

Edición patrocinada por:



**COLEGIO  
OFICIAL DE  
FARMACÉUTICOS DE  
ZARAGOZA**

# ACEITE DE OLIVA VIRGEN EXTRA Y PREVENCIÓN DE LA ATEROSCLEROSIS

POR EL ACADÉMICO DE NÚMERO ELECTO  
ILMO. SR. DR. D. JESÚS DE LA OSADA GARCÍA  
DISCURSO LEÍDO EN EL ACTO DE SU RECEPCIÓN ACADÉMICA  
EL DÍA 28 DE SEPTIEMBRE DE 2010

DISCURSO DE CONTESTACIÓN DEL  
ACADÉMICO DE NÚMERO Y PRESIDENTE  
EXCMO. SR. DR. D. MANUEL JOSÉ LÓPEZ PÉREZ



ACADEMIA DE FARMACIA "REINO DE ARAGÓN"  
Zaragoza  
2010





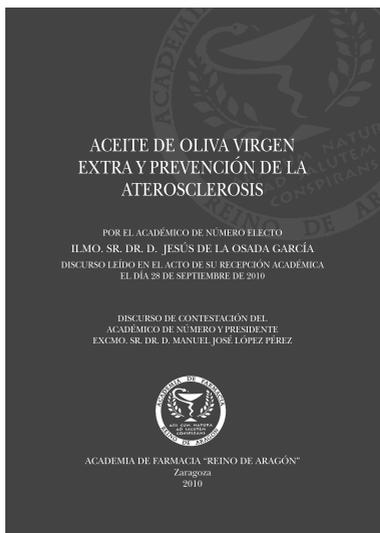
# ACEITE DE OLIVA VIRGEN EXTRA Y PREVENCIÓN DE LA ATEROSCLEROSIS

POR EL ACADÉMICO DE NÚMERO ELECTO  
ILMO. SR. DR. D. JESÚS DE LA OSADA GARCÍA  
DISCURSO LEÍDO EN EL ACTO DE SU RECEPCIÓN ACADÉMICA  
EL DÍA 28 DE SEPTIEMBRE DE 2010

DISCURSO DE CONTESTACIÓN DEL  
ACADÉMICO DE NÚMERO Y PRESIDENTE  
EXCMO. SR. DR. D. MANUEL JOSÉ LÓPEZ PÉREZ



ACADEMIA DE FARMACIA "REINO DE ARAGÓN"  
Zaragoza  
2010



*Edita:*

Colegio oficial de Farmacéuticos de Zaragoza

*Distribuye:*

Academia de Farmacia "Reino de Aragón"

*Imprime:*

Cometa, S.A.  
Ctra. Castellón, Km. 3,400 — 50013 Zaragoza

*Depósito Legal:*

Z-3056-10

# Sumario

<i>DISCURSO DE RECEPCIÓN ACADÉMICA</i>	
DR. D. JESÚS DE LA OSADA GARCÍA.....	7
ACEITE DE OLIVA VIRGEN EXTRA Y PREVENCIÓN DE LA ATROSC- CLEROSIS.....	13
1. ACEITES Y GRASAS CONSUMIDOS POR EL SER HUMANO.....	15
2. DIETA MEDITERRÁNEA.....	19
3. ELABORACIÓN Y CATEGORÍAS DEL ACEITE DE OLIVA.....	23
Proceso de obtención del aceite de oliva .....	23
Categorías del aceite de oliva .....	24
El proceso de refinado.....	26
4. COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL ACEITE DE OLIVA VIRGEN .....	29
4.1. Composición de la fracción saponificable.....	29
Ácidos grasos .....	29
Triacilgliceroles .....	31
4.2. Composición de la fracción insaponificable .....	31
Hidrocarburos.....	32
Clorofilas y otros pigmentos.....	33
Tocoferoles .....	34
Alcoholes alifáticos .....	34
Esteroles.....	36
Ésteres no glicéridos .....	38

Compuestos fenólicos.....	38
Componentes volátiles.....	40
5. EL RATÓN CARENTE DE LA APOLIPOPROTEÍNA E.....	41
6. ACEITE DE OLIVA VIRGEN EXTRA EN DIETAS DE TIPO MEDITERRÁNEO .....	43
7. MARGEN DE MÁXIMA EFICACIA EN EL CONSUMO DE ACEITE DE OLIVA VIRGEN.....	47
8. EL ACEITE DE OLIVA VIRGEN EXTRA EN DIETAS DE TIPO OCCIDENTAL.....	49
9. ¿CUÁL ES EL COMPONENTE O COMPONENTES IMPLICADOS EN LA PROGRESIÓN DE LA ATROSCLEROSIS?.....	53
10. BÚSQUEDA DE COMPONENTES ACTIVOS Y SU EFECTO TRAS LA ADMINISTRACIÓN AISLADA DE DICHS COMPUESTOS.....	57
11. CONCLUSIÓN .....	63
12. BIBLIOGRAFÍA .....	65
<i>Discurso de Contestación</i>	
Excmo. Sr. Dr. D. Manuel José López Pérez .....	73

*Discurso de recepción Académica*

Dr. D. Jesús de la Osada García

Catedrático de Universidad de Bioquímica y Biología Molecular  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de Zaragoza  
josada@unizar.es



Excelentísimo Señor Presidente de la Academia de Farmacia  
“Reino de Aragón” y Rector Magnífico

Excelentísimos e Ilustrísimos Señoras y Señores Académicos

Señoras, Señores:

Es para mí un honor optar a ser recibido como Académico en esta ilustre Academia de Farmacia “Reino de Aragón” y por ello quisiera expresar mi agradecimiento a sus miembros fundadores por haber considerado mi trayectoria profesional acreedora de esta distinción. Particularmente al Profesor López Pérez por haber aceptado a efectuar la contestación y por ofrecerme la oportunidad de incorporarme al Departamento de Bioquímica de esta Universidad, por su exquisita intuición para proporcionar en todo momento aquellos consejos que con la perspectiva temporal se tornarían en acertados y por su ejemplo de tenacidad y compromiso profesional. Debo confesar que a la vez que una enorme satisfacción, por la distinción que supone el haber sido elegido para la medalla número 7, siento la responsabilidad que exige hacer de esta Academia un referente nacional e internacional para el avance y transmisión del conocimiento. Cuenten con mi ilusión, esfuerzo y entendimiento para avanzar en esa dirección y desarrollar una labor que no decepcione a los que me han propuesto y aceptado como miembro.

En este momento tan emotivo de mi vida profesional, quiero 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.

En primer lugar, a mi directora de Tesina de Licenciatura y Tesis Doctoral, la Profesora Dña Evangelina Palacios Alaiz del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid. Sería en 1978 cuando me acogió en su grupo y me permitió realizar los experimentos que constituirían la tesina y posteriormente se completarían para configurar mi Tesis doctoral. A ella le debo mi iniciación en el rigor y la cuidadosa elaboración de la lógica del discurso académico. Igualmente, su ejemplo de dedicación y de trabajo con los estudiantes supusieron una referencia inestimable en mi formación como bioquímico y como docente. Y por su supuesto, por esa honestidad y generosidad para con el prójimo que hacen de ella una persona íntegra. Tampoco quiero dejar de mencionar a todos mis compañeros de dicho Departamento de la Facultad de Farmacia por aquellos maravillosos años de realización de la Tesis Doctoral, ni a los de la entonces Clínica Puerta de Hierro de Madrid por toda su ayuda, apoyo y comprensión para completar la especialidad de Bioquímica clínica como Farmacéutico Interno y Residente.

Durante los años transcurridos en el Human Nutrition Research Center de la Universidad de Tufts en Boston he de agradecer a los Profesores Dres Ordovás y Schaefer el darme la oportunidad de realizar mi formación posdoctoral y adquirir una visión renovada del metabolismo lipoproteico. Posteriormente, en la Universidad de North Carolina en Chapel Hill, a los Profesores Dres Maeda y Smithies 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. Durante los años vividos en los Estados Unidos, quisiera agradecer a los compañeros de las diferentes naciones el haber hecho posible la increíble experiencia de compartir el mestizaje cultural.

Por último ya en la Universidad de Zaragoza, no puedo por menos que reconocer a mis amigos y compañeros del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular de esta Universidad, y muy en particular a los miembros de la sede en la Facultad de Veterinaria, como forjadores de mi personalidad docente ya que son

veintidos años compartidos. A los de la “vieja guardia”, (los profesores López Pérez Pérez-Martos, Montoya, Cebrián y Muiño) por la generosidad, capacidad, profesionalidad y amistad y sobre todo por su empuje para conseguir este vergel donde antes apenas era una desierta estepa bioquímica. A ellos y a las recientes incorporaciones por contribuir a transformar en un verdadero placer el trabajo cotidiano con su desbordante carga de docencia, investigación y gestión. A todos los compañeros de la Facultad de Veterinaria porque hacen que cada día me sienta como en casa.

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 honor que recibo y que hubiera sido imposible de alcanzar sin su capacidad, trabajo y lealtad.

Mi última mención va dirigida a mi familia. A mis padres ya 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 algunos resultados de nuestro grupo referentes al efecto del aceite de oliva y sus componentes sobre el desarrollo de la aterosclerosis. Gracias a todos los que me escuchan por el afecto y apoyo que con su presencia me brindan.



Aceite de oliva virgen extra  
y prevención de la  
aterosclerosis



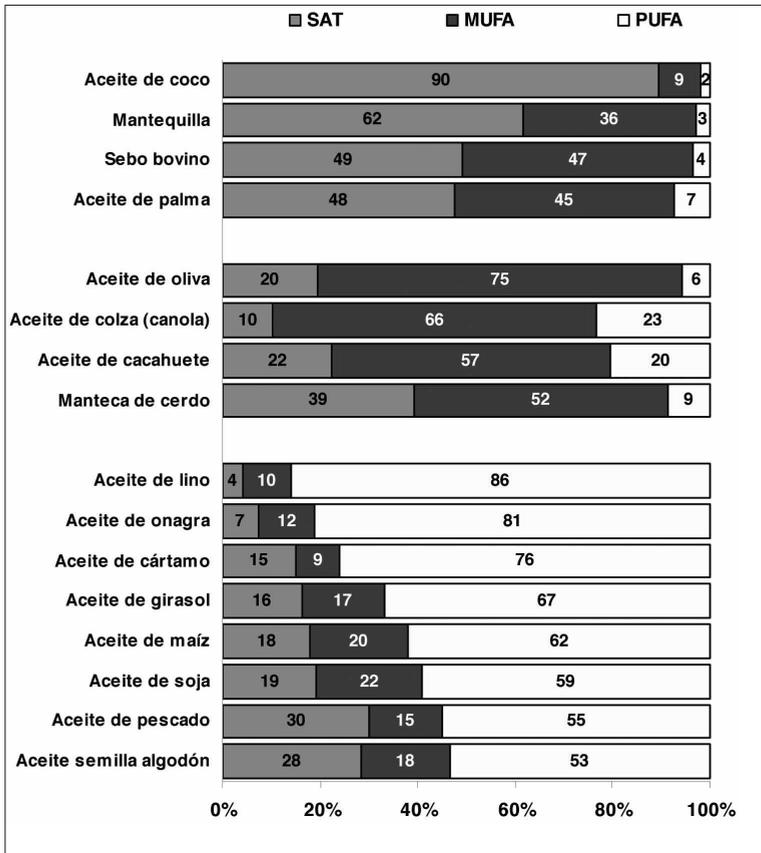
## 1. ACEITES Y GRASAS CONSUMIDOS POR EL SER HUMANO

Entre los más consumidos destacan: el aceite de palma es el más utilizado, seguido por los de soja, de colza-canola y el de girasol, tal como se recoge en la Tabla 1. Todos estos aceites se obtienen por extracción química de las correspondientes semillas y con excepción de la vitamina E que se solubiliza en el procedimiento de extracción, los triglicéridos van a ser los determinantes de sus propiedades biológicas.

Aceites	Consumo 2009 (x10 <sup>6</sup> toneladas)
Palma	43,2
Soja	37,3
Colza	19,8
Girasol	11,7
Palmiste	5,1
Cacahuete	5,0
Algodón	4,7
Coco	3,6
<b>Oliva</b>	<b>3,0</b>

**Tabla 1.** Consumo de los aceites mas utilizados. Fuente: <http://www.fas.usda.gov/oilseeds/circular/2009/January/Oilseedsfull0109.pdf>.

En la Figura 1 se recoge la composición media de ácidos grasos presentes en los triglicéridos de algunos aceites y grasas usados para el consumo humano. Según la saturación de los ácidos grasos predominantes en dichos compuestos, se han clasificado como grasas saturadas, con ácidos grasos saturados (sólidas a temperatura ambiente) y aceites mono y poliinsaturados por la presencia de este tipo de ácidos grasos (líquidos). Esta simple manera de agrupación de grasas y aceites en tres categorías (figura 1) ha sido muy empleado y ha explicado relativamente bien propiedades tales como el efecto hipercolesterolemizante de la grasa saturada y el efecto hipocolesterolemizante de los aceites poliinsaturados.



