los originados tras la ingesta de grasa saturada ⁹⁸ o poliinsaturada. Dicho metabolismo acelerado de los quilomicrones otorgaría al aceite de oliva una característica menos aterogénica incluso si la magnitud de la lipemia postprandial fuera similar a la originada por otros tipos de grasa.

Otro factor de riesgo muy vinculado a la dieta es la presión arterial. Varios estudios clínicos en humanos han demostrado el efecto beneficioso en la reducción de la presión arterial al reemplazar las grasas saturadas por MUFA tanto en hombres como en mujeres, y también en comparación con dietas pobres en grasa ^{99, 100}. Un efecto similar se ha corroborado en diabéticos tipo 2 ¹⁰¹. Otro estudio refrendó el efecto beneficioso del aceite de oliva en pacientes hipertensos: aquellos que seguían una dieta rica en grasas poliinsaturadas necesitaban tratamiento hipertensivo mayor que los que consumían aceite de oliva ¹⁰². Se ha observado además, en estudios poblacionales, que existe una relación inversa entre presión arterial y tanto dieta mediterránea como consumo de aceite de oliva ¹⁰³⁻¹⁰⁵. Ruiz-Gutiérrez y cols. compararon el efecto de dos dietas similares ricas en MUFA en mujeres hipertensas, una dieta rica en aceite de oliva virgen y la otra en aceite de girasol con alto contenido en ácido oleico. Estos autores observaron que sólo la dieta rica en aceite de oliva virgen inducía una reducción significativa de la presión arterial, lo cual sugiere un papel importante de los componentes minoritarios sobre la misma ¹⁰⁶. También se ha demostrado dicha reducción de la presión sistólica en ancianos hipertensos ¹⁰⁷.

En cuanto a la susceptibilidad de las LDL a la oxidación, las LDL ricas en oleato son menos susceptibles a la oxidación que las ricas en linoleato ¹⁰⁸⁻¹¹⁴. Comparadas con las dietas ricas en carbohidratos, las dietas ricas en MUFA presentan efecto mayor ^{114, 115} o similar ¹¹⁶ en la reducción de la susceptibilidad a la oxidación ¹¹⁷. Los PUFA, ricos en dobles enlaces, son más susceptibles a la oxidación. Cuando se exponían las LDLs enriquecidas en ácido oleico a estrés oxidativo, se producía una menor quimiotaxis y adhesión de monocitos. Este estudio demostró que los niveles de enriquecimiento dietético con ácido oleico necesarios para obtener esos beneficios eran realistas y

se podían alcanzar con las dietas habitualmente en uso en los países mediterráneos, sugiriendo también que dichas LDLs se convertían menos fácilmente en pro-inflamatorias. Al objeto de explicar el mecanismo implicado en los efectos beneficiosos del ácido oleico, Tsimikas y cols.¹¹⁸ propusieron que podía ser consecuencia del descenso del ácido linoleico en las lipoproteínas. Sin embargo, experimentos con liposomas enriquecidos progresivamente con ácido oleico, pero con cantidades constantes de ácido linoleico mostraron que las partículas con mayor concentración de ácido oleico eran menos susceptibles a la oxidación y que la quimiotaxis y adhesión estaban prácticamente inhibidas cuando se exponían a estrés oxidativo, sugiriendo que el ácido oleico puede tener un mecanismo de acción independiente¹¹⁹.

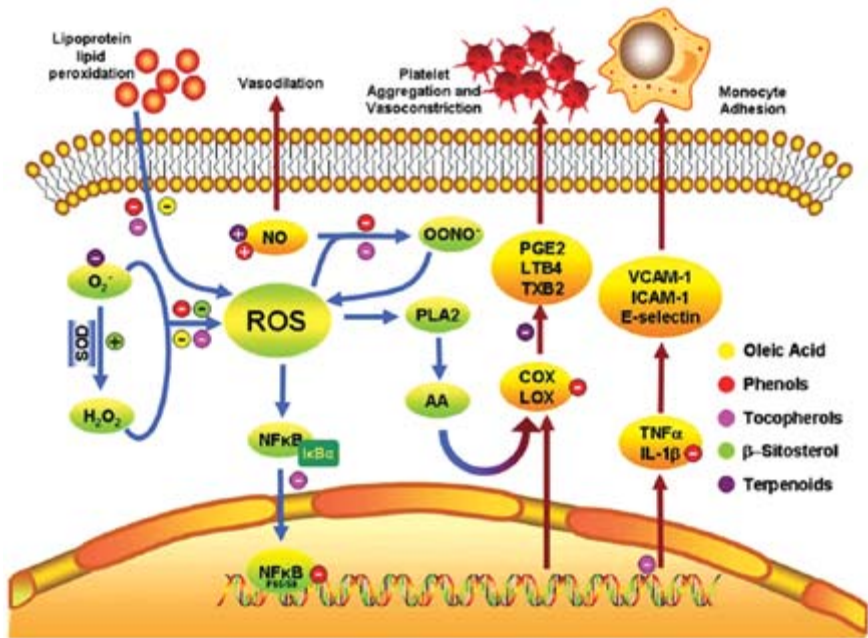
En modelos animales, una dieta rica en aceite de oliva suprimía la actividad de los linfocitos T killer¹²⁰ y la expresión de receptores pro-inflamatorios como el de la interleuquina-2¹²¹. Varios estudios en humanos apoyaban dicho efecto beneficioso en la inflamación. Por ejemplo, la inducción por parte de las LDL de la adhesión de monocitos a células endoteliales fue menor después del consumo de MUFA que después del consumo de SFA o PUFA en individuos sanos¹²². Yaqoob y cols.¹²³ observaron un descenso en la expresión de moléculas de adhesión en células mononucleares de sangre periférica de sujetos sanos que habían consumido una dieta rica en ácido oleico durante 2 meses. Espósito y cols.¹²⁴, en un seguimiento de dos años a pacientes con síndrome metabólico, encontraron que además de mejorar el perfil lipídico, la dieta mediterránea mejoraba la función endotelial y los niveles de marcadores vasculares inflamatorios. En el estudio PREDIMED¹⁸, un estudio de intervención controlado y al azar con 772 participantes con alto riesgo de ECV, los marcadores inflamatorios se redujeron después de 3 meses con una dieta mediterránea con aceite de oliva comparados con una dieta baja en grasa.

Estudios llevados a cabo en células endoteliales *in vitro* han demostrado que el ácido oleico de la dieta puede prevenir la activación endotelial inhibiendo la expresión de moléculas de adhesión y favorecer la producción de NO¹²⁵. La incubación de células endoteliales con ácido oleico *in vitro* reduce la sensibilidad de dichas células a los oxidantes, disminuyendo los niveles de radicales de oxígeno intracelulares^{126, 127}. En este medio,

el ácido oleico reduce la activación y la expresión del NF- κ B y AP-1, interfiriendo en la expresión endotelial de moléculas de adhesión para monocitos circulantes y contribuyendo a un efecto ateroprotector directo^{79, 128-130}. Además, el tratamiento celular con este ácido graso protege las células endoteliales frente a la sobreexpresión de moléculas de adhesión inducidas por citoquinas¹³¹. Esto puede ocurrir mediante dos mecanismos: una reducida producción enzimática de ROS o un incremento en su eliminación. El dilema no se ha resuelto pero se propone también una ruta de señalización que podría estar asociada a la insaturación de los fosfolípidos. Dado que se ha sugerido que la potencia inhibitoria de los ácidos grasos es directamente proporcional a su insaturación^{128, 130} y que la adición de ácido oleico al medio aumenta significativamente el índice de insaturación¹³¹ probablemente a través del desplazamiento de los SFAs, pero no de los PUFAs, en los fosfolípidos de las membranas celulares, este tipo de fosfolípidos podrían generar señales que modulasen la expresión de genes que codifican las moléculas involucradas en el reclutamiento de los monocitos¹²⁸.

La oxidación de los ácidos grasos podría ayudar al secuestro de ROS, reduciendo la formación de superóxidos que pueden dismutarse a H₂O₂, responsable de la activación del factor de transcripción NF- κ B^{132, 133}. Por lo tanto, una alteración del metabolismo del H₂O₂ en células vasculares puede contribuir a la capacidad de los ácidos grasos para modular la susceptibilidad oxidativa celular¹³⁴. Experimentos con células endoteliales de arteria porcina suplementadas con ácido oleico y expuestas a condiciones oxidantes mediante tratamiento con H₂O₂ mostraron un menor incremento del H₂O₂ intracelular¹³⁵. La consecuencia fue un incremento en la resistencia a perturbaciones causadas por LDL oxidadas y una reducción de la disfunción mediada por oxidantes^{134, 136}. Los estudios de Massaro y cols.¹³⁷ mostraron que la incubación con oleato de células endoteliales estimuladas por citoquinas evita el descenso del glutatión (GSH) y parcialmente el incremento intracelular de ROS. Esto ocurre sin cambio alguno en la actividad de enzimas antioxidantes relacionadas con GSH, como la superóxido dismutasa (SOD) y la catalasa. Estos autores sugieren efectos ateroprotectores vasculares directos del oleato por inhibición de la activación endotelial a través del secuestro del ROS. Por el contrario, la incubación con los ácidos linoleico y esteárico reduce los niveles de GSH e incrementa los del factor de transcripción NF- κ B^{79, 138, 139}. Además, la coinci-

FIGURA 10. Mecanismo de acción del ácido oleico y los componentes minoritarios del aceite de oliva. Adaptado de Perona y cols.¹⁴²



bación de ácido linoleico con TNF- α duplica la producción de IL-6 comparado con TNF- α solo, al mismo tiempo que produce un incremento en el contenido de AA en la fosfatidiletanolamina de la membrana. Otros autores sin embargo, han sugerido efectos negativos en pacientes diabéticos de los ácidos grasos no esterificados circulantes como el ácido oleico. En experimentos con células musculares lisas de aorta de rata en cultivo en un medio que contenía oleico a concentraciones similares a los pacientes diabéticos se observó un incremento significativo del receptor de la endotelina-1, sugiriendo una posible aceleración de la aterosclerosis en esos pacientes^{140, 141}.

Efectos de los componentes minoritarios del aceite de oliva

La fracción insaponificable del aceite de oliva virgen es rica en componentes minoritarios con propiedades antioxidantes y antiinflamatorias, tales como los tocoferoles, esteroides y compo-

nentes terpénicos¹⁴³⁻¹⁴⁵. Se estudió la influencia de aceites con diferentes fracciones insaponificables sobre la composición de ácidos grasos y la peroxidación lipídica en conejos y los resultados obtenidos fueron menor susceptibilidad a la oxidación y mayor contenido antioxidante de las LDL de animales alimentados con dieta rica en aceite de oliva virgen¹⁴⁶. Por otro lado, la incubación de células endoteliales con lipoproteínas postprandiales obtenidas de individuos sanos alimentados con tres dietas diferentes que contenían respectivamente aceite de oliva virgen, aceite de girasol alto oleico y aceite de oliva virgen enriquecido en su fracción insaponificable¹⁴⁷ (compuesta por escualeno, compuestos terpénicos y ceras) demostró que la incubación con las lipoproteínas provenientes de los individuos que recibieron el aceite de oliva virgen enriquecido, reducía la producción de prostanoïdes y tromboxanos protrombóticos en comparación con los otros dos grupos pero no se apreció efecto sobre la producción de NO. Estos resultados sugieren que los componentes minoritarios del aceite de oliva virgen, transportados en las lipoproteínas, tienen efectos favorables en la función endotelial mejorando el equilibrio entre factores vasoprotectores y protrombóticos liberados por las células endoteliales.

Tocoferoles

La vitamina E (tocoferoles, tocotrienoles y alguno de sus derivados) tiene un papel protector frente al ataque de los radicales libres^{148, 149}. Además de proteger a las lipoproteínas de baja densidad de la peroxidación lipídica¹⁵⁰⁻¹⁵³, el α -tocoferol tiene un efecto inhibitorio sobre la producción y la expresión de moléculas de adhesión inducidas por citoquinas y las lipoproteínas¹⁵⁴⁻¹⁵⁶ y sobre la adhesión de monocitos a células endoteliales mediante la inhibición de la expresión de la molécula de adhesión, ICAM-1, que facilitan su adherencia^{155, 157}. Sin embargo, el efecto en las moléculas de adhesión parece no estar mediado por el factor de transcripción NF-kB^{132, 157}. También el pretratamiento de células endoteliales con vitamina E previene alteraciones en la membrana causadas por el agua oxigenada¹⁵⁸ y disminuye la apoptosis mediada por LDL-oxidadas¹⁵⁹.

La vitamina E puede modular también el metabolismo de los compuestos eicosanoides en las células endoteliales. En concreto, la síntesis de la prostaglandina PGI₂ está disminuida en ratones

deficientes en vitamina E ^{160, 161} y esta vitamina puede restablecer su reducida síntesis en células endoteliales ^{162, 163}. En una serie de estudios llevados a cabo por Medyani y cols ¹⁶⁴⁻¹⁶⁶ se demostró que el α -tocoferol reduce la actividad de la COX en macrófagos de ratones de edad avanzada estimulados con lipopolisacárido bacteriano. Este efecto se debía a la captación de hidroperóxidos y de NO, que dan lugar a una menor producción de peroxinitritos. Recientemente se han propuesto otras funciones no antioxidantes de la vitamina E como regulador de la expresión génica ¹⁶⁷.

