

[r e v i s i ó n]

Compuestos bioactivos del aceite de oliva virgen

Estefanía Sánchez-Rodríguez, María D Mesa

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular II, Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos "José Mataix", Centro de Investigaciones Biomédicas, Universidad de Granada.

Palabras clave

aceite de oliva virgen, polifenoles, ácidos terpénicos, actividad antioxidante, actividad antiinflamatoria

>>RESUMEN

Los estudios epidemiológicos sugieren que la ingesta de aceite de oliva virgen (AOV) está asociada a un menor riesgo de padecer enfermedades crónicas de base oxidativa e inflamatoria, precisamente las más prevalentes en las sociedades actuales. Los efectos beneficiosos del AOV han sido atribuidos a la presencia de ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) y a una serie de compuestos que, aunque minoritarios en cuanto a su concentración, han mostrado potentes propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antiproliferativas. La evidencia científica está convirtiendo a este aceite alimentario en uno de los elementos de primera elección en la dieta y en uno de los principales alimentos de la dieta mediterránea.

Entre los efectos cardioprotectores, el AOV tiene la capacidad de aumentar el colesterol HDL, reducir la lipemia postprandial, proteger la función endotelial, actividad antioxidante, antiinflamatoria, antihipertensiva, antiproliferativa y antitrombótica. Por otro lado, estas actividades antioxidantes y antiinflamatorias, junto con la actividad antiproliferativa y antineoplásica, son la base de los estudios que muestran el efecto del AOV en la prevención y tratamiento del cáncer. Las enfermedades neurodegenerativas también tienen fuertes componentes oxidativos e inflamatorios que pueden resultar beneficiados por las propiedades del AOV, además de por su capacidad para estimular la eliminación de agregados proteicos que al acumularse en el tejido neuronal producen daño, disfunción y muerte neuronal.

La presente revisión trata de resumir la evidencia científica relacionada con los efectos beneficiosos del AOV y sus componentes, incluyendo estudios experimentales *in vitro* e *in vivo* en modelos animales, así como la evidencia basada en estudios clínicos en humanos. Por último, se mencionan datos que indican sus posibles aplicaciones en otras enfermedades menos prevalentes y estudiadas hasta la fecha.

Nutr Clin Med 2018; XII (2): 80-94
DOI: 10.7400/NCM.2018.12.2.5064

>>ABSTRACT

Correspondencia

María Dolores Mesa García

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular II, Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos "José Mataix", Centro de Investigaciones Biomédicas, Universidad de Granada.

E-mail: mdmesa@ugr.es

Key words

virgin olive oil, polyphenols, terpenic acids, antioxidant activity, anti-inflammatory activity

Epidemiological studies suggest that the intake of virgin olive oil (VOO) is associated with a lower risk of oxidative and inflammatory-based chronic diseases, such as cardiovascular diseases (CVD), cancer, and neurodegenerative diseases, which are, in fact, the most prevalent nowadays. The beneficial effects of VOO have been attributed to the presence of monounsaturated fatty acids (MUFA) and to a number of compounds, which although present in lower concentration, exert antioxidant, antiinflammatory and antiproliferative properties. The scientific evidence is showing a multitude of benefits attributed to the consumption of VOO, which is making this edible oil one of the elements of first choice in the diet, and one of main food of the Mediterranean diet.

The scientific evidence shows the benefits of VOO in the prevention of CVD, thanks to its ability to increase HDL cholesterol and reduce postprandial lipemia, its antioxidant, antiinflammatory, and antihypertensive activities, its capacity to the endothelial function, as well as to its antiproliferative and antithrombotic properties. On the other hand, these antioxidant, antiinflammatory, antiproliferative and antineoplastic activities, are the basis of the effect of VOO on the prevention and treatment of cancer. Neurodegenerative diseases also have strong oxidative and inflammatory components that may benefit VOO properties, together with its ability to stimulate the elimination of protein aggregates that, when accumulated in neuronal tissue, cause damage, dysfunction and neuronal death. The present review tries to summarize the aspects related to the beneficial effects of VOO and its components, including experimental *in vitro* and *in vivo* animal studies and the evidence observed in clinical human trials. Finally, this review mentions some works that indicate possible applications in other less prevalent diseases.

Nutr Clin Med 2018; XII (2): 80-94
DOI: 10.7400/NCM.2018.12.2.5064

INTRODUCCIÓN

Desde la antigüedad, el aceite de oliva y los subproductos del olivo, como por ejemplo los extractos de hojas, han sido utilizados como remedios tradicionales para el tratamiento de múltiples dolencias gracias a sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antimicrobianas^{1,2}. Concretamente, el aceite de oliva era muy apreciado como un remedio para curar las quemaduras, las llagas, los escalofríos y para fortalecer la piel y los músculos, para aliviar los dolores de estómago e hígado, y evitar los dolores de cabeza, siendo también eficaz para el tratamiento de las úlceras. Posteriormente, los productos procedentes del olivo se utilizaron contra infecciones, y para el tratamiento de patologías como las ECV y la diabetes, y más recientemente se han comenzado a estudiar sus efectos beneficiosos para prevenir el cáncer y las enfermedades neurodegenerativas.

El estudio PREDIMED se diseñó para determinar el efecto del consumo prolongado de dieta mediterránea en la prevención de ECVs en in-

dividuos con alto riesgo cardiovascular. Los voluntarios fueron distribuidos en tres grupos: un grupo control que tomó una dieta baja en grasas, un grupo de voluntarios que tomaron diariamente 30 gramos de frutos secos y un tercer grupo suplementado con AOV (un litro a la semana). Los datos mostraron que la dieta mediterránea suplementada con nueces o AOV disminuye en aproximadamente un 30% el riesgo de sufrir ECV³. En 2011, la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) emitió una opinión sobre los beneficios a nivel cardiovascular del consumo diario de aceite de oliva rico en compuestos fenólicos (5 mg de hidroxitirosol y sus derivados, por ejemplo oleuropeína, en 20 g de aceite) en la prevención de la oxidación de lipoproteínas de baja densidad (LDL)⁴ y para el manteniendo concentraciones normales de colesterol unido a las lipoproteínas de alta densidad (HDL) en sangre⁵. Sin embargo, todavía queda mucho que estudiar para poder demostrar científicamente los efectos funcionales del AOV y sus componentes.

Tradicionalmente, los efectos beneficiosos del AOV fueron atribuidos a su elevado contenido de AGMI, sin embargo, tras los resultados del estudio EUROLIVE, donde los voluntarios fueron suplementados con tres tipos de aceite de oliva similares en cuanto a composición de AGMI pero con un contenido bajo, medio y alto de polifenoles, proporcionaron evidencia de primer nivel de que el aceite de oliva es más que una grasa monoinsaturada y que la presencia de otros componentes minoritarios contribuía a la actividad funcional del aceite⁶.

A partir de ese momento comenzó una apasionante carrera para tratar de identificar los componentes bioactivos del AOV y proporcionar evidencia científica acerca de sus propiedades funcionales. Son muchos los estudios experimentales realizados hasta la fecha en este campo, y los resultados, algunas veces contradictorios, no siempre son fáciles de interpretar. Por otro lado, la variabilidad de los diseños experimentales de los ensayos clínicos en humanos, de las características de la población estudiada, en los tiempos de intervención y de la composición de los distintos aceites utilizados, así como del tipo y las dosis de compuestos aislados utilizados, hace que los resultados *in vivo* sean muy variables, y plantea la necesidad de iniciar estudios aleatorizados, bien diseñados y controlados para poder evidenciar correctamente las actividades funcionales del AOV y sus componentes. El objetivo de esta revisión es tratar de resumir los efectos más conocidos del AOV y sus componentes y exponer la base científica que los avala.