**Figura 1.** Porcentaje de los distintos tipos de ácidos grasos presentes en los diferentes aceites y grasas. Adaptado de Surra y cols [1].

Con el mejor conocimiento de las estructuras y las propiedades de los ácidos grasos, se ha confirmado que no todos los ácidos grasos saturados (longitud de la cadena), ni todos los poliinsaturados (la posición del último doble enlace en la cadena, n-3 o n-6, y la configuración cis o trans de algunos dobles enlaces) poseen el mismo efecto [1-2].

El aceite de oliva no es un aceite muy consumido en el mundo pero ha sido la principal fuente de grasa en la alimentación clásica de la cuenca mediterránea conocida como la dieta mediterránea.



## 2. DIETA MEDITERRÁNEA

Las propiedades saludables de esta dieta se evidenciaron en el Estudio de los Siete Países, diseñado para investigar la relación entre la dieta y las enfermedades cardiovasculares en 14 poblaciones pertenecientes a siete países diferentes (Estados Unidos, Finlandia, Holanda, Yugoslavia, Italia, Grecia y Japón). Se encontró que los individuos estudiados en Creta presentaban las menores tasas de enfermedad cardiovascular y cáncer comparados con las otras regiones del estudio [3], y se concluyó 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 continúa siendo menor en los países europeos del sur que en los del norte [4-5].

El primer estudio clínico que apoyó los beneficios de la dieta mediterránea fue el “Lyon Diet Heart Study” [6-7], 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 en el grupo de dieta mediterránea del 73% en la tasa de eventos coronarios y del 70% de la mortalidad total. Otro ensayo, el Indo-Mediterráneo estudió el efecto de una dieta de tipo mediterráneo sobre la progresión de enfermedad coronaria en pacientes de alto riesgo [8]. En este estudio

también se concluyó que una dieta de tipo mediterráneo podría ser más efectiva en la prevención primaria y secundaria de las enfermedades cardiovasculares que la dieta recomendada por el programa nacional de educación sobre colesterol americano.

En un estudio con más de 22.000 personas realizado en Grecia por Trichopoulou y cols [9], encontraron igualmente que el seguimiento de la dieta mediterránea aparecía asociado a una menor mortalidad total y a una menor mortalidad debida a enfermedades cardiovasculares.

Actualmente, se está desarrollando en España un estudio de intervención para la prevención primaria de las enfermedades cardiovasculares a través de la dieta mediterránea (*PREDIMED*) en 10.000 personas asintomáticas con alto riesgo cardiovascular, distribuidos aleatoriamente en tres grupos de dieta: baja en grasa, mediterránea con aceite de oliva virgen extra y mediterránea suplementada con frutos secos. Desde los primeros estudios, se observó que los grupos que recibían la dieta mediterránea presentaban menores niveles de glucosa plasmática, menor relación colesterol total/colesterol-HDL y reducida tensión arterial sistólica, en comparación con el grupo que consumía la dieta baja en grasa [10]. También se ha observado una reducción de los niveles de triglicéridos [11], menor oxidación de las lipoproteínas de baja densidad [12], disminución del estatus inflamatorio [13] e incluso una reducción del cociente del grosor íntima media carotídeo asociado al consumo de aceite de oliva virgen [14]. Estos resultados indican que el aceite de oliva mejora todos los factores de riesgo cardiovascular y se asocia con una menor aterosclerosis carotídea en concordancia con otros estudios [15-16].

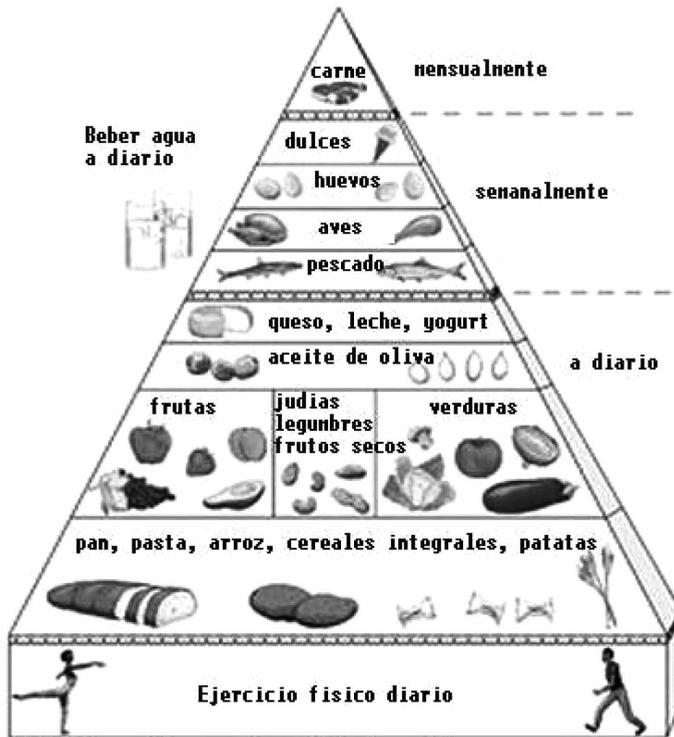
Todas estas evidencias han llevado a que la dieta mediterránea se convierta en un modelo dietético. Así en noviembre del año 2004, la Administración de Fármacos y Alimentos de los Estados Unidos (US Food and Drug Administration, FDA) reconoció los efectos beneficiosos del aceite de oliva sobre los factores de riesgo cardiovascular y recomendó el consumo de dos cucharadas de aceite de oliva (23 g) diariamente [17]. El elevado contenido graso [15-16] de este modelo dietético le confiere 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 [18-19]. 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 [20]. 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. Se llega a la paradoja de que en los últimos estudios de adherencia a la dieta mediterránea, este índice es ya más elevado en los jóvenes universitarios holandeses que en los griegos [21]. Distintos autores apuntan que es necesario una vuelta a hábitos alimentarios más moderados y equilibrados, y subrayan la importancia de preservar ciertas tradiciones dietéticas y de forma de vida que son una garantía para la salud de las generaciones venideras [22-24].

A raíz de la potencial confusión de denominar dieta mediterránea a cualquier modo de alimentación en este tipo de países, conviene precisar que con el término “dieta mediterránea” se denomina al patrón de alimentación de los países del área del mar Mediterráneo, y concretamente al principio de la década de los años sesenta [5]. 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 [5].

La dieta mediterránea, cuyos componentes principales podemos apreciar en la figura 2, presenta una baja cantidad de nutrientes no saludables y altos contenidos de los llamados saludables [25]. En concreto se caracteriza por lo siguiente:

- Bajo consumo de carne y productos cárnicos.
- Consumo moderado de pescado, leche y productos lácteos, éstos últimos principalmente en forma de queso y yogurt.
- Ingesta moderada de alcohol, limitada prácticamente, al vino en las comidas.



**Figura 2.** Pirámide alimenticia representando la dieta tradicional Mediterránea [25].

- 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 [26].

Al ser el aceite de oliva el componente que más calorías aporta en este tipo de dieta, el conocimiento de sus propiedades ha suscitado un creciente interés. En este trabajo les presentaré las características de este producto y sus propiedades, particularmente nuestros estudios en el desarrollo de la aterosclerosis.

### 3. ELABORACIÓN Y CATEGORÍAS DEL ACEITE DE OLIVA

#### Proceso de obtención del aceite de oliva

El aceite de oliva virgen es el zumo oleoso del fruto de la *Olea europaea* separado de los demás componentes del mismo. 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, que siempre requieren una extracción con disolventes. 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 constituyentes [27]. 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) [28]. 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 orujo [27].

## 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. [29] y que se reflejan en negrita en la tabla 2.

<b>Clasificación del aceite de oliva</b>	<b>Acidez% (como ácido oleico libre)</b>
<i><b>Aceite de oliva virgen extra</b></i>	0,8 (max)
<i><b>Aceite de oliva virgen</b></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><b>Aceite de oliva</b></i>	1,0 (max)
Aceite de orujo de oliva refinado	0,3 (max)
<i><b>Aceite de orujo de oliva</b></i>	1,0 (max)

**Tabla 2.** 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 [29].

### — *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*

Cuando el aceite de oliva virgen posee unas características de sabor absolutamente irreprochable al paladar de catadores entrenados, con valoración organoléptica igual o superior a 6,5 puntos y con una acidez igual o menor a 0,8. 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 1,0 y las características sensoriales serán irreprochables.

### — *Aceite de orujo de oliva*

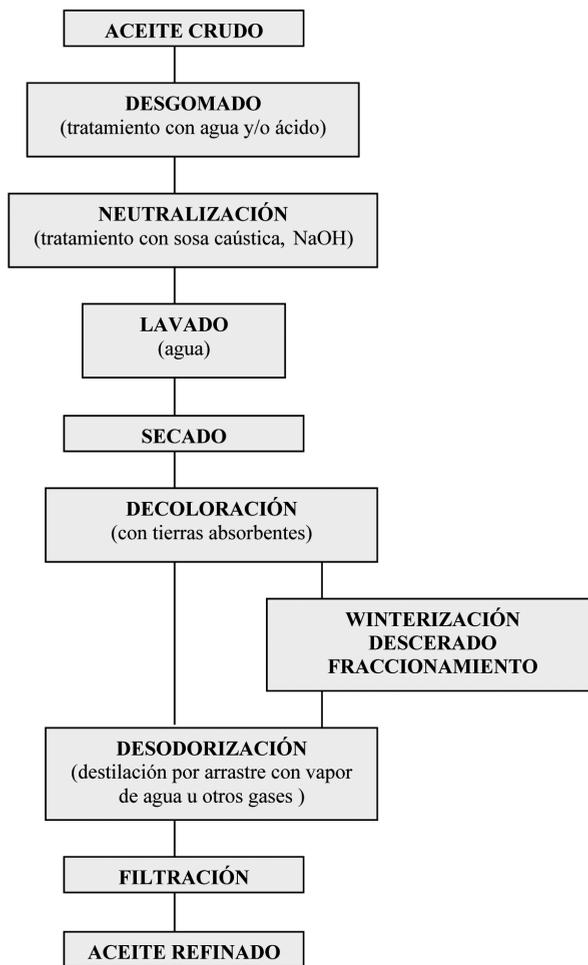
Es un aceite de composición integrado por aceite de orujo refinado enriquecido con aceite de oliva virgen apto para el consumo en la forma en que se obtiene. La acidez no puede sobrepasar 1,0 y sus características sensoriales serán irreprochables. Por su parte, el aceite de orujo refinado proviene de 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 [30]. 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 física [27].

***Refinación química.*** Un esquema del proceso se muestra en la figura 3.

Comienza con las etapas de desgomado y neutralización, que permiten eliminar los fosfolípidos y los ácidos grasos libres en forma de



**Figura 3.** Esquema de la refinación química.

jabones [27]. 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 poseen 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.

**Refinación física:** 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. Un esquema del proceso se presenta en la figura 4 [27].

La refinación siempre lleva consigo la eliminación de sustancias de interés nutricional que pueden sufrir importantes pérdidas llegando incluso a valores superiores al 50% en compuestos tales como los tocoferoles, el escualeno y los componentes fenólicos. También se puede ocasionar la formación de compuestos no deseables (ácidos grasos trans) y la pérdida de los aromas y colores [27].

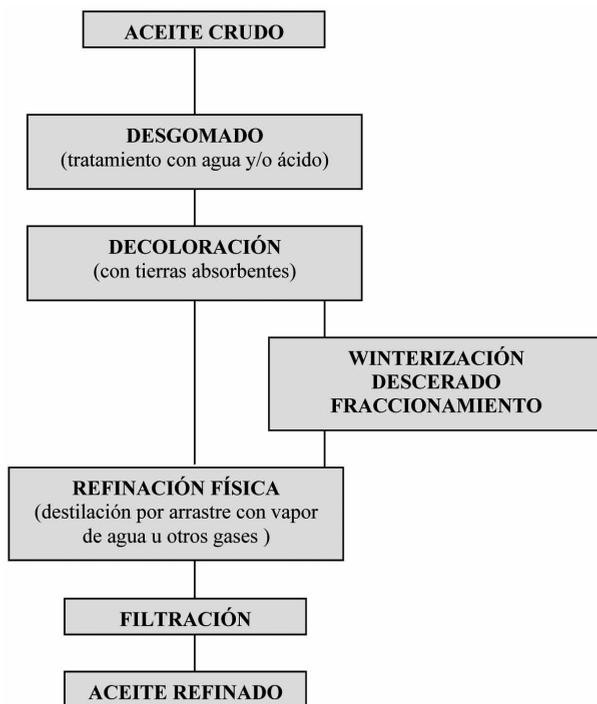


Figura 4. Esquema de la refinación física.