Diversos estudios han analizado el efecto del aporte extra de la vitamina E sobre la arteriosclerosis y los resultados dependen de la dosis y de posibles interacciones. A altas dosis (1333 mg/ kg de dieta durante tres meses) se reducía la progresión de la lesión, la producción de isoprostanos y los niveles de moléculas de adhesión, mientras que aumentaba la producción de NO en ratones modificados genéticamente para desarrollar aterosclerosis ¹⁶⁸. De forma similar en otro modelo de ratón, una dosis menor (800 mg/ kg durante dieciséis semanas) reducía la lesión aterosclerótica sin modificar el perfil lipoproteico, ni el colesterol sérico aunque disminuyó la concentración de isoprostanos ^{169, 170}. En estos ratones, una dosis moderada de 40 a 400 mg/ kg de acetato de α -tocoferol suplementando las dietas aterogénicas reducía las lipoproteínas aterogénicas, pero mostraba resultados contradictorios en la aterogénesis. Mientras en un estudio usando la dosis de 40 mg/ kg, la vitamina E produjo los efectos antioxidantes esperados sin una atenuación sustancial de la aterosclerosis ¹⁷¹, en otro (400 mg /kg frente a un grupo control de 40 mg/kg) sólo ralentizó el proceso ¹⁷². Todos estos estudios indican claramente que existe dependencia de la dosis y posiblemente la existencia de un nivel umbral para obtener beneficios con el aporte de vitamina E.

Fitoesteroles

Diversos estudios, tanto en animales como en humanos, demuestran que la suplementación con fitoesteroles, incluyendo al más abundante en el aceite de oliva virgen, el β -sitosterol, puede causar un descenso de la concentración de colesterol ^{173, 174} por inhibición de la absorción del colesterol ¹⁷⁵ o también por un descenso en la producción de lipoproteínas con apoB producidas tanto en el hígado como en el intestino ¹⁷⁶. Estos compuestos poseen efectos

estrogénicos y diversos estudios se han centrado en su relación con la arteriosclerosis. Se evaluó su capacidad de revertir la lesión arteriosclerótica en ratones deficientes para apoE mediante el suplemento con fitoesteroles al 2% en la dieta y se observó un retraso no significativo en el crecimiento de la placa ¹⁷⁷ y un descenso de la lesión ¹⁷⁸ que dependía del contenido de grasa de la dieta. Los efectos antiaterogénicos se asociaron con un ligero aumento del colesterol HDL junto con un descenso significativo de la actividad de la lipasa hepática y un descenso no significativo de la concentración de fibrinógeno plasmático ¹⁷⁹. Su efecto beneficioso puede convertirse en perjudicial en individuos con sitosterolemia, enfermedad causada por mutaciones en los transportadores intestinales que limitan la normal absorción intestinal de los esteroles ^{180 181}.

No se disponen de muchos datos del efecto de estos compuestos sobre la función vascular. De Jongh y cols ¹⁸² administraron una mezcla de fitoesteroles (β -sitosterol, campesterol, stigmasterol y otros) a 41 niños con hipercolesterolemia familiar y observaron una reducción en el colesterol transportado por las LDL pero sin efecto sobre la función endotelial.

De la Puerta y cols ¹⁴⁴ observaron efectos antiinflamatorios del β -sitosterol en la reducción del edema auricular inducido en ratones de forma más eficaz que compuestos tales como el hidroxitirosol o la oleuropeína. Tras la incubación con β -sitosterol de macrófagos, se observó una reducción de la producción de radicales de oxígeno y de la liberación de AA. La modulación de radicales de oxígeno puede regular la liberación de AA por la fosfolipasa A₂ al igual que la inducción de COX-2 a través de la activación del factor de transcripción NF-kB. Mediante este mecanismo, el β -sitosterol puede reducir la producción de prostaglandinas por parte de los macrófagos ya que el AA es el precursor de prostaglandinas ¹⁸³. Posteriormente, este autor observó que el β -sitosterol puede regular el ciclo redox del glutation (GSH) estimulando las actividades GSH peroxidasa y SOD, por lo tanto disminuyendo los niveles de radicales de oxígeno.

Hidrocarburos

El escualeno presente en el plasma sanguíneo se origina por una parte de la síntesis endógena del colesterol y por otra a partir de la dieta, especialmente en poblaciones con un consumo elevado en aceite de oliva o hígado de tiburón. En humanos, entre

un 60-85% del escualeno de la dieta se absorbe y se transporta en el plasma ¹⁸⁴⁻¹⁸⁶ mientras que en animales la eficiencia de absorción gastrointestinal del escualeno se estima en un 42% ¹⁸⁷. El escualeno procedente de la dieta aparece en las fracciones lipoproteicas postprandiales ¹⁸⁸ generalmente asociado a lipoproteínas VLDL de donde es distribuido a varios tejidos ¹⁸⁴. Algunos estudios han mostrado que la suplementación dietética con escualeno aumenta tanto el contenido de escualeno como de colesterol en tejidos, lo que refleja una producción de colesterol estimulada por el escualeno ¹⁸⁹⁻¹⁹³. Sin embargo, otros estudios han demostrado que el escualeno de la dieta o bien no tenía efecto o disminuía los niveles de triglicéridos y colesterol en humanos y animales, lo que se ha atribuido a un aumento en la eliminación de colesterol como sales biliares fecales ¹⁸⁴ y a la inhibición de la biosíntesis del colesterol por parte del escualeno ingerido ¹⁹⁴. Varios trabajos han descrito propiedades antilipidémicas, antioxidantes y estabilizadoras de la membrana del escualeno ¹⁹⁵ y como un importante agente dietético con actividad quimioprotectora frente al cáncer ¹⁹⁶. Investigaciones y ensayos clínicos han demostrado que el escualeno es seguro como suplemento dietético ¹⁹⁷. Se ha demostrado también su capacidad como antídoto para reducir la toxicidad accidental inducida por drogas ^{198, 199}. Estos efectos protectores se atribuyen a su capacidad antioxidante ya que se ha descrito como un secuestrador del radical de oxígeno y de otros radicales libres ²⁰⁰.

Nuestro grupo ha estudiado el efecto de la administración del escualeno a la dosis farmacológica de 1g/ kg ratón/día y se ha observado un menor desarrollo de aterosclerosis en los machos, en tanto que en las hembras no tuvo efecto. Este distinto comportamiento entre los sexos iba asociado al diferente efecto que ejercía el escualeno sobre la grasa hepática, que disminuía en machos y no experimentó cambios en las hembras ²⁰¹. En conclusión, este compuesto posee importantes acciones farmacológicas como agente ateroprotector y su administración es segura a altas dosis, aunque en su contra presenta una acción selectiva en función del sexo.

Triterpenos

El potencial terapéutico de los compuestos triterpenoides del aceite de oliva no se ha estudiado en profundidad. Con respecto

al eritrodiol y al uvaol se les atribuye actividad antiinflamatoria, en la cual parece estar implicado el grupo hidroxilo en el carbono 28. Son capaces de reducir el edema causado por los ésteres de forbol (agente promotor de tumores y activador de la protein-kinasa C) con una posible acción a nivel de la fosfolipasa A₂¹⁴⁴.

Mejor conocidos son algunos de los efectos farmacológicos del ácido oleanólico, entre los que se han descrito: actividad antiinflamatoria²⁰², propiedad común de muchos triterpenos, ya que inhibe las actividades de las enzimas COX-2 y LOX, responsables de la producción de PGE₂ y LTB₄, respectivamente; actividad hepatoprotectora frente a tóxicos^{203, 204}, actividad antitumoral^{205, 206}, efectos cardiovasculares y otras actividades como antiulcerosa, antidiabetogénica, o antimicrobiana²⁰⁷. El ácido oleanólico ha mostrado un efecto antioxidante frente a la oxidación de las LDL²⁰⁸. Igualmente, puede disminuir la generación de radicales de oxígeno por parte de los neutrófilos humanos por un mecanismo independiente de la protein-quinasa²⁰⁹. La ingestión de aceite de orujo enriquecido en ácido oleanólico y eritrodiol disminuye la peroxidación lipídica microsomal en ratas²¹⁰. Hay pocos datos disponibles sobre la acción de los triterpenos en parámetros relacionados con la enfermedad cardiovascular. Estudios recientes "in vivo" han demostrado los beneficios del ácido oleanólico en la prevención de la hipertensión²¹¹. Esta actividad podría atribuirse a la potente actividad diurética- natriurética, a un efecto antioxidante y antihiperlipidémico. Este compuesto es capaz de inducir *in vitro* la vasorrelajación dependiente de NO en el endotelio de la aorta de ratas normotensas¹⁴⁵ e hipertensas⁴⁸. El mecanismo por el cual se mejora la función endotelial en ratas hipertensas es el aumento en la expresión de la NO sintasa²¹². De ahí que se haya propuesto que estos terpenoides puedan representar una terapia adicional para la hipertensión.

En un estudio reciente para ver la influencia de estos compuestos sobre el desarrollo de la lesión aterosclerótica, se establecieron tres grupos de ratones carentes de la apolipoproteína E, los cuales consumieron: una dieta estándar (grupo control), una dieta estándar enriquecida con aceite de oliva y una dieta estándar enriquecida con aceite de orujo que presenta estos compuestos en mayor concentración. Tras el período de intervención, se cuantificaron los valores de las lesiones ateroscleróticas de los animales y se observó que aquellos que recibieron el aceite de orujo presentaron valores significativamente

más bajos que los animales alimentados con las otras dos dietas. Por tanto, se concluyó que los componentes presentes en el aceite de orujo tendrían potencia suficiente para disminuir el desarrollo de aterosclerosis en ratones carentes de la apoE ²¹³.

Investigadores de la Universidad de Granada han demostrado la actividad del ácido maslínico como un inhibidor de proteasas, indicando su posible aplicación en el tratamiento del virus del SIDA al necesitar el mismo las serin-proteasas celulares en su mecanismo de invasión de otras células del organismo. En estos experimentos se ha demostrado que este componente natural es capaz de bloquear la actividad de las serin-proteasas, evitando por tanto la expansión de dicho virus ^{214, 215}. A partir de estos resultados, se estudió el efecto del ácido maslínico sobre *Cryptosporidium*, protozoo parásito que también utiliza las serin proteasas para entrar en la célula e infectarla y se observaron idénticos resultados. Por tanto el ácido maslínico parece ser efectivo en el tratamiento de enfermedades causadas por parásitos y virus que utilizan esta enzima en su mecanismo de acción patológico ²¹⁶.

Un estudio reciente muestra la capacidad del ácido maslínico para evitar el daño causado por la producción de radicales libres, ya que reduce los niveles de peroxidación lipídica en plasma y en los hepatocitos ²¹⁷. También se ha observado un efecto supresor del ácido maslínico sobre el estrés oxidativo y la producción de citoquinas en macrófagos murinos estimulados ²¹⁸. Al analizar la expresión de genes modulados por el ácido maslínico, se comprobó que estimula a dosis bajas (1.5 mg/ kg) la expresión de factores de transcripción cuyo papel aún no se conoce, como el Dbp, y que posee propiedades hepatoprotectoras ²¹⁹.

Compuestos fenólicos

Aunque el escualeno y los triterpenos han mostrado actividad antioxidante en condiciones experimentales, las propiedades antioxidantes de los compuestos fenólicos han sido las más extensamente estudiadas ²²⁰. En estudios experimentales estos compuestos, al igual que otros polifenoles derivados de plantas, muestran fuerte acción frente a la oxidación de las LDL ²²¹⁻²²³ de forma similar a la vitamina E ²²⁴. Son potentes antioxidantes y captan radicales libres ayudando a revertir el desequilibrio

entre el estrés oxidativo y una defensa antioxidante alterada. Reducen la susceptibilidad a la oxidación de las lipoproteínas obtenidas de sujetos que consumen aceite de oliva ²²⁵. Las propiedades antioxidantes de los o-difenoles están asociadas con su capacidad para formar uniones de hidrógeno intramoleculares entre los grupos hidroxilo y los radicales fenoxílicos ²²⁶, por tanto, el número y la posición de los grupos hidroxilo es importante tanto en flavonoides como fenoles ²²⁷. Del estudio de las estructuras resonantes formadas durante el proceso de oxidación, se observó que las sustituciones en *orto* y *para* son más estables que en *meta* ²²⁸. En particular, la sustitución difenólica en *orto* da una mayor capacidad antioxidante, mientras que una sustitución simple como en el tirosol no confiere ninguna actividad, ya que no protege a las LDL de la oxidación inducida químicamente.

La susceptibilidad a la oxidación de las LDL depende no sólo de su contenido graso sino también del contenido de antioxidantes de las mismas (vitamina E y polifenoles). El hecho de que los componentes fenólicos del aceite de oliva sean biodisponibles en humanos ²²⁹ incluso a dosis (25 ml (22 g)/día) ²³⁰ menores de las presentes en la dieta mediterránea (30-50 g/día) ²³¹ refuerza su posible papel protector *in vivo*. El tirosol (T) e hidroxitirosol (HT), los principales componentes fenólicos del aceite de oliva, se absorben de forma dependiente de la dosis de aceite de oliva ^{229, 230}. Debido a eso, pueden usarse como biomarcadores del consumo de aceite de oliva. Alrededor de un 98% de T y HT están en forma de conjugados en plasma y orina, principalmente como conjugados del ácido glucurónico, lo cual sugiere un primer paso metabólico intestinal/ hepático de las formas primarias ingeridas ^{232, 233}. La actividad biológica de estos compuestos parece ser debida principalmente a sus metabolitos. De hecho, se ha observado que la actividad sequestradora de radicales libres del 3-O-glucuronido de HT es más fuerte que el HT por sí solo ²³⁴. Los principales metabolitos identificados en estudios *in vitro* e *in vivo* fueron los derivados O-metilados del HT, glucuronidos de HT y T y un nuevo conjugado glutationil del HT ^{234, 235}. Los efectos antioxidantes *in vivo* de estos glucuronidatos son escasos y contradictorios. Sin embargo, en estudios de intervención en los que se administran dosis crecientes de compuestos fenólicos en el aceite de oliva virgen, se ha observado una reducción del estado oxidativo tanto en sujetos sanos ^{236, 237} como dislipidémicos ²³⁸. También se han

obtenido resultados contradictorios sobre el efecto antioxidante de los componentes fenólicos del aceite de oliva en estudios postprandiales. Basándose en dichos estudios, el Informe Consenso realizado por el panel de expertos en la Conferencia Internacional del Aceite de Oliva y Salud que tuvo lugar en octubre de 2004 en Jaén ²²⁰ concluyó que los datos en relación con los beneficios de estos compuestos en humanos a dosis diarias reales eran contradictorios, los efectos protectores sobre la oxidación lipídica tenían lugar en condiciones de estrés oxidativo, los mejores resultados se obtenían en los parámetros directamente asociados a la oxidación de las LDL, y por tanto se requerían estudios cuidadosamente controlados en poblaciones apropiadas o con un tamaño de muestra grande para establecer en qué condiciones ejercían estos compuestos su efecto beneficioso en el control del estrés oxidativo.