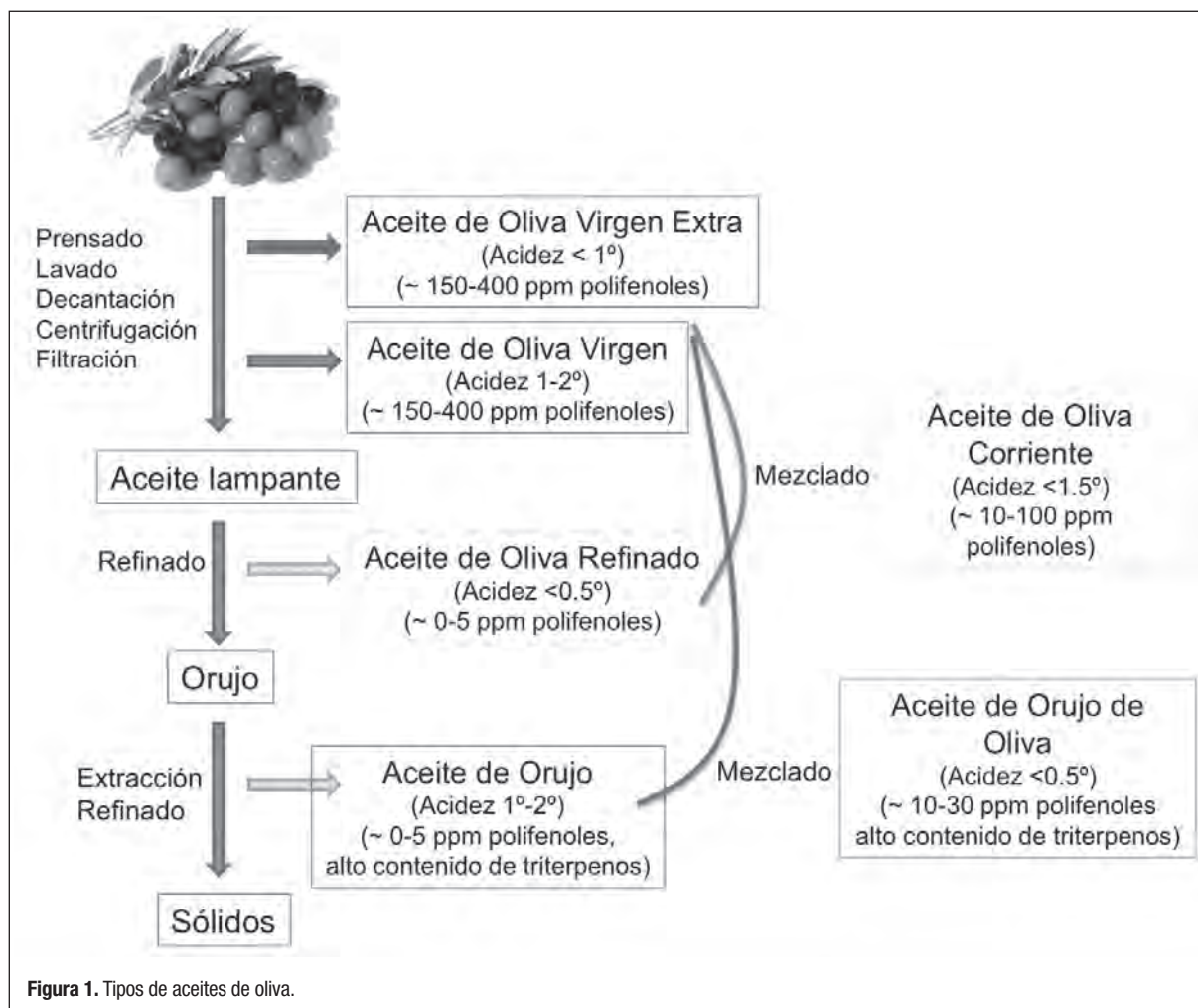
Aceite de oliva

Según el Convenio Internacional del Aceite de Oliva de 1986, el AOV es el zumo oleoso obtenido mediante el prensado del fruto del olivo, *Olea europea* L., en perfectas condiciones de madurez, procedentes de un olivo sano, que no haya sido tratado o manipulado mecánica, física o térmicamente, de manera que no se altere la naturaleza química de sus componentes. Esto implica que los únicos procedimientos empleados para su obtención son el prensado, lavado, decantación, centrifugado y la filtración. Se excluyen dentro de esta calificación a los aceites obtenidos con disolventes, por procedimientos de reesterificación o tras la mezcla con aceites de otra naturaleza. Es importante resaltar, que el AOV extra, es un aceite obtenido de forma similar al AOV, que se diferencia únicamente en sus propiedades fi-

sicoquímicas y sensoriales (acidez menor de 1°), es decir en su calidad superior. Cuando hablamos de aceite de oliva corriente, nos referimos a un aceite constituido por una mezcla de AOV y aceite de oliva refinado, en el que el contenido en componentes minoritarios ha disminuido considerablemente tras el proceso de refinado. Finalmente, destacamos el aceite de orujo, obtenido por medio de disolventes a partir del orujo, un subproducto de la aceituna que queda tras la extracción del aceite de oliva virgen (que contiene restos de piel, hueso y pulpa) que se vuelve a prensar o centrifugar⁷. Este proceso de preparación hace que el aceite de orujo contenga pocos componentes minoritarios de la pulpa de la aceituna, los polifenoles, pero que se enriquezca en los compuestos presentes en la piel y el hueso, principalmente ácidos triterpénicos (Fig. 1).

Composición del aceite de oliva virgen: lípidos y compuestos bioactivos

El AOV está mayoritariamente formado por una fracción saponificable formada por triacilglicéridos (97-99%), en los que el principal ácido graso es el ácido oleico (C18:1 n9) que se encuentra esterificando estas moléculas entre un 68 y un 81,5%. Por otro lado, el aceite de oliva contiene una fracción minoritaria (2%), no saponificable, que incluye más de 230 compuestos, como vitaminas y algunos antioxidantes⁷, que además de aportar aroma, gusto y color al aceite, son responsables de la mayoría de sus actividades biológicas y propiedades funcionales^{3,4}. Entre los componentes minoritarios, los más conocidos por sus propiedades antioxidantes, son los compuestos fenólicos, comúnmente llamados "polifenoles". El contenido de polifenoles de un AOV varía dependiendo de la variedad de la aceituna (Picual, Hojiblanca, Arbequina, etc), de su madurez en el momento de su recolección, del área de cultivo, del clima, y del tipo de proceso utilizado para extraer el aceite. Como regla general, el contenido de polifenoles de un AOV es mayor que el de un aceite de oliva corriente o de un aceite de orujo (Fig. 1). Por otro lado, además de los polifenoles, el AOV contiene otros componentes minoritarios que también están siendo investigados por sus potenciales efectos saludables, como son los ácidos triterpénicos, que están presentes principalmente en la piel y el hueso de la aceituna, y por lo tanto pasan a formar parte del aceite de orujo que se caracteriza por tener un alto contenido de estos ácidos triterpénicos y pocos polifenoles⁷ (Fig. 1).



Resulta muy difícil identificar todos los compuestos presentes en esta fracción minoritaria, no sólo por su escasa concentración y compleja naturaleza química, sino también porque muchos de ellos se eliminan durante el procesado y almacenamiento del aceite. Dentro de esta fracción tenemos dos grupos: uno derivado de ácidos grasos, como los fosfolípidos, ceras y ésteres de esteroides, y otro que no incluye ácidos grasos en sus estructuras, como los fenoles hidrofílicos, fenoles lipofílicos, alcoholes triterpénicos, alcoholes alifáticos, esteroides libres, ésteres no glicéridos, hidrocarburos, pigmentos (clorofilas y carotenoides) y compuestos volátiles⁷. Dada la gran variedad de compuestos encontrados en los AOV, en esta revisión nos vamos a centrar en los componentes bioactivos mayoritarios que han demostrado ejercer efectos beneficiosos para la salud, que son los fenoles hidrofílicos y los derivados terpénicos.