## 4. COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL ACEITE DE OLIVA VIRGEN

Los constituyentes del aceite de oliva virgen pueden clasificarse en dos grandes grupos: uno mayoritario, la fracción saponificable, y otro presente en menor proporción, los componentes minoritarios o fracción insaponificable [31-32].

### 4.1 Composición de la fracción saponificable

Esta fracción representa en general del 98,5 al 99,5%, la mayor parte de la cual son triglicéridos y en menor medida ácidos grasos libres junto con otros componentes minoritarios como mono o diglicéridos, fosfátidos, ceras y ésteres de esteroides [31].

#### *Ácidos grasos*

El aceite de oliva es rico en ácido oleico (monoinsaturado), contiene cantidades moderadas de ácidos palmítico y linoleico y un bajo porcentaje de ácidos esteárico y linolénico [32-33], tal como se ilustra en la tabla 3.

<i>Nombre común (Símbolo)</i>	<i>Porcentaje</i>
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
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 3.** Porcentaje de los diferentes ácidos grasos presentes en el aceite de oliva Adaptada de Montedoro [32].

La composición en ácidos grasos y de los demás componentes difiere de una muestra a otra, dependiendo de la zona de producción del aceite de oliva, del clima, del grado de madurez de las aceitunas y de su variedad [34], como se aprecia en la Tabla 4.

<b>Variedades</b>	<b>Oleico</b>	<b>Linoleico</b>
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

**Tabla 4.** Porcentaje de los ácidos grasos oleico y linoleico en algunas de las variedades de aceite de oliva producidas en España.  
Fuente Civantos y cols [35].

## *Triacilgliceroles*

La mayoría de los ácidos grasos están presentes 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 glicerol siempre es un ácido graso insaturado, generalmente el ácido oleico [36]. La distribución de las especies de triglicéridos se presenta en la tabla 5.

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

**Tabla 5.** Composición y porcentaje de triacilgliceroles del aceite de oliva (O, ácido oleico; P, ácido palmítico; L, ácido linoleico S, ácido esteárico). Adaptada de [36].

## **4.2. Composición de la fracción insaponificable**

La fracción insaponificable está formada por los compuestos que se pueden obtener tras la saponificación del aceite [37]. Esta fracción, también denominada componentes minoritarios del aceite de oliva, 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 se pierden en gran medida durante los procesos de refinado [38], y por lo tanto no estarán presentes en aceites de oliva corrientes si no se enriquecen con aceite de oliva virgen. La caracterización y determinación de estos compuestos constituye un campo muy activo de investigación en la actualidad, que presenta además una gran complejidad. En la tabla 6 se recogen los princi-

pales grupos de compuestos junto con su rango de concentraciones en el aceite de oliva virgen [32].

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

**Tabla 6.** Componentes minoritarios del aceite de oliva virgen [32].

### ***Hidrocarburos***

Una de las grandes diferencias entre el aceite de oliva virgen y el resto de aceites es la composición en hidrocarburos [39] entre los que destaca el **escualeno** y en mucha menor cantidad los carotenos (la luteína y el  $\beta$ -caroteno) [40].

### ***Escualeno***

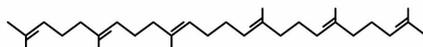
Es un hidrocarburo alifático insaturado con seis dobles enlaces conjugados (figura 5) que aparece en una elevada concentración en la fracción insaponificable del aceite de oliva (60-75%) tal como se recoge en la tabla 6 [41]. Puede constituir hasta el 90% de los hidrocarburos en el aceite de oliva virgen, 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 [38].

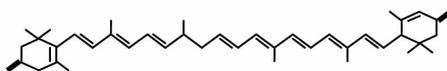
### *Carotenos*

Son otra familia de compuestos presentes en la fracción de hidrocarburos del aceite de oliva virgen. Entre los mayoritarios encontramos la **luteína** (30-60%) y el  **$\beta$ -caroteno** (5-15%) [42] (Fig. 5), que se pierden al refinar el aceite de oliva [43].

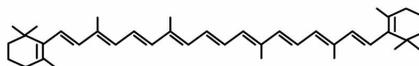
**Escualeno** ( $C_{30}H_{50}$ )



**Luteína** ( $C_{40}H_{52}O_2$ )



**$\beta$ -caroteno** ( $C_{40}H_{64}$ )



**Figura 5.** Estructura química de los hidrocarburos más abundantes en la fracción insaponificable del aceite de oliva virgen.

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 [44]. El  $\beta$ -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  $\beta$ -caroteno y las clorofilas confieren el color amarillento a verdoso típico del aceite y algunos hidrocarburos aromáticos como el fenantreno, el antraceno y el pireno [38].

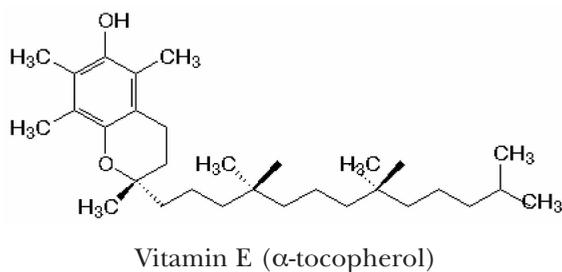
### *Clorofilas y otros pigmentos*

La fracción clorofílica la integran las clorofilas a y b y sus derivados libres de magnesio, las feofitinas a y b [31]. En el aceite de oliva virgen son mayoritarias la feofitina a (20-40%) y la clorofila a (4-7%) [45]. En aceites refinados el contenido en pigmentos disminuye no-

tablemente. El color del aceite de oliva se debe principalmente a estos compuestos [34]. En ausencia de luz las clorofilas podrían actuar como antioxidantes débiles, pero en su presencia estos compuestos pueden ser fuertes promotores de oxidación [42].

### *Tocoferoles*

Los tocoferoles, también integrantes de la fracción insaponificable, están en cantidades variables según la variedad de la aceituna [46] y es mayor en los aceites vírgenes de gran calidad [47], mientras que en los aceites refinados disminuye notablemente su contenido [48]. El más abundante entre ellos es el  $\gamma$ -tocoferol (52-87%), también están presentes el  $\beta$ -tocoferol (15-20%) y  $\alpha$ -tocoferol (7-23%) [42]. 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  $\alpha$ , es el que presenta una mayor actividad biológica como vitamina E [38] y su estructura se representa en la figura 6.

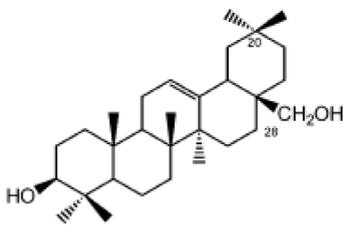


**Figura 6.** Estructura química de la vitamina E o  $\alpha$ -tocoferol.

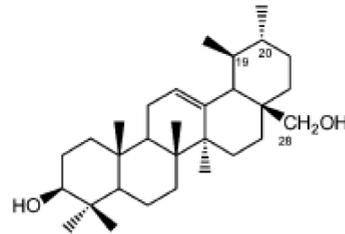
### *Compuestos terpénicos*

El contenido total de compuestos terpénicos supone una de las fracciones más abundantes y pueden ser de estructura tetracíclica o pentacíclica. De entre estos últimos, destacan dos alcoholes, el uvaol y el eritrodíol, y sus correspondientes ácidos, oleanólico y maslínico. La presencia de eritrodíol y uvaol es más abundante en la piel del

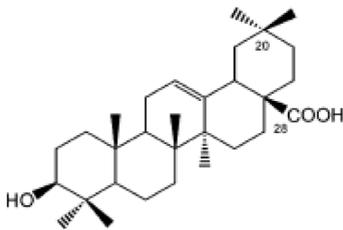
fruto, y por lo tanto, estos compuestos están presentes en mayor concentración en el aceite de orujo [49], el cual se obtiene mediante procesos químicos de los restos de la aceituna una vez extraído el aceite mecánicamente. Así su concentración varía entre 10 y 120 mg/kg de aceite. El aceite de orujo 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 [50] y ello la Comunidad Europea, 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.



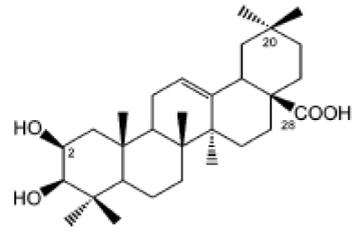
Eritrodiol ( $C_{30}H_{50}O_2$ )



Uvaol ( $C_{30}H_{50}O_2$ )



Ácido oleanólico



Ácido maslínico

**Figura 7.** Estructuras químicas de los compuestos triterpénicos presentes en el aceite de oliva “orujo” [51].

Tanto el ácido oleanólico como su derivado el ácido maslínico están ampliamente distribuidos en el reino vegetal, principalmente el primero. El interés por conocer el potencial biofarmacéutico de estos compuestos ha crecido en los últimos años.

Otros compuestos terpénicos son los **alcoholes triterpénicos** que presentan una estructura tetra o pentacíclica [38] como se puede apreciar en la figura 8.

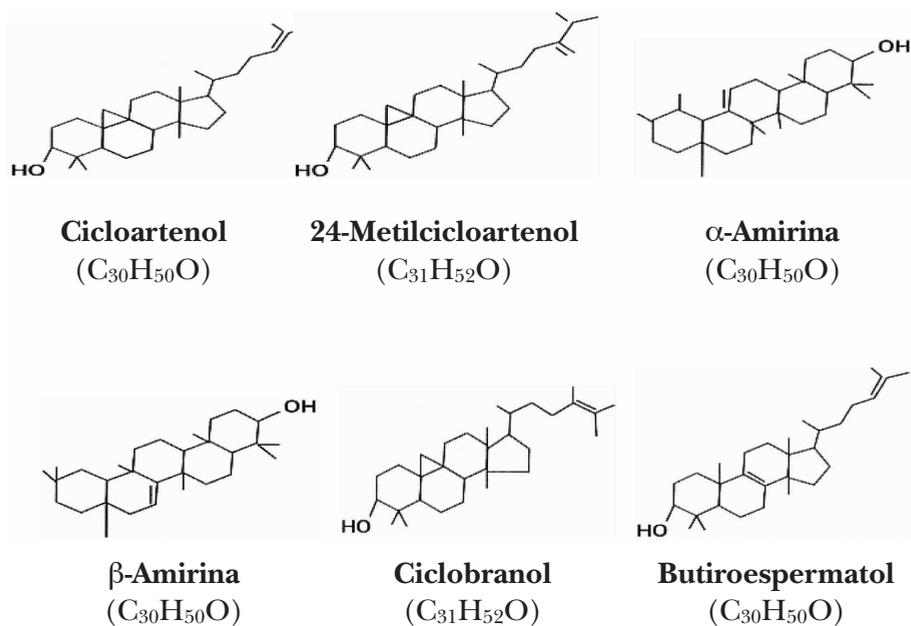


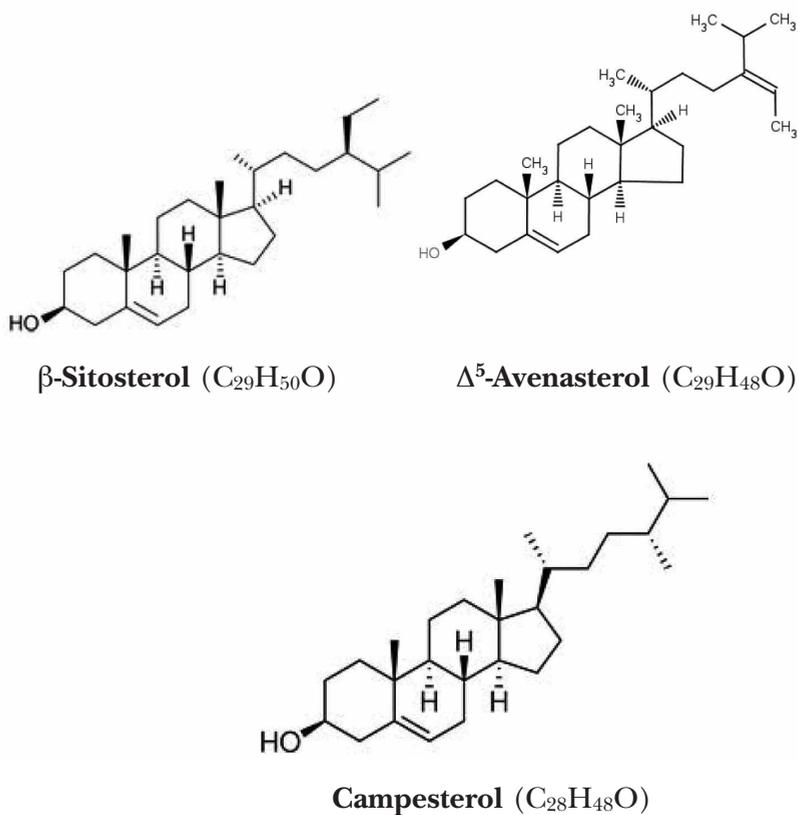
Figura 8. Alcoholes triterpénicos presentes en el aceite de oliva [38].