Sin embargo, los resultados del reciente estudio EUROLIVE (efecto del consumo de aceite de oliva en el daño oxidativo en poblaciones europeas), estudio clínico llevado a cabo en 200 individuos de cinco países europeos los cuales recibían 25 ml/diarios de tres aceites de oliva similares con diferencias en su contenido fenólico en periodos de 3 semanas con 2 semanas de descanso entre ellos, han proporcionado nuevas evidencias del papel antioxidante “in vivo” de los compuestos fenólicos del aceite de oliva y del hecho de que el aceite de oliva es más que una grasa MUFA ^{239, 240}. Todos los aceites elevaron el colesterol HDL y la relación entre formas reducidas y oxidadas del glutatión, y descendieron los triglicéridos, la relación colesterol total/ HDL y el daño oxidativo en el DNA. El consumo de aceite de oliva con contenido fenólico medio y alto disminuía la relación LDL/HDL, las LDL oxidadas en plasma, los dienos y los ácidos grasos hidroxilados. Los mayores efectos de incremento de HDL y descenso del daño lipídico oxidativo se observaron después del consumo de aceite de oliva con alto contenido fenólico. Se han realizado recientemente dos estudios sobre el efecto de dichos compuestos en la oxidación del DNA; en uno de ellos no se observó efecto ²⁴¹ mientras que en el otro se observó efecto protector sobre la oxidación del DNA en mujeres posmenopáusicas ²⁴².

Otras acciones importantes de estos compuestos son: inhibición de la agregación plaquetaria, reducción de la formación de moléculas proinflamatorias como TXB₂ y LTB₄, inhibición del uso

del oxígeno en neutrófilos humanos, incremento de la producción de NO por los macrófagos de ratas expuestas a endotoxinas, regulación del sistema inmune, etc. Se han descrito propiedades similares a la molécula antiinflamatoria ibuprofeno por parte de un compuesto fenólico del aceite de oliva, oleocantal, inhibiendo la ciclooxigenasas 1 y 2 ²⁴³. Diversos estudios han examinado los efectos antiinflamatorios y vasculoprotectores de los componentes fenólicos del aceite de oliva en humanos, observándose que reducen los mediadores inflamatorios derivados del ácido araquidónico ^{238, 244-246}. En mujeres posmenopáusicas, los niveles de TXB₂ en el plasma rico en plaquetas estimuladas, pero no en orina, eran significativamente mayores después de una dieta rica en ácido oleico derivado de aceite de girasol que después de una dieta con alto contenido fenólico del aceite de oliva ²⁴⁴. En pacientes diabéticos, se observó un descenso del 46 % en la producción de TXB₂ sérico después de cuatro días de consumo de residuos de aceituna que proporcionaban 12,5 mg/ día de hidroxitiroso ²⁴⁵. Recientemente, el aceite de oliva virgen rico en polifenoles mostró una mayor efectividad para descender LTB₄ y TXB₂ que el refinado, con bajo contenido fenólico en el estado postprandial tanto en sujetos sanos ²⁴⁶ como dislipidémicos ²³⁸.

Como conclusión y a la luz de las evidencias recopiladas y que les he presentado, cada vez es más evidente que los efectos beneficiosos para la salud atribuidos al aceite de oliva virgen no se pueden explicar únicamente por su contenido en ácido oleico, ya que sus componentes minoritarios tienen funciones fisiológicas y farmacológicas relevantes. En resumen, entre estos compuestos, los tocoferoles y los compuestos fenólicos pueden mejorar la función endotelial al reducir los niveles de radicales libres y como consecuencia la producción de eicosanoides y moléculas de adhesión. A través de estas moléculas se modularía el reclutamiento de monocitos a las lesiones ateroscleróticas. Otros componentes menos estudiados como los fitoesteroles y los terpenoides presentan también efectos antiinflamatorios y vasorelajantes respectivamente que igualmente condicionan la función cardiovascular y el desarrollo de las lesiones ateroscleróticas. En su conjunto, estos cuatro grupos de compuestos parecen ser responsables de las acciones biológicas del aceite de oliva virgen y en particular de la categoría que denominamos extra.

En otro orden de cosas, la posibilidad tecnológica de conseguir cada vez aceites más enriquecidos en estos compuestos

está igualmente abierta a la investigación. Así, otras preparaciones derivadas de la oliva como el aceite de orujo, con mayor contenido en estos compuestos minoritarios, están siendo particularmente estudiadas y podrían tener un papel importante en la prevención de las enfermedades cardiovasculares. El desarrollo de nuevos métodos de preparación sin necesidad de empleo de disolventes en su obtención pueden convertirlo en un complemento nutricional. En conjunto, la presencia de todos estos componentes activos en estos aceites de oliva vírgenes y de orujo sin disolventes los convierten en una garantía para realizar prevención cardiovascular mediante su empleo.

Además no quisiera dejar la oportunidad de enfatizar que este avance científico-tecnológico con repercusión internacional ha sido generado en su mayor parte en centros de investigación de España. Lo que por una parte pone de manifiesto el nivel alcanzado en la investigación científica española, sustentada por la propia sociedad, y por otra que este conocimiento es capaz de proporcionar un valor añadido a un producto nacional, con importantes repercusiones sociales y económicas.

He dicho.

V. BIBLIOGRAFÍA

1. Haber, B., The Mediterranean diet: a view from history, *Am J Clin Nutr*, 1997, 66: 1053S-1057S.
2. Jiménez, J. A., Aspecto histórico de la alimentación mediterránea, *Clínica e investigación en arterosclerosis*, 2000, 12: 81-84.
3. Alarcon de la Lastra, C., Barranco, M. D., Motilva, V. and Herreñas, J. M., Mediterranean diet and health: biological importance of olive oil, *Curr Pharm Des*, 2001, 7: 933-950.
4. Willet, W., Diet and Health: What Should We Eat?, *Science*, 1994, 264: 532-537.
5. Mata, P. and Oya, M., Dieta y enfermedad cardiovascular, *Revista Clínica Española*, 1993, 192: 41-48.
6. Viola, P., El aceite de oliva y la salud, Madrid, Consejo Oleícola Internacional, 1997.
7. Keys, A., Mediterranean diet and public health: personal reflections, *Am J Clin Nutr*, 1995, 61: 1321S-1323S.
8. Galli, C. and Visioli, F., Antioxidant properties of Mediterranean diet, *Int J Vitam Nutr Res*, 2001, 71: 185-188.
9. Wahrburg, U., Kratz, M. and Cullen, P., Mediterranean diet, olive oil and health, *Eur J Lipid Sci Technol*, 2002, 104: 698-705.
10. International Consensus Conference on the Mediterranean Diet, 2000 Consensus Statement. Dietary fat, the Mediterranean diet and lifelong good health. Olways Preservation and Exchange Trust, International Task Force for the Prevention of Coronary Heart Disease, In, European Community. London, 2000.
11. Willett, W. C., Sacks, F., Trichopoulou, A., Drescher, G., Ferro-Luzzi, A., Helsing, E. and Trichopoulos, D., Mediterranean diet pyramid: a cultural model for healthy eating, *Am J Clin Nutr*, 1995, 61: 1402S-1406S.

12. Gifford, K. D., Dietary fats, eating guides, and public policy: history, critique, and recommendations, *Am J Med*, 2002, 113 Suppl 9B: 89S-106S.
13. Keys, A., Coronary heart disease in Seven Countries, *Circulation*, 1974, 41(Suppl 1): 1-211.
14. Menotti, A., Lanti, M., Puddu, P. E. and Kromhout, D., Coronary heart disease incidence in northern and southern European populations: a reanalysis of the seven countries study for an European coronary risk chart *Heart*, 2000, 84: 238-244.
15. de Lorgeril, M., Renaud, S., Mamelle, N., Salen, P., Martin, J. L., Monjaud, I., Guidollet, J., Touboul, P. and Delaye, J., Mediterranean alpha-linolenic acid-rich diet in secondary prevention of coronary heart disease, *Lancet*, 1994, 343: 1454-1459.
16. Singh, R. B., Dubnov, G., Niaz, M. A., Ghosh, S., Singh, R., Rastogi, S. S., Manor, O., Pella, D. and Berry, E. M., 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: 1455-1461.
17. Trichopoulou, A., Bamia, C. and Trichopoulos, D., Mediterranean diet and survival among patients with coronary heart disease in Greece, *Arch Intern Med*, 2005, 165: 929-935.
18. Estruch, R., Martinez-Gonzalez, M. A., Corella, D., Salas-Salvado, J., Ruiz-Gutierrez, V., Covas, M. I., Fiol, M., Gomez-Gracia, E., Lopez-Sabater, M. C., Vinyoles, E., Aros, F., Conde, M., Lahoz, C., Lapetra, J., Saez, G. and Ros, E., Effects of a Mediterranean-style diet on cardiovascular risk factors: a randomized trial, *Ann Intern Med*, 2006, 145: 1-11.
19. Perez-Jimenez, F., Alvarez de Cienfuegos, G., Badimon, L., Barja, G., Battino, M., Blanco, A., Bonanome, A., Colomer, R., Corella-Piquer, D., Covas, I., Chamorro-Quiros, J., Escrich, E., Gaforio, J. J., Garcia Luna, P. P., Hidalgo, L., Kafatos, A., Kris-Etherton, P. M., Lairon, D., Lamuela-Raventos, R., Lopez-Miranda, J., Lopez-Segura, F., Martinez-Gonzalez, M. A., Mata, P., Mataix, J., Ordovas, J., Osada, J., Pacheco-Reyes, R., Perucho, M., Pineda-Priego, M., Quiles, J. L., Ramirez-Tortosa, M. C., Ruiz-Gutierrez, V., Sanchez-Rovira, P., Solfrizzi, V., Soriguer-Escofet, F., de la Torre-Fornell, R., Trichopoulos, A., Villalba-Montoro, J. M., Villar-Ortiz, J. R. and Visioli, F., International conference on the healthy effect of virgin olive oil, *Eur J Clin Invest*, 2005, 35: 421-424.
20. Serra-Majem, L., de la Cruz, J., Ribas, L. and Tur, J. A., Olive oil and the Mediterranean diet: beyond the rhetoric, *Eur J Clin Nutr*, 2003, 57 Suppl 1: S2-7.

21. Ross, R., Atherosclerosis—an inflammatory disease, *N Engl J Med*, 1999, 340: 115-126.
22. Mataix Verdú, F. J., *El aceite de oliva. Bases para el futuro.*, Jaén, Junta de Andalucía 1988.
23. Civantos, L., Contreras, R. and Grana, R., *Obtención del Aceite de Oliva Virgen*, Madrid, Editorial Agrícola Española, 2.^a Edición, 1999.
24. Boskou, D., *Olive oil, Chemistry and Technology.*, Champaign,AOCS Press, 1996.
25. Harwood, J. and Aparicio, R., *Handbook of olive oil, Analysis and Properties*, Kluwer Academic Publishers J.L. Harwood, R. Aparicio, 2000.
26. Boskou, D., *Olive oil, Chemistry and Technology*, 1998: 67-103.
27. Boskou, D., *Olive oil, World Rev Nutr Diet*, 2000, 87: 56-77.
28. Fedeli, E., *Progress on Chemistry of Fats and Other Lipids*, Paris, E. Ralph&T.Holman, Ed., Pergamon Press, 1977: 15-74.
29. Casadei, M., *First Results on Detection of Adulterated Olive Oil Products with Hazelnut and/or Esterified Oils by HPLC of Triglycerides*, *M Riv Ital Sost Grasse*, 1987, 69 (9): 373-376.
30. Dieffenbacher, A. and Pocklington, W. D., *1st Supplement to the 7th Edition of Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivates*, Oxford, Internacional Union of Pure and Applied Chemistry, 1992.
31. Jiménez, J., Rondón, D., Martínez, L. and Mataix, J., *Composición Química de los Aceites de Oliva*, In: Mataix, J. (ed), *Aceite de Oliva Virgen: nuestro patrimonio alimentario*, Universidad de Granada, Puleva Food, 2001: 115-136.
32. Montedoro, G., Taticchi, A., Esposto, S., Selvaggini, R., Urbani, S. and Servili, M., *Antioxidants in virgin olive oil.*, *Olea.FAO OLIVE NETWORK*, 2007, 26: 5-13.
33. Lanzón, A. A., T ; Cert, A.; Gracián, J., *The hydrocarbon fraction of virgin olive oil and changes resulting from refining*, *Journal of the American Oil Chemists' Society* 1994, 71: 285-291.
34. Gutfinger, J. and Letan, L., *Studies of unsaponifiables in several vegetable oils*, *Lipids magazine*, 1974, 9: 658.
35. Ginda, A. L., A and Albi,T, *Differences in Hydrocarbons of Virgin Olive Oils Obtained from Several Olive Varieties*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1993, 44: 1723-1726.
36. Owen, R. W., Mier, W., Giacosa, A., Hull, W. E., Spiegelhalder, B. and 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: 647-659.

