

UNIVERSITAT DE BARCELONA

FACULTAT DE FARMÀCIA

DEPARTAMENT DE NUTRICIÓ I BROMATOLOGÍA

**Efecto del consumo del aceite
de oliva sobre la composición
de las lipoproteínas de baja
densidad en individuos de
diferentes países europeos.**

Karina de la Torre Carbot, 2007

UNIVERSITAT DE BARCELONA
FACULTAT DE FARMÀCIA
DEPARTAMENT DE NUTRICIÓ I BROMATOLOGÍA

PROGRAMA DE DOCTORADO:
“Medicamentos, Alimentación y Salud”
2001-2003

**Efecto del consumo del aceite de oliva sobre la
composición de las lipoproteínas de baja densidad
en individuos de diferentes países europeos.**

**Memoria presentada por Karina de la Torre Carbot para optar al
grado de Doctor por la Universitat de Barcelona**

Directoras de Tesis:

Dra. M. Carmen López Sabater

Dra. Rosa M. Lamuela Raventós

Doctoranda:

Karina de la Torre Carbot

Karina de la Torre Carbot, 2007



AGRADECIMIENTOS

A quienes, en México, brindaron apoyo a mi sueño: continuar mi preparación en el extranjero: en especial al Dr. Felipe Vadillo, al Dr. Hector Bourges, a la Lic. Ana Bertha Pérez y a la Dra. Ivone Castro, que amablemente firmaron cartas de recomendación a mi partida.

Al personal del departamento de relaciones internacionales de la Universidad de Barcelona que realizó eficientemente el primer contacto con el Departamento de Nutrición y Bromatología y siempre nosⁱ apoyó con los trámites de extranjería que nos solicitaban cada año.

Al Dr. Joan M. Llobet, como responsable y a la Dra. Magdalena Rafecas, como coordinadora del programa de doctorado en ese momento, que firmaron la carta de aceptación que con tanta ilusión recibimos en México.

A la Dra. Carmen López por acogernos cálidamente en su equipo de investigación.

A Jorge, que permitió sin dudar ni siquiera un momento, que fuera yo la que me incorporase en el "proyecto del aceite de oliva", del cual teníamos los dos un profundo interés, pero sabíamos que sólo uno podría tomarlo.

Al personal de las oficinas del "Servei de Gestió Académica, Secció de Beques de 3r Cicle", por mostrar siempre una amable disposición para ayudar a los estudiantes.

A la Dra. Rosa M. Lamuela, de nuevo a la Dra. Carmen López, y en especial a la Dra. Ana I. Castellote, por su valiosa y paciente asesoría. También a la Dra. Eva Gimeno, por su constante, casi permanente, asesoría y ayuda durante la primera temporada de mi estancia en el laboratorio de "Grasas II".

Al Dr. Isidro Casals, a la Dra. Marta Poch, en especial a la Dra. Olga Jaúregui y en general a todo el personal del Servicio Científico-Técnico de la Universitat de Barcelona por su apoyo y ayuda durante mi trabajo con el espectrómetro de masas.

A la Dra. Maribel Covas, a la Dra. Montserrat Fitó, al Dr. Rafael de la Torre, a Daniel Muñoz, Yolanda Ferrer y a todo el activo personal del IMIM por su apoyo, su trabajo, su entusiasmo y carisma profesional.

A Valerie Schini por permitirme ser parte de su grupo de investigación durante mis tres meses de estancia en Estrasburgo, Francia. Gracias a Nelly Etienne, Christa Schott y Allison Walter por su apoyo profesional durante mi estancia.

A la Dra. Susana Morera por su valiosa ayuda en la realización de algunas de las tareas para la realización de este trabajo. También a todos los chicos de trabajo práctico o de Master que hacen posible el cumplimiento de muchas labores del equipo de investigación, en especial los que tuvieron que ver en algún momento con las tareas relacionadas a esta tesis: Rosita, Marta, Ikram y Ana Patric. Gracias en especial a Rosita que donó sangre para uno de mis estudios (entre

otras personas que también donaron sangre, muchas gracias). En especial también quiero dar las gracias a Jorge, por su colaboración y ayuda profesional durante estos cinco y medio años.