### *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 [52]. Estos alcoholes, al igual que los esteroides y los alcoholes triterpénicos, pueden unirse con ácidos grasos y constituyen los ésteres no glicéridos.

## Esteroles

Los fitoesteroles son los homólogos en plantas del colesterol en animales siendo los más abundantes en el aceite de oliva virgen: el  $\beta$ -sitosterol (75-90%), el  $\Delta^5$ -avenasterol (5-36%) y el campesterol (aprox. 3%) [42]. Se encuentran otros esteroles en menor proporción como el estigmasterol, el propio colesterol,  $\Delta^7$ -estigmasterol y  $\Delta^7$ -avenasterol [53]. Son compuestos tetracíclicos cuya biosíntesis comienza con el escualeno.



**Figura 9.** Esteroles más abundantes en el aceite de oliva virgen [38].

### *Ésteres no glicéridos*

Los alcoholes alifáticos, esteroides 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 [38]:

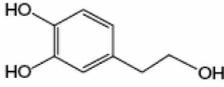
*Ceras:* son ésteres de alcoholes alifáticos de elevado número de carbonos ( $C_{20}$ - $C_{28}$ ) con ácidos grasos. Las más frecuentemente encontradas en el aceite de oliva virgen son las de  $C_{40}$ ,  $C_{42}$ ,  $C_{44}$ ,  $C_{46}$ . Las ceras se encuentran en la piel de los frutos y tienen como función evitar pérdidas de agua en los mismos.

*Ésteres de esteroides:* Principalmente de sitosterol, campesterol y estigmasterol.

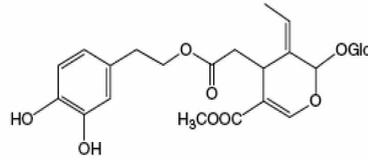
*Ésteres de alcoholes triterpénicos:* principalmente de los alcoholes cicloartenol y 24-metil-cicloartenol.

### *Compuestos fenólicos*

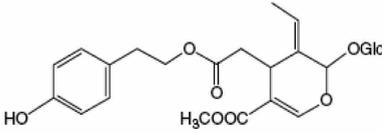
Forman parte de la fracción polar y afectan a la estabilidad y sabor del aceite de oliva [34]. Su contenido depende de la combinación de varios factores como la variedad, grado de maduración de la aceituna, clima y también de los procesos de extracción y almacenamiento [54-56]. El contenido total de fenoles es mayor en el aceite virgen extra que en el refinado ya que éstos generalmente se pierden en el proceso de refinado [20]. 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 aceite [54]. Participan en las propiedades organolépticas del aceite [54] y muchos de estos compuestos presentan propiedades antioxidantes y un alto contenido de los mismos se asocia con una elevada resistencia a la oxidación de los aceites [57]. La mayor contribución a este efecto se atribuye al hidroxitirosol [22]. 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 10:



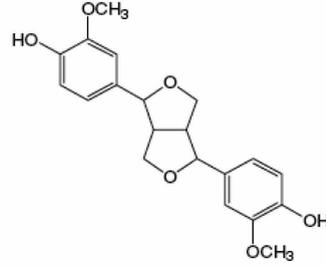
Hidroxitirosol (*fenol simple*)



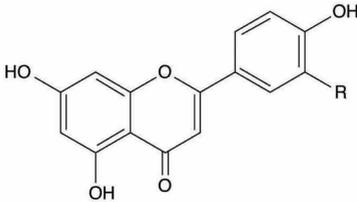
Oleuropeína (*Secoiridoide*)



Ligstrósido (*Secoiridoide*)



Pínoresorcinol (*Lignano*)



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

**Figura 10.** Estructura química de algunos de los componentes fenólicos más frecuentes en el olivo.

- 1) **Fenoles simples.** En este grupo se encontrarían compuestos alcohólicos (el hidroxitirosol, el tirosol y el 4-etilfenol), ácidos (vanílico, el ácido p-cumárico, el ácido ferúlico, cafeico, sináptico, protocatéquico, gálico, siríngico), ésteres (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-hidroxioluropeína, 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 decarboximetil 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 oliva [34]. 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 virgen [58-59]. Al igual que ocurre con otros compuestos, su presencia en los aceites depende de la variedad, condiciones climáticas y calidad del aceite [31]. Dentro de este grupo hay alcoholes, ésteres, fenoles, derivados de fenoles y aldehídos, entre otros compuestos [34]. 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 Europa [58] y son responsables de los sabores y aromas afrutados de algunos aceites [31].

## 5. EL RATÓN CARENTE DE LA APOLIPOPROTEÍNA E

Con la concesión del premio Nobel de Medicina en 2007 a los padres de la generación de ratones carentes de genes (Capecchi, Evans y Smithies), toda la sociedad reconoció la existencia de una herramienta poderosísima para avanzar en el conocimiento de las bases moleculares de las enfermedades. Gracias a su trabajo se pueden generar ratones y ratas carentes de cualquier gen y se dispone de modelos de enfermedades a la carta que permiten verificar la eficacia y seguridad de los tratamientos antes de su empleo en humanos [60]. Además, la secuenciación de sus genomas, con una asombrosa similitud al humano, ha evidenciado que los genes de las principales funciones vitales están muy conservadas y que por tanto se pueden obtener avances importantes mediante el uso de animales tan versátiles.

La investigación en aterosclerosis no ha sido ajena a este avance y la generación del ratón carente de la apolipoproteína E ha sido una de las más importantes contribuciones al avance de esta patología en los últimos quince años [61]. Fue llevada a cabo por investigadores de tres laboratorios independientes que inactivaron el gen de la apoE en células totipotenciales embrionarias y generaron el correspondiente ratón carente del gen [62-64]. Esta mutación se segregaba según el modelo mendeliano y los animales homocigotos para el gen inactivado tenían una viabilidad del 100%.

La ausencia de la apolipoproteína E impide que las partículas remanentes de los quilomicrones y las VLDL puedan eliminarse por el hígado, por lo que se acumulan en el plasma y finalmente se depo-

sitan en el espacio subendotelial de las paredes arteriales. Por ello, el ratón deficiente en apoE alimentado con la dieta normal del ratón desarrolla una extensa aterosclerosis fibroproliferativa espontánea [65], que presenta la misma secuencia de formación de la lesión establecida en otros modelos animales y en humanos. La complejidad de las lesiones y su facilidad de generación de forma espontánea en un corto periodo de tiempo en el ratón deficiente en apoE, junto con la semejanza del modelo con la enfermedad humana lo convierten en un sistema atractivo para estudiar los factores predisponentes, tanto ambientales como genéticos, de la aterosclerosis [66-67].

Entre los factores ambientales, hay que destacar la dieta como uno de los más importantes. En este campo, el empleo del ratón carente de la apolipoproteína E está aportando una importante valoración biológica de la influencia de los diferentes componentes de la dieta en el desarrollo de la arteriosclerosis y de los mecanismos implicados, tal como se ha recogido en previas revisiones de nuestro grupo [68-69].

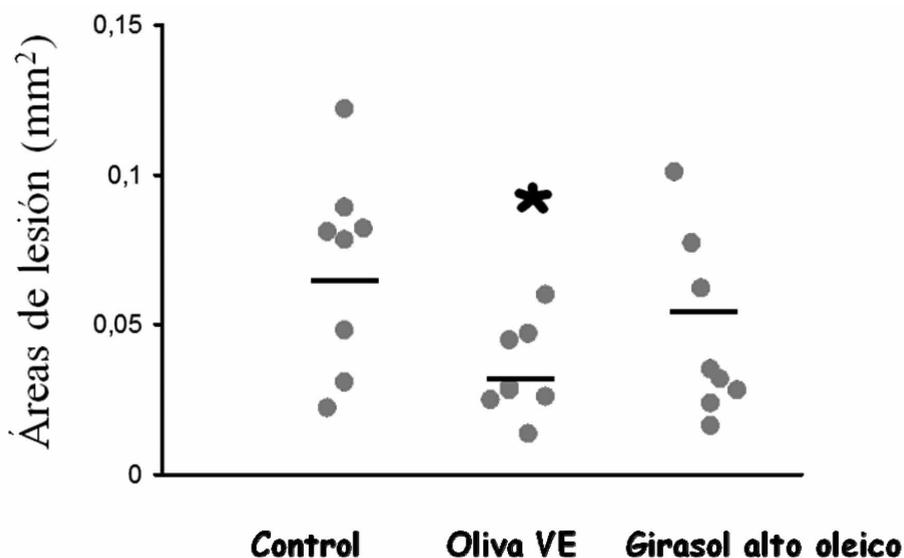
En los últimos diez años se vienen utilizando este tipo de animales en nuestro laboratorio en una investigación centrada en el aceite de oliva virgen y la aterosclerosis. Algunas de las observaciones se presentarán a continuación.

## 6. ACEITE DE OLIVA VIRGEN EXTRA EN DIETAS DE TIPO MEDITERRÁNEO

Para demostrar el efecto del aceite de oliva virgen extra sobre el desarrollo de la aterosclerosis, utilizamos los ratones carentes de la apolipoproteína E alimentados con dietas con un 10% (p/p) de dicho aceite y sin colesterol, en un intento de reproducir la clásica dieta mediterránea donde la principal fuente de grasa era ese aceite y el consumo de productos de origen animal era muy limitado tal como hemos mencionado anteriormente. Para la elección de dicho porcentaje se tuvieron en cuenta dos criterios: en primer lugar, que en una investigación en ratas que consumieron dietas con diferentes porcentajes de aceite de oliva, el aporte del 10% (p/p) de dicho aceite era la dosis mínima necesaria para obtener un aumento significativo de la concentración plasmática de la apolipoproteína A-I (principal componente proteico de las lipoproteínas de alta densidad) [70]. En segundo lugar, en la selección de dicho porcentaje intervino un enfoque metabólico de aproximación al consumo humano. Así, teniendo en cuenta que un ratón consume unos 3 g de pienso diarios y que éste posee un 10% (p/p) de aceite, nuestros ratones estarían ingiriendo 0,3 g de aceite diarios. Dado que cada animal pesa unos 30 g, la dosis consumida sería de 10 g de aceite / kg de peso del animal. Extrapolando sin ninguna transformación al peso medio de un humano (70 kg), los ratones que pesasen como un humano estarían consumiendo 700 g de aceite por día. Si se tiene en cuenta que el tono metabólico en el ratón es 10 veces más elevado [71], esa cantidad ajustada equivaldría a 70 g de aceite por día en humanos. Si lo valoramos en términos energéticos, este consumo de

70 g de aceite/ día supone una ingestión de 630 kcal (a razón de 9 kcal/g de grasa) que representan el 25% de una dieta de 2.500 kcal para una persona media, cifra inferior a la ingesta de aceite de oliva en la dieta mediterránea clásica donde el 35% (875 kcal) de las calorías totales provenía de dicho aceite [72]. Para alcanzar este nivel energético se necesitaría un aporte aproximado de 100 g /día en una dieta donde la fuente exclusiva de grasa fuese el aceite de oliva. Dado que esta condición no se cumple en la sociedad de consumo actual, la Agencia Federal de Drogas de los Estados Unidos ha sido más prudente al recomendar el consumo diario de 25 ml de aceite de oliva [17].

Estas dietas con un 10% (p/p) de aceite de oliva virgen extra o 30% de las calorías y sin colesterol se administraron a ratones carentes de la apolipoproteína E durante 12 semanas y al cabo de dicho



**Figura 11.** Áreas de las lesiones ateroscleróticas en ratones carentes de apoE alimentados con dietas control o control enriquecidas al 10% (p/p) con aceite de oliva virgen extra (VE) o girasol de alto contenido en ácido oleico.

Se muestran los valores de cada animal y la media del grupo. El análisis estadístico se llevó a cabo mediante la U de Mann-Whitney: \* p<0.05 vs control.

Adaptado de Calleja et al, *Arterioscler Thromb and Vasc Biol* 19: 2368-2375, Copyright (1999), con permiso de Lippincott Williams & Wilkins.