Fenoles hidrofílicos

Estos compuestos son característicos del AOV y no están presentes en otros aceites vegetales. Su concentración está entre las 40 y 1000 ppm y son los responsables de la mayoría de las propiedades antioxidantes atribuidas a este aceite⁷. Son moléculas que poseen al menos un anillo aromático unido a uno o más grupos hidroxilo, en formas simples o formando polímeros. Se pueden dividir en varias clases: a) ácidos fenólicos presentes en cantidades pequeñas, que pueden ser de la serie de los ácidos benzoicos (ácido benzoico, *p*-hidroxibenzoico, protocatequínico, gálico, vanílico y siríngico) y de los ácidos cinámicos (cinámico, *p*-cumárico, *o*-cumárico, cafeico, felúlico, u sinápico), b) alcoholes fenólicos como el (*p*-hidroxifenil)etanol o tirosol, el (3,4-dihidroxifenil)etanol o hidroxitirosol, y el (3,4-dihidroxifenil)etanol-glucósido, y c) los secoiridoides que se caracterizan por la presencia

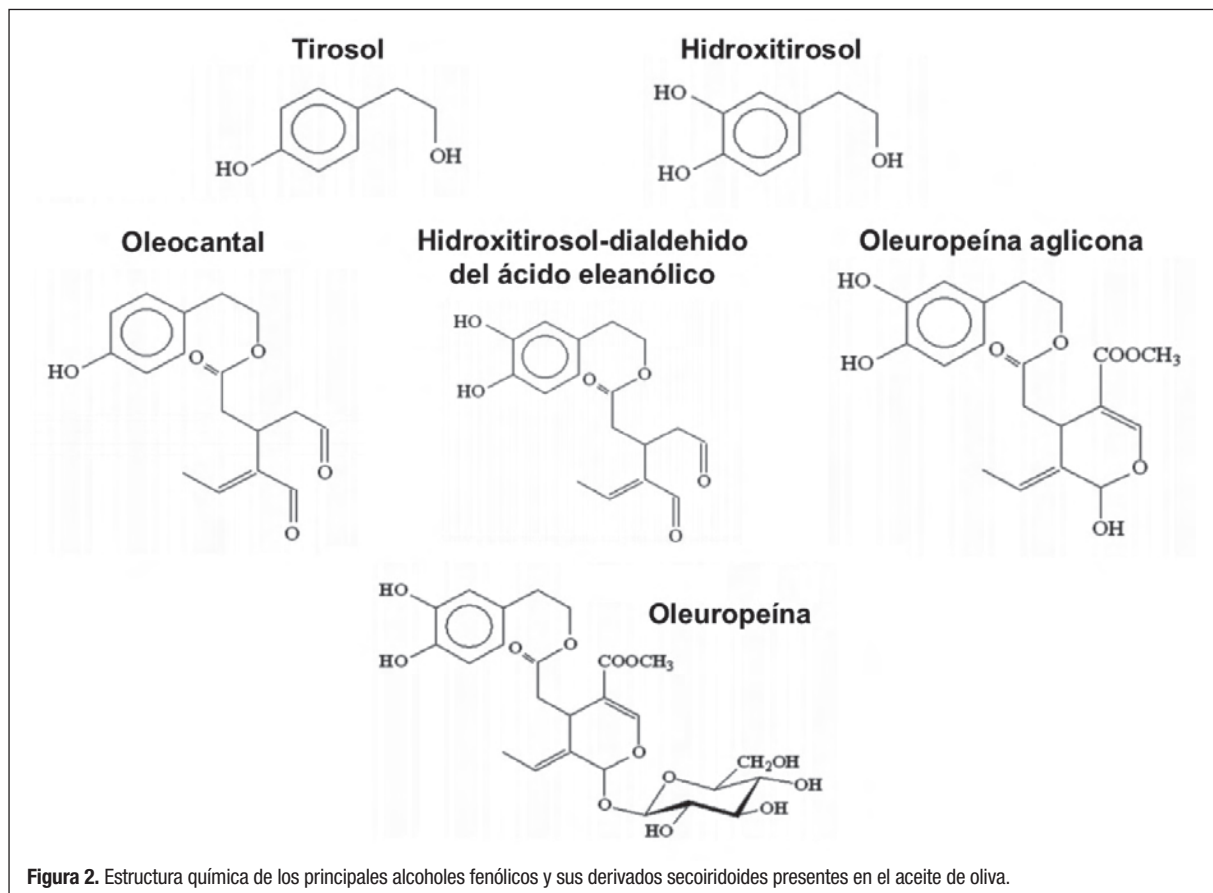
de ácido elenólico o alguno de sus derivados (Fig. 2). Entre ellos destaca la oleuropeína, molécula responsable del amargor del AOV, que se forma mediante la unión del ácido elenólico al hidroxitirosol, por un enlace éster, y a la glucosa por un enlace glucosídico (Fig. 2); su hidrólisis libera hidroxitirosol. También encontramos la aglicona de oleuropeína y otros glucósidos. Finalmente, hay que destacar el oleocantal, un éster del tirosol responsable del picor que ocasiona el AOV en la garganta, que recientemente está siendo objeto de muchas investigaciones por sus excelentes propiedades funcionales (Fig. 2).

Derivados terpénicos

Los derivados terpénicos son compuestos minoritarios en el AOV (0.05-3%) que se concentran en la piel y el hueso del fruto, por lo que se encuentran principalmente en los aceites de orujo. Los más importantes son dos dihidroxitirpenos: eritrodioleol (homo-olestranol, 5 α -olean-12-en-3 β , 28-diol) y el uvaol (Δ -12-ursen-3 β , 28diol) (Fig. 3)⁷, y los ácidos hidroxiterpénicos pentaácidos, que son la forma oxidada de los

dialcoholes triterpénicos, por ejemplo, el ácido oleanólico, ácido maslínico, ácido ursólico, ácido botulínico, ácido 2 α -hidroxi-ursólico y ácido deoxiursólico (Fig. 3).

En humanos, la absorción de compuestos fenólicos del AOV, especialmente hidroxitirosol y tirosol, es de al menos 55-66% de la dosis de AOV, y depende de la dosis y de la matriz alimentaria: se han observado mayores porcentajes de excreción urinaria después de la ingesta de hidroxitirosol como componente natural de AOV (42% del hidroxitirosol ingerido) que como componente añadido a otros alimentos⁸. Una vez absorbidos, son metabolizados a nivel intestinal y hepático y eliminados por la orina de forma conjugada, principalmente glucurono-conjugada o, en menor medida, sulfatada³. Considerando este fuerte metabolismo, algunos autores propusieron que la actividad biológica de hidroxitirosol y tirosol podría deberse a sus metabolitos. Recientemente se ha demostrado la biodisponibilidad de los triterpenos del AOV que también son metabolizados, tras su absorción, y eliminados por la orina¹⁰.



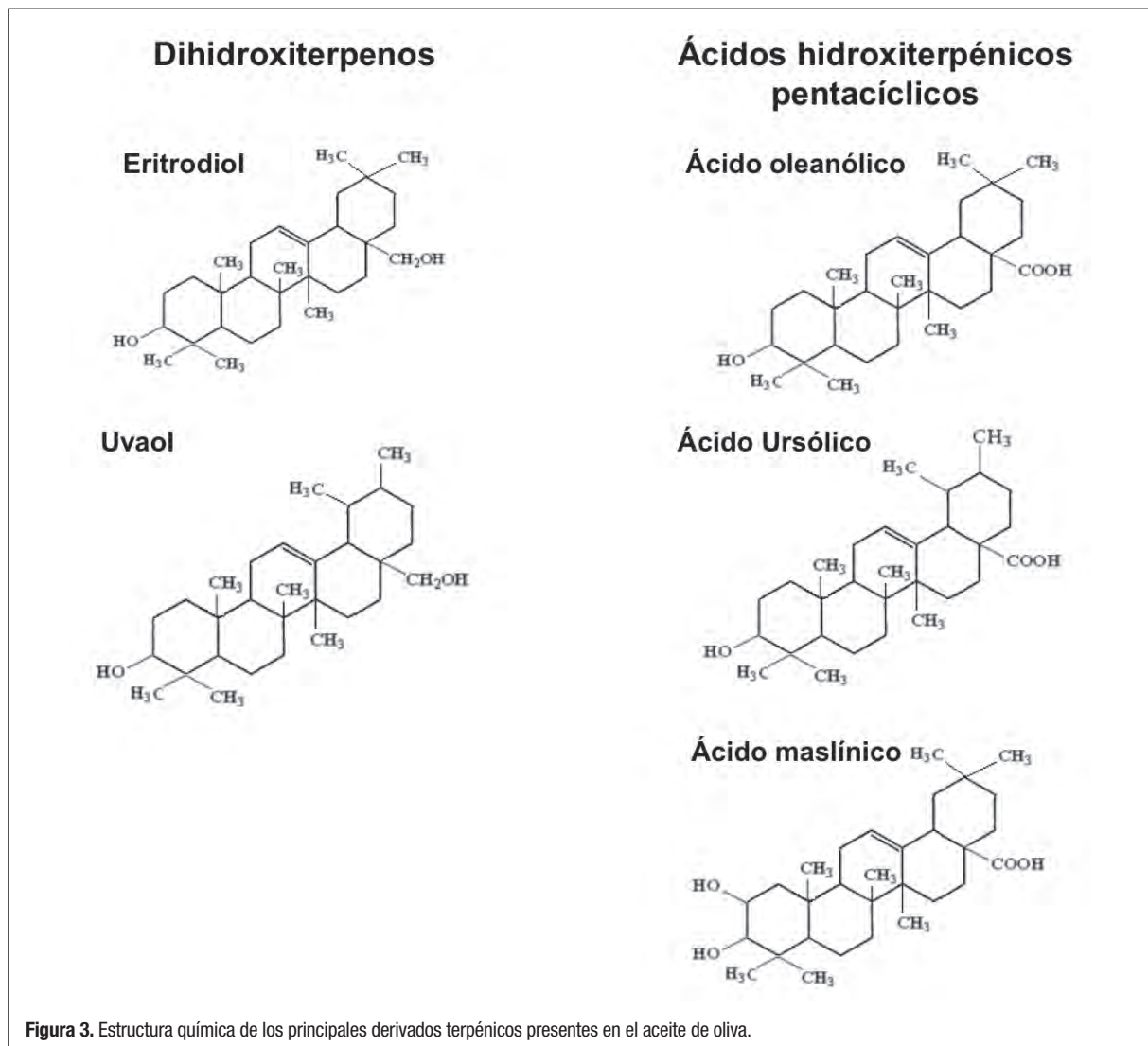


Figura 3. Estructura química de los principales derivados terpénicos presentes en el aceite de oliva.

