



Effects of dietary virgin olive oil on serum lipids levels in rats

Fatemeh Mohagheghi¹, Mohammad Reza Bigdeli^{1*}, Bahram Rasoulia², Ali Asghar Zeinanloo³

1. Faculty of Biological Science, Shahid Beheshti University, G.C. Tehran, Iran

2. Razi Herbal Medicines Research Center, Lorestan University of Medical Sciences, Khoramabad, Iran

3. Seed and Plant Improvement Institute, Karaj, Iran

Received: 12 July 2009

Accepted: 3 Jan 2010

Abstract

Introduction: Because of the relationship between olive oil consumption and low cardiovascular mortality and morbidity, we investigated the effects of dietary virgin olive oil (VOO) on serum lipids profile.

Methods: Experimental mature male rats were treated with 0.25, 0.5 and 0.75 ml/kg/day of VOO for 30 days via gastric gavage, while the control group was treated the same way with saline (n=6). At the end of day 30, serum cholesterol, triglycerides, HDL cholesterol (HDL-c), LDL cholesterol (LDL-c) and VLDL cholesterol (VLDL-c) levels and atherogenic indices were determined in rats blood.

Results: Analyses showed that the main unsaturated fatty acid in VOO is oleic acid. After VOO administration, cholesterol, triglyceride, HDL-c and VLDL-c levels were significantly increased compared to the control group ($P < 0.05$). LDL-c levels were decreased by all doses of virgin olive oil in a dose dependent manner and this reduction reached statistical significance in the 0.75 ml/Kg/day group vs. control. Olive oil significantly attenuated LDL-c /HDL-c ratio in a dose dependent manner (in 0.25, 0.5, and 0.75 ml/kg/day groups was 4.27 ± 0.64 , 3.85 ± 0.72 , and 1.78 ± 0.48 , respectively compared to 8.55 ± 0.2 in control group). VOO decreased TG/HDL-c ratio in 0.5 and 0.75 ml/kg/day groups (13.21 ± 1.07 and 12.45 ± 0.41 , respectively) vs. 16.51 ± 0.94 in control group.

Conclusion: Results of this study showed that VOO can attenuate atherogenic indices possibly due to the high presence of oleic acid in this oil.

Key words: Virgin olive oil, Rat, Blood lipids, Atherogenic index

*Corresponding author e-mail: bigdelimohammadreza@yahoo.com
 Available online @:www.phypha.ir/ppj

بررسی اثر روغن زیتون بکر خوراکی بر میزان چربی های خون در موش صحرائی

فاطمه محقق^۱، محمدرضا بیگدلی^{۱*}، بهرام رسولیان^۲، علی اصغر زینانلو^۳

۱. دانشکده علوم زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

۲. مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران

۳. موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج، ایران

پذیرش: ۱۳ دی ۸۸

دریافت: ۲۱ تیر ۸۸

چکیده

مقدمه: به علت وابستگی مصرف روغن زیتون و نرخ پایین بیماریهای قلبی-عروقی هدف این مطالعه بررسی اثر روغن زیتون خوراکی بر پروفایل چربی های سرم خون بود. **روش ها:** موشهای صحرائی نر بالغ مورد آزمایش توسط روغن زیتون بکر، به مدت ۳۰ روز با دوزهای ۰/۲۵، ۰/۵ و ۰/۷۵ میلی لیتر بر کیلوگرم وزن بدن و موشهای صحرائی گروه شاهد با سالیان در همین مدت با روش گاوآژ تیمار شدند (n=۶). در پایان ۳۰ روز، میزان سطوح کلسترول، تری گلیسیرید، HDL، LDL، VLDL و شاخصهای آنروژنیک در سرم بررسی شد.