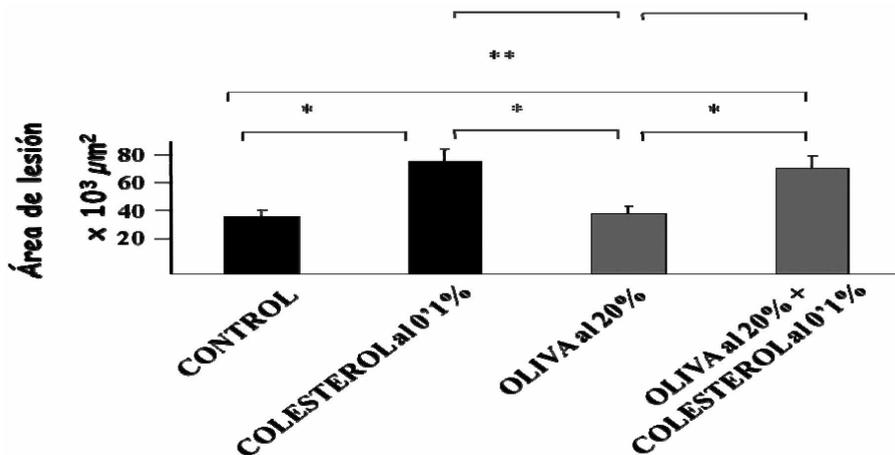
periodo, los animales se sacrificaron y se cuantificó el grado de lesión aterosclerótica presente. En dicho estudio, la administración de este porcentaje de aceite de oliva en la dieta retrasaba el desarrollo de la aterosclerosis, siendo las hembras más sensibles a dicho efecto (Figura 11), y este hecho se asociaba a un incremento de los niveles plasmáticos de la apolipoproteína A-I [73].

En este mismo estudio, se incluyó un grupo de animales alimentado con un porcentaje similar de aceite de girasol de alto contenido en ácido oleico, lo que hacía que estos animales recibiesen el mismo porcentaje de ácido oleico que los animales alimentados con el aceite de oliva virgen extra. A pesar del similar contenido de este ácido graso en las dietas, los animales que consumieron la dieta de girasol con alto contenido de oleico no presentaron el descenso en la aterosclerosis (Figura 11). Esta observación permitió concluir que los triglicéridos constituyentes del aceite de oliva virgen extra no eran los únicos responsables de su acción.



## 7. MARGEN DE MÁXIMA EFICACIA EN EL CONSUMO DE ACEITE DE OLIVA VIRGEN

Una vez comprobado el efecto beneficioso de la anterior dieta con aceite de oliva virgen extra al 10% (p/p), quisimos investigar si existía una dosis de máxima eficacia. Para ello, se llevó a cabo otro experimento administrando el aceite de oliva virgen extra en un porcentaje del 20% (p/p) en el pienso. En este nuevo estudio, a diferencia de lo que ocurría con la dosis del 10% [73], no se observó una disminución de la lesión (Figura 12). Los animales que consumieron



**Figura 12.** Áreas de las lesiones ateroscleróticas en ratones carentes de apoE alimentados con diferentes dietas. Se presenta el valor medio y la SEM para cada grupo. El análisis estadístico se llevó a cabo mediante la U de Mann-Whitney: \*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.02$ . Adaptado de Acín et al, *Atherosclerosis* 182:17-28, Copyright (2005), con permiso de Elsevier.

esta dieta con mayor contenido de aceite oliva no obtuvieron mayor beneficio que los alimentados con la dieta control enriquecida en carbohidratos [74].

Además, se observó que mientras la ingesta del 10% de grasa como aceite de oliva virgen no afectaba ni al peso corporal, ni al nivel de colesterol plasmático, y conllevaba una reducción de los triglicéridos [73], la duplicación de la cantidad de aceite de oliva aportado en la dieta llevó por el contrario a un aumento del peso corporal así como de los niveles de colesterol y triglicéridos plasmáticos [74]. Estos resultados parecen indicar que hay unos márgenes en los que el aceite de oliva ejerce mejor su protección.

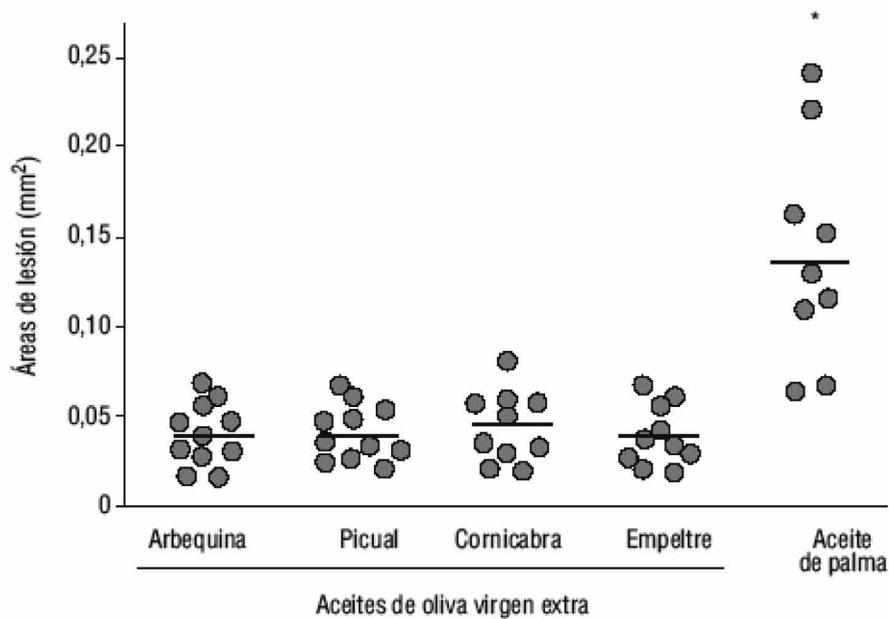
## 8. EL ACEITE DE OLIVA VIRGEN EXTRA EN DIETAS DE TIPO OCCIDENTAL

Hoy en día nuestras dietas son más abundantes en alimentos de origen animal y se estima que la ingesta diaria de colesterol es del 0,15% (p/p) de la dieta [72]. Para conocer cuál sería la consecuencia de la inclusión de colesterol en la dieta en dicho porcentaje sobre el efecto del aceite de oliva virgen extra, se llevó a cabo un experimento alimentando a los animales con aceite de oliva virgen extra al 20% en presencia o ausencia de colesterol. Los resultados indicaron que la inclusión de colesterol dietético aumentó la lesión tanto en los animales alimentados con la dieta control como en los alimentados con dieta enriquecida en aceite de oliva virgen (Figura 12). Al investigar los posibles mecanismos responsables de estos resultados, se observó que mientras que en hembras el colesterol dietético producía un descenso de la apolipoproteína A-I, en machos produjo un descenso de la actividad de la paraoxonasa sérica, parámetros en ambos casos asociados a las HDL y que contribuyen a las propiedades antiaterogénicas de las mismas. De hecho, el tamaño de la lesión aórtica en machos se encontró inversamente asociado con dicha actividad aún después del ajuste estadístico con los niveles de la apolipoproteína A-I y los de colesterol de las HDL. Estos resultados pusieron en evidencia la regulación nutricional de la paraoxonasa y su asociación con la aterosclerosis en función del sexo [74].

Para comparar la eficacia de los diferentes aceites de oliva en dietas de tipo occidental [20% (p/p) de contenido de grasa y colesterol al 0,15% (p/p)], se prepararon varias dietas con aceite de

oliva virgen extra de las variedades arbequina, cornicabra, empeltre y picual, y se compararon con un grupo de animales que recibió grasa de palma. Los animales que consumieron las dietas con aceite de oliva presentaron menor lesión aterosclerótica que los animales alimentados con la grasa proveniente de palma (Figura 13), a pesar de presentar niveles más elevados de colesterol total y triglicéridos en sangre.

En este experimento, no se pudo explicar el desarrollo de la aterosclerosis por los niveles de la apolipoproteína A-I o la actividad paraoxonasa total. En cambio, las dietas enriquecidas en aceite de oliva virgen extra indujeron un aumento de las HDL pequeñas



**Figura 13.** Comparación de las dietas tipo occidental con colesterol al 0,15% (p/p) enriquecidas al 20% (p/p) con diferentes variedades de aceite de oliva virgen extra comparadas con la de palma. Efectos sobre las áreas de las lesiones ateroscleróticas en ratones carentes de apoE. Se muestran los valores de cada animal y la media del grupo. El análisis estadístico se llevó a cabo mediante la U de Mann-Whitney: \*,  $P < 0.001$  vs. todos los grupos alimentados con aceite de oliva. Adaptado de Arbonés-Mainar et al, *Atherosclerosis* 194: 372-382, Copyright (2007), con permiso de Elsevier.

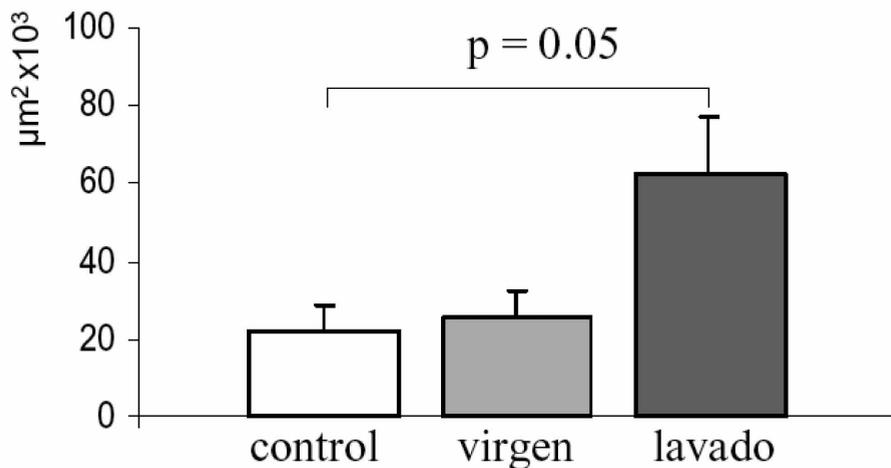
y densas con abundante apolipoproteína A-IV y cargadas de paraoxonasa. Estas partículas enriquecidas en la apolipoproteína A-IV eran muy eficaces en la inactivación de los peróxidos presentes en las LDL, considerados responsables del inicio de la aterosclerosis. En este estudio, el aumento de las partículas de HDL pequeñas y densas explicaba muy bien el desarrollo de la lesión aterosclerótica, ya que correlacionaron inversamente con el desarrollo de la misma [75].

En conclusión, en base a los resultados obtenidos podemos afirmar que el aceite de oliva virgen es más eficaz para evitar la progresión de la aterosclerosis si se consume en dietas de tipo mediterráneo con bajo contenido en colesterol, pero aun en dietas de tipo occidental su empleo resulta más favorable que la grasa saturada proveniente de palma.



## 9. ¿CUÁL ES EL COMPONENTE O COMPONENTES IMPLICADOS EN LA PROGRESIÓN DE LA ATEROSCLEROSIS?

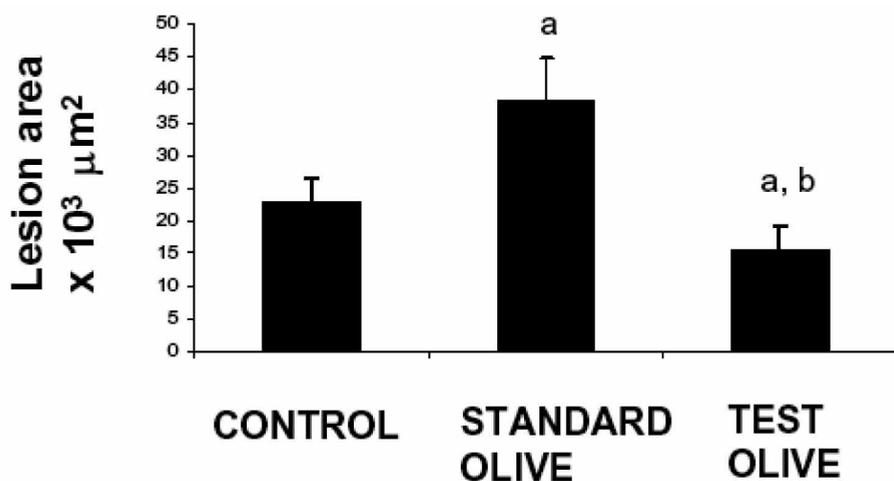
Para comprobar la implicación de los componentes minoritarios del aceite de oliva, se diseñó el siguiente experimento. Se obtuvo aceite de oliva virgen extra, y una parte del mismo se sometió a un proceso de lavado que eliminó los componentes minoritarios hidrosolubles, principalmente compuestos fenólicos. Se prepararon dietas al 10% con ambos



**Figura 14.** Áreas de las lesiones ateroscleróticas en ratones carentes de apoE alimentados con dietas control o control enriquecidas al 10% (p/p) con aceite de oliva virgen extra (VE) o oliva virgen extra lavado con agua. Se presenta el valor medio y la SEM para cada grupo. El análisis estadístico se llevó a cabo mediante la U de Mann-Whitney: \*  $p < 0.05$  vs control.

tipos de aceites, se administraron a los ratones carentes de la apolipoproteína E y se observó que la eliminación de la fracción hidrosoluble hacía que el aceite perdiese sus propiedades antiateroscleróticas (Figura 14).