Efectos beneficiosos del aceite de oliva virgen

Desde hace cientos de años, los productos derivados del olivo han sido utilizados por sus potentes propiedades nutricionales y terapéuticas. Tradicionalmente, ha sido un recurso para tratar afecciones cutáneas, gracias a su actividad emoliente y cicatrizante, para curar resfriados, herpes o infecciones del tracto digestivo y urinario, gracias a sus propiedades antimicrobianas, y también para el tratamiento de úlceras, y dolores de estómago e hígado, gracias a sus propiedades antiinflamatorias. Por otro lado, su actividad antioxidante y antiinflamatoria hace que sea una excelente ayuda para la prevención y el tratamiento de enfermedades crónicas, donde los procesos oxidativos e inflamatorios constituyen

un factor importante en su desarrollo, como son las ECV, el cáncer y las enfermedades neurodegenerativas. Los efectos beneficiosos atribuidos al AOV están resumidos en la figura 4.

En un principio, los beneficios del aceite de oliva sobre la salud se atribuyeron a la alta concentración de ácido oleico (18: 1n-9), un AGMI que proporciona a las membranas celulares la fluidez adecuada para facilitar su funcionalidad, sin aumentar su inestabilidad. Sin embargo, a pesar de este buen perfil de AGMI presentes en el aceite de oliva, las evidencias más recientes sugieren que los compuestos minoritarios, principalmente de naturaleza fenólica, son los principales contribuyentes a los efectos preventivos y terapéuticos del AOV, por sus actividades antioxidantes, antiinflamatorias, antimicro-

bianas y antiproliferativas^{3,4,5}. Los principales compuestos que han mostrado actividades beneficiosas son el hidroxitirosol y la oleuropeína, que comparten una estructura ortodifenólica que contribuye a su función antioxidante¹⁰. El hidroxitirosol es el compuesto más estudiado por su gran potencial antioxidante y antiinflamatorio. Este compuesto puede controlar el estado redox intracelular, regulando así el daño oxidativo inducido en las células, y ejercer una acción antiinflamatoria, que contribuye a la prevención de ECVs, diabetes, cáncer y enfermedades neurodegenerativas, cuya etiología y progresión está relacionada con estos procesos. Además se absorbe rápidamente y no se acumula en el organismo, por lo que no ocasiona efectos tóxicos¹¹. La oleuropeína, el componente mayoritario en la fracción insaponificable del aceite y de las hojas del olivo y responsable del sabor amargo del AOV, es importante por su actividad antioxidante, antiinflamatoria y antitumoral¹¹. Por otro lado, los estudios con ácido

oleoánico y otros derivados triterpénicos han mostrado su capacidad para restaurar los trastornos vasculares asociados a factores de riesgo cardiovascular, como la hipertensión, la obesidad, la diabetes y la aterosclerosis, mostrándolos como una estrategia terapéutica prometedora para prevenir la disfunción vascular¹², así como sus actividades antioxidantes, antiinflamatorias y antitumorales¹³. Finalmente, estudios recientes con oleocantal han mostrado su gran potencial antiinflamatorio, anticancerígeno y neuroprotector¹⁴.

Actividad protectora frente a las enfermedades cardiovasculares

Ya en 1966, un estudio epidemiológico mostró una menor tasa de mortalidad por enfermedad coronaria en poblaciones que consumían productos derivados del olivo. Este estudio fue preliminar al conocido como “estudio de los siete países” que estableció la relación entre la grasa

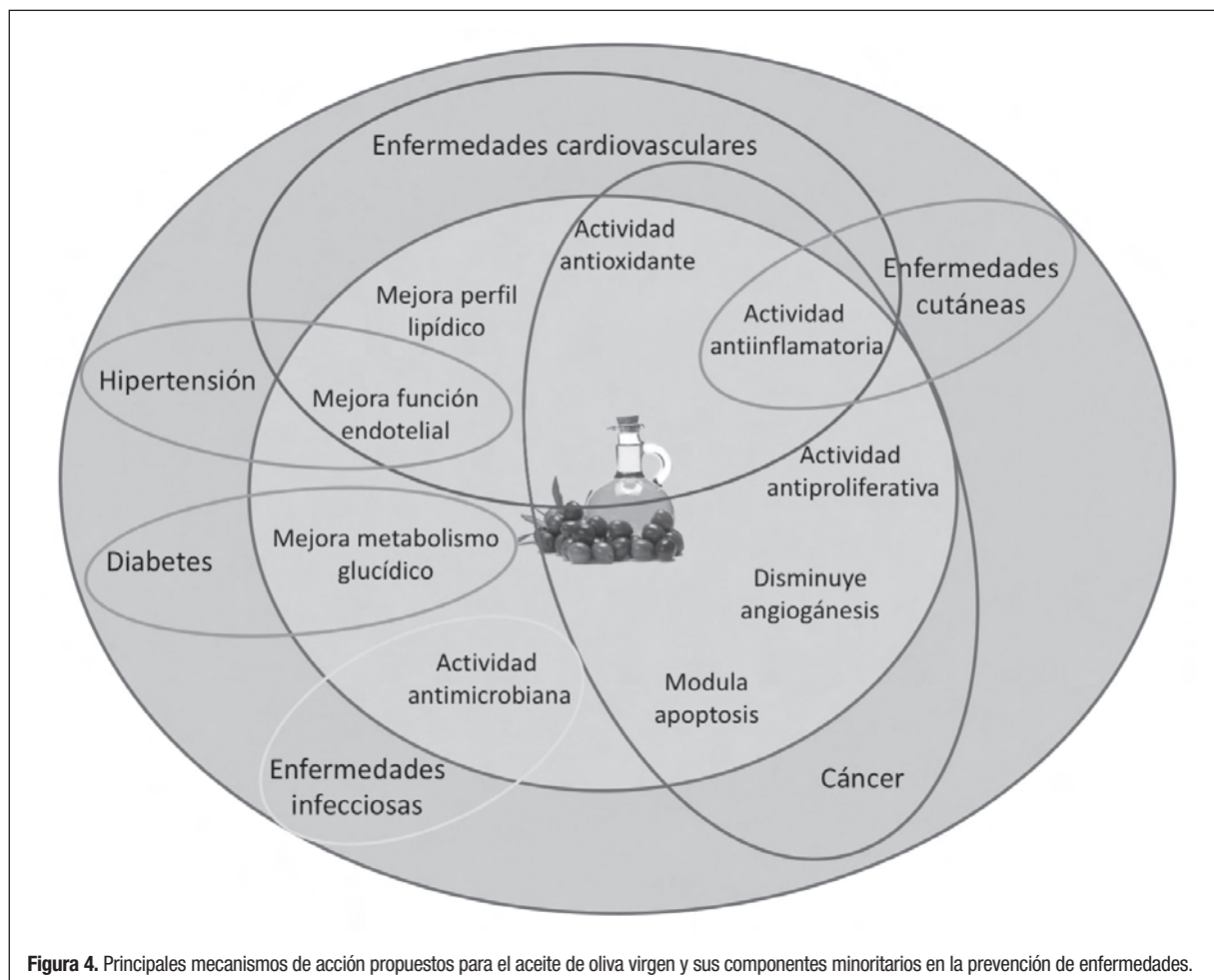


Figura 4. Principales mecanismos de acción propuestos para el aceite de oliva virgen y sus componentes minoritarios en la prevención de enfermedades.

de la dieta y la incidencia de ECV, y destacó la diferencia entre la dieta mediterránea, caracterizada por el consumo de grasas (15-30% de la energía alimentaria total), principalmente a través del aceite de oliva, y las dietas de otras cohortes europeas en las que predominaba el consumo de grasas más saturadas⁴.