یافته ها: آنالیز نشان داد که اسید چرب غیر اشباع غالب در روغن زیتون بکر، اولئیک اسید است. سطوح کلسترول، تری گلیسیریدها، HDL و VLDL در دوزهای ۰/۲۵، ۰/۵ و ۰/۷۵ میلی لیتر بر کیلوگرم وزن بدن از روغن زیتون نسبت به گروه شاهد افزایش معنی دار داشت (P<۰/۰۵). سطح LDL در دوزهای مختلف کاهش وابسته به دوز را نشان داد که این کاهش در دوز ۰/۷۵ از لحاظ آماری در مقایسه با گروه شاهد معنی دار بود (P<۰/۰۵). شاخص LDL/HDL در دوزهای ۰/۲۵، ۰/۵ و ۰/۷۵ میلی لیتر بر کیلوگرم وزن بدن روغن زیتون در مقابل گروه شاهد به طور معنی دار و به صورت وابسته به دوز کاهش یافت (به ترتیب برابر با ۰/۶۴ ± ۴/۲۷، ۰/۷۲ ± ۳/۸۵ و ۰/۴۸ ± ۱/۷۸ در برابر گروه شاهد ۰/۲ ± ۸/۵۵). روغن زیتون بکر در دوزهای ۰/۵ و ۰/۷۵ شاخص TG/HDL را نسبت به گروه شاهد کاهش داد (به ترتیب ۱/۰۷ ± ۱۳/۲۱ و ۰/۴۱ ± ۱۲/۴۵ در مقابل ۰/۹۴ ± ۱۶/۵۱) (P<۰/۰۵).

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که روغن زیتون بکر سبب کاهش شاخصهای آنروژنیک شده که احتمالا به علت غنی بودن این روغن از اولئیک اسید است.

واژه های کلیدی: روغن زیتون بکر، موش صحرائی، چربی های خون، شاخص آنروژنیک

مقدمه

متحدہ امریکااست. ترکیب اسیدهای چرب رژیم غذایی، بر لیپیدهای خون اثر دارد و لیپوپروتئینهای خون با توسعه آترواسکلروز و بیماریهای ایسکمیک قلبی مرتبط هستند. سطوح بالای کلسترول پلاسما خصوصا در شکل LDL (low density lipoprotein)، فاکتور خطر مهمی برای بیماریهای کرونری قلبی (CHD: coronary heart disease) شناخته شده است. در

بیماریهای قلبی - عروقی اولین عامل مرگ و میر در ایالات

* نویسنده مسئول مکاتبات: bigdelimohammadreza@yahoo.com
وبگاه مجله: www.phypha.ir/ppj

سودمند این روغن شناخته شده است [۳]. البته اخیراً مشخص شده است که این روغن حاوی ترکیبات مینور با خواص بیولوژیکی نیز هست [۱۳].

بررسی اثر اسیدهای چرب موجود در رژیم غذایی بر سطح چربیهای پلاسما موضوع بسیاری از تحقیقات است [۵، ۱۲، ۱۴]. بسیاری از این تحقیقات آثار بهبود بخشی مصرف روغن زیتون، از جمله افزایش HDL [۴]، کاهش LDL [۶]، کاهش کلسترول و تری گلیسیرید [۲] و کاهش نسبت کلسترول به HDL را نشان داده اند. در بیماران مسن با مشکل هایپرلیپیدمیا، VOO سبب کاهش کلسترول و LDL سرم گردید [۱۲]. همچنین در مطالعه ای مشخص شد که مصرف روغن زیتون به صورت کامل، نسبت به مصرف ترکیباتش به طور مجزا، پروفایل لیپیدها را بیشتر بهبود می بخشد [۵].

هدف از این مطالعه، تعیین اسیدهای چرب موجود در روغن زیتون بکر از رقم زرد (که بیشترین رقم زیتون در ایران می باشد [۱۵]) و بررسی اثر آن بر پروفایل لیپیدهای سرم خون است.

مواد و روشها

زیتون رقم زرد از گونه *Olea europaea L.* که قسمت عمده زیتون ایران را تشکیل می دهد [۱۵]، از مرکز تحقیقاتی زیتون رودبار دستچین و همراه با هسته آسیاب شد. سپس بوسیله سانتریفوژ در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه روغن آن استخراج و در ظرفی تیره در دمای بین ۱۰ تا ۱۵ درجه سلسیوس نگهداری شد. سنجش اسیدیته روغن توسط روش سازمان جهانی استاندارد سازی (ISO/FDIS 660) انجام شد. میزان پراکسید طبق روش ISO 3960:2001 و ترکیب اسیدهای چرب موجود در روغن بوسیله کروماتوگرافی گاز (GC: Varian 3800, Australia) با روش ISO 5508:1990 مشخص شد، آنالیز ترکیبات فنولی و تکوفرونها با HPLC (Yonglin, South Korea) طبق روش ISO 9936:1997 انجام شد. میزان استرولهای موجود در روغن توسط کروماتوگرافی گاز (GC: Yonglin, South Korea) و با روش ISO 5725-1: 1994 مشخص گردید [۱۵].