Un segundo experimento, encaminado también a demostrar la importancia de los componentes minoritarios, se llevó a cabo con la preparación de aceites del mismo olivar con dos procedimientos diferentes: uno obtenido por prensado y otro por centrifugación. Ambos tipos de aceites se refinaron para eliminar el componente hidrosoluble. El procedimiento de centrifugado generó un aceite enriquecido en compuestos insolubles en agua de la fracción insaponificable tales como: fitosteroles, tocoferoles, triterpenos y ceras. Los dos tipos de aceites se administraron al 10% a los ratones modificados genéticamente. El aceite obtenido por prensado y refinado aumentó la lesión aterosclerótica, en tanto que el aceite de centrifugación, enriquecido en los componentes minoritarios e insolubles en agua y carente de compuestos hidrosolubles, indujo una disminución de la aterosclerosis [76].



**Figura 15.** Áreas de las lesiones ateroscleróticas en ratones carentes de apoE alimentados con dietas control o control enriquecidas al 10% (p/p) con aceite de oliva o oliva de centrifugación ambos refinados. Se presenta el valor medio y la SEM para cada grupo. El análisis estadístico se llevó a cabo mediante la U de Mann-Whitney: <sup>a</sup> p<0.05 vs control y <sup>b</sup> p<0.05 vs estándar oliva. Adaptado de Acín et al, J Nutr Biochem 18: 418-424, Copyright (2007), con permiso de Elsevier.

La presencia de dicha fracción insaponificable produjo un descenso de parámetros lipídicos tales como los triglicéridos plasmáticos y colesterol transportado por las lipoproteínas de baja y muy baja densidad, al igual que parámetros de estrés oxidativo como el isoprostano [76].

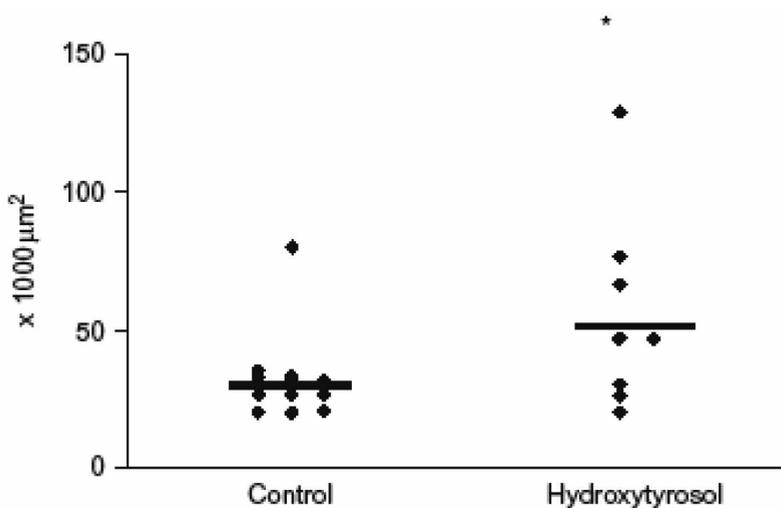
Con estos dos experimentos, se han reconciliado los resultados discrepantes obtenidos por autores sajones, quienes, usando un aceite de oliva corriente, obtenían un aumento de la lesión aterosclerótica [77-78], al igual que ocurría en ambos experimentos cuando se utilizaba el aceite de oliva lavado o refinado. Los resultados de retraso del desarrollo de la aterosclerosis con el aceite de oliva virgen fueron corroborados por otros autores españoles al administrarlo a conejos [79].

La fracción hidrosoluble es muy importante según se desprende de los resultados de nuestros experimentos, pero aún en su ausencia, el desarrollo de nuevos métodos de preparación de aceite de oliva, que lo enriquezcan en otros componentes minoritarios como vitamina E, triterpenos y esteroides, ofrece todavía un gran potencial al jugar estos compuestos un papel importante en el retraso del desarrollo de la lesión aterosclerótica [76].

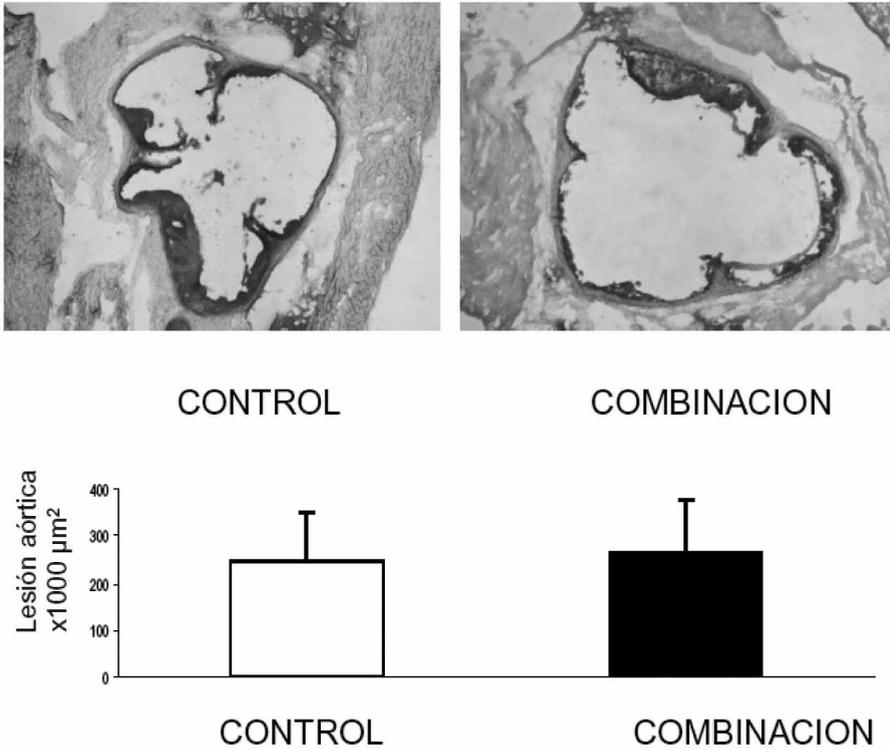


## 10. BÚSQUEDA DE COMPONENTES ACTIVOS Y SU EFECTO TRAS LA ADMINISTRACIÓN AISLADA DE DICHS COMPUESTOS

Tal como se mencionó en la composición del aceite de oliva virgen, el hidroxitirosol es el componente más abundante de la fracción soluble del aceite de oliva virgen extra y un potente antioxidante *in vitro* [80-81]. Para investigar su efecto en el desarrollo ateroscleró-

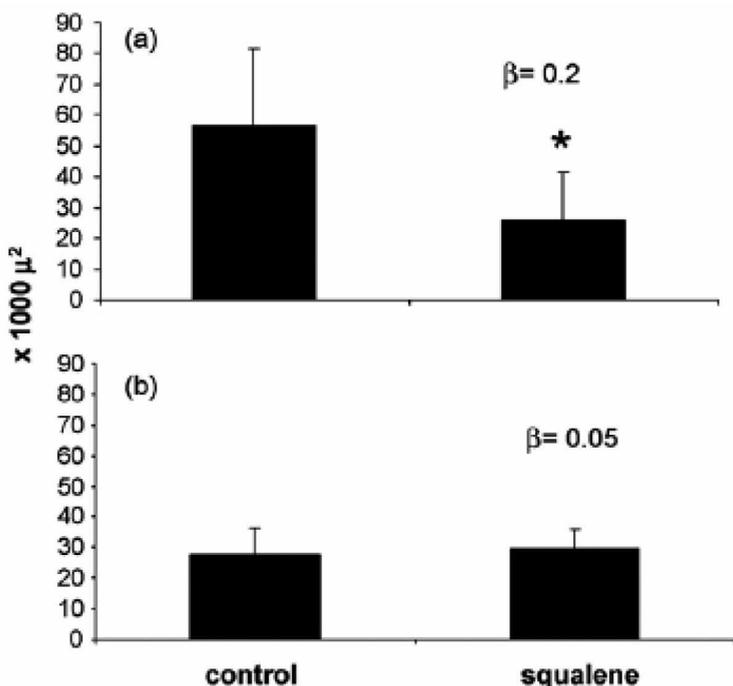


**Figura 16.** Efecto de la administración de hidroxitirosol sobre las áreas de las lesiones ateroscleróticas en ratones carentes de apoE. Se muestran los valores de cada animal y la media del grupo. El análisis estadístico se llevó a cabo mediante la U de Mann-Whitney: \*,  $P < 0.05$  vs control. Adaptado de Acín et al, J. Biochem 140: 381-383, Copyright (2006), con permiso de los autores.



**Figura 17.** Efecto de la administración conjunta de hidroxitirosol y ácido oleanólico sobre las áreas de las lesiones ateroscleróticas en ratones carentes de apoE. Se presenta el valor medio y la SEM para cada grupo. El análisis estadístico se llevó a cabo mediante la U de Mann-Whitney: \*,  $P < 0.05$  vs control. Manuscrito en preparación.

tico, se administró dicho compuesto a los animales a una dosis farmacológica de 10 mg/kg ratón/día, y se observó una disminución de la concentración de la apolipoproteína A-I y un aumento del colesterol plasmático. Los resultados indicaron que el hidroxitirosol, a esta dosis y en dietas de bajo contenido en colesterol, inducía un mayor desarrollo de la aterosclerosis (Figura 16) mediada por una activación de los monocitos circulantes, ya que éstos expresaron mayor cantidad de la proteína Mac-1 [82]. Por lo tanto, este compuesto posee importantes funciones de activación del sistema inmune. Ahora bien, si se desea emplear para controlar la ateroscle-



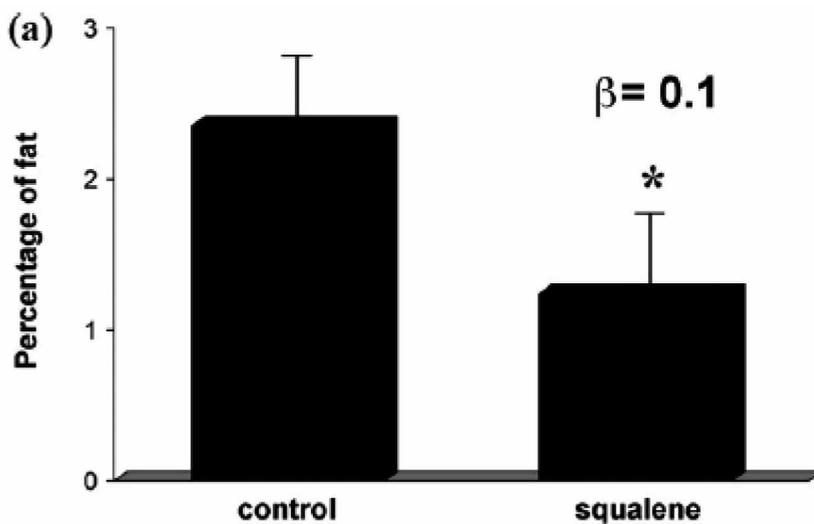
**Figura 18.** Efecto de la administración de escualeno sobre las áreas de las lesiones ateroscleróticas en ratones carentes de apoE. Se presenta el valor medio y la SEM para cada grupo. A) machos y b) hembras. El análisis estadístico se llevó a cabo mediante la U de Mann-Whitney:

\*,  $P < 0.001$  vs control. Adaptado de Guillén et al, *Atherosclerosis* 197: 72-83, Copyright (2008), con permiso de Elsevier.

rosis en alimentos funcionales, ha de incluirse en fórmulas lo más parecidas posible al entorno del aceite de oliva virgen.

De hecho cuando se efectuó una intervención con hidroxitirosol y el triterpeno, ácido oleanólico, conjuntamente, no se observó el aumento de lesión del hidroxitirosol administrado aisladamente.

También se ha estudiado el efecto de la administración de otro componente del aceite de oliva como compuesto aislado, el escualeno. Así, la administración de una dosis farmacológica de 1g/kg ratón/día de escualeno redujo en los machos el desarrollo de la aterosclerosis, en tanto que en las hembras no tuvo efecto (Figura 18).