La sustitución de grasa saturada con aceites enriquecidos en AGMI comparados con aceites enriquecidos en ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) tiene efectos similares en las concentraciones plasmáticas de colesterol total, colesterol LDL y HDL, aunque parece que cuando se usa AOV como vehículo de los AGMI se produce un aumento del colesterol HDL que no ocurre con otros tipos de aceite de oliva con menor contenido en compuestos fenólicos, lo que reduce la relación LDL/HDL que se asocia con el riesgo cardiovascular⁶. La mayoría de los estudios han demostrado que las dietas ricas en AGMI reducen la susceptibilidad a la oxidación de las LDL⁵, un factor de riesgo independiente asociado al desarrollo de enfermedades coronarias en la población general. Además de este papel estabilizador de los AGMI en las LDL, la presencia de compuestos fenólicos con actividad antioxidante también contribuye a la estabilización oxidativa de estas partículas *in vivo*, y se ha demostrado que los compuestos fenólicos del AOV mejoran la funcionalidad de las HDL, y por tanto su efecto antiaterogénico, aumentando el tamaño, la estabilidad y su capacidad antioxidante gracias a su enriquecimiento en estos compuestos¹⁵. Además, aumentan la expresión de los genes involucrados en la eliminación de colesterol celular mediante HDL¹⁶.

Se ha observado que la suplementación con aceite de oliva rico en compuestos minoritarios puede disminuir el número y el tamaño de las partículas ricas en triacilglicéridos postprandiales que constituyen un factor de riesgo cardiovascular, mientras que otros estudios muestran una disminución de la hiperlipemia e hiperglucemia postprandial después de la ingesta de AOV. Por otro lado, algunos estudios clínicos muestran un aumento en la capacidad antioxidante del suero después de la ingesta de AOV en comparación con aceite de oliva corriente y aceite de maíz, así como una disminución de la oxidación lipídica, a pesar del incremento del estrés oxidativo postprandial, sugiriendo un papel específico para los compuestos fenólicos del AOV³.

La actividad antioxidante del AOV y sus componentes minoritarios ha sido ampliamente demostrada en estudios experimentales *in vitro* e *in vivo* en modelos animales, y también en estudios clínicos de intervención⁶. Sin embargo, la dificultad para homogeneizar los diseños clínicos y controlar la dieta, las características de los participantes incluidos en los estudios y la variabilidad de los biomarcadores de oxidación seleccionados hace que los resultados sean difíciles de interpretar. Los resultados del estudio EUROLIVE (efecto del consumo de aceite de oliva sobre el daño oxidativo en las poblaciones europeas) proporcionó evidencia científica del papel protector de los compuestos fenólicos del aceite de oliva sobre el daño oxidativo de los lípidos en humanos, utilizando dosis de AOV comparables con las ingestas diarias habituales. Este estudio comparó el efecto de la ingesta de 25 ml/día de tres aceites similares en cuanto al perfil de ácidos grasos, pero con diferentes concentraciones de compuestos fenólicos (2,7 mg/kg, 164 mg/kg, y 366 mg/kg, para contenido fenólico bajo, medio y alto, respectivamente), durante 3 semanas precedidos por periodos de lavado de 2 semanas, y mostró que la disminución del daño oxidativo de los lípidos y el aumento del colesterol HDL fue proporcional al contenido fenólico del aceite de oliva consumido⁶. Sin embargo, la limitación de este estudio es su corto periodo de intervención, lo que hace necesario el planteamiento de estudios más largos que aporten más evidencias sobre los efectos antioxidantes del AOV.

Los procesos inflamatorios producidos en la pared endotelial, mediados por un gran número de moléculas y enzimas proinflamatorias, son otro componente asociado al desarrollo de ECV, que afectan a la funcionalidad vascular y activan procesos fibróticos y trombóticos. Esas moléculas activan receptores celulares y desencadenan cascadas de señalización mediadas por el factor nuclear kappa B (NF-κB), que regula la expresión de genes que codifican la síntesis de otros componentes proinflamatorios, moléculas de adhesión, la enzima COX-2 y la iNOS, y moléculas implicadas en el desarrollo de procesos apoptóticos y de proliferación celular¹⁷. Los mecanismos moleculares por los cuales los polifenoles del AOV pueden ejercer un efecto antiinflamatorio están mediados por la modificación de la cascada de señalización del NF-κB, y consecuentemente por la disminución de una serie de mediadores proinflamatorios y

moléculas de adhesión que permiten la interacción de células inmunitarias con el endotelio, además de mediante la mejora de la disfunción endotelial¹⁸. Los estudios *in vitro* sugieren que el hidroxitirosol, tirosol, sus derivados secoiridoides (oleuropeína) y algunos de sus metabolitos endógenos, dependiendo del modelo celular utilizado, pueden reducir la producción de óxido nítrico, eicosanoides (inhibiendo la expresión de COX-2), moléculas de adhesión y algunas mediadores inflamatorios, reduciendo así la inflamación, la angiogénesis y mejorando la funcionalidad vascular¹⁹. La oleuropeína puede inhibir la proliferación de las células del músculo liso²⁰, y el oleocantal ha demostrado una gran capacidad para inhibir la COX-1 y COX-2 *in vitro*¹⁴. Por otro lado, estudios experimentales *in vivo* en modelos animales también han mostrado la capacidad del AOV y algunos de sus compuestos fenólicos para disminuir algunas citoquinas proinflamatorias y moléculas de adhesión vascular¹⁹. Los estudios clínicos ha demostrado que los AOV con alto contenido fenólico pueden reducir los mediadores inflamatorios derivados del ácido araquidónico y otros como la proteína C-reactiva o la interleuquina-6 (IL-6)⁵, y también el estudio PREDIMED concluyó que la ingesta de dieta mediterránea suplementada con AOV puede disminuir las concentraciones plasmáticas de citoquinas proinflamatorias²¹.

Un estudio reciente ha demostrado que la combinación de AOV con ibuprofeno aumenta la actividad antiinflamatoria de este fármaco en dos modelos animales, probablemente gracias al efecto sinérgico de alguno de sus componentes sobre la COX²². Esto abre una nueva hipótesis de investigación que plantea la posibilidad de aplicar terapias combinadas para así poder disminuir dosis de fármacos y, por consiguiente, sus efectos secundarios.

Perona y col.²³ revisaron las evidencias clínicas que confirman que el consumo diario de AOV rico en compuestos fenólicos además de modular algunas citoquinas y biomarcadores inflamatorios, puede mejorar la función endotelial en humanos. Sin embargo, los resultados *in vivo* no son concluyentes. El AOV disminuyó la molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1) y la molécula de adhesión vascular 1 (VCAM-1) en estado postprandial en comparación con un aceite refinado, sin embargo, otros autores no encontraron efecto en las concentraciones plasmáticas de

sICAM-1 o sVCAM-1 después del consumo de AOV o aceite de oliva refinado en pacientes con enfermedad coronaria³. Un metaanálisis posterior encontró una reducción significativa de la concentración plasmática de sICAM-1 pero no de sVCAM-1 tras la intervención con AOV durante al menos cuatro semanas²⁴. Recientemente, se ha propuesto que la ingesta de AOV rico en polifenoles modula la expresión de varios genes relacionados con el sistema renina-angiotensina-aldosterona²⁵. Por lo tanto, se necesitan estudios clínicos bien diseñados para llegar a conclusiones finales sobre el efecto de los polifenoles del AOV sobre la función endotelial.

La disfunción endotelial es un evento temprano crítico en el desarrollo de la hipertensión. Un desequilibrio entre las moléculas vasodilatadoras y vasoconstrictoras contribuye a la patogénesis de esta enfermedad y sus complicaciones. Se han descrito propiedades antihipertensivas para el aceite de oliva que podrían estar relacionadas con la presencia de este ácido oleico. El consumo de AOV en humanos ha demostrado beneficios en la presión arterial y la función endotelial en sujetos sanos, diabéticos y en pacientes hipertensos³. Sin embargo, en 2015, un metaanálisis concluyó que los aceites de oliva con alto contenido en polifenoles ejercen un efecto moderado sobre la disminución de la presión arterial sistólica sin afectar a la diastólica²⁶, por lo que es necesario seguir investigando esta actividad del AOV. Con respecto a los triterpenos, se ha descrito un efecto beneficioso de estos compuestos sobre la función endotelial y la presión arterial²⁷ en modelos animales de hipertensión, por lo que parece que estos componentes pueden ser los responsables, en gran medida, de esta actividad vasoprotectora atribuida al AOV¹². Sin embargo, se requieren más estudios aleatorizados y controlados en humanos para determinar los efectos beneficiosos de los ácidos triterpénicos del aceite de oliva.