De nuevo gracias a la Dra Carmen López, que me dio la oportunidad de participar en los interesantes y agradables *meetings* del Proyecto Euroolive que se llevaron a cabo en Bolonia y Copenhague.

A todos los compañeros del departamento, que han coincidido en algún momento conmigo en el reto de realizar el doctorado, en especial aquellos con los que, en algún momento he coincidido en Grasas II: Tony, Eva, Aleix, Xell, Isa, Marta, Carol, Olga y Mar (Aprovecho la ocasión para desearles todo lo mejor a las *chicas nuevas* Carol, Olga y Mar).

A todos aquellos que durante la realización de mi doctorado, me asesoraron y/o ayudaron sin que fuera su trabajo designado o que aparecieron en algún momento como *angelitos*, en especial a Susana Morera, José Navas y Cristina Andrés.

A Montse Aymami y a Fernando Gómez que, a parte de cubrir su trabajo, siempre me han ayudado en todo lo que han podido.

Muchas gracias a todos los que han hecho posible el comienzo, la continuación y la finalización de este trabajo.

Gracias a Ale Gutiérrez que amablemente nos recibió en su casa a nuestra llegada a Barcelona, por su valiosa ayuda en la búsqueda de un acogedor lugar para habitar y por todos sus consejos durante nuestro primer contacto con la ciudad.

Al personal de PARBA por seleccionarnos entre decenas de estudiantes que deseaban alquilar el piso donde hemos habitado durante la realización del doctorado.

Gracias a Eva Gimeno y a Ferrán García, por su amistad, por los "paseos aceiteros" y por compartir mi cariño por el aceite de oliva. Gracias a Aleix también porque además de ser un grandioso colega se ha convertido en un gran amigo. Gracias a la Xell y al Bernat por compartir cosas lindas fuera del ambiente de laboratorio. De nuevo gracias a Olga Carol y Mar que a pesar de su reciente llegada he tenido la oportunidad de compartir con ellas algunos momentos fuera del laboratorio. Gracias también a Tomaso y Marta por las amenas cenas compartidas.

A Amaya, Anna, Marcelo, Tony, Lluís, Nuria, David, Oriol, Bego, Jorge y todos nuestros compañeros de natación por los agradables momentos en el agua.

A Xavi, Amaya, Sebas, Rosa, Carmelo, María, Eva, Marcelo, Katy, Belén, Ignazi, Lluís, Charlotte y Jorge, por los bellos momentos en la montaña.

A Gina, Gerardo, Diana, Andrés, Angel, Alín, Pili y Jorge, por las agradables reuniones de los fines de semana, las risas y las fiestas mexicanas en Barcelona.

A Vanesca Frota y a Bernard Reiffsteck por estar a mi pendiente y decirme con su amistad, que no tenía porqué sentirme sola durante mi estancia en Estrasburgo.

A la Señora Elisa, por su entusiasmo y sus consejos personales durante algunos de mis descansos en el laboratorio.

A María, Carlos y Jose Luis Saporano por su cariño incondicional. A Carmen Rubio por estar siempre al pendiente de nuestra casita.

A mi mami y a Paty por todo su apoyo y a Jorge por compartir su vida con migo y por ayudarme a crecer cada día como persona.

A todos aquellos que han hecho posible que nuestra estancia en Barcelona sea magnífica, y que regresemos a México con bellísimos recuerdos sin precio.

A España y a la gran variedad de tesoros que guarda, entre ellos, la gastronomía, la naturaleza, sus bellas ciudades como Barcelona y en especial, el aceite de oliva.

ⁱ Hablo en el texto en plural en varias ocasiones, porque Jorge y yo hemos llegado juntos a España para realizar el doctorado juntos, por lo que a veces me cuesta trabajo referirme en primera persona.

Este trabajo ha sido financiado por:

-Proyecto de la Unión Europea V Programa Marco titulado “The effect of olive oil consumption on oxidative damage in European populations EUROLIVE” (QLKT-CT-2001-00287)

-Proyecto del Ministerio de Ciencia y Tecnología titulado “Mecanismos moleculares involucrados en el papel protector del aceite de oliva frente al desarrollo de procesos ateroscleróticos” (SAF 2004-08173-C03-03)

-Proyecto del Ministerio de Sanidad y Consumo (CIBER: CB06/02/0079)

-Beca: “BECA DE FORMACIÓ EN LA RECERCA I LA DOCÈNCIA PER ALUMNES DE TERCER CICLE” otorgada por “LA UNIVERSITAT DE BARCELONA”, en la resolución en octubre de 2002, a partir de 2003 y renovada los años 2004 ,2005 y 2006”

Abreviaciones

ADN: ácido desoxirribonucleico.