37. Tiscornia, E., Fiorina, N. and Evangelistis, F., Chemical Composition of Olive Oil and Variations Induced by Refining, *Riv Ital Sost Grasse*, 1982, 59: 519.
38. Minguez-Mosquera, M. I., Rejano-Navarro, L., Gandul-Rojas, B., Sánchez-Gómez, A. H. and Garrido-Fernández, J., Color Pigment Correlation in Virgin Olive Oil, *J Am Oil Chem Soc*, 1991, 68: 332.
39. Su, Q., Rowley, K. G., Itsiopoulos, C. and O'Dea, K., Identification and quantitation of major carotenoids in selected components of the Mediterranean diet: green leafy vegetables, figs and olive oil, *Eur J Clin Nutr*, 2002, 56: 1149-1154.
40. Jorgensen, K. and Skibsted, L. H., Carotenoid scavenging of radicals. Effect of carotenoid structure and oxygen partial pressure on antioxidative activity, *Z Lebensm Unters Forsch*, 1993, 196: 423-429.
41. Handelman, G. J., Carotenoids as scavengers of active oxygen species, In: Gadenas E, P. L. (ed), *Handbook of Antioxidants*, New York, Gadenas E, Packer L, editors, 1996: 259-314.
42. Perrin, J. L., Les Composés Mineurs et les Antioxygènes naturels de l'Olive et de son Huile, *Rev Franc Corps Gras*, 1992, 39: 25-32.
43. Speek, A. J., Schrijver, J. and Schreurs, W. H. P., Vitamin E Composition of some Seed Oils as Determined by High-Performance Liquid Chromatography with Fluorometric Detection, *J Food Sci.*, 1985, 50: 122.
44. Fedeli, E. and Conesi, N., Origin and Technology of Virgin Olive Oils, *Riv Ital Sost Grasse*, 1993, 70: 419.
45. Hernandez, N. and Boatella, J., Variations of the Tocopherols and Tocotrienols Content in the Obtention, Refining and Hydrogenation Processes of Edible Oils., *Grasas Aceites*, 1987, 36: 145.
46. Perez-Camino, M. C. and Cert, A., Quantitative determination of hydroxy pentacyclic triterpene acids in vegetable oils, *J Agric Food Chem*, 1999, 47: 1558-1562.
47. Cert, A., Moreda, W. and García-Moreno, J., Determinación de esteroides y dialcoholes triterpénicos en aceite de oliva mediante separación de la fracción por cromatografía líquida de alta eficacia y análisis por cromatografía de gases. Estandarización del método analítico. *Grasas y Aceites*, 1999, 48: 207-218.
48. Rodríguez-Rodríguez, R., Perona, J. S., Herrera, M. D. and Ruiz-Gutiérrez, V., Triterpenic compounds from "orujo" olive oil elicit vasorelaxation in aorta from spontaneously hypertensive rats, *J Agric Food Chem*, 2006, 54: 2096-2102.

49. García-Granados, Process for the industrial recovery of oleanolic and maslinic acids contained in the olive milling byproducts. 1997. Patente. 128.179706
50. Boskou, D., Stephanou, G. and Konstantinidis, M., Tetracosanol and Hexacosanol Content of Greek Olive Oils, *Grasas Aceites*, 1983, 34: 402-404.
51. Ioth, T., Tamura, T. and Matsumoto, T., Sterol Composition of 19 Vegetable Oils, *J Am Oil Chem Soc*, 1973, 50: 122-125.
52. Boskou, D. and Morton, I. D., Changes in the Sterol Composition of Olive Oil on Heating, *J Sci Food Agric*, 1975, 26: 1149.
53. Calapaj, R., Chiricosta, S., Saija, G. and Binova, V., Evaluation of Gas Chromatographic and Spectrophotometric Analytical Results to Check the Presence of Seed Oils in Olive Samples, *Riv Ital Sost Grasse*, 1993, 70: 575.
54. Montedoro, G. F., Servili, M., Baldioli, M. and Miniati, E., Simple and hydrolyzable phenolic compounds in virgin olive oil: Their extraction, separation and quantitative and semiquantitative evaluation by HPLC, *J Agric Food Chem*, 1992, 40: 1571-1576.
55. Galli, C. and Visioli, F., Antioxidant and other activities of phenolics in olives/olive oil, typical components of the Mediterranean diet, *Lipids*, 1999, 34 Suppl: S23-26.
56. Brenes, M., Garcia, A., Garcia, P., Rios, J. J. and Garrido, A., Phenolic compounds in Spanish olive oils, *J Agric Food Chem*, 1999, 47: 3535-3540.
57. Angerosa, F., Servili, M., Selvaggini, R., Taticchi, A., Esposto, S. and Montedoro, G., Volatile compounds in virgin olive oil: occurrence and their relationship with the quality, *J Chromatogr A*, 2004, 1054: 17-31.
58. Venkateshwarlu, G., Let, M. B., Meyer, A. S. and Jacobsen, C., Modeling the sensory impact of defined combinations of volatile lipid oxidation products on fishy and metallic off-flavors, *J Agric Food Chem*, 2004, 52: 1635-1641.
59. Alba, J. and Martínez, L., Elaboración de Aceites de Oliva, In: Mataix, J. (ed), *Aceite de Oliva Virgen: nuestro patrimonio alimentario*, Universidad de Granada, Puleva Food, 2001: 43-61.
60. Espínola, F., Cambios tecnológicos en la extracción del aceite oliva virgen, *Alimentación, equipos y tecnología*, 1996.
61. Uceda, M., Tipos y calidad de Aceites de Oliva, In: Mataix, J. (ed), *Aceite de Oliva Virgen: nuestro patrimonio alimentario*, Universidad de Granada, Puleva Food, 2001: 101-113.

62. (IOOC), I. O. O. C., Trade standard applying to olive oils and olive-pomace oils. In, 2006: <http://www.internationaloliveoil.org>
63. Denise, J., *Le Raffinage des Corps Gras*, Paris, Whesthoek-Editions, 1982.
64. Hendrix, B., *Edible Fats and Oils Processing: Basic Principles and Modern Practises*, Illinois, Ed. D.R. Erickson., Am.Oil Chem. Soc. Chamaing, 1990.
65. Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). Final Report, *Circulation*, 2002, 106: 3143-3421.
66. Mensink, R. P., Zock, P. L., Katan, M. B. and Hornstra, G., Effect of dietary cis and trans fatty acids on serum lipoprotein[a] levels in humans, *J Lipid Res*, 1992, 33: 1493-1501.
67. Dietschy, J. M., Wollelt, L. A. and Spady, D. K., Dietary fatty acids and the regulation of plasma low-density lipoprotein cholesterol levels, *Atherosclerosis Reviews*, 1991, 23: 7-18.
68. Kris-Etherton, P. M. and Yu, S., Individual fatty acid effects on plasma lipids and lipoproteins: human studies, *Am J Clin Nutr*, 1997, 65: 1628S-1644S.
69. Kagan, A., Harris, B. R., Winkelstein, W., Jr., Johnson, K. G., Kato, H., Syme, S. L., Rhoads, G. G., Gay, M. L., Nichaman, M. Z., Hamilton, H. B. and Tillotson, J., Epidemiologic studies of coronary heart disease and stroke in Japanese men living in Japan, Hawaii and California: demographic, physical, dietary and biochemical characteristics, *J Chronic Dis*, 1974, 27: 345-364.
70. McGee, D. L., Reed, D. M., Yano, K., Kagan, A. and Tillotson, J., Ten-year incidence of coronary heart disease in the Honolulu Heart Program. Relationship to nutrient intake, *Am J Epidemiol*, 1984, 119: 667-676.
71. Shekelle, R. B., Shryock, A. M., Paul, O., Lepper, M., Stamler, J., Liu, S. and Raynor, W. J., Jr., Diet, serum cholesterol, and death from coronary heart disease. The Western Electric study, *N Engl J Med*, 1981, 304: 65-70.
72. Kushi, L. H., Lew, R. A., Stare, F. J., Ellison, C. R., el Lozy, M., Bourke, G., Daly, L., Graham, I., Hickey, N., Mulcahy, R. and et al., Diet and 20-year mortality from coronary heart disease. The Ireland-Boston Diet-Heart Study, *N Engl J Med*, 1985, 312: 811-818.
73. Kannel, W. B., Castelli, W. P., Gordon, T. and McNamara, P. M., Serum cholesterol, lipoproteins, and the risk of coronary heart disease. The Framingham study, *Ann Intern Med*, 1971, 74: 1-12.

74. Spiller, G. A., *The Mediterranean Diets in Health and Disease*, New York, Spiller, G.A&Barlett Pub, 1991.
75. Grundy, S. M., Comparison of monounsaturated fatty acids and carbohydrates for lowering plasma cholesterol, *N Engl J Med*, 1986, 314: 745-748.
76. Mensink, R. P. and Katan, M. B., Effect of monounsaturated fatty acids versus complex carbohydrates on high-density lipoproteins in healthy men and women, *Lancet*, 1987, 1: 122-125.
77. Williams, C. M., Maitin, V. and Jackson, K. G., Triacylglycerol-rich lipoprotein-gene interactions in endothelial cells, *Biochem Soc Trans*, 2004, 32: 994-998.
78. Toborek, M., Barger, S. W., Mattson, M. P., Barve, S., McClain, C. J. and Hennig, B., Linoleic acid and TNF-alpha cross-amplify oxidative injury and dysfunction of endothelial cells, *J Lipid Res*, 1996, 37: 123-135.
79. Toborek, M., Lee, Y. W., Garrido, R., Kaiser, S. and Hennig, B., Unsaturated fatty acids selectively induce an inflammatory environment in human endothelial cells, *Am J Clin Nutr*, 2002, 75: 119-125.
80. Young, V. M., Toborek, M., Yang, F., McClain, C. J. and Hennig, B., Effect of linoleic acid on endothelial cell inflammatory mediators, *Metabolism*, 1998, 47: 566-572.
81. De Caterina, R., Cybulsky, M. I., Clinton, S. K., Gimbrone, M. A., Jr. and Libby, P., The omega-3 fatty acid docosahexaenoate reduces cytokine-induced expression of proatherogenic and proinflammatory proteins in human endothelial cells, *Arterioscler Thromb*, 1994, 14: 1829-1836.
82. Weber, C., Erl, W., Pietsch, A., Danesch, U. and Weber, P. C., Docosahexaenoic acid selectively attenuates induction of vascular cell adhesion molecule-1 and subsequent monocytic cell adhesion to human endothelial cells stimulated by tumor necrosis factor-alpha, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1995, 15: 622-628.
83. Khalfoun, B., Thibault, G., Bardos, P. and Lebranchu, Y., Docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids inhibit in vitro human lymphocyte-endothelial cell adhesion, *Transplantation*, 1996, 62: 1649-1657.
84. Khalfoun, B., Thibault, F., Watier, H., Bardos, P. and Lebranchu, Y., Docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids inhibit in vitro human endothelial cell production of interleukin-6, *Adv Exp Med Biol*, 1997, 400B: 589-597.
85. Abe, Y., El-Masri, B., Kimball, K. T., Pownall, H., Reilly, C. F., Osmundsen, K., Smith, C. W. and Ballantyne, C. M., Soluble cell ad-

hesion molecules in hypertriglyceridemia and potential significance on monocyte adhesion, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1998, 18: 723-731.

86. Seljeflot, I., Arnesen, H., Brude, I. R., Nenseter, M. S., Drevon, C. A. and Hjermmann, I., Effects of omega-3 fatty acids and/or antioxidants on endothelial cell markers, *Eur J Clin Invest*, 1998, 28: 629-635.
87. Johansen, O., Seljeflot, I., Hostmark, A. T. and Arnesen, H., The effect of supplementation with omega-3 fatty acids on soluble markers of endothelial function in patients with coronary heart disease, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999, 19: 1681-1686.
88. Hawkes, J. S., James, M. J. and Cleland, L. G., Biological activity of prostaglandin E3 with regard to oedema formation in mice, *Agents Actions*, 1992, 35: 85-87.
89. Rubio, M. A., Ácidos grasos, esteroides y enfermedad cardiovascular, *Endocrinol Nutr*, 2002, 49(Supl 2): 35-46.
90. Goldman, D. W., Pickett, W. C. and Goetzl, E. J., Human neutrophil chemotactic and degranulating activities of leukotriene B5 (LTB5) derived from eicosapentaenoic acid, *Biochem Biophys Res Commun*, 1983, 117: 282-288.
91. James, M. J., Cleland, L. G., Gibson, R. A. and Hawkes, J. S., Interaction between fish and vegetable oils in relation to rat leucocyte leukotriene production, *J Nutr*, 1991, 121: 631-637.
92. Pérez-Martínez, P. L.-M., J.; Delgado-Lista, J.; López-Segura, F; Pérez-Jiménez, F., Aceite de oliva y prevención cardiovascular: más que una grasa, *Clin Invest Arterioscl*, 2006 18: 195-205.
93. Covas, M. I., Olive oil and the cardiovascular system, *Pharmacol Res*, 2007, 55: 175-186.
94. Garg, A., High-monounsaturated-fat diets for patients with diabetes mellitus: a meta-analysis, *Am J Clin Nutr*, 1998, 67: 577S-582S.
95. Roche, H. M. and Gibney, M. J., The impact of postprandial lipemia in accelerating atherothrombosis, *J Cardiovasc Risk*, 2000, 7: 317-324.
96. Williams, C. M., Dietary interventions affecting chylomicron and chylomicron remnant clearance, *Atherosclerosis*, 1998, 141 Suppl 1: S87-92.
97. Abia, R., Pacheco, Y. M., Perona, J. S., Montero, E., Muriana, F. J. and 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.

