

las proteínas estructurales de la pared de la aorta, sobre todo la elastina y el colágeno, que conduce a una destrucción de la arquitectura de la capa media arterial y a la dilatación progresiva de la arteria. Dicha degradación es mediada por distintas moléculas de una familia de endopeptidasas denominadas metaloproteinasas (MMP), entre ellas la colagenasa-1 y la estromelisin-1<sup>2</sup>. En este sentido, es de gran interés conocer la naturaleza de las células que infiltran la pared arterial en el lugar donde se forman los aneurismas, para profundizar en el conocimiento de su patogenia. En el trabajo que comentamos, los autores estudian las muestras de tejido fresco de AAA de 25 pacientes de edad media a avanzada, con el objetivo de caracterizar los linfocitos presentes en estas muestras. En primer lugar, destacan que los infiltrados celulares, formados por linfocitos B y T, además de macrófagos, a diferencia de lo que ocurre en la arteriosclerosis no complicada con la aparición de aneurismas, no se limitan a la íntima, sino que también afectan a las capas más externas de la pared aórtica, lo que coincide con los resultados de estudios previos. Al comparar a las poblaciones de linfocitos de los AAA con las de la sangre periférica, observan que en ambas predominan los linfocitos T, pero en los AAA los linfocitos B son más abundantes, e incluso en algunos casos se encuentran en una proporción similar a la de los linfocitos T. Los autores sugieren que esta mayor proporción de linfocitos B podría desempeñar un papel importante en la respuesta inmune e inflamatoria presente en la pared de los AAA. Asimismo, la mayoría de los linfocitos T y B de los AAA eran positivos para las moléculas de activación celular, mientras que no lo eran los de la sangre periférica. Los linfocitos B de los AAA expresaban la molécula inducible CD80, que podría actuar como presentadora de antígenos a los linfocitos T, lo que apuntaría a una interacción entre los linfocitos B y T de los AAA en la génesis de la reacción inflamatoria. Tanto los linfocitos B como los T de las AAA mostraban marcadores de memoria celular, lo que sugiere que las células con memoria, y con una menor dependencia de señales de reconocimiento de antígenos, serían las que preferentemente migrarían al interior de la pared arterial. Además, los linfocitos B de los AAA podrían formar, ocasionalmente, folículos linfoides y centros germinativos, es decir, órganos linfoides ectópicos. Por otra parte, en este estudio se hallan marcadores en los linfocitos de los AAA que indican una menor capacidad de migrar, lo que favorecería su permanencia en las lesiones. Los autores destacan la similitud entre los linfocitos de los AAA y de otras enfermedades inflamatorias crónicas, y el carácter inflamatorio y autoinmune de la

patogenia de los AAA. En síntesis, el trabajo de Ocaña et al nos permite profundizar en la patogenia de los AAA a través del estudio de las poblaciones de linfocitos presentes en estas lesiones arteriales. Cabe destacar el cierto predominio de los linfocitos B, así como la presencia de marcadores de activación celular y de interacción entre los linfocitos B y T, al igual que de marcadores de memoria celular y de escasa tendencia a migrar o de permanencia en las lesiones. Por último, y desde el punto de vista preventivo, el 96% de los pacientes del estudio que aquí comentamos tenía antecedentes de tabaquismo, y el 72%, de hipertensión arterial, lo que abunda en el papel de los factores aterogénicos en el origen de esta enfermedad.

## X. Pintó Sala

### Bibliografía

1. Ernst C. Abdominal aortic aneurisms. *N Engl J Med* 1993;328:1167-72.
2. Prall AS, Longo GM, Mayhan WG, Walke EA, Fleckten B, Thompson RW, et al. Doxycycline in patients with abdominal aortic aneurisms and in mice: comparison of serum levels and effect of aneurysm growth in mice. *J Vasc Surg* 2002;35:923-9.

## ***Effect of olive oil minor components on oxidative stress and arachidonic acid mobilization and metabolism by macrophages RAW 264.7***

Efecto de los componentes minoritarios del aceite de oliva en el estrés oxidativo y la movilización y metabolismo del ácido araquidónico en macrófagos RAW 264.7

J.J. Moreno

*Free Rad Biol Med* 2003;35:1073-81.