موشهای صحرایی نژاد ویستار با وزن ۲۰۰-۳۰۰ گرم از پژوهشکده علوم واعصاب دانشگاه شهید بهشتی خریداری شده و

جدول ۱- پروفایل اسیدهای چرب نمونه روغن زیتون بکر مورد استفاده در آزمایش به صورت درصدی از کل اسیدهای چرب، به همراه سایر ترکیبات و خصوصیات این روغن

اسیدهای چرب	درصد
C16:0 (پالمیتیک اسید)	۱۵.۹۹
C16:1 (پالمیتولیک اسید)	۱.۰۲۴
C18:0 (استئاریک اسید)	۱۸.۱۵
C18:1 (اولئیک اسید)	۶۸.۸۲۲
C18:2 (لینولئیک اسید)	۹.۹۵۱
C18:3 (لینولنیک اسید)	۰.۶۰۲
C20:0 (آراشیدیک اسید)	۰.۳۸۳
C20:1 (گادولئیک اسید)	۰.۳۲۰
C22:0 (بهنیک اسید)	۰.۱۰۵
C24:0 (لیگنوسریک اسید)	۰.۹۷۹
میزان کل اسیدهای چرب اشباع	۱۹.۲۷۲
میزان کل اسیدهای چرب غیر اشباع با یک پیوند دوگانه	۷۰.۱۶۶
میزان کل اسیدهای چرب غیر اشباع با چند پیوند دوگانه	۱۰.۵۵۳
اسیدیته (درصد)	۰.۲۸
ارزش پراکسید (meqO ² /Kg oil)	۰.۳۴
ضریب خاموشی در K ₂₃₂	۲.۵۴
ضریب خاموشی در K ₂₇₀	۰.۰۷
ترکیبات مینور	میلی گرم بر کیلوگرم
آلفا تکوفرول	۲۱۰
پلی فنول کل	۳۲۰
کلسترول	۰.۰۰۰۵۴
بتا سیتوسترول	۱.۳۳۲

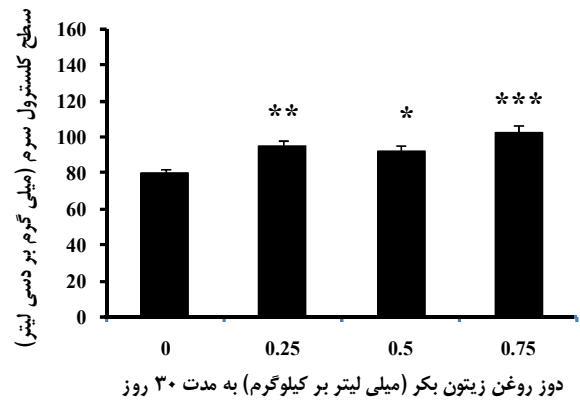
حالیکه سطوح بالای HDL فاکتوری ضد خطر برای CHD می باشد [۱۱]. در کشورهای مدیترانه ای بر خلاف مصرف بالای چربی (۴۰ درصد کل کالری) نرخ CHD و سطوح کلسترول پلاسما به طور وابسته ای کم هستند [۸، ۱۱]. در این کشورها غذای عادی مردم حاوی مقادیر بالایی از روغن زیتون است که غنی از اسیدهای چرب غیر اشباع با یک پیوند دوگانه است (MUFAs: mono unsaturated fatty acids) خصوصاً از نوع اولئیک اسید است [۲]، که به عنوان عامل مسؤل آثار

به میزان 400 میلی گرم در کیلوگرم وزن بدن بی هوش شدند و خونگیری صورت گرفت. سرم ها پس از سانتریفیوژ استحصال و منجمد گردید. سنجش HDL (HDL-C, direct)، تری گلیسیرید (GPO-PAP) و کلسترول (CHOD) با استفاده از کیت پارس آزمون (ایران) و دستگاه اتو آنالایزر (Lyasys, Roma, Italy) انجام شد (روش آنزیماتیک کالریمتری).

میزان وزن بدن، کلسترول، تری گلیسیرید، HDL، LDL، VLDL، LDL/HDL و TG/HDL در سرم خون با استفاده از نرم افزار SPSS V.11.0 و تست one-way ANOVA مورد آنالیز قرار می گرفت (روش مقایسه میانگین: LSD). داده ها به صورت Mean±SEM نمایش داده می شود. $P < 0.05$ از لحاظ آماری معنی دار در نظر گرفته شده است.