98. 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. and Williams, C. M., Effect of long-term olive oil dietary intervention on postprandial triacylglycerol and factor VII metabolism, *Am J Clin Nutr*, 1998, 68: 552-560.
99. Mensink, R. P., Janssen, M. C. and 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: 976-980.
100. Salas, J., Lopez Miranda, J., Jansen, S., Zambrana, J. L., Castro, P., Paniagua, J. A., Blanco, A., Lopez Segura, F., Jimenez Perez, J. A. and Perez Jimenez, F., [The diet rich in monounsaturated fat modifies in a beneficial way carbohydrate metabolism and arterial pressure], *Med Clin (Barc)*, 1999, 113: 765-769.
101. Rasmussen, O. W., Thomsen, C., Hansen, K. W., Vesterlund, M., Winther, E. and 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, *Diabetes Care*, 1993, 16: 1565-1571.
102. Ferrara, L. A., Raimondi, A. S., d'Episcopo, L., Guida, L., Dello Russo, A. and Marotta, T., Olive oil and reduced need for antihypertensive medications, *Arch Intern Med*, 2000, 160: 837-842.
103. Psaltopoulou, T., Naska, A., Orfanos, P., Trichopoulos, D., Moun-tokalakis, T. and 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: 1012-1018.
104. Panagiotakos, D. B., Pitsavos, C. H., Chrysohoou, C., Skoumas, J., Papadimitriou, L., Stefanadis, C. and Toutouzas, P. K., Status and management of hypertension in Greece: role of the adoption of a Mediterranean diet: the Attica study, *J Hypertens*, 2003, 21: 1483-1489.
105. Martinez-Gonzalez, M. A., The SUN cohort study (Seguimiento University of Navarra), *Public Health Nutr*, 2006, 9: 127-131.
106. Ruiz-Gutierrez, V., Muriana, F. J., Guerrero, A., Cert, A. M. and 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: 1483-1490.
107. Perona, J. S., Canizares, J., Montero, E., Sanchez-Dominguez, J. M., Catala, A. and Ruiz-Gutierrez, V., Virgin olive oil reduces blood pressure in hypertensive elderly subjects, *Clin Nutr*, 2004, 23: 1113-1121.

108. Parthasarathy, S., Khoo, J. C., Miller, E., Barnett, J., Witztum, J. L. and Steinberg, D., Low density lipoprotein rich in oleic acid is protected against oxidative modification: implications for dietary prevention of atherosclerosis, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1990, 87: 3894-3898.
109. Berry, E. M., Eisenberg, S., Haratz, D., Friedlander, Y., Norman, Y., Kaufmann, N. A. and Stein, Y., Effects of diets rich in monounsaturated fatty acids on plasma lipoproteins-the Jerusalem Nutrition Study: high MUFAs vs high PUFAs, *Am J Clin Nutr*, 1991, 53: 899-907.
110. Reaven, P., Parthasarathy, S., Grasse, B. J., Miller, E., Steinberg, D. and Witztum, J. L., Effects of oleate-rich and linoleate-rich diets on the susceptibility of low density lipoprotein to oxidative modification in mildly hypercholesterolemic subjects, *J Clin Invest*, 1993, 91: 668-676.
111. Bonanome, A., Pagnan, A., Biffanti, S., Opportuno, A., Sorgato, F., Dorella, M., Maiorino, M. and Ursini, F., Effect of dietary monounsaturated and polyunsaturated fatty acids on the susceptibility of plasma low density lipoproteins to oxidative modification, *Arterioscler Thromb*, 1992, 12: 529-533.
112. Abbey, M., Belling, G. B., Noakes, M., Hirata, F. and Nestel, P. J., Oxidation of low-density lipoproteins: intraindividual variability and the effect of dietary linoleate supplementation, *Am J Clin Nutr*, 1993, 57: 391-398.
113. Baroni, S. S., Amelio, M., Sangiorgi, Z., Gaddi, A. and Battino, M., Solid monounsaturated diet lowers LDL unsaturation trait and oxidisability in hypercholesterolemic (type IIb) patients, *Free Radic Res*, 1999, 30: 275-285.
114. Berry, E. M., Eisenberg, S., Friedlander, Y., Harats, D., Kaufmann, N. A., Norman, Y. and Stein, Y., Effects of diets rich in monounsaturated fatty acids on plasma lipoproteins-the Jerusalem Nutrition Study. II. Monounsaturated fatty acids vs carbohydrates, *Am J Clin Nutr*, 1992, 56: 394-403.
115. Castro, P., Miranda, J. L., Gomez, P., Escalante, D. M., Segura, F. L., Martin, A., Fuentes, F., Blanco, A., Ordovas, J. M. and Jimenez, F. P., Comparison of an oleic acid enriched-diet vs NCEP-I diet on LDL susceptibility to oxidative modifications, *Eur J Clin Nutr*, 2000, 54: 61-67.
116. Hargrove, R. L., Etherton, T. D., Pearson, T. A., Harrison, E. H. and Kris-Etherton, P. M., Low fat and high monounsaturated fat diets decrease human low density lipoprotein oxidative susceptibility in vitro, *J Nutr*, 2001, 131: 1758-1763.

117. Esterbauer, H., Striegl, G., Puhl, H. and Rotheneder, M., Continuous monitoring of in vitro oxidation of human low density lipoprotein, *Free Radic Res Commun*, 1989, 6: 67-75.
118. Tsimikas, S., Philis-Tsimikas, A., Alexopoulos, S., Sigari, F., Lee, C. and Reaven, P. D., LDL isolated from Greek subjects on a typical diet or from American subjects on an oleate-supplemented diet induces less monocyte chemotaxis and adhesion when exposed to oxidative stress, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999, 19: 122-130.
119. Lee, C., Barnett, J. and Reaven, P. D., Liposomes enriched in oleic acid are less susceptible to oxidation and have less proinflammatory activity when exposed to oxidizing conditions, *J Lipid Res*, 1998, 39: 1239-1247.
120. Yaqoob, P., Newsholme, E. A. and Calder, P. C., Inhibition of natural killer cell activity by dietary lipids, *Immunol Lett*, 1994, 41: 241-247.
121. Yaqoob, P., Newsholme, E. A. and Calder, P. C., The effect of dietary lipid manipulation on rat lymphocyte subsets and proliferation, *Immunology*, 1994, 82: 603-610.
122. Mata, P., Alonso, R., Lopez-Farre, A., Ordovas, J. M., Lahoz, C., Garcés, C., Caramelo, C., Codoceo, R., Blazquez, E. and de Oya, M., Effect of dietary fat saturation on LDL oxidation and monocyte adhesion to human endothelial cells in vitro, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1996, 16: 1347-1355.
123. Yaqoob, P., Knapper, J. A., Webb, D. H., Williams, C. M., Newsholme, E. A. and Calder, P. C., Effect of olive oil on immune function in middle-aged men, *Am J Clin Nutr*, 1998, 67: 129-135.
124. 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: 1440-1446.
125. Christon, R. A., Mechanisms of action of dietary fatty acids in regulating the activation of vascular endothelial cells during atherogenesis, *Nutr Rev*, 2003, 61: 272-279.
126. Spolarics, Z., Endotoxin stimulates gene expression of ROS-eliminating pathways in rat hepatic endothelial and Kupffer cells, *Am J Physiol*, 1996, 270: G660-666.
127. Baeuerle, P. A. and Henkel, T., Function and activation of NF-kappa B in the immune system, *Annu Rev Immunol*, 1994, 12: 141-179.

128. Massaro, M., Carluccio, M. A., Paolicchi, A., Bosetti, F., Solaini, G. and De Caterina, R., Mechanisms for reduction of endothelial activation by oleate: inhibition of nuclear factor-kappaB through antioxidant effects, *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 2002, 67: 175-181.
129. Massaro, M., Carluccio, M. A. and De Caterina, R., Direct vascular antiatherogenic effects of oleic acid: a clue to the cardioprotective effects of the Mediterranean diet, *Cardiologia*, 1999, 44: 507-513.
130. Massaro, M., Carluccio, M. A., Bonfrate, C., Siculella, L., Lazzerini, G., Bernini, W., Basta, G. and De Caterina, R., The double bond in unsaturated fatty acids is the necessary and sufficient requirement for the inhibition of expression of endothelial leukocyte adhesion molecules through interference with nuclear factor-kappaB activation, *Lipids*, 1999, 34 Suppl: S213-214.
131. Carluccio, M. A., Massaro, M., Bonfrate, C., Siculella, L., Maffia, M., Nicolardi, G., Distante, A., Storelli, C. and 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: 220-228.
132. Thanos, D. and Maniatis, T., NF-kappa B: a lesson in family values, *Cell*, 1995, 80: 529-532.
133. Marui, N., Offermann, M. K., Swerlick, R., Kunsch, C., Rosen, C. A., Ahmad, M., Alexander, R. W. and Medford, R. M., Vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) gene transcription and expression are regulated through an antioxidant-sensitive mechanism in human vascular endothelial cells, *J Clin Invest*, 1993, 92: 1866-1874.
134. Hart, C. M., Gupta, M. P. and Evanoff, V., Oleic acid reduces oxidant stress in cultured pulmonary artery endothelial cells, *Exp Lung Res*, 1997, 23: 405-425.
135. Karman, R. J., Garcia, J. G. and Hart, C. M., Endothelial cell monolayer dysfunction caused by oxidized low density lipoprotein: attenuation by oleic acid, *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 1997, 56: 345-353.
136. Hart, C. M., Andreoli, S. P., Patterson, C. E. and Garcia, J. G., Oleic acid supplementation reduces oxidant-mediated dysfunction of cultured porcine pulmonary artery endothelial cells, *J Cell Physiol*, 1993, 156: 24-34.
137. Massaro, M., Basta, G., Lazzerini, G., Carluccio, M. A., Bosetti, F., Solaini, G., Visioli, F., Paolicchi, A. and De Caterina, R., Quenching of intracellular ROS generation as a mechanism for olea-

- te-induced reduction of endothelial activation and early atherogenesis, *Thromb Haemost*, 2002, 88: 335-344.
138. Hennig, B., Meerarani, P., Ramadass, P., Watkins, B. A. and Toborek, M., Fatty acid-mediated activation of vascular endothelial cells, *Metabolism*, 2000, 49: 1006-1013.
 139. Bellido, C., Lopez-Miranda, J., Blanco-Colio, L. M., Perez-Martinez, P., Muriana, F. J., Martin-Ventura, J. L., Marin, C., Gomez, P., Fuentes, F., Egido, J. and Perez-Jimenez, F., 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: 1487-1491.
 140. Kwok, C. F., Shih, K. C., Hwu, C. M. and Ho, L. T., Linoleic acid and oleic acid increase the endothelin-1 binding and action in cultured rat aortic smooth muscle cells, *Metabolism*, 2000, 49: 1386-1389.
 141. Oram, J. F. and Bornfeldt, K. E., Direct effects of long-chain non-esterified fatty acids on vascular cells and their relevance to macrovascular complications of diabetes, *Front Biosci*, 2004, 9: 1240-1253.
 142. Perona, J. S., Cabello-Moruno, R. and Ruiz-Gutierrez, V., The role of virgin olive oil components in the modulation of endothelial function, *J Nutr Biochem*, 2006, 17: 429-445.
 143. Azzi, A., Ricciarelli, R. and Zingg, J. M., Non-antioxidant molecular functions of alpha-tocopherol (vitamin E), *FEBS Lett*, 2002, 519: 8-10.
 144. de la Puerta, R., Martinez-Dominguez, E. and Ruiz-Gutierrez, V., Effect of minor components of virgin olive oil on topical anti-inflammatory assays, *Z Naturforsch [C]*, 2000, 55: 814-819.
 145. Rodriguez-Rodriguez, R., Herrera, M. D., Perona, J. S. and Ruiz-Gutierrez, V., Potential vasorelaxant effects of oleanolic acid and erythrodiol, two triterpenoids contained in 'orujo' olive oil, on rat aorta, *Br J Nutr*, 2004, 92: 635-642.
 146. Ochoa, J. J., Quiles, J. L., Ramirez-Tortosa, M. C., Mataix, J. and Huertas, J. R., Dietary oils high in oleic acid but with different unsaponifiable fraction contents have different effects in fatty acid composition and peroxidation in rabbit LDL, *Nutrition*, 2002, 18: 60-65.
 147. Perona, J. S., Martinez-Gonzalez, J., Sanchez-Dominguez, J. M., Badimon, L. and Ruiz-Gutierrez, V., The unsaponifiable fraction of virgin olive oil in chylomicrons from men improves the balance between vasoprotective and prothrombotic factors released by endothelial cells, *J Nutr*, 2004, 134: 3284-3289.

148. Azzi, A., The role of alpha-tocopherol in preventing disease, *Eur J Nutr*, 2004, 43 Suppl 1: I/18-25.
149. Azzi, A., Gysin, R., Kempna, P., Ricciarelli, R., Villacorta, L., Vi-sarius, T. and Zingg, J. M., The role of alpha-tocopherol in pre-venting disease: from epidemiology to molecular events, *Mol As-pects Med*, 2003, 24: 325-336.
150. Jialal, I., Fuller, C. J. and Huet, B. A., The effect of alpha-tocop-herol supplementation on LDL oxidation. A dose-response study, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1995, 15: 190-198.
151. Princen, H. M., van Duyvenvoorde, W., Buytenhek, R., van der Laarse, A., van Poppel, G., Gevers Leuven, J. A. and van Hins-bergh, V. W., Supplementation with low doses of vitamin E pro-jects LDL from lipid peroxidation in men and women, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1995, 15: 325-333.
152. Devaraj, S., Adams-Huet, B., Fuller, C. J. and Jialal, I., Dose-res-ponse comparison of RRR-alpha-tocopherol and all-racemic al-pha-tocopherol on LDL oxidation, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997, 17: 2273-2279.
153. Cominacini, L., Garbin, U., Cenci, B., Davoli, A., Pasini, C., Rat-ti, E., Gaviraghi, G., Lo Cascio, V. and Pastorino, A. M., Predis-osition to LDL oxidation during copper-catalyzed oxidative mo-dification and its relation to alpha-tocopherol content in humans, *Clin Chim Acta*, 1991, 204: 57-68.
154. Offermann, M. K. and Medford, R. M., Antioxidants and at-herosclerosis: a molecular perspective, *Heart Dis Stroke*, 1994, 3: 52-57.
155. Martin, A., Foxall, T., Blumberg, J. B. and Meydani, M., Vitamin E inhibits low-density lipoprotein-induced adhesion of monocy-tes to human aortic endothelial cells in vitro, *Arterioscler Th-romb Vasc Biol*, 1997, 17: 429-436.
156. Zapolska-Downar, D., Zapolski-Downar, A., Markiewski, M., Cie-chanowicz, A., Kaczmarczyk, M. and Naruszewicz, M., Selective inhibition by alpha-tocopherol of vascular cell adhesion mole-cule-1 expression in human vascular endothelial cells, *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 274: 609-615.
157. Faruqi, R., de la Motte, C. and DiCorleto, P. E., Alpha-tocophe-rol inhibits agonist-induced monocytic cell adhesion to cultured human endothelial cells, *J Clin Invest*, 1994, 94: 592-600.
158. Hennig, B., Boissonneault, G. A., Chow, C. K., Wang, Y., Matu-lionis, D. H. and Glauert, H. P., Effect of vitamin E on linoleic acid-mediated induction of peroxisomal enzymes in cultured porcine endothelial cells, *J Nutr*, 1990, 120: 331-337.