Los componentes minoritarios del aceite virgen de oliva pueden explicar los efectos saludables de la dieta mediterránea en el sistema cardiovascular y el desarrollo del cáncer. La producción descontrolada de especies reactivas de oxígeno (ROS) y metabolitos del ácido araquidónico (AA) contribuye a la patogenia de la enfermedad cardiovascular y el cáncer, y las células inflamatorias infiltradas en la placa de ateroma o en un tumor son una de las fuentes mayoritarias de ROS e eicosanoides. Nos propusimos determinar los efectos del escualeno, el  $\beta$ -sitosterol y el tirosol, representativos, respecti-

vamente, de los hidrocarburos, esteroides y polifenoles del aceite de oliva, sobre los valores del anión superóxido ( $O_2^-$ ), del peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y el óxido nítrico (NO). Además, estudiamos la liberación de AA y la producción de eicosanoides por macrófagos RAW 264.7 estimulados con ésteres de forbol (PMA). El  $\beta$ -sitosterol y el tirosol redujeron la producción de  $O_2^-$  y  $H_2O_2$  inducida por PMA, y el tirosol atrapó el  $O_2^-$  liberado por un sistema generador de ROS. Estos efectos se correlacionaron con una reducción en la liberación de  $[^3H]AA$ , la expresión de ciclooxigenasa-2 (COX-2) y la síntesis de prostaglandina  $E_2$ /leucotrieno  $B_4$  en cultivos de RAW 264.7 estimulados con PMA. El  $\beta$ -sitosterol produjo sus efectos tras una preincubación de 3-6 h. El tirosol inhibió la liberación de  $[^3H]AA$  inducida por ROS exógenas. El  $\beta$ -sitosterol y el tirosol también redujeron la liberación de NO inducida por PMA, que se correlacionó con una reducción en los valores de la óxido nítrico sintasa inducible (iNOS), lo que puede estar correlacionado con la modulación de la activación de NF $\kappa$ B. Se necesitan más estudios para incrementar nuestra visión de los efectos saludables potenciales de los componentes minoritarios del aceite de oliva extra virgen.

## COMENTARIO

*El aceite de oliva es un componente fundamental de la denominada dieta mediterránea tradicional asociada con efectos beneficiosos sobre los trastornos ligados al estrés oxidativo, como el desarrollo de aterosclerosis, cáncer, enfermedades neurodegenerativas e incluso envejecimiento. Los beneficios del consumo de dietas ricas en ácido oleico, un ácido graso monoinsaturado, frente a las dietas ricas en ácidos grasos saturados, sobre los factores lipídicos de riesgo cardiovascular habían sido ya previamente establecidos. El papel de otros componentes menores de la fracción insaponificable del aceite de oliva, como el escualeno o los esteroides y de componentes menores presentes en gran abundancia en el aceite de oliva virgen como los compuestos fenólicos (tirosol, hidroxitirosol, oleuropeína, lignanos...), ha adquirido gran interés en los últimos años dada la capacidad antioxidante observada en mayor o menor grado por estos compuestos. En cuanto a la capacidad de secuestrar radicales libres, o de reducir la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), los componentes menores del aceite de oliva virgen más estudiados han sido los compuestos fenólicos seguidos de los fitosteroides. Un gran número de estudios in vitro y en modelos animales ha mostrado la capacidad antioxidante, antiinflamatoria y antiagregante plaquetaria*

*de los compuestos fenólicos. En los estudios realizados en humanos existen, sin embargo, discrepancias en cuanto a la capacidad antioxidante in vivo, a las dosis que razonablemente pueden administrarse de aceite de oliva, de los compuestos fenólicos del aceite de oliva. Estas discrepancias pueden atribuirse a los distintos diseños utilizados en los estudios. Hasta donde sabemos no existen estudios en humanos, con capacidad de proporcionar evidencia, sobre el efecto del  $\beta$ -sitosterol procedente del aceite de oliva.*

*En este artículo, a través de una serie de experimentos in vitro, se examina la capacidad de secuestrar especies reactivas de oxígeno (ROS) y de influir en la liberación de ácido araquidónico (AA) y formación de sus metabolitos mediada por ROS de 3 tipos de componentes menores del aceite de oliva, los hidrocarburos, representados por el escualeno, los esteroides, representados por el  $\beta$ -sitosterol, y los compuestos fenólicos, representados por el tirosol, en macrófagos murinos RAW 264.7.*

*El resultado más sobresaliente de este estudio es la demostración experimental de la capacidad del tirosol de reducir la liberación de AA, generada por la formación de ROS en macrófagos, y por ello la consiguiente producción de sus metabolitos, metabolitos con capacidad de producción de radicales libres en efecto cascada con el consiguiente efecto exponencial del proceso oxidativo de ácidos grasos.*

*La demostración de la capacidad de inhibición de la NOS como mecanismo responsable de la reducción de síntesis de  $^*NO$  por el  $\beta$ -sitosterol es también un resultado notable en el marco de los conocimientos actuales sobre el tema. Muestra un mecanismo coadyuvante al efecto potenciador del secuestro de NO por la presencia del anión superóxido (presente en el modelo) descrito para otros antioxidantes<sup>1,2</sup>.*

*La aportación más importante de este estudio es encadenar los distintos mecanismos por los que el tirosol puede ejercer su capacidad antioxidante y antiinflamatoria: el secuestro de ROS, generado tanto por estimulación de los macrófagos por PMA como por acción de la xantina oxidasa, por el tirosol (figs. 1 y 4), junto con la capacidad de este compuesto fenólico de reducir la liberación de AA generada por la formación de ROS (fig. 3), así como la capacidad de reducir la formación de los metabolitos de AA, PGE2 y LTB4 (fig. 5), vía la inhibición de la ciclooxigenasa-2 (COX-2) (fig. 2) por medio de la inhibición del factor de transcripción de la enzima, el factor NF $\kappa$ B (tabla 3).*