Actividad antidiabética

La dieta mediterránea ha demostrado ser beneficiosa para el control glucémico y la diabetes mellitus tipo 2 (DMT2). El estudio PREDIMED demostró que la dieta mediterránea suplementada con AOV redujo el riesgo de DMT2 en un 40% en participantes con alto riesgo cardiovascular²⁸, la glucosa plasmática en ayunas y mejoró la resistencia a la insulina y los biomarcadores inflamatorios en individuos diabéticos²⁹. Sin embargo,

cuando la población estudiada son voluntarios sanos, no se ha podido observar ningún efecto sobre las concentraciones de glucosa séricas⁶.

Pocos estudios han evaluado los efectos de polifenoles específicos del AOV sobre la resistencia a la insulina y la DMT2. El consumo diario de AOV rico en polifenoles durante 8 semanas redujo significativamente la glucosa plasmática en ayunas y la hemoglobina glicosilada, así como algunas adipocinas inflamatorias circulantes, en pacientes con sobrepeso y DMT2³⁰. Sin embargo, en voluntarios sanos no se observaron efectos sobre la glucosa sérica en ayunas tras la suplementación con 20 ml/d de AOV rico en polifenoles durante 6 semanas³¹.

Por otro lado, se han publicado dos ensayos aleatorizados en pacientes diabéticos que evalúan el efecto de los polifenoles de la hoja de olivo (oleuropeína e hidroxitirosol en altas concentraciones) sobre los marcadores de sensibilidad a la insulina, mostrando una disminución de las concentraciones sanguíneas de insulina y hemoglobina glicosilada³², y una mejora en la función de las células β pancreáticas y en la sensibilidad a la insulina, en comparación con un placebo, a pesar de no modificar sus valores plasmáticos³³. Por lo tanto, los datos obtenidos hasta la fecha son esperanzadores para los pacientes diabéticos, pero se necesitan más estudios clínicos que puedan demostrar el efecto del AOV y sus componentes la prevención de la DMT2.

Actividad anticancerígena

Un metaanálisis publicado en 2015, concluyó que una mayor adherencia a la dieta mediterránea se asocia significativamente a una reducción del 13% de mortalidad por cáncer, concretamente se reduce el riesgo para el cáncer colorrectal (17%), mama (7%), estómago (27%), próstata (4%), hígado (42%), cabeza y cuello (60%), páncreas (52%) y sistema respiratorio (90%)³⁴. La importancia del aceite de oliva en la prevención del cáncer ha sido sugerida por varios estudios y puede deberse, al menos en parte, a los compuestos fenólicos presentes: hidroxitirosol, tirosol, oleuropeína, oleuropeína aglicona, ligsitrosido, aglicona y al oleocantal³⁵, además de a los derivados triterpénicos¹³. Además de la capacidad antioxidante y antiinflamatoria de los componentes del AOV, varios estudios han demostrado que estos compuestos, principalmente el hidroxitirosol, la oleuropeína, y más

recientemente el oleocantal, son capaces de inhibir la proliferación, inducir la apoptosis y la diferenciación, disminuir la angiogénesis y detener el ciclo celular de las células tumorales¹⁰. Estudios experimentales en ratones han demostrado que la oleuropeína induce una regresión de tumores³⁶, y que ésta actúa como un agente anticancerígeno por varios mecanismos principales, que incluyen la interferencia con el receptor de crecimiento epidérmico humano (HER2), modificaciones epigenéticas, interferencia con la vía de las MAPK, la modulación de la apoptosis y el eje de señalización PI3K/AKT, así como la reducción de la producción de ROS en diferentes tipos de células³⁷. Recientemente, una revisión sistemática ha confirmado la capacidad del hidroxitirosol y la oleuropeína para inhibir las fases de iniciación y progresión del tumor, en modelos animales³⁵. El oleocantal es capaz de reducir el crecimiento del tumor, la supervivencia, la angiogénesis e incluso se ha mostrado su potencial antimetastásico³⁸. Por otro lado, estudios clínicos realizados en voluntarios sanos sólo han mostrado la capacidad del AOV para disminuir los biomarcadores de daño del ADN relacionados con el riesgo de desarrollar cáncer³⁵, por lo que se necesitan más estudios clínicos en pacientes con cáncer que evalúen estos efectos, así como las dosis efectivas.

Protección frente a las enfermedades neurodegenerativas

Los trastornos neurodegenerativos se caracterizan por un incremento de estrés oxidativo (elevadas concentraciones de anión superóxido y óxido nítrico), inflamación, agregación anormal de proteínas, alteración de la homeostasis de calcio, excitotoxicidad y apoptosis, procesos que, como ya se ha comentado en esta revisión, pueden ser mejorados tras la ingesta de AOV. Cada vez hay más evidencias del papel protector que puede ejercer el AOV y sus componentes minoritarios en la prevención de estas alteraciones, gracias a su capacidad para atravesar la barrera hematoencefálica³⁹.

Son muchos los estudios que han demostrado el potencial antioxidante en el tejido cerebral del AOV y sus componentes minoritarios, la oleuropeína y el hidroxitirosol que pueden eliminar directamente los radicales libres, así como del hidroxitirosol y el oleocantal para inhibir las COXs³⁹. La administración de AOV a animales de experimentación disminuye el es-

trés oxidativo y el daño cerebral en situaciones de hipoxia. En situaciones de toxicidad inducida por arsénico, la oleuropeína y el hidroxitirosol protegen frente al estrés oxidativo, mientras que el hidroxitirosol también mejora la disfunción mitocondrial⁴⁰. Por otro lado, el papel del AOV y sus componentes sobre otros mecanismos neurodegenerativos está siendo estudiado. Los resultados relativos a la modulación de la autofagia son contradictorios, ya que algunos experimentos han mostrado que dosis micromolares de oleuropeína aglicona activan la autofagia, mientras que dosis picomolares de oleuropeína inhibe este proceso³⁹. Otro estudio ha comprobado que la oleuropeína es capaz de activar la actividad proteosómica encargada de eliminar proteínas intracelulares responsables de la patogénesis de algunas alteraciones neurodegenerativas⁴¹. Esta información está abriendo un campo nuevo de investigación sobre los posibles mecanismos neuroprotectores del AOV y sus componentes.

Los beneficios frente al deterioro cognitivo y el desarrollo enfermedad de Alzheimer de la dieta mediterránea y en particular de los componentes fenólicos del AOV cada vez son más evidentes³⁹. La administración crónica de AOV en un modelo experimental de Alzheimer, mejora el aprendizaje y la memoria asociada a la acumulación de las proteínas amiloides A β y al daño oxidativo cerebral, aumentando los niveles de glutatión en el cerebro y la actividad glutatión reductasa y supeóxido dismutasa, y disminuyendo el depósito de proteínas A β ⁴². Varios modelos experimentales celulares y animales han mostrado que la oleuropeína aglicona evita la agregación de las proteínas A β 42 evitando su citotoxicidad, mientras que el tirosol y el hidroxitirosol también reducen el daño causado por la acumulación de proteínas A β ³⁹. Por otro lado, el oleocantal evita la agregación de la proteína Tau característica de la enfermedad de Alzheimer⁴³, además de mejorar varios biomarcadores relacionados con el desarrollo de esta enfermedad³⁹. En conjunto, los resultados obtenidos hasta la fecha son esperanzadores y evidencian que el AOV y sus componentes fenólicos tienen un efecto beneficioso sobre la enfermedad de Alzheimer a través de varios mecanismos que confirman la hipótesis de que el consumo de aceite de oliva está fuertemente asociado con un efecto positivo.

Por otro lado, el Parkinson, la segunda enfermedad neurodegenerativa crónica más prevalente en las sociedades actuales, se caracteriza por una progresiva pérdida de neuronas dopamínicas en la sustancia negra cerebral y por la presencia de agregados proteicos en las neuronas. Estudios en modelos celulares de Parkinson han mostrado que el tirosol, el hidroxitirosol y la oleuropeína pueden atenuar el daño celular mediante distintos mecanismos³⁹. Sin embargo, son necesarios estudios *in vivo* que evalúen el efecto protector del AOV en esta enfermedad.