159. Li, D., Saldeen, T. and Mehta, J. L., Effects of alpha-tocopherol on ox-LDL-mediated degradation of IkappaB and apoptosis in cultured human coronary artery endothelial cells, *J Cardiovasc Pharmacol*, 2000, 36: 297-301.
160. Okuma, M., Takayama, H. and Uchino, H., Generation of prostacyclin-like substance and lipid peroxidation in vitamin E-deficient rats, *Prostaglandins*, 1980, 19: 527-536.
161. Chan, A. C. and Leith, M. K., Decreased prostacyclin synthesis in vitamin E-deficient rabbit aorta, *Am J Clin Nutr*, 1981, 34: 2341-2347.
162. Kunisaki, M., Umeda, F., Inoguchi, T. and Nawata, H., Vitamin E binds to specific binding sites and enhances prostacyclin production by cultured aortic endothelial cells, *Thromb Haemost*, 1992, 68: 744-751.
163. Kunisaki, M., Umeda, F., Inoguchi, T. and Nawata, H., Vitamin E restores reduced prostacyclin synthesis in aortic endothelial cells cultured with a high concentration of glucose, *Metabolism*, 1992, 41: 613-621.
164. Meydani, S. N., Meydani, M., Verdon, C. P., Shapiro, A. A., Blumberg, J. B. and Hayes, K. C., Vitamin E supplementation suppresses prostaglandin E1(2) synthesis and enhances the immune response of aged mice, *Mech Ageing Dev*, 1986, 34: 191-201.
165. Meydani, S. N., Lipman, R., Blumberg, J. B. and Taylor, A., Dietary energy restriction decreases ex vivo spleen prostaglandin E2 synthesis in Emory mice, *J Nutr*, 1990, 120: 112-115.
166. Meydani, S. N., Shapiro, A. C., Meydani, M. and Blumberg, J. B., Lung eicosanoid synthesis is affected by age, dietary fat and vitamin E, *J Nutr*, 1992, 122: 1627-1633.
167. Azzi, A., Gysin, R., Kempna, P., Munteanu, A., Villacorta, L., Visarius, T. and Zingg, J. M., Regulation of gene expression by alpha-tocopherol, *Biol Chem*, 2004, 385: 585-591.
168. Cyrus, T., Yao, Y., Rokach, J., Tang, L. X. and Pratico, D., Vitamin E reduces progression of atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor-deficient mice with established vascular lesions, *Circulation*, 2003, 107: 521-523.
169. Pratico, D., Tangirala, R. K., Horkko, S., Witztum, J. L., Palinski, W. and FitzGerald, G. A., Circulating autoantibodies to oxidized cardiolipin correlate with isoprostane F(2alpha)-VI levels and the extent of atherosclerosis in ApoE-deficient mice: modulation by vitamin E, *Blood*, 2001, 97: 459-464.

170. Peluzio, M. C., Miguel, E., Jr, Drummond, T. C., Cesar, G. C., Santiago, H. C., Teixeira, M. M., Vieira, E. C., Arantes, R. M. and Alvarez-Leite, J. I., Monocyte chemoattractant protein-1 involvement in the alpha-tocopherol-induced reduction of atherosclerotic lesions in apolipoprotein E knockout mice, *Br J Nutr*, 2003, 90: 3-11.
171. Paul, A., Calleja, L., Joven, J., Vilella, E., Ferre, N., Camps, J., Girona, J. and Osada, J., Supplementation with vitamin E and/or zinc does not attenuate atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice fed a high-fat, high-cholesterol diet, *Int J Vitam Nutr Res*, 2001, 71: 45-52.
172. Peluzio, M. C., Homem, A. P., Cesar, G. C., Azevedo, G. S., Amorim, R., Cara, D. C., Saliba, H., Vieira, E. C., Arantes, R. E. and Alvarez-Leite, J., Influences of alpha-tocopherol on cholesterol metabolism and fatty streak development in apolipoprotein E-deficient mice fed an atherogenic diet, *Braz J Med Biol Res*, 2001, 34: 1539-1545.
173. Jones, P. J., MacDougall, D. E., Ntanios, F. and Vanstone, C. A., Dietary phytosterols as cholesterol-lowering agents in humans, *Can J Physiol Pharmacol*, 1997, 75: 217-227.
174. Vanstone, C. A., Raeini-Sarjaz, M. and Jones, P. J., Injected phytosterols/stanols suppress plasma cholesterol levels in hamsters, *J Nutr Biochem*, 2001, 12: 565-574.
175. Quilez, J., García-Lorda, P. and Salas-Salvado, J., Potential uses and benefits of phytosterols in diet: present situation and future directions, *Clin Nutr*, 2003, 22: 343-351.
176. Ho, S. S. and Pal, S., Margarine phytosterols decrease the secretion of atherogenic lipoproteins from HepG2 liver and Caco2 intestinal cells, *Atherosclerosis*, 2005, 182: 29-36.
177. Moghadasian, M. H., Godin, D. V., McManus, B. M. and Frohlich, J. J., Lack of regression of atherosclerotic lesions in phytosterol-treated apo E-deficient mice, *Life Sci*, 1999, 64: 1029-1036.
178. Yeganeh, B., Moshtaghi-Kashanian, G. R., Declercq, V. and Moghadasian, M. H., Combination of dietary phytosterols plus niacin or fenofibrate: effects on lipid profile and atherosclerosis in apo E-KO mice, *J Nutr Biochem*, 2005, 16: 222-228.
179. Moghadasian, M. H., McManus, B. M., Godin, D. V., Rodrigues, B. and Frohlich, J. J., Proatherogenic and antiatherogenic effects of probucol and phytosterols in apolipoprotein E-deficient mice: possible mechanisms of action, *Circulation*, 1999, 99: 1733-1739.

180. Bhattacharyya, A. K. and Connor, W. E., Beta-sitosterolemia and xanthomatosis. A newly described lipid storage disease in two sisters, *J Clin Invest*, 1974, 53: 1033-1043.
181. Berge, K. E., Tian, H., Graf, G. A., Yu, L., Grishin, N. V., Schultz, J., Kwiterovich, P., Shan, B., Barnes, R. and Hobbs, H. H., Accumulation of dietary cholesterol in sitosterolemia caused by mutations in adjacent ABC transporters, *Science*, 2000, 290: 1771-1775.
182. de Jongh, S., Vissers, M. N., Rol, P., Bakker, H. D., Kastelein, J. J. and Stroes, E. S., Plant sterols lower LDL cholesterol without improving endothelial function in prepubertal children with familial hypercholesterolaemia, *J Inherit Metab Dis*, 2003, 26: 343-351.
183. Moreno, J. J., Effect of olive oil minor components on oxidative stress and arachidonic acid mobilization and metabolism by macrophages RAW 264.7, *Free Radic Biol Med*, 2003, 35: 1073-1081.
184. Strandberg, T. E., Tilvis, R. S. and Miettinen, T. A., Metabolic variables of cholesterol during squalene feeding in humans: comparison with cholestyramine treatment, *J Lipid Res*, 1990, 31: 1637-1643.
185. Miettinen, T. A. and Vanhanen, H., Serum concentration and metabolism of cholesterol during rapeseed oil and squalene feeding, *Am J Clin Nutr*, 1994, 59: 356-363.
186. Simonen, P. P., Gylling, H. and Miettinen, T. A., The distribution of squalene and non-cholesterol sterols in lipoproteins in type 2 diabetes, *Atherosclerosis*, 2007, 194: 222-229.
187. Tilvis, R. S. and Miettinen, T. A., Absorption and metabolic fate of dietary 3H-squalene in the rat, *Lipids*, 1983, 18: 233-238.
188. Gylling, H. and Miettinen, T. A., Postabsorptive metabolism of dietary squalene, *Atherosclerosis*, 1994, 106: 169-178.
189. Channon, H. J. and Tristram, G. R., The effect of the administration of squalene and other hydrocarbons on cholesterol metabolism in the rat, *Biochem J*, 1937, 31: 738-747.
190. Kritchevsky, D., Moyer, A. W. and Tesar, W. C., Squalene feeding in experimental atherosclerosis, *Arch Biochem Biophys*, 1953, 44: 241.
191. Kritchevsky, D., Moyer, A. W., Tesar, W. C., Logan, J. B., Brown, R. A. and Richmond, G., Squalene feeding in experimental atherosclerosis, *Circ Res*, 1954, 2: 340-343.
192. Liu, G. C., Ahrens, E. H., Jr., Schreiberman, P. H., Samuel, P., McNamara, D. J. and Crouse, J. R., Measurement of cholesterol synthesis in man by isotope kinetics of squalene, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1975, 72: 4612-4616.

193. Tilvis, R. S. and Miettinen, T. A., Dietary squalene increases tissue sterols and fecal bile acids in the rat, *Lipids*, 1983, 18: 32-36.
194. Strandberg, T. E., Tilvis, R. S. and Miettinen, T. A., Variations of hepatic cholesterol precursors during altered flows of endogenous and exogenous squalene in the rat, *Biochim Biophys Acta*, 1989, 1001: 150-156.
195. Farvin, K. H., Anandan, R., Kumar, S. H., Shiny, K. S., Mathew, S., Sankar, T. V. and Nair, P. G., Cardioprotective effect of squalene on lipid profile in isoprenaline-induced myocardial infarction in rats, *J Med Food*, 2006, 9: 531-536.
196. Smith, T. J., Squalene: potential chemopreventive agent, *Expert Opin Investig Drugs*, 2000, 9: 1841-1848.
197. Chan, P., Tomlinson, B., Lee, C. B. and Lee, Y. S., Effectiveness and safety of low-dose pravastatin and squalene, alone and in combination, in elderly patients with hypercholesterolemia, *J Clin Pharmacol*, 1996, 36: 422-427.
198. Aguilera, Y., Dorado, M. E., Prada, F. A., Martinez, J. J., Quesada, A. and Ruiz-Gutierrez, V., The protective role of squalene in alcohol damage in the chick embryo retina, *Exp Eye Res*, 2005, 80: 535-543.
199. Senthilkumar, S., Devaki, T., Manohar, B. M. and Babu, M. S., Effect of squalene on cyclophosphamide-induced toxicity, *Clin Chim Acta*, 2006, 364: 335-342.
200. Kohno, Y., Egawa, Y., Itoh, S., Nagaoka, S., Takahashi, M. and Mukai, K., Kinetic study of quenching reaction of singlet oxygen and scavenging reaction of free radical by squalene in n-butanol, *Biochim Biophys Acta*, 1995, 1256: 52-56.
201. Guillen, N., Acin, S., Navarro, M. A., Perona, J. S., Arbones-Mainar, J. M., Arnal, C., Sarria, A. J., Surra, J. C., Carnicer, R., Orman, I., Segovia, J. C., Ruiz-Gutierrez, V. and Osada, J., Squalene in a sex-dependent manner modulates atherosclerotic lesion which correlates with hepatic fat content in apoE-knockout male mice, *Atherosclerosis*, 2008, 197: 72-83.
202. Lee, S. M., Park, J. G., Lee, Y. H., Lee, C. G., Min, B. S., Kim, J. H. and Lee, H. K., Anti-complementary activity of triterpenoids from fruits of *Zizyphus jujuba*, *Biol Pharm Bull*, 2004, 27: 1883-1886.
203. Yim, T. K., Wu, W. K., Pak, W. F. and Ko, K. M., Hepatoprotective action of an oleanolic acid-enriched extract of *Ligustrum lucidum* fruits is mediated through an enhancement on hepatic glutathione regeneration capacity in mice, *Phytother Res*, 2001, 15: 589-592.