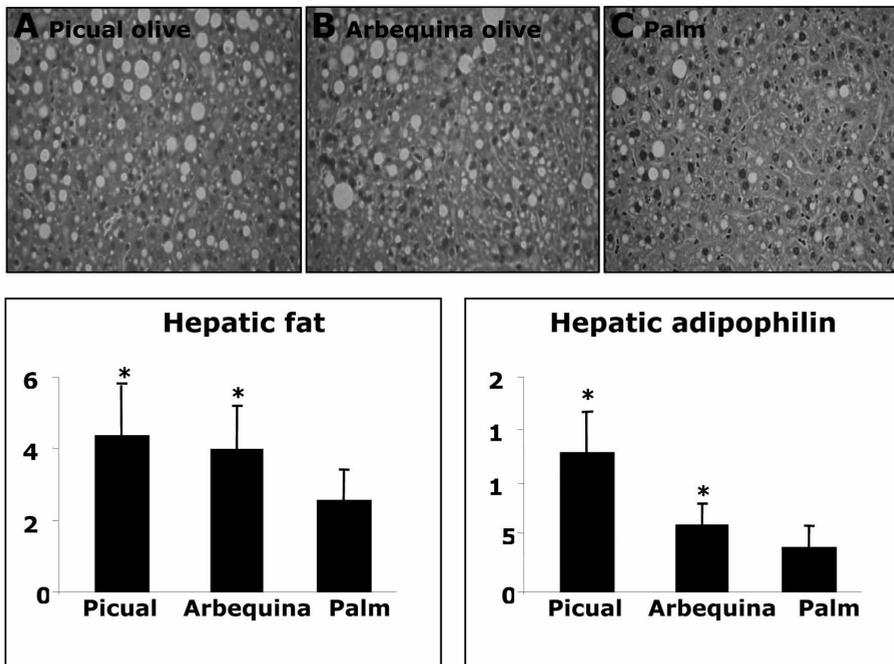
**Figura 19.** Efecto de la administración de escualeno sobre el grado de esteatosis hepática en ratones carentes de apoE. Se presenta el valor medio y la SEM para cada grupo. A) machos y b) hembras. El análisis estadístico se llevó a cabo mediante la U de Mann-Whitney: \*,  $P < 0.001$  vs control. Adaptado de Guillén et al, *Atherosclerosis* 197: 72-83, Copyright (2008), con permiso de Elsevier.

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.

De todos los parámetros estudiados para explicar este hallazgo, el distinto comportamiento entre los sexos apareció asociado al diferente efecto del escualeno sobre el contenido de grasa hepática, que disminuía en machos y no experimentó cambios en las hembras (Figura 19) [83]. Por lo tanto, habrá que tener en cuenta estas diferencias entre los sexos en relación al acúmulo de grasa hepática, sobre todo pensando en la potencial aplicación de este componente como agente antiesteatósico.

El papel de un correcto funcionamiento hepático y las repercusiones en la aterosclerosis cuando acumula grasa es un nuevo aspecto de investigación el cual nos ha sorprendido en los últimos años y es motivo de debate en la comunidad científica. Por

lo tanto reanalizamos los hígados de anteriores estudios. Cuando se administraba la dieta con aceite de oliva al 10%, los animales no presentaban esteatosis hepática [84]. Sin embargo, del estudio que les he comentado donde los animales recibieron los aceites de oliva virgen extra al 20% (p/p) y con colesterol. Estos animales presentaron mayor grado de esteatosis que la de los animales que recibieron idéntico porcentaje de grasa en la dieta proveniente de la grasa de palma y colesterol. Una vez más los experimentos sugieren un papel más favorable del consumo moderado de aceite de oliva virgen extra.



**Figura 20.** Imágenes representativas del hígado grupo alimentado con aceite de oliva de la variedad Picual (A), aceite de oliva variedad Arbequina (B), grupo de grasa de palma (C), teñidos con hematoxilina y eosina. Cuantificación morfométrica del contenido graso hepático (D) y contenido de adipofilina (E). Se presenta el valor medio y la SEM para cada grupo. El análisis estadístico se llevó a cabo mediante la U de Mann-Whitney: \*,  $P < 0.001$  vs palma. Adaptado de Arbonés-Mainar et al, J of Proteom Res 2007, 6, 4041- 4054. Copyright (2007), con permiso de American Chemical Society.

Para explicar dichos hallazgos, se efectuó un análisis proteómico y se observaron las características de las gotas grasas. Para nuestra sorpresa, las gotas grasas contenían mas adipofilina en los animales que recibieron aceite de oliva y además éstos presentaban mayor defensa antioxidante que los alimentados con palma [85]. Y tal como se ha presentado (Figura 13), los animales que consumieron los aceites de oliva virgen presentaron menor lesión aterosclerótica que los animales que los alimentados con la dieta enriquecida con grasa de palma [85]. Estos experimentos nos indican que las esteatosis no son todas iguales y que la producida por el consumo de aceite de oliva virgen extra no tendría consecuencias en el desarrollo de la aterosclerosis.

## 11. CONCLUSIÓN

A la luz de las evidencias recopiladas, es 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 entre los que se encuentran hidrocarburos, terpenos, compuestos fenólicos, fitosteroles etc que poseen efectos relevantes.

El aceite de oliva virgen extra es eficaz en el control de la lesión aterosclerótica, principalmente en el marco de una dieta tipo mediterránea (pobre en colesterol), aunque en dietas de tipo occidental mantiene su efecto beneficioso comparado con la grasa saturada de palma. Sin embargo existe una dosis límite a partir de la cual desaparece este beneficio.

Para obtener las anteriores conclusiones ha sido imprescindible contar con un modelo animal que reproduce los procesos que tienen lugar en el desarrollo de la aterosclerosis humana, como es el ratón carente de la apolipoproteína E. Su empleo ha permitido valorar los distintos aceites de oliva enriquecidos en diferentes componentes o de dichos componentes de forma aislada y la contribución de dichas moléculas en el efecto beneficioso de este alimento para su potencial empleo como nutracéuticos.

La actual investigación en biotecnología vegetal y en tecnología de alimentos representa una excelente oportunidad para generar nuevos aceites. Cuanto más eficaces y seguros sean dichos enfoques, tanto mayor será su potencial aplicación. Además mediante el em-

pleo de modelos animales de patología humana se pueden ensayar su efecto y mecanismo de acción en el desarrollo de la aterosclerosis. Con esta validación biológica se podrán emplear con mayor garantía para realizar prevención cardiovascular.

Aunque el camino recorrido y el trabajo efectuado permiten contemplar los logros con cierta satisfacción. No es menos cierto que aún desconocemos la fórmula secreta que encierra este aceite de oliva virgen para ejercer su efecto antiaterosclerótico. Supone, por tanto, un fascinante reto intelectual el desentrañarla; como no podría ser de otra forma, ya que el olivo era un árbol de origen divino para los egipcios y los griegos. Para estos, sería su diosa de la sabiduría, Palas Atenea, la que al clavar su lanza haría brotar este árbol de la tierra. Si el zumo de su fruto está igualmente inspirado por dicha deidad, va a resultar un arduo trabajo tanto como lo serían los de Heracles o Hércules, su protegido. Finalmente, el tuvo la dicha de entrar en el Olimpo. ¿Conseguiremos tal gloria científica? He dicho.

## 12. BIBLIOGRAFÍA

1. Surra JC, Arnal C, Martínez MV, Osada J. Efecto de la composición de la grasa de la dieta en la aterogénesis. *Revista Española de Obesidad* 2005;3:328-339.
2. Rubio MA. Ácidos grasos, esteroides y enfermedad cardiovascular. *Endocrinol Nutr* 2002;49(Supl 2):35-46.
3. Keys A. Coronary heart disease in Seven Countries. *Circulation* 1974;41(Suppl 1):1-211.
4. Menotti A, Lanti M, Puddu PE, Kromjout 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.
5. Wahrburg U, Kratz M, Cullen P. Mediterranean diet, olive oil and health. *Eur J Lipid Sci Technol* 2002;104:698-705.
6. de Lorgeril M, Renaud S, Mamelle N, Salen P, Martin JL, Monjaud I, et al. Mediterranean alpha-linolenic acid-rich diet in secondary prevention of coronary heart disease. *Lancet* 1994;343:1454-9.
7. de Lorgeril M, Salen P, Martin JL, Monjaud I, Delaye J, Mamelle N. Mediterranean diet, traditional risk factors, and the rate of cardiovascular complications after myocardial infarction: final report of the Lyon Diet Heart Study. *Circulation* 1999;99:779-85.
8. Singh RB, Dubnov G, Niaz MA, Ghosh S, Singh R, Rastogi SS, et al. Effect of an Indo-Mediterranean diet on progression of coronary artery disease in high risk patients (Indo-Mediterranean Diet Heart Study): a randomised single-blind trial. *Lancet* 2002;360:1455-61.

9. Trichopoulou A, Costacou T, Bamia C, Trichopoulos D. Adherence to a Mediterranean diet and survival in a Greek population. *N Engl J Med* 2003;348:2599-608.
10. Estruch R, Martinez-Gonzalez MA, Corella D, Salas-Salvado J, Ruiz-Gutierrez V, Covas MI, et al. Effects of a Mediterranean-style diet on cardiovascular risk factors: a randomized trial. *Ann Intern Med* 2006;145:1-11.
11. Perona JS, Covas MI, Fito M, Cabello-Moruno R, Aros F, Corella D, et al. Reduction in systemic and VLDL triacylglycerol concentration after a 3-month Mediterranean-style diet in high-cardiovascular-risk subjects. *J Nutr Biochem* 2009. 10.1016/j.jnutbio.2009.07.005
12. Fito M, Guxens M, Corella D, Saez G, Estruch R, de la Torre R, et al. Effect of a traditional Mediterranean diet on lipoprotein oxidation: a randomized controlled trial. *Arch Intern Med* 2007;167:1195-203.
13. Estruch R. Anti-inflammatory effects of the Mediterranean diet: the experience of the PREDIMED study. *Proc Nutr Soc* 2010;69:333-40.
14. Buil-Cosiales P, Irimia P, Berrade N, Garcia-Arellano A, Riverol M, Murie-Fernandez M, et al. Carotid intima-media thickness is inversely associated with olive oil consumption. *Atherosclerosis* 2008;196:742-8.
15. Pérez-Martínez PL-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.
16. Covas MI. Olive oil and the cardiovascular system. *Pharmacol Res* 2007;55:175-86.
17. US, Food, and, Drug, Administration. FDA Allows Qualified Health Claim to Decrease Risk of Coronary Heart Disease. In: <http://www.fda.gov/bbs/topics/news/2004/NEW01129.html>; 2004.
18. Serra-Majem L, de la Cruz JN, Ribas L, Salleras L. Mediterranean diet and health: is all the secret in olive oil? *Pathophysiol Haemost Thromb* 2003;33:461-5.
19. Serra-Majem L, Ngo de la Cruz J, Ribas L, Tur JA. Olive oil and the Mediterranean diet: beyond the rhetoric. *Eur J Clin Nutr* 2003;57 Suppl 1:S2-7.
20. Alarcon de la Lastra C, Barranco MD, Motilva V, Herrerias JM. Mediterranean diet and health: biological importance of olive oil. *Curr Pharm Des* 2001;7:933-50.

21. Van Diepen S, Scholten AM, Korobili C, Kyrli D, Tsigga M, Van Dieijen T, et al. Greater Mediterranean diet adherence is observed in Dutch compared with Greek university students. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2010. 10.1016/j.numecd.2009.11.006
22. Galli C, Visioli F. Antioxidant properties of Mediterranean diet. *Int J Vitam Nutr Res* 2001;71:185-8.
23. da Silva R, Bach-Faig A, Raido Quintana B, Buckland G, Vaz de Almeida MD, Serra-Majem L. Worldwide variation of adherence to the Mediterranean diet, in 1961-1965 and 2000-2003. *Public Health Nutr* 2009;12:1676-84.
24. Vareiro D, Bach-Faig A, Raido Quintana B, Bertomeu I, Buckland G, Vaz de Almeida MD, et al. Availability of Mediterranean and non-Mediterranean foods during the last four decades: comparison of several geographical areas. *Public Health Nutr* 2009;12:1667-75.
25. Gifford KD. Dietary fats, eating guides, and public policy: history, critique, and recommendations. *Am J Med* 2002;113 Suppl 9B:89S-106S.
26. Willett WC, Sacks F, Trichopoulou A, Drescher G, Ferro-Luzzi A, Hel-sing E, et al. Mediterranean diet pyramid: a cultural model for healthy eating. *Am J Clin Nutr* 1995;61:1402S-1406S.
27. Alba J, Martínez L. Elaboración de Aceites de Oliva. In: Mataix J, editor. *Aceite de Oliva Virgen: nuestro patrimonio alimentario*: Universidad de Granada, Puleva Food; 2001. p. 43-61.
28. Espínola F. Cambios tecnológicos en la extracción del aceite oliva vir-gen. *Alimentación, equipos y tecnología* 1996.
29. (IOOC) IOOC. Trade standard applying to olive oils and olive-pomace oils. <http://www.internationaloliveoil.org>. 2006.
30. Hendrix B. *Edible Fats and Oils Processing: Basic Principles and Modern Practises*. Illinois: Ed. D.R. Erickson., Am.Oil Chem. Soc. Cham-aign; 1990.
31. Harwood J, Aparicio R. *Handbook of olive oil, Analysis and Properties*: Kluwer Academic Publishers J.L. Harwood, R. Aparicio; 2000.
32. Montedoro GF, Taticchi A, Esposto S, Selvaggini R, Urbani S, Servilli M. Antioxidants in virgin olive oil. *Olea* 2007;26:5-13.
33. Boskou D. *Olive oil, Chemistry and Technology*. AOLS Press: Cham-paign ed; 1998.