یافته ها

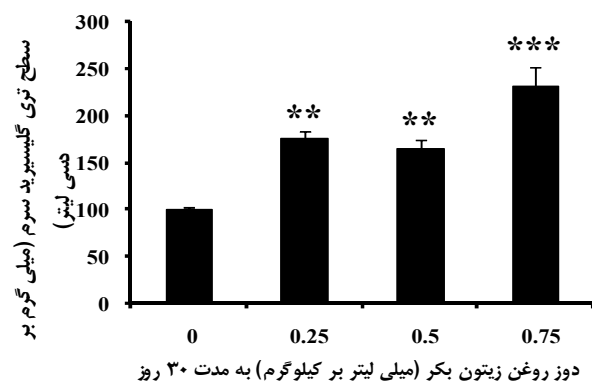
آنالیز VOO نشان داد که اسیدهای چرب غیر اشباع با یک پیوند دوگانه قسمت اعظم اسیدهای چرب در این روغن را تشکیل می دهند. ترکیبات شیمیایی موجود در روغن زیتون بکری که به صورت خوراکی به موشهای صحرایی داده شد در جدول ۱ نشان داده شده است. افزایش وزن بدن موشهای صحرایی در ۳۰ روز مصرف دوزهای مختلف از روغن زیتون در مقایسه با گروه شاهد از لحاظ آماری تغییر معنی داری نداشت. (افزایش وزن بدن بین روز اول و سی ام در دوزهای ۰.۲۵، ۰.۵ و ۰.۷۵ میلی لیتر بر کیلوگرم وزن بدن بر روز روغن زیتون به ترتیب: 35.14 ± 4.32 ، 26.28 ± 4.36 و 30.71 ± 3.57 در مقابل گروه شاهد: 35.42 ± 2.24 گرم). روغن زیتون در دوزهای ۰.۲۵، ۰.۵ و ۰.۷۵ میلی لیتر بر کیلوگرم وزن بدن بر روز، سبب افزایش معنی دار سطح کلسترول خون در مقابل گروه شاهد شد (به ترتیب $P=0.006$ ، $P=0.019$ و $P=0.000$) (شکل ۱). روغن زیتون بکر خوراکی در دوزهای ۰.۲۵، ۰.۵ و ۰.۷۵ میلی لیتر بر کیلوگرم وزن بدن بر روز موجب افزایش معنی دار در سطح تری گلیسیرید سرم شد (به ترتیب $P=0.001$ ، $P=0.004$ و $P=0.000$) (شکل ۲). سطح HDL در گروه شاهد برابر 5.83 ± 0.28 و در دوزهای ۰.۲۵، ۰.۵ و ۰.۷۵ میلی لیتر بر کیلوگرم وزن بدن بر روز به ترتیب برابر با 10.41 ± 0.89 ، 11.41 ± 1.24 ، و 18.41 ± 1.24 میلی گرم بر دسی لیتر بود. این



شکل ۱- اثر روغن زیتون بکر (VOO) خوراکی بر سطح کلسترول سرم. مقایسه دوزهای مختلف VOO با گروه کنترل. (* = $P < 0.05$, ** = $P < 0.01$, *** = $P < 0.001$; $n=6$)

در دوره دوازده ساعته تاریکی-روشنایی در دمای ۲۲ درجه سلسیوس و با غذای استاندارد موشهای صحرایی (تهیه شده از انستیتو پاستور ایران) در مدت مطالعه نگهداری شدند. موشهای صحرایی به طور تصادفی به چهار گروه شش تایی تقسیم شدند: تیمارها شامل دوزهای ۰.۲۵، ۰.۵ و ۰.۷۵ میلی لیتر بر کیلوگرم وزن بدن بر روز، با روغن زیتون و گروه شاهد که با سالیین تیمار شد. دوزهای انتخابی بر اساس مطالعات انجام شده قبلی است [۷].