204. Kim, K. A., Lee, J. S., Park, H. J., Kim, J. W., Kim, C. J., Shim, I. S., Kim, N. J., Han, S. M. and Lim, S., Inhibition of cytochrome P450 activities by oleanolic acid and ursolic acid in human liver microsomes, *Life Sci*, 2004, 74: 2769-2779.
205. Hsu, H. Y., Yang, J. J. and Lin, C. C., Effects of oleanolic acid and ursolic acid on inhibiting tumor growth and enhancing the recovery of hematopoietic system postirradiation in mice, *Cancer Lett*, 1997, 111: 7-13.
206. Choi, C. Y., You, H. J. and Jeong, H. G., Nitric oxide and tumor necrosis factor-alpha production by oleanolic acid via nuclear factor-kappaB activation in macrophages, *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 288: 49-55.
207. Liu, J., Pharmacology of oleanolic acid and ursolic acid, *J Ethnopharmacol*, 1995, 49: 57-68.
208. Andrikopoulos, N. K., Kaliora, A. C., Assimopoulou, A. N. and Papageorgiou, V. P., Inhibitory activity of minor polyphenolic and nonpolyphenolic constituents of olive oil against in vitro low-density lipoprotein oxidation, *J Med Food*, 2002, 5: 1-7.
209. Leu, Y. L., Kuo, S. M., Hwang, T. L. and Chiu, S. T., The inhibition of superoxide anion generation by neutrophils from *Viscum articulatum*, *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 2004, 52: 858-860.
210. Perona, J. S., Arcemis, C., Ruiz-Gutierrez, V. and Catala, A., Effect of dietary high-oleic-acid oils that are rich in antioxidants on microsomal lipid peroxidation in rats, *J Agric Food Chem*, 2005, 53: 730-735.
211. Somova, L. I., Shode, F. O. and Mipando, M., Cardiotonic and antidysrhythmic effects of oleanolic and ursolic acids, methyl maslinate and uvaol, *Phytomedicine*, 2004, 11: 121-129.
212. Rodriguez-Rodriguez, R., Herrera, M. D., de Sotomayor, M. A. and Ruiz-Gutierrez, V., Pomace olive oil improves endothelial function in spontaneously hypertensive rats by increasing endothelial nitric oxide synthase expression, *Am J Hypertens*, 2007, 20: 728-734.
213. Acin, S., Navarro, M. A., Perona, J. S., Arbones-Mainar, J. M., Surra, J. C., Guzman, M. A., Carnicer, R., Arnal, C., Orman, I., Segovia, J. C., Osada, J. and Ruiz-Gutierrez, V., Olive oil preparation determines the atherosclerotic protection in apolipoprotein E knockout mice, *J Nutr Biochem*, 2007, 18: 418-424.
214. García-Granados, Utilizacion del ácido maslínico como inhibidor de serín proteasas para el tratamiento de enfermedades causadas por parásitos del género *Cryptosporidium*., In, 1997. Patente 9701029

215. Xu, H. X., Zeng, F. Q., Wan, M. and Sim, K. Y., Anti-HIV triterpene acids from *Geum japonicum*, *J Nat Prod*, 1996, 59: 643-645.
216. García-Granados, Utilización del ácido maslínico como inhibidor de proteasas para el tratamiento de la enfermedad causada por el virus de la inmunodeficiencia adquirida., In, 1997. Patente 9702628
217. Montilla, M. P., Agil, A., Navarro, M. C., Jimenez, M. I., Garcia-Granados, A., Parra, A. and Cabo, M. M., Antioxidant activity of maslinic acid, a triterpene derivative obtained from *Olea europaea*, *Planta Med*, 2003, 69: 472-474.
218. Marquez Martin, A., de la Puerta Vazquez, R., Fernandez-Arche, A. and Ruiz-Gutierrez, V., Suppressive effect of maslinic acid from pomace olive oil on oxidative stress and cytokine production in stimulated murine macrophages, *Free Radic Res*, 2006, 40: 295-302.
219. Guillen, N., Acín, S., Surra, J. C., Arnal, C., Godino, J., García-Granados, A., Muniesa, P., Ruiz-Gutiérrez, V. and Osada, J., Apolipoprotein E determines the hepatic transcriptional profile of dietary maslinic acid in mice, *J Nutr Biochem*, 2008: En prensa.
220. Covas, M. I., Ruiz-Gutierrez, V., De la Torre, R., Kafatos, A., Lamuela-Raventos, R. M., Osada, J., Owen, R. W. and Visioli, F., Minor components of olive oil: evidence to date of health benefits in humans, *Nutrition Reviews*, 2006, 64: S20-S30.
221. Fito, M., Covas, M. I., Lamuela-Raventos, R. M., Vila, J., Torrents, L., de la Torre, C. and Marrugat, J., Protective effect of olive oil and its phenolic compounds against low density lipoprotein oxidation, *Lipids*, 2000, 35: 633-638.
222. Masella, R., Vari, R., D'Archivio, M., Di Benedetto, R., Matarrese, P., Malorni, W., Scazzocchio, B. and Giovannini, C., Extra virgin olive oil biophenols inhibit cell-mediated oxidation of LDL by increasing the mRNA transcription of glutathione-related enzymes, *J Nutr*, 2004, 134: 785-791.
223. Visioli, F., Bellomo, G., Montedoro, G. and Galli, C., Low density lipoprotein oxidation is inhibited in vitro by olive oil constituents, *Atherosclerosis*, 1995, 117: 25-32.
224. Visioli, F. and Galli, C., The effect of minor constituents of olive oil on cardiovascular disease: new findings, *Nutr Rev*, 1998, 56: 142-147.
225. Sutherland, W. H., de Jong, S. A., Walker, R. J., Williams, M. J., Murray Skeaff, C., Duncan, A. and Harper, M., Effect of meals rich in heated olive and safflower oils on oxidation of postprandial serum in healthy men, *Atherosclerosis*, 2002, 160: 195-203.

226. Visioli, F., Bellomo, G. and Galli, C., Free radical-scavenging properties of olive oil polyphenols, *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, 247: 60-64.
227. Rice-Evans, C. A., Miller, N. J. and Paganga, G., Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids, *Free Radic Biol Med*, 1996, 20: 933-956.
228. Finotti, E. and Di Majo, D., Influence of solvents on the antioxidant property of flavonoids, *Nahrung*, 2003, 47: 186-187.
229. Visioli, F., Galli, C., Bornet, F., Mattei, A., Patelli, R., Galli, G. and Caruso, D., Olive oil phenolics are dose-dependently absorbed in humans, *FEBS Lett*, 2000, 468: 159-160.
230. Marrugat, J., Covas, M. I., Fito, M., Schroder, H., Miro-Casas, E., Gimeno, E., Lopez-Sabater, M. C., de la Torre, R. and Farre, M., Effects of differing phenolic content in dietary olive oils on lipids and LDL oxidation—a randomized controlled trial, *Eur J Nutr*, 2004, 43: 140-147.
231. Helsing, E., Traditional diets and disease patterns of the Mediterranean, circa 1960, *Am J Clin Nutr*, 1995, 61: 1329S-1337S.
232. Miro-Casas, E., Covas, M. I., Farre, M., Fito, M., Ortuno, J., Weinbrenner, T., Roset, P. and de la Torre, R., Hydroxytyrosol disposition in humans, *Clin Chem*, 2003, 49: 945-952.
233. Caruso, D., Visioli, F., Patelli, R., Galli, C. and Galli, G., Urinary excretion of olive oil phenols and their metabolites in humans, *Metabolism*, 2001, 50: 1426-1428.
234. Tuck, K. L., Hayball, P. J. and Stupans, I., Structural characterization of the metabolites of hydroxytyrosol, the principal phenolic component in olive oil, in rats, *J Agric Food Chem*, 2002, 50: 2404-2409.
235. Corona, G., Tzounis, X., Assunta Dessi, M., Deiana, M., Debnam, E. S., Visioli, F. and Spencer, J. P., The fate of olive oil polyphenols in the gastrointestinal tract: implications of gastric and colonic microflora-dependent biotransformation, *Free Radic Res*, 2006, 40: 647-658.
236. Weinbrenner, T., Fito, M., de la Torre, R., Saez, G. T., Rijken, P., Tormos, C., Coolen, S., Albaladejo, M. F., Abanades, S., Schroder, H., Marrugat, J. and Covas, M. I., Olive oils high in phenolic compounds modulate oxidative/antioxidative status in men, *J Nutr*, 2004, 134: 2314-2321.
237. Weinbrenner, T., Fito, M., Farre Albaladejo, M., Saez, G. T., Rijken, P., Tormos, C., Coolen, S., De La Torre, R. and Covas, M. I., Bioavailability of phenolic compounds from olive oil and oxida-

tive/antioxidant status at postprandial state in healthy humans, *Drugs Exp Clin Res*, 2004, 30: 207-212.

238. Visioli, F., Caruso, D., Grande, S., Bosisio, R., Villa, M., Galli, G., Sirtori, C. and Galli, C., Virgin Olive Oil Study (VOLOS): vasoprotective potential of extra virgin olive oil in mildly dyslipidemic patients, *Eur J Nutr*, 2005, 44: 121-127.
239. Covas, M. I., Nyyssonen, K., Poulsen, H. E., Kaikkonen, J., Zunft, H. J., Kiesewetter, H., Gaddi, A., de la Torre, R., Mursu, J., Baumler, H., Nascetti, S., Salonen, J. T., Fito, M., Virtanen, J., Marrugat, J. and Group, E. S., The effect of polyphenols in olive oil on heart disease risk factors: a randomized trial, *Ann Intern Med*, 2006, 145: 333-341.
240. Machowetz, A., Poulsen, H. E., Gruendel, S., Weimann, A., Fito, M., Marrugat, J., de la Torre, R., Salonen, J. T., Nyyssonen, K., Mursu, J., Nascetti, S., Gaddi, A., Kiesewetter, H., Baumler, H., Selmi, H., Kaikkonen, J., Zunft, H. J., Covas, M. I. and Koebnick, C., Effect of olive oils on biomarkers of oxidative DNA stress in Northern and Southern Europeans, *Faseb J*, 2007, 21: 45-52.
241. Hillestrom, P. R., Covas, M. I. and Poulsen, H. E., Effect of dietary virgin olive oil on urinary excretion of etheno-DNA adducts, *Free Radic Biol Med*, 2006, 41: 1133-1138.
242. Salvini, S., Sera, F., Caruso, D., Giovannelli, L., Visioli, F., Saieva, C., Masala, G., Ceroti, M., Giovacchini, V., Pitozzi, V., Galli, C., Romani, A., Mulinacci, N., Bortolomeazzi, R., Dolara, P. and Palli, D., Daily consumption of a high-phenol extra-virgin olive oil reduces oxidative DNA damage in postmenopausal women, *Br J Nutr*, 2006, 95: 742-751.
243. Beauchamp, G. K., Keast, R. S., Morel, D., Lin, J., Pika, J., Han, Q., Lee, C. H., Smith, A. B. and Breslin, P. A., Phytochemistry: ibuprofen-like activity in extra-virgin olive oil, *Nature*, 2005, 437: 45-46.
244. Oubina, P., Sanchez-Muniz, F. J., Rodenas, S. and Cuesta, C., Eicosanoid production, thrombogenic ratio, and serum and LDL peroxides in normo- and hypercholesterolaemic post-menopausal women consuming two oleic acid-rich diets with different content of minor components, *Br J Nutr*, 2001, 85: 41-47.
245. Leger, C. L., Carbonneau, M. A., Michel, F., Mas, E., Monnier, L., Cristol, J. P. and Descomps, B., A thromboxane effect of a hydroxytyrosol-rich olive oil wastewater extract in patients with uncomplicated type I diabetes, *Eur J Clin Nutr*, 2005, 59: 727-730.
246. Bogani, P., Galli, C., Villa, M. and Visioli, F., Postprandial anti-inflammatory and antioxidant effects of extra virgin olive oil, *Atherosclerosis*, 2007, 190: 181-186.

DISCURSO DE CONTESTACIÓN
DE LA
EXCELENTÍSIMA SEÑORA DOCTORA
DOÑA EVANGELINA PALACIOS ALAIZ

Señor Presidente de la Real Academia de Doctores
Señoras y Señores Doctores Académicos
Señoras y Señores:

Sirvan mis primeras palabras para expresar mi agradecimiento al Presidente y a la Junta de Gobierno de la Real Academia de Doctores por designarme portavoz de esta Real Corporación en el solemne acto que hoy celebramos para dar posesión, como Académico de Número, al Doctor Don Jesús de la Osada García. Orgullo y satisfacción son sentimientos que surgen en mi interior al acoger y dar la primera bienvenida al Dr. De la Osada en este momento de su ingreso en nuestra Academia.

El nuevo Académico viene avalado por un magnífico Currículum Vitae y a él me une una profunda amistad. A estas circunstancias debo añadir dos más, que tienen para mi especial significado: fue mi primer doctorando y va a ocupar la vacante de nuestro insigne (y común) maestro el Profesor Dr. D. Angel Santos Ruiz. Por ello, pocos mandatos podrían serme más gratos que el que hoy me ha sido encomendado, aún siendo ardua y difícil tarea la de comentar, sucintamente, su interesante y bien elaborado discurso, a la vez que exponer con brevedad, pero también con claridad y precisión la trayectoria profesional, méritos científicos y una semblanza de la personalidad humana, del Doctor De la Osada. En definitiva, la de presentar ante ustedes, concisamente, las circunstancias que hacen acreedor de aspirar al rango de Académico de Número a quien, a partir de ahora, pone al servicio de esta Ilustre Corporación, su juventud, vitalidad, iniciativa y talento.

No quisiera dejar pasar la oportunidad de recordar a D. Angel Santos Ruiz como maestro de maestros a quien la Facultad

de Farmacia de Madrid debe el privilegio de ser el primer Centro Universitario de España en el que se impartió la Enseñanza de la Bioquímica como asignatura de Licenciatura. Únicamente en las Facultades de Farmacia, podía estudiarse la bioquímica, hasta bien avanzada la pasada década de los setenta. Por ello, muchos farmacéuticos, como el nuevo académico, son bioquímicos discípulos directos de D. Ángel ó de sus discípulos.

Es profunda mi satisfacción en este solemne acto, en el que la medalla 116, que con cariño y orgullo ostentara el Profesor Santos Ruiz, sea traspasada a uno de sus más jóvenes discípulos, quien ocupando la vacante que él dejara en esta Ilustre Corporación, pueda continuar su labor en la transmisión de valores y conocimiento que con tanta ilusión D. Angel cultivó.

Trayectoria profesional y comentario a su *Curriculum vitae*

Conocí a Jesús de la Osada García en el año 1978, cuando como alumno de licenciatura y con una beca de colaboración llega al Departamento de Bioquímica (entonces centro Coordinado del CSIC) de la Facultad de Farmacia. Cinco años antes se había iniciado en el Departamento una novedosa línea de investigación sobre la Bioquímica de las Hepatopatías Experimentales. Impulsó decididamente esta línea la Dra. María Cascales Angosto, recién llegada del Reino Unido, que con el Profesor Santos Ruiz, elaboró un ambicioso proyecto de investigación en el que nos incorporamos gran parte del Departamento y por supuesto el nuevo Académico.

No quisiera que treinta años de amistad me resten la objetividad necesaria para destacar con lucidez y seguridad los hechos más destacados que definen la trayectoria profesional y carrera científica de Jesús.