*Los resultados obtenidos para el  $\beta$ -sitosterol son más parciales y reflejan únicamente partes del sistema mecanístico, como el secuestro de ROS, y solamente de los ROS los generados vía estimulación de los macrófagos por PMA (figs. 1 y 4). La capacidad de*

reducir la formación de metabolitos de AA, se da únicamente tras una larga incubación, vía inhibición de la ciclooxigenasa (COX) 2 (fig. 2,) por medio de la inhibición del factor de transcripción de la enzima, el factor NFκB (tabla 3). La reducción de la liberación de AA en el medio celular no se pudo comprobar.

La aseveración del autor en las conclusiones de que el β-sitosterol modula la liberación de AA es una extrapolación de los resultados obtenidos para el tirosol y se apoya en la similitud con los procesos mecánicos asociados a la liberación de AA generados por ROS. También la aseveración de que el proceso de liberación de AA y generación de metabolitos viene mediado por la acción de la lipooxigenasa es una extrapolación en base a los resultados obtenidos por otros autores, citados en el trabajo, no una conclusión derivada del marco experimental del trabajo.

Desvelar los mecanismos de actuación del tirosol y los posibles del β-sitosterol en la cascada de AA abre camino para conocer si otros compuestos siguen esta vía de actuación. Otros trabajos del autor han examinado esta vía en el caso del resveratrol, compuesto fenólico presente en el vino. El sistema experimental en su conjunto puede ser muy útil para testar el posible papel protector frente al estrés oxidativo de nutraceuticos o moléculas de síntesis. Un punto discutible es, sin embargo, la extrapolación de estos efectos in vivo para compuestos individuales, especialmente en humanos tal y como refiere la discusión. La mínima concentración testada, 50 μM de tirosol, equivale a 6,9 mg/l. Considerando que el tirosol total, proveniente de la forma libre y de las conjugadas, de un aceite de oliva virgen de contenido fenólico medio (250 mg/kg) puede alcanzar una concentración de alrededor de 35 mg/l<sup>3,4</sup>, y que la vida media del tirosol en el organismo humano se ha establecido alrededor de 8 h<sup>3,5</sup>, se requeriría una ingestión de aceite de oliva virgen fuera de las dosis razo-

nables de consumo. Por otra parte, en el organismo humano, las concentraciones de tirosol libre son indetectables<sup>6</sup>. El tirosol, como el hidroxitirosol, en el organismo humano se encuentra en formas conjugadas preferentemente glucuronconjugados<sup>6</sup>. La posible actividad biológica de los compuestos fenólicos del aceite de oliva debe adjudicarse a los metabolitos biológicos del aceite de oliva, no a las especies primarias presentes en la forma vegetal. La aplicación del modelo experimental descrito en este trabajo a metabolitos biológicos del tirosol o de otros compuestos fenólicos de forma aislada, o conjunta, sería un gran paso para testar los mecanismos de actuación de estos compuestos y sus efectos en el organismo humano. Los trabajos previos del autor en modelos animales (referencia 11 del estudio) sustentan dicha hipótesis.

**M. Covas**

#### Bibliografía

1. López-López G, Moreno L, Cogolludo A, Galisteo M, Tamargo J, Duarte J, et al. NO scavenging and NO protecting effects. Abstracts of the 1st International Conference on Polyphenols and Health. Vichy, France; 2004, November 2004; p. 9-22.
2. Duarte J, Jiménez R, O'Valle F, Galisteo M, Pérez-Palencia R, Vargas F, et al. Protective effects of the flavonoid quercetin in chronic nitric oxide deficient rats. *J Hypertens* 2002;20:1843-54.
3. Miró E, Farré M, Covas MI, Ortuño J, Menoyo E, Lamuela RM, et al. Capillary gas chromatography-mass spectrometry quantitative determination of hydroxytyrosol and tyrosol in human urine after olive oil intake. *Anal Biochem* 2001;294:63-72.
4. Miró-Casas E, Covas MI, Fitó M, Farré-Albadalejo M, Marrugat J, De la Torre R. Tyrosol and hydroxytyrosol are absorbed from moderate and sustained doses of virgin olive oil in humans. *Eur J Clin Nutr* 2003;57:186-90.
5. Miró E, Farré M, Covas MI, Fitó M, Lamuela R, De la Torre R. Tyrosol bioavailability in humans after ingestion of virgin olive oil. *Clin Chem* 2001;47:341-3.
6. Miró-Casas E, Covas MI, Farré M, Fitó M, Ortuño J, Weinbrenner T, et al. Hydroxytyrosol disposition in humans. *Clin Chem* 2003;49: 945-52.