Actividad antimicrobiana

El aceite de oliva y los extractos de hojas de olivo han sido utilizados desde la antigüedad para paliar patologías asociadas a microorganismos. Se ha descrito actividad antimicrobiana de estos extractos y del hidroxitirosol puro para evitar infecciones en los sistemas respiratorio, intestinal y genital y para fortalecer el sistema inmune, concretamente frente a microorganismos como *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Clostridium perfringens*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica*, *Yersinia sp.*, *Shigella sonnei* y *Helicobacter pylori*^{44,45}. Además, la presencia de ácido elenólico como parte de la estructura de ciertos compuestos fenólicos aporta una actividad antimicrobiana diferencial⁴⁵ frente a patógenos transmitidos por alimentos (*Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica*, *Vibrio cholerae*) y agentes infecciosos del tracto respiratorio (*Haemophilus influenza*, *Moraxella catarrhalis*, *Salmonella typhi*)⁴⁴, siendo efectivos incluso en dosis más bajas que algunos antibióticos como la ampicilina. Un estudio reciente ha mostrado el posible efecto beneficioso para evitar la infección nosocomial relacionada con dispositivos médicos o heridas crónicas provocados por *Staphylococcus aureus* en hospitales y otras instituciones de cuidados intensivos⁴⁶. Sin embargo, algunos estudios no han podido demostrar esta capacidad antimicrobiana del hidroxitirosol, mostrando ciertas contradicciones que deben seguir siendo estudiadas.

Protección frente a afecciones cutáneas

Otra aplicación tradicional de los aceites vegetales es la de tratar una gama de afecciones cutáneas, desde erupciones hasta tumores. Las propiedades beneficiosas del aceite de oliva como agente tópico se deben a su actividad como an-

timicrobiano, antioxidante, antiinflamatorio y emoliente. La capacidad de reparación del ácido oleico y de los antioxidantes presentes en el AOV lo dotan de una capacidad única para tratar las afecciones cutáneas. Además, la presencia de polifenoles y derivados terpénicos contribuyen a la mejora de estas afecciones⁴⁷. Los mecanismos moleculares responsables de este efecto reparador cutáneo de los fenoles del AOV han sido ampliamente revisados⁴.

Protección frente a otras afecciones

Dadas las propiedades antioxidantes y antiinflamatorias de los componentes del AOV, el potencial terapéutico de esta grasa alimentaria podría llegar a todas las enfermedades que comparten estos componentes. Por ejemplo, el hidroxitirosol estimula la producción de condrocitos mediante la regeneración y la reparación del cartílago articular, por lo que ha sido utilizado en modelos experimentales de artritis que muestran resultados interesantes reduciendo el daño tisular y restaurando la homeostasis del cartílago, e incluso disminuyendo los niveles de ácido úrico⁴⁸. Esta molécula también ayuda a prevenir la osteoporosis ya que su consumo tiene efectos positivos en la formación y crecimiento de los huesos⁴⁹. Además, el oleocantal inhibe la óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) en los condrocitos, contribuyendo a la mejora de la artritis¹⁷.

Por otro lado, el hidroxitirosol protege la retina y la salud ocular específicamente, mejorando la regeneración del epitelio pigmentario de la retina, la degeneración macular y el glaucoma, causados por el estrés oxidativo⁵⁰.

Un estudio reciente ha demostrado la actividad analgésica, antipirética y antiinflamatoria del AOV, así como su capacidad para actuar de forma sinérgica con el ibuprofeno mejorando sus propiedades, lo que, como ya se ha comentado, plantea la posibilidad de aplicar terapias combinadas para así poder disminuir dosis de fármacos y por consiguiente sus efectos secundarios²².

REFLEXIONES/CONCLUSIONES

Este capítulo resume las evidencias científicas obtenidas hasta la fecha, que justifican el uso del AOV y sus componentes bioactivos en la

prevención de algunas enfermedades de base oxidativa, inflamatoria y proliferativa. Tras los estudios observacionales que muestran un efecto beneficioso de la dieta mediterránea y del AOV (principal componente graso de esta dieta) sobre patologías crónicas, los estudios de investigación han demostrado los mecanismos moleculares que ejercen los compuestos minoritarios del AOV, fenoles y triterpenos, y que justifican estas propiedades beneficiosas. La acumulación de evidencias sugiere el valor emergente de estos compuestos para la prevención de patologías crónicas como son las ECV, la diabetes, el cáncer y las enfermedades neurodegenerativas, entre otras.

En resumen, con los datos analizados, podemos concluir que el AOV y sus componentes minoritarios, compuestos fenólicos y triterpenos, pueden ejercer efectos beneficiosos para la salud mediante distintos mecanismos (Fig. 4):

- Actividad antioxidante sobre lípidos y distintas moléculas celulares.
- Aumento del colesterol HDL y mejora de su funcionalidad.
- Disminución de la inflamación.
- Mejorar la función endotelial.
- Disminución de la presión arterial sistólica.
- Modulación de la apoptosis.
- Disminución de la proliferación.
- Disminución de la angiogénesis.
- Actividad antimicrobiana.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo es parte de la tesis doctoral de Estefanía Sánchez Rodríguez, y ha sido escrito en el Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos "José Mataix" de la Universidad de Granada.

CONFLICTOS DE INTERESES

Los autores declaran que no existe ningún conflicto de interés.

BIBLIOGRAFÍA

1. Covas MI, Fito M, de la Torre R. Minor Bioactive Olive Oil Components and Health: Key Data for Their Role in Providing Health Benefits in Humans. In Olive and Olive Oil Bioactive Constituents. Dimitrios Boskou, editor AOCS Press. 31-52, Illinois, 2015.
2. Ray NB, Lam NT, Luc R, Bonvino N, Karagiannis TC. Cellular and Molecular Effects of Bioactive Phenolic Compounds in Olives and Olive Oil. In Olive and Olive Oil Bioactive Constituents. Dimitrios Boskou, editor AOCS Press. 53-91, Illinois, 2015.
3. Estruch R, Ros, E, Salas-Salvado, *et al.* Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet. *N Engl J Med.* 2013;368:1279-90.
4. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition, and Allergies (NDA). Scientific Opinion on the Substantiation of Health Claims Related to Polyphenols in Olive Oil and Protection of LDL Particles from Oxidative Damage. *EFSA J.* 2011;9:2033.
5. EFSA Panel on Dietetic Products; Nutrition and Allergies (NDA). Scientific Opinion on the substantiation of a health claim related to polyphenols in olive and maintenance of normal blood HDL-cholesterol concentrations (ID 1639, further assessment) pursuant to Article 13 of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA J.* 2012;10:2848.
6. Covas MI, Nyssönen K, Poulsen HE, *et al.* EUROLIVE Study Group. The effect of polyphenols in olive oil on heart disease risk factors: a randomized trial. *Ann Intern Med.* 2006;145(5):333-41.
7. Ramírez-Tortosa MC, Granados S, Quiles JL. Chemical composition, types and characteristics of olive oil. In Oliveoil and health. Ed. CABI 45-63, Cambridge, 2006.
8. Visioli F, Galli C, Grande S, *et al.* Hydroxytyrosol excretion differs between rats and humans and depends on the vehicle of administration. *J Nutr.* 2003;133:2612-5.
9. Pozo OJ, Pujadas M, Biel Gleeson S, *et al.*, Liquid chromatography tandem mass spectrometric determination of triterpenes in human fluids: Evaluation of markers of dietary intake of olive oil and metabolic disposition of oleanolic acid and maslinic acid in humans. *Ann Chim Acta* 2017;16:990:84-95.
10. Gorzynik-Debicka M, Przychodzen P, Cappello F, *et al.* Potential Health Benefits of Olive Oil and Plant Polyphenols. *Int J Mol Sci.* 2018;28:19(3).pii:E686.
11. Robles-Almazan M, Pulido-Moran M, Moreno-Fernandez J, *et al.* Hydroxytyrosol: Bioavailability, toxicity, and clinical applications. *Food Res Int.* 2018;105:654-667.
12. Rodriguez-Rodriguez R. Oleanolic acid and related triterpenoids from olives on vascular function: molecular mechanisms and therapeutic perspectives. *Curr Med Chem.* 2015;22(11):1414-25.
13. Sánchez-Quesada C, López-Biedma A, Warleta F, Campos M, Beltrán G, Gaforio JJ. Bioactive properties of the main triterpenes found in olives, virgin olive oil, and leaves of *Olea europaea*. *J Agric Food Chem.* 2013;61(50):12173-82.
14. Lucas L, Russell A, Keast R. Molecular mechanisms of inflammation. Anti-inflammatory benefits of virgin olive oil and the phenolic compound oleocanthal. *Curr Pharm Des.* 2011;17:754-68.
15. Hernández A, Fernández-Castillejo S, Farràs M, *et al.* Olive Oil Polyphenols Enhance High-density Lipoprotein Function in Humans. *Ather Tromb Vasc Biol.* 2014;34:2115-9.
16. Farràs M, Valls R. M, Fernández-Castillejo S, *et al.* Olive Oil Polyphenols Enhance the Expression of Cholesterol Efflux Related Genes in Vivo in Humans: A Randomized Controlled Trial. *J Nutr Biochem.* 2013;24:1334-9.
17. De Winther MP, Kanters E, Kraal G, Hofker MH. Nuclear factor kappaB signaling in atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25:904-14.
18. Tangney CC, Rasmussen HE. Polyphenols, inflammation, and cardiovascular disease. *Curr Atheroscler Rep.* 2013;15:324-40.
19. Souza PAL, Marcadenti A, Portal VL. Effects of Olive Oil Phenolic Compounds on Inflammation in the Prevention and Treatment of Coronary Artery Disease. *Nutrients.* 2017;9(10).pii:E1087.
20. Abe R, Beckett J, Nixon A, Rochier A, Yamashita N, Sumpio B. Olive oil polyphenol oleuropein inhibits smooth muscle cell proliferation. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2011;41:814-20.
21. Casas R, Sacanella E, Urpí-Sardà M, *et al.* Long-Term Immunomodulatory Effects of a Mediterranean Diet in Adults at High Risk of Cardiovascular Disease in the PREvención con DIeta MEDiterránea (PREDIMED) Randomized Controlled Trial. *J Nutr.* 2016;146(9):1684-93.
22. Osman WA, Labib DA, Abdelhalim MO, Elrokh EM. Synergistic analgesic, anti-pyretic and anti-inflammatory effects of extra virgin olive oil and ibuprofen in different experimental models of albino mice. *Int J Rheum Dis.* 2017;20:1326-36.