El Dr. De la Osada, realizó sus estudios universitarios en la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid. En 1981 defendió su tesina, realizada bajo mi supervisión, obteniendo el grado de Licenciado con la calificación de Sobresaliente. En 1982 superó el examen nacional para la formación de farmacéuticos Internos y Residentes y ocupó la plaza Bioquímica Clínica en la Clínica Puerta de Hierro de Madrid,

donde completó el periodo necesario para obtener el Título de Especialista en dicha disciplina. Sin embargo, se sintió siempre atraído por la docencia y la investigación, por ello, simultaneó su actividad asistencial con el desarrollo experimental de su Tesis Doctoral que tuvo la oportunidad y satisfacción de dirigir. La lectura y defensa de esta Tesis que llevaba por título "*Metabolismo de fosfolípidos en la cirrosis inducida por tioacetamida. Efecto de la S-Adenosil -L- Metionina,*" le permitiría obtener el título de Doctor con la calificación de sobresaliente "cum laude" y Premio Extraordinario. Los resultados obtenidos y su difusión a través de revistas especializadas de ámbito internacional, altamente cualificadas, contribuyeron a la solidez y avance de la que durante años ha sido una fructífera línea de investigación sobre *Hepatocarcinogénesis experimental inducida por fármacos y xenobióticos*, que se desarrolló en la Unidad de Investigación de Bioquímica Farmacológica y Toxicológica, cuya jefatura ostentaba la Dra María Cascales, del Instituto de Bioquímica (Centro mixto CSIC-UCM).

La inquietud científica de Jesús y su laudable deseo de ampliar conocimientos en Biología Molecular le llevan a solicitar una beca postdoctoral de la Dirección General de Universidades e Investigación para Formación de Personal Investigador en el Extranjero. Con ella se trasladó a los Estados Unidos para trabajar durante dos años y medio, con los profesores Ordovás y Schaefer del Department of Lipid Metabolism en Tufts University de Boston. Durante su estancia allí obtuvo abundantes resultados que fueron motivo de numerosos e interesantes artículos en revistas especializadas.

Su decidida vocación por la docencia universitaria, unida a su tesón, dedicación y capacidad para encontrar la solución más idónea a los diferentes problemas desembocaron en la brillante formación académica que posee el Dr. Osada, y que ha sido ampliamente reflejada en las múltiples facetas de esta actividad: clases prácticas, cursos de licenciatura y de doctorado y cursos monográficos. Ha desarrollado la investigación y la enseñanza universitaria, como Profesor Colaborador, adscrito al Departamento de Bioquímica, en la Escuela de Análisis Clínicos de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid y posteriormente como Profesor ayudante de la LRU, Profesor Titular y finalmente como Catedrático de Universidad en el Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular

de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Zaragoza, puesto ocupa actualmente tras haber superado la oposición y concurso pertinentes.

Consciente de la utilidad de las visitas a Centros de Investigación Extranjeros al permitir contrastar la formación científica, además de intercambiar ideas y establecer líneas de futuras colaboraciones, el Dr. Osada, cultivó esta tendencia desde sus inicios en la carrera investigadora, renunciando, en muchas ocasiones a su descanso estival para aprender alguna de las técnicas de laboratorio que pondría en práctica en el curso siguiente. Entre sus estancias en el extranjero para ampliar su formación, cabe citar la permanencia durante dos años, compatibilizados con su docencia, en la Universidad de North Carolina en Chapel Hill bajo la supervisión de los doctores Maeda y Smithies. Este último Premio Nobel de Medicina en el año 2007. También ha llevado a cabo fructíferas estancias en las Universidades de Leiden y de Harvard.

El Dr. Osada ha sido investigador principal en 15 proyectos de investigación financiados por programas de la Dirección General de Investigación Científica y Técnica (DGICYT), del Fondo de Investigaciones Sanitarias (FIS), del Gobierno de Aragón, Unión Europea y otras entidades. En todos los casos ha demostrado siempre su responsabilidad y capacidad investigadora. También ha recibido subvenciones de la industria farmacéutica: Laboratorios Lacer y Exxentia. Su trayectoria como investigador y docente, ha cristalizado en numerosos cursos impartidos, conferencias pronunciadas, más de un centenar de artículos de investigación, en su mayor parte recogidos en bases de datos internacionales. Los artículos del Doctor Osada se encuentran en publicaciones científicas de la mayor solvencia y prestigio, entre las que cabe citar: Proceedings of the National Academy of Sciences USA, Journal of Biological Chemistry, FASEB Journal, Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology, Human Molecular Genetics, Atherosclerosis, Journal of Proteome Research, Carcinogenesis, Biochemical and Biophysical Research Communications, Biochemical Pharmacology, Journal of Hepatology, etc. Su participación en congresos dentro y fuera de España es amplia habiendo intervenido en los mismos con ponencias, comunicaciones, mesas redondas y conferencias plenarias. Son numerosas también las conferencias que sobre temas de su especialidad ha pronunciado en España y en el extranjero. Es co-inventor de

varias patentes, algunas de las cuales han sido extendidas a otros países y licenciadas a entidades privadas, lo que evidencia su interés en trasladar a la sociedad sus resultados en la investigación. Forma parte del comité editorial de varias revistas científicas y ejerce como revisor para otras tantas, así como para diversos organismos nacionales e internacionales de financiación de proyectos de investigación.

La actividad investigadora del Dr. Osada se vierte, también, en la dirección de ocho tesis doctorales todas acreditadas con la máxima calificación: tres de ellas obtuvieron el premio extraordinario de doctorado, otra el premio nacional de Investigación Educativa y la quinta, el premio Abelló de esta Real Academia de Doctores. Ha obtenido varios premios de investigación, y además de los ya reseñados, deseamos destacar el Premio al mejor trabajo publicado en lengua inglesa otorgado por la Sociedad Española del Corazón y el Premio Abelló de la Real Academia de Farmacia. De entre los cargos de gestión que ha llevado a cabo, subrayamos que ha sido secretario del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad de Zaragoza.

Pertenece a la Sociedades Españolas de Bioquímica, de Cardiología, de Bioquímica Clínica y de Arteriosclerosis. Además, el Doctor Osada, pertenece a la Cofradía Internacional de Investigadores de Toledo. En la actualidad es el director del Grupo Consolidado de Investigación reconocido por el Gobierno de Aragón denominado *Bases Moleculares de la Aterosclerosis*, que a su vez, constituye el nodo de Aragón del CIBER de Fisiopatología de la Obesidad y de la Nutrición del Instituto de Salud Carlos III. Su actividad investigadora más reciente se centra en el estudio de los mecanismos moleculares de protección frente a la aterosclerosis del aceite de oliva mediante el uso de animales modificados genéticamente.

Sería imposible relacionar aquí los muchos y diversos méritos por los que el nombre del Doctor Osada tiene ya adquirida auténtica resonancia internacional sobre el tema de su especialidad.

Sus trabajos superan el millar de citas y aparecen comentados favorablemente en publicaciones y revisiones internacionales de difusión y prestigio.

Prueba evidente de la capacidad intelectual del Doctor Osada es el discurso que acabamos de escuchar, trazado con la firmeza de una mente serena y con la frase oportuna de quien sabe ver con profundidad y perspectiva.

Comentario sobre el Discurso

El vertiginoso desarrollo experimentado por la bioquímica en las últimas décadas, que ha situado a esta disciplina en la vanguardia de la investigación actual, ha hecho posible una nueva biología, la Biología Molecular. Con sus herramientas se han generado animales modificados genéticamente que reproducen las patologías humanas. La disponibilidad de estos modelos permite estudiar cualquier tratamiento de una forma más segura y eficaz antes de su extrapolación a humanos. Además hace posible obtener resultados para cuyo logro, en humanos, serían necesarias varias generaciones. Tal es el caso del estudio de las enfermedades cardiovasculares cuyo desarrollo en nuestra especie requiere de al menos 40 años para hombres y de 50 para las mujeres.

El trabajo experimental del Dr. Osada, al introducir animales carentes del gen de la apolipoproteína E, que desarrollan aterosclerosis espontánea en dos meses, para verificar las propiedades del aceite de oliva, ha permitido obtener, en menos de diez años, resultados y conclusiones para cuyo hallazgo, en la especie humana, hubieran sido necesarios unos cuatro siglos.

El impacto de estas herramientas sobre la Farmacia y la Medicina permite vislumbrar avances vertiginosos en la generación de conocimiento y caracterización de las propiedades de fármacos en sujetos portadores de variantes genéticas específicas. Indudablemente, estamos asistiendo al nacimiento de la etapa de la *medicina molecular personalizada* basada en claras evidencias experimentales.

En el discurso que acabamos de escuchar, el Doctor Osada ha hecho una revisión exhaustiva de la dieta mediterránea y de la manera en que la comunidad científica internacional la ha aceptado, como un valor importante, para el mantenimiento de la salud. Hoy gracias a este discurso, también conocemos mejor la complejidad del aceite de oliva ese zumo del fruto, acei-

tuna, que esta repleto de sustancias biológicas cuya acción protectora frente a diversas patologías, empieza a ser evidente. Esta recopilación se ha centrado en sus propiedades protectoras cardiovasculares por ser el tema de investigación actual del grupo del Dr. Osada que en diez años ha logrado avances que nos permiten afirmar que el aceite de oliva en su forma virgen extra posee un claro efecto de prevención de la aterosclerosis.

La ciencia, en su desarrollo, da pasos hacia delante y pasos hacia atrás, pero en ese fluctuar la ciencia avanza y este avance supone la única esperanza para la resolución de los innumerables problemas que rodean al ser humano, y su entorno. Cualquier hallazgo, hipótesis o teoría sólo tienen para el científico un valor provisional, relativo e inestable, que se acepta mientras no se descubra algo que se le oponga o sea incompatible. Este concepto motiva que los no iniciados consideren a la ciencia como algo inconsistente. En nuestra percepción del aceite de oliva, como un sujeto de este vaivén de la ciencia, los estudios efectuados en la década de los 60 del siglo pasado, dieron luz a prometedores resultados que cayeron pronto en el olvido, por falta de conclusiones claras vetadas por la tecnología disponible para la obtención de adecuadas preparaciones. Ha sido el estudio con sofisticadas preparaciones y nuevas formulaciones lo que ha motivado su resurgimiento y aquí el Dr. Osada y otros investigadores españoles han jugado un papel trascendental.

El Doctor Osada ha alcanzado por sus propios méritos un nivel científico tan relevante como para que la Corporación que represento en este momento de bienvenida, haya considerado conveniente y útil incorporarle a su filas como Académico de Número.

Concluido el merecido elogio con el comentario de su *curriculum vitae* y del discurso de recepción, paso a exponer ante ustedes algunas de las cualidades que le definen como persona.

No es fácil para mí pronunciarme en público para describir en pocas palabras las cualidades de Jesús de la Osada García. Como la personalidad de un ser humano ha de juzgarse tanto por lo que hace como por lo que es, deseo expresarme en esta ocasión dejándome llevar por los impulsos del alma, intentando perfilar los rasgos más significativos.

Jesús ha destacado siempre por su sencillez, afán de compartir con los demás y por su calidad humana. Una de las características que mejor le definen es su generosidad, desprendimiento y espíritu de participación. El autodominio, el juicio equilibrado, la reflexión ponderada, el trabajo eficaz y en general, el cultivo de la inteligencia exigen resolución y perseverancia. Es cortés y amable, moderado en su decir, entusiasta y perseverante. Une a su lealtad y autenticidad, un temperamento sereno, reposado y reflexivo que, en la plenitud de su madurez, se consagra al esfuerzo y al trabajo sin desalientos. Su sabiduría no incluye conformismo y mantiene intacta la juventud de espíritu.

Nació Jesús en el corazón de La Mancha, en la provincia de Toledo, en Santa Cruz de la Zarza. No es de extrañar que su interés le acerque a investigar el fruto de esos centenarios y retorcidos árboles que contempló desde su más tierna infancia. Tampoco es casualidad que su personalidad sea una mezcla de pragmatismo e idealismo en la línea de los dos personajes que Miguel de Cervantes recogiese campeando por las tierras manchegas. Es amante de esa tierra sin horizonte que es la Mancha y acudir a su rincón natal al igual que a Scarlata O'Hara le impulsa a "*poner a Dios por testigo*" de que no flaqueará en su empeño para avanzar en el conocimiento.

El Dr. Osada tuvo, además, la suerte de casarse con María Victoria, también extraordinaria docente de vocación y de profesión. Una magnífica mujer como esposa. y como colaboradora en muchos de sus trabajos de investigación. Para un hombre entregado a su profesión, contar con alguien que le comprende y apoya es de un valor inestimable. Por ello, en este día de reconocimiento de los méritos de Jesús no sería justo olvidar los de María Victoria como fiel aliada.

Excmos. Señoras y Señores Académicos: con estas palabras de presentación protocolaria he pretendido mostrar a ustedes, algunas facetas de la personalidad del Doctor Osada, como científico y como persona.

Una distinción especial para la persona que ha tenido la suerte de alcanzar el Grado de Doctor en España, es llegar a ser elegido y tomar posesión como miembro Numerario de esta Real Academia de Doctores, y otro honor, no menos singular, es

el de presentar y dar la bienvenida a un excelente amigo. Yo siento en estos momentos una gran alegría y satisfacción al actuar como introductora para acompañar al Doctor De la Osada García a traspasar el umbral que le lleva a acceder a Numerario de esta Academia con la medalla número 116 de la sección de Farmacia. Agradezco sinceramente a esta Corporación el encargo de este honroso cometido.

Al adelantarme a darle la bienvenida en nombre de todos los académicos de esta Real Academia de Doctores de España, quiero desearle junto con mi enhorabuena y sincera felicitación, el deseo de que su permanencia entre nosotros sea fértil y dichosa. Quienes le recibimos esperamos que su juventud, su capacidad crítica y creadora, su laboriosidad y su entusiasmo encontrarán entre nosotros el clima apropiado para su trabajo y contribución al enriquecimiento y expansión del saber académico y prestigio de esta Real Corporación.

Muchas gracias