AGMI: ácidos grasos mono-insaturados.

AGPI: ácidos grasos poli-insaturados.

AGS: ácidos grasos saturados

Apo B: apoproteína B

ARN: ácido ribonucleico

CAT: catalasa

CEE: Comunidad Económica Europea

COI: Consejo Oleícola Internacional

COX2: ciclooxigenasa

DAD: detector de fotodiodos (Diode Array Detector)

EDHF: factor de hiperpolarización derivado del endotelio (endothelium-derived hyperpolarizing factor)

ESI: ionización por electrospray (electrospray ionization)

GPx: glutatión peroxidasa

GRed: glutatión reductasa

GSH: glutatión reducido

GSH-S-T: glutatión transferasa

GSSG: glutatión oxidado

HDL: lipoproteínas de alta densidad (high density lipoproteins)

HPLC: cromatografía líquida de alta eficacia (high performance liquid chromatography).

HPLC-ESI-MS/MS: cromatografía líquida de alta eficacia en combinación con espectrometría de masas doble con ionización por electro-spray (high-performance liquid chromatography in tandem with electrospray mass spectrometry)

ICAM-1: molécula 1 de adhesión intercelular (intracellular adhesión molecule 1)

LDL : lipoproteína de baja densidad (low density lipoprotein)

Lp(a): lipoproteína A

LTB₄: leucotrieno B₄

MDA: malondialdehído

MCP-1: proteína quimio-atrayente para monocitos (monocyte chemoattractant protein-1)

MS: espectrometría de masas (mass spectrometry).

NADPH: nicotidamina-adenina dinucleótido fosfato

NF- κ B: factor nuclear kappa β (nuclear factor kappa β)

ON: óxido nítrico.

ONs: óxido nítrico Sintasa

PGE2: prostaglandina E2

PON: paraxonasa

ROOH: hidroperóxido

SOD: superóxido dismutasa

SPE: extracción en fase sólida (solid phase extraction)

TBA: ácido tiobarbitúrico

TBARS: sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (thiobarbituric acid-reacting substance)

TXB₂: tromboxano B₂

TNF- α : factor de necrosis tumoral (tumor necrosis factor-alpha)

UDP: uridín difosfato

VCAM-1: molécula 1 de adhesión vascular (adhesión molecule 1)

γ GCS: γ -glutamilcistein sintetasa



ÍNDICE

I. INTERÉS Y OBJETIVOS	1
II. INTRODUCCIÓN.....	7
1. Aceite de oliva.....	9
1.1. Generalidades	9
1.1.1. Historia.....	9
1.1.2. Cultivo.....	9
1.1.3. Proceso de obtención.....	10
1.1.4. Calidad y tipos de aceites de oliva.....	12
1.2. Composición del aceite de oliva.....	15
1.2.1. Compuestos fenólicos del aceite de oliva.....	16
2. La enfermedad cardiovascular. Proceso aterosclerótico	21
2.1. Generalidades.....	21
2.2. Factores de riesgo.....	21
2.3. Proceso de oxidación y antioxidantes.....	22
2.3.1. Radicales libres.....	23
2.3.2. Antioxidantes.....	24
2.4. Marcadores de estrés oxidativo.....	25
2.5. Proceso aterosclerótico y oxidación de la LDL	28
2.5.1. Oxidación de la LDL.....	28
2.5.2. Proceso aterosclerótico.....	30
2.6. La paradoja antioxidante-oxidante.....	32
2.7. Composición de la LDL	34
3. Efecto biológico del aceite de oliva.....	41
3.1. Dieta mediterránea.....	41