موشهای صحرایی به مدت ۳۰ روز با روغن زیتون بکر و یا سالیین در ساعت ۱۰ تا ۱۱ صبح، توسط روش گاواژ [۵] تیمار شدند. در روز سی ام، ۲ ساعت پس از گاواژ آخر، موشهای صحرایی بعد از توزین، با داروی کلرات هیدرات (مرک، آلمان)

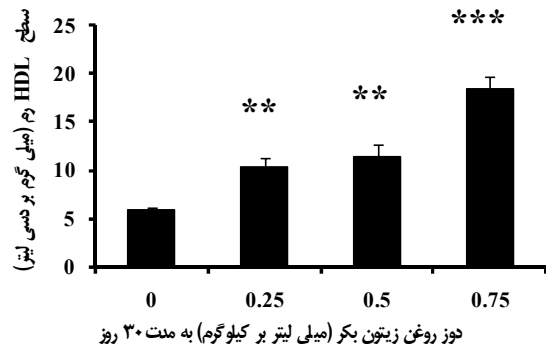


شکل ۲- اثر روغن زیتون بکر (VOO) خوراکی بر سطح تری گلیسیرید سرم. مقایسه دوزهای مختلف VOO با گروه کنترل. (** = $P < 0.01$, *** = $P < 0.001$; $n=6$)

دوزهای ۰.۵ و ۰.۷۵ میلی لیتر بر کیلوگرم وزن بدن بر روز موجب کاهش معنی دار نسبت تری گلیسیرید به HDL سرم شد (به ترتیب $P=0.014$ و $P=0.004$) شکل ۶.

بحث

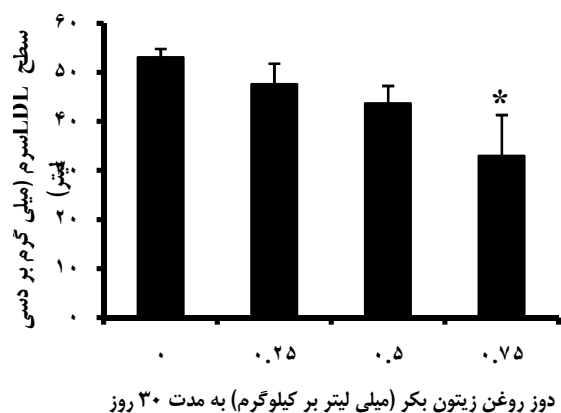
در این مطالعه، روغن زیتون بکر در دوزهای ۰.۲۵، ۰.۵ و ۰.۷۵ میلی لیتر بر کیلوگرم وزن بدن، تری گلیسیرید سرم را به طور وابسته به دوز افزایش داد که ممکن است به علت اثر تحریکی اولئیک اسید روی سنتز VLDL و یا فعالیت مهاری آن بر کاتابولیسم VLDL باشد [۱۰] و داده ها نیز در این بررسی نشان دادند که غلظت VLDL سرم خون به علت مصرف VOO بالا می رود. همچنین نتایج این تحقیق نشان دادند که روغن زیتون خوراکی سبب کاهش شاخص های آتروژنیک (شاخص LDL/HDL: در تمام دوزها به صورت وابسته به دوز و شاخص TG/HDL در دوز ۰.۵ و ۰.۷۵) می شود. از آنجا که سطوح بالای LDL فاکتور خطر برای CHD است و برعکس سطوح بالای HDL فاکتور ضد خطر است [۱۱] و در این مطالعه VOO، غلظت HDL سرم را افزایش و غلظت LDL را در دوز ۰.۷۵ کاهش داد، در نتیجه قرار دادن روغن زیتون در رژیم غذایی می تواند سبب کاهش بیماریهای مربوط به قلب و عروق شود. آزمایشهای متنوعی اثر روغن زیتون را بر لیپیدهای خون بررسی کرده اند. در تحقیق حاضر، دوزهای به کار برده شده VOO ۰.۲۵، ۰.۵ و ۰.۷۵ میلی لیتر بر کیلوگرم وزن بدن بود که تا حدی با نتایج دوز ۳ میلی لیتر روغن زیتون بر کیلوگرم وزن بدن (متناسب با ۳ درصد غذای موش صحرایی در روز) مطابقت دارد [۴]. از سوی دیگر تیمار انسانها با ۱۰۰ گرم روغن زیتون به مدت ۳ هفته، سبب کاهش کلسترول، تری گلیسیرید و LDL شده اما اثری بر HDL و نسبت LDL/HDL نداشته است [۲] در حالیکه در مطالعه حاضر دوزهای به کار برده شده باعث افزایش کلسترول و HDL و کاهش نسبت LDL/HDL شد. در مطالعه ای دیگر مشخص شده است که تیمار موشهای صحرایی با ۱۸۰ گرم بر کیلوگرم وزن بدن روغن زیتون به مدت ۲۱ روز موجب افزایش کلسترول و VLDL شده در حالیکه HDL و LDL را کاهش می دهد [۶]. لازم به ذکر است که دوز های منتخب در تحقیق حاضر