34. Boskou D. Olive oil. *World Rev Nutr Diet* 2000;87:56-77.
35. Civantos L, Contreras R, Grana R. Obtención del Aceite de Oliva Virgen. Agrícola Española, S.A. ed. Madrid: Editorial Agrícola Española, 2ª Edición; 1999.
36. Fedeli E. *Progress on Chemistry of Fats and Other Lipids*. Paris: E. Ralph&T.Holman, Ed., Pergamon Press; 1977.
37. Dieffenbacher A, Pocklington WD. 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.
38. Jiménez J, Rondón D, Martínez L, Mataix J. Composición Química de los Aceites de Oliva. In: Mataix J, editor. *Aceite de Oliva Virgen: nuestro patrimonio alimentario*: Universidad de Granada, Puleva Food; 2001. p. 115-136.
39. Lanzón AA, 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.
40. Owen RW, Mier W, Giacosa A, Hull WE, Spiegelhalder B, Bartsch H. Phenolic compounds and squalene in olive oils: the concentration and antioxidant potential of total phenols, simple phenols, secoiridoids, lignans and squalene. *Food Chem Toxicol* 2000;38:647-59.
41. Tiscornia E, Fiorina N, Evangelistas F. Chemical Composition of Olive Oil and Variations Induced by Refining. *Riv Ital Sost Grasse* 1982;59:519.
42. Boskou D. *Olive oil, Chemistry and Technology*. Champaign, AOCS Press 1996.
43. Su Q, Rowley KG, Itsiopoulos C, 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;56:1149-54.
44. Handelman GJ. Carotenoids as scavengers of active oxygen species. In: Gadenas E PL, editor. *Handbook of Antioxidants*. New York: Gadenas E, Packer L, editors; 1996. p. 259-314.
45. Gutfinger J, Letan L. Studies of unsaponifiables in several vegetable oils. *Lipids magazine* 1974;9:658.
46. Perrin JL. Les Composés Mineurs et les Antioxygènes naturels de l'Olive et de son Huile. *Rev Franc Corps Gras* 1992;39:25-32.

47. Fedeli E, Conesi N. Origin and Technology of Virgin Olive Oils. *Riv Ital Sost Grasse* 1993;70: 419.
48. Hernandez N, Boatella J. Variations of the Tocopherols and Tocotrienols Content in the Obtention, Refining and Hydrogenation Processes of Edible Oils. *Grasas Aceites* 1987;36:145.
49. Perez-Camino MC, Cert A. Quantitative determination of hydroxy pentacyclic triterpene acids in vegetable oils. *J Agric Food Chem* 1999;47:1558-62.
50. Cert A, Moreda W, 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.
51. Rodríguez-Rodríguez R, Perona JS, Herrera MD, Ruiz-Gutiérrez V. Triterpenic compounds from "orujo" olive oil elicit vasorelaxation in aorta from spontaneously hypertensive rats. *J Agric Food Chem* 2006;54:2096-102.
52. Boskou D, Stephanou G, Konstantinidis M. Tetracosanol and Hexacosanol Content of Greek Olive Oils. *Grasas Aceites* 1983;34:402-404.
53. Calapaj R, Chiricosta S, Saija G, 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 GF, Servili M, Baldioli M, 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, Visioli F. Antioxidant and other activities of phenolics in olives/olive oil, typical components of the Mediterranean diet. *Lipids* 1999;34 Suppl:S23-6.
56. Brenes M, Garcia A, Garcia P, Rios JJ, Garrido A. Phenolic compounds in Spanish olive oils. *J Agric Food Chem* 1999;47:3535-40.
57. Arbonés-Mainar JM, Navarro MA, Lou-Bonafonte JM, Martínez-Gracia MV, Osada J. Olive oil phenolic compounds as potential therapeutical agents. *La Veletta: Nova*; 2008.
58. Angerosa F, Servili M, Selvaggini R, Taticchi A, Esposto S, Montedoro G. Volatile compounds in virgin olive oil: occurrence and their relationship with the quality. *J Chromatogr A* 2004;1054:17-31.

59. Venkateshwarlu G, Let MB, Meyer AS, 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;52:1635-41.
60. Manis JP. Knock Out, Knock In, Knock Down – Genetically Manipulated Mice and the Nobel Prize. *N Engl J Med* 2007;357:2426-2429.
61. Meir KS, Leitersdorf E. Atherosclerosis in the apolipoprotein E-deficient mouse: a decade of progress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:1006-14.
62. Plump AS, Smith JD, Hayek T, Aalto-Setälä K, Walsh A, Verstuyft JG, et al. Severe hypercholesterolemia and atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice created by homologous recombination in ES cells. *Cell* 1992;71:343-353.
63. van Ree JH, van den Broek WJ, Dahlmans VE, Groot PH, Vidgeon-Hart M, Frants RR, et al. Diet-induced hypercholesterolemia and atherosclerosis in heterozygous apolipoprotein E-deficient mice. *Atherosclerosis* 1994;111:25-37.
64. Zhang SH, Reddick RL, Piedrahita JA, Maeda N. Spontaneous hypercholesterolemia and arterial lesions in mice lacking apolipoprotein E. *Science* 1992;258:468-471.
65. Reddick RL, Zhang SH, Maeda N. Atherosclerosis in mice lacking apo E. Evaluation of lesional development and progression. *Arterioscler Thromb* 1994;14:141-147.
66. Palinski W, Ord VA, Plump AS, Breslow JL, Steinberg D, Witztum JL. ApoE-deficient mice are a model of lipoprotein oxidation in atherogenesis. Demonstration of oxidation-specific epitopes in lesions and high titers of autoantibodies to malondialdehyde-lysine in serum. *Arterioscler Thromb* 1994;14:605-16.
67. Rosenfeld ME, Polinsky P, Virmani R, Kauser K, Rubanyi G, Schwartz SM. Advanced atherosclerotic lesions in the innominate artery of the ApoE knockout mouse. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:2587-92.
68. Osada J, Joven J, Maeda N. The value of the apoE-knockout mouse for studying the effects of dietary fat and cholesterol on atherogenesis. *Curr Opin Lipidol* 2000;11:25-29.
69. Sarria AJ, Surra JC, Acin S, Carnicer R, Navarro MA, Arbones-Mainar JM, et al. Understanding the role of dietary components on atherosclerosis using genetic engineered mouse models. *Front Biosci* 2006;11:955-67.

70. Calleja L, Trallero MC, Carrizosa C, Mendez MT, Palacios-Alaiz E, Osada J. Effects of dietary fat amount and saturation on the regulation of hepatic mRNA and plasma apolipoprotein A-I in rats. *Atherosclerosis* 2000;152:69-78.
71. Demetrius L. Of mice and men. When it comes to studying ageing and the means to slow it down, mice are not just small humans. *EMBO reports* 2005;6:S39-S44.
72. Willett WC. Diet and health: what should we eat? *Science* 1994;264:532-537.
73. Calleja L, Paris MA, Paul A, Vilella E, Joven J, Jimenez A, et al. Low-cholesterol and high-fat diets reduce atherosclerotic lesion development in ApoE-knockout mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:2368-75.
74. Acin S, Navarro MA, Carnicer R, Arbones-Mainar JM, Guzman MA, Arnal C, et al. Dietary cholesterol suppresses the ability of olive oil to delay the development of atherosclerotic lesions in apolipoprotein E knockout mice. *Atherosclerosis* 2005;182:17-28.
75. Arbones-Mainar JM, Navarro MA, Carnicer R, Guillen N, Surra JC, Acin S, et al. Accelerated atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice fed Western diets containing palm oil compared with extra virgin olive oils: a role for small, dense high-density lipoproteins. *Atherosclerosis* 2007;194:372-82.
76. Acin S, Navarro MA, Perona JS, Arbones-Mainar JM, Surra JC, Guzman MA, et al. Olive oil preparation determines the atherosclerotic protection in apolipoprotein E knockout mice. *J Nutr Biochem* 2007;18:418-24.
77. Merkel M, Velez-Carrasco W, Hudgins LC, Breslow JL. Compared with saturated fatty acids, dietary monounsaturated fatty acids and carbohydrates increase atherosclerosis and VLDL cholesterol levels in LDL receptor-deficient, but not apolipoprotein E-deficient, mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98:13294-9.
78. Rudel LL, Kelley K, Sawyer JK, Shah R, Wilson MD. Dietary monounsaturated fatty acids promote aortic atherosclerosis in LDL receptor-null, human ApoB100-overexpressing transgenic mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:1818-27.

79. Aguilera CM, Ramirez-Tortosa MC, Mesa MD, Ramirez-Tortosa CL, Gil A. Sunflower, virgin-olive and fish oils differentially affect the progression of aortic lesions in rabbits with experimental atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2002;162:335-44.
80. Visioli F, Bellomo G, Galli C. Free radical-scavenging properties of olive oil polyphenols. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;247:60-4.
81. Visioli F, Galli C, Plasmati E, Viappiani S, Hernandez A, Colombo C, et al. Olive phenol hydroxytyrosol prevents passive smoking-induced oxidative stress. *Circulation* 2000;102:2169-71.
82. Acin S, Navarro MA, Arbones-Mainar JM, Guillen N, Sarria AJ, Carnicer R, et al. Hydroxytyrosol administration enhances atherosclerotic lesion development in apo E deficient mice. *J Biochem* 2006;140:383-91.
83. Guillen N, Acin S, Navarro MA, Perona JS, Arbones-Mainar JM, Arnal C, et al. 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.
84. Acin S, Navarro MA, Perona JS, Surra JC, Guillen N, Arnal C, et al. Microarray analysis of hepatic genes differentially expressed in the presence of the unsaponifiable fraction of olive oil in apolipoprotein E-deficient mice. *Br J Nutr* 2007;97:628-38.
85. Arbones-Mainar JM, Ross K, Rucklidge GJ, Reid M, Duncan G, Arthur JR, et al. Extra virgin olive oils increase hepatic fat accumulation and hepatic antioxidant protein levels in APOE<sup>-/-</sup> mice. *J Proteome Res* 2007;6:4041-54.

*Discurso de Contestación*

Excmo. Sr. Dr. D. Manuel José López Pérez



Unas palabras de bienvenida, de felicitación y de agradecimiento al Prof. Osada. En primer lugar, darle a Vd. la bienvenida como miembro de esta Academia de Farmacia “Reino de Aragón” con el número 7. Con Vd. podemos considerar acabada la primera fase de constitución de esta Academia, que sin prisas pero con perseverancia va agrupando en ella a lo más cualificado del conocimiento de las ciencias farmacéuticas en Aragón. Este número 7 ocupa una posición importante en nuestra Institución; con él se cierra las plazas de dirección de la Academia, elemento fundamental para ir poco a poco completando el elenco de sus académicos de número. Es Vd. muy bienvenido a la misma.

Mi más sincera felicitación por esta lección de entrada. He tenido la satisfacción de conocerle a Vd. como doctorando en la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense. El Prof. Osada siempre ha tenido, desde sus comienzos investigadores, este perfil de hombre competente, trabajador, discreto y amigo. Sólido en sus afirmaciones, buen comunicador, en definitiva lo mejor y más relevante de las virtudes del carácter castellano-mancheño que representa. Se incorporó a la tarea de seguir construyendo con ilusión la Bioquímica y la Biología Molecular de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza, tarea iniciada con visión de futuro por el Prof. Pérez Martos y continuada a lo largo de los años. La llegada del Prof. Osada, de Jesús, era una promesa de calidad en este futuro. Y así sucedió gracias a su visión, a su acierto y a su tenacidad. Hoy es referencia nacional e internacional en el tema de Nutrición Molecular con más idiosincrasia en nuestro país; el efecto del consumo de aceite en la enfermedad cardiovascular. Con qué claridad y con qué solidez está definiendo el Prof. Osada el futuro, con todos sus matices productivos, mole-

culares o de prevención de la salud que ha expuesto en su discurso. Enhorabuena, mi más sincera enhorabuena, por su discurso y por su trayectoria científica.

Y finalmente mi más sincero agradecimiento por haber aceptado estar entre nosotros, por continuar su trabajo en la Universidad de Zaragoza con su perseverancia y buen hacer, por lo discreto y respetado de su convivencia y su trabajo.

Quisiera finalizar, permítamelo, con una información menos cómoda para Vd; ésta es que conociéndole esperamos contar con su colaboración en el mucho futuro de trabajo que poco a poco irá creciendo en esta Academia. Pero Vd. ya sabe que en todos los lugares en que se le recibe, algo o mucho de nuevo tiene que hacer de más.

Profesor Osada, Jesús, amigo, felicidades y muchas gracias.