3.2. Aceite de oliva y salud.....	43
3.2.1. Acidos grasos monoinsaturados.....	43
3.2.2. Escualeno.....	44
3.2.3. Esteroles.....	45
3.2.4. Vitaminas liposolubles: carotenoides y tocoferoles.....	46
3.2.5. Compuestos fenólicos.....	46
3.2.2.1. Absorción y metabolismo de compuestos fenólicos.....	48
3.2.2.2. Actividades fisiológicas específicas relacionadas con el riesgo cardiovascular.....	58
3.2.6. Cambios en la composición de la LDL con respecto al consumo de aceite de oliva.....	72
3.2.6.1. Ácidos grasos	73
3.2.6.2. α -Tocoferol y compuestos fenólicos.....	74

III. DISEÑO EXPERIMENTAL..... 77

IV. PUBLICACIONES..... 81

Publicación 1

"Characterization and quantification of phenolic compounds in olive oils by Solid-Phase Extraction, HPLC-DAD and HPLC-MS/MS" K. de la Torre-Carbot, O. Jauregui, E. Gimeno, A.I. Castellote, R.M. Lamuela-Raventós and M.C. López-Sabater. *J Agric Food Chem*, 53 (11),2005..... 83

Publicación 2

"Postprandial LDL phenolic content and LDL oxidation are modulated by olive oil phenolic compounds in human" .M.I. Covas, K. de la Torre, M. Farré-Albaladejo, J. Kaikkonen, M. Fitó, C. López-Sabater, M. A.Pujadas-Bastardes, J.Oglar, T. Weinbrenner, R. Lamuela-Raventós, and R. de la Torre. *Free Radic Biol Med*. 40, 2006 95

Publicación 3

“Presence of virgin olive oil phenolic metabolites in human low density lipoprotein fraction: determination by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry” K. de la Torre-Carbot, J.L. Chávez-Servín, O. Jaúregui, A.I. Castellote, R.M. Lamuela Raventós, M. Fitó, M.I. Covas, D. Muñoz-Aguallo, and M.C. López-Sabater. *Anal Chim Acta*. 583, 2007..... 107

Publicación 4

“Rapid high-performance liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry method for qualitative and quantitative analysis of virgin olive oil phenolic metabolites in human low-density lipoproteins”. K. de la Torre-Carbot, O. Jauregui, A.I. Castellote, R.M. Lamuela-Raventos, R. M, M.I. Covas, I. Casals, I., and M.C. Lopez-Sabater, *J Chromatogr A*. 1116, 2006..... 119

Publicación 5

“Changes of olive oil phenolic metabolites in human low density lipoprotein fraction after a long-term consumption of two different types of olive oil”. K. de la Torre-Carbot, J.L. Chávez-Servín, O. Jaúregui, A.I. Castellote, R.M. Lamuela-Raventós, M. Fitó, M.I. Covas, D. Muñoz-Aguallo and M.C. López-Sabater. *Atherosclerosis*. Enviada 129

Publicación 6

“Changes in LDL fatty acid composition as a response to olive oil treatment are inversely related with the lipid oxidative damage: the EUROLIVE Study” S Nascetti, AFG Cicero, MC López-Sabater, R Elosua, JT Salonen , K Nyysönen, HE Poulsen, HJF Zunft, H Kiesewetter, K de la Torre, MI Covas, J Kaikkonen, J Mursu, C Koenbick, H Bäumlér, AV Gaddi, for the EUROLIVE Study Group. *Nutrition*. Enviada..... 153

V. DISCUSIÓN GENERAL.....	179
VI. CONCLUSIONES.....	197
VII. BIBLIOGRAFÍA.....	201
VIII. ANEXOS.....	227
I. Memoria del trabajo realizado en el Departamento de Farmacología y Físico-Química de las Interacciones Celulares y Moleculares, Facultad de Farmacia, Universidad Louis Pasteur, Estrasburgo, Francia.....	229
II. Anexo de la publicación 1 (Supporting information).....	239
III. Publicación.	
"Changes in the phenolic content of low density lipoprotein after olive oil consumption in men. A randomized crossover controlled trial". Eva Gimeno, Karina de la Torre-Carbot, Rosa M. Lamuela-Raventós, Ana I. Castellote, Montserrat Fitó, Rafael de la Torre María-Isabel Covas & M. Carmen López-Sabater <i>Br J Nutr.</i> In revision.....	247
IV. Resultados de la evaluación del índice de peróxidos de aceites utilizados en el estudio de EUROLIVE.....	281
V. Presentaciones realizadas durante el doctorado.....	287