23. Perona JS, Cabello-Moruno R, Ruiz-Gutierrez V. The role of virgin olive oil components in the modulation of endothelial function. *J Nutr Biochem*. 2006;17(7):429-45.
24. Papageorgiou N, Tousoulis D, Psaltopoulou T, et al. Divergent anti-inflammatory effects of different oil acute consumption on healthy individuals. *Eur J Clin Nutr*. 2011;65:514-9.
25. Martín-Peláez S, Castañer O, Konstantinidou V, et al. Effect of olive oil phenolic compounds on the expression of blood pressure-related genes in healthy individuals. *Eur J Nutr*. 2017;56:663-70.
26. Hohmann C D, Cramer H, Michalsen A, et al. Effects of high phenolic olive oil on cardiovascular risk factors: A systematic review and meta-analysis. *Phytomedicine*. 2015;22:631-40.
27. Valero-Muñoz M, Martín-Fernández B, Ballesteros S, et al. Protective effect of a pomace olive oil concentrated in triterpenic acids in alterations related to hypertension in rats: Mechanisms involved. *Mol Nutr Food Res*. 2014;58:376-83.
28. Salas-Salvadó J, Bulló M, Estruch R, et al. Prevention of diabetes with Mediterranean diets: a subgroup analysis of a randomized trial. *Ann Intern Med*. 2014;160(1):1-10.
29. Lasa A, Miranda J, Bulló M, Casas R, et al. Comparative effect of two Mediterranean diets versus a low-fat diet on glycaemic control in individuals with type 2 diabetes. *Eur J Clin Nutr*. 2014;68(7):767-72.
30. Santangelo C, Filesi C, Vari R, et al. Consumption of extra-virgin olive oil rich in phenolic compounds improves metabolic control in patients with type 2 diabetes mellitus: a possible involvement of reduced levels of circulating visfatin. *J Endocrinol Invest*. 2016;39(11):1295-1301.
31. Silva S, Sepodes B, Rocha J, et al. Protective effects of hydroxytyrosol-supplemented refined olive oil in animal models of acute inflammation and rheumatoid arthritis. *J Nutr Biochem*. 2015;26:360-8.
32. Wainstein J, Ganz T, Boaz M, et al. Olive leaf extract as a hypoglycemic agent in both human diabetic subjects and in rats. *J Med Food*. 2012;15(7):605-10.
33. de Bock M, Derraik JG, Brennan CM, et al. Olive (*Olea europaea* L.) leaf polyphenols improve insulin sensitivity in middle-aged overweight men: a randomized, placebo-controlled, crossover trial. *PLoS One*. 2013;8(3):e57622.
34. Schwingshack L and Hoffmann G. Adherence to Mediterranean diet and risk of cancer: an updated systematic review and meta-analysis of observational studies. *Cancer Med*. 2015;4:1933-47.
35. Fabiani R. Anti-cancer properties of olive oil secoiridoid phenols: a systematic review of in vivo studies *Food Funct* 2016;7:4145-59.
36. Bulotta S, Corradino R, Celano M, et al. Antioxidant and antigrowth action of peracetylated oleuropein in thyroid cancer cells. *J Mol Endocrinol*. 2013;51:181-9.
37. Ahmad Farooqi A, Fayyaz S, Silva AS, et al. Oleuropein and Cancer Chemoprevention: The Link is Hot. *Molecules*. 2017;29;22:pii:E705.
38. Pei T, Meng Q, Han J, et al. Oleocanthal inhibits growth and metastasis by blocking activation of STAT3 in human hepatocellular carcinoma. *Onco Targets Ther*. 2016; DOI: 10.18632/oncotarget.9782
39. Angeloni C, Malaguti M, Barbalace MC, Hrelia S. Bioactivity of Olive Oil Phenols in Neuroprotection. *Int J Mol Sci*. 2017;18(11):pii:E2230.
40. Soni M, Prakash C, Sehwal S, Kumar V. Protective effect of hydroxytyrosol in arsenic-induced mitochondrial dysfunction in rat brain. *J Biochem Mol Toxicol*. 2017;31(7); DOI: 10.1002/jbt.21906
41. Katsiki M, Chondrogianni N, Chinou I, Rivett AJ, Gonos ES. The olive constituent oleuropein exhibits proteasome stimulatory properties in vitro and confers life span extension of human embryonic fibroblasts. *Rejuvenation Res*. 2007;10:157-72.
42. Farr SA, Price TO, Dominguez LJ, et al. Extra virgin olive oil improves learning and memory in SAMP8 mice. *J Alzheimers Dis*. 2012;28:81-92.
43. Monti MC, Margarucci L, Riccio R, Casapullo A. Modulation of tau protein fibrillization by oleocanthal. *J Nat Prod*. 2012;75:1584-8.
44. Medina E, De Castro A, Romero C, Brenes M. Comparison of the concentrations of phenolic compounds in olive oils and other plant oils: correlation with antimicrobial activity. *J Agric Food Chem*. 2006;54:4954-61.
45. Brenes M, Medina E, Romero C, De Castro A. Antimicrobial activity of olive oil. *Agro Food Ind Hi-Tech*. 2007;18:6-8.
46. Crisante F, Taresco V, Donelli G, et al. Antioxidant Hydroxytyrosol-Based Polyacrylate with Antimicrobial and Antiadhesive Activity Versus *Staphylococcus Epidermidis*. *Adv Exp Med Biol*. 2016;901:25-36.

47. Lin TK, Zhong L, Santiago JL. Anti-Inflammatory and Skin Barrier Repair Effects of Topical Application of Some Plant Oils. *Int J Mol Sci.* 2017;19(1):pii:E70; DOI: 10.3390/ijms19010070
48. Oliviero F, Scanu A, Zamudio-Cuevas Y, Punzi L, Spinella P. Anti-inflammatory effects of polyphenols in arthritis. *J Sci Food Agric.* 2018;98(5):1653-9.
49. Hagiwara K, Goto T, Araki M, Miyazaki H, Hagiwara H. Olive polyphenol hydroxytyrosol prevents bone loss. *Eur J Pharmacol.* 2011;662:78-84.
50. Zhu L, Liu Z, Feng Z, *et al.* Hydroxytyrosol protects against oxidative damage by simultaneous activation of mitochondrial biogenesis and phase II detoxifying enzyme systems in retinal pigment epithelial cells. *J Nutr Biochem.* 2010;21:1089-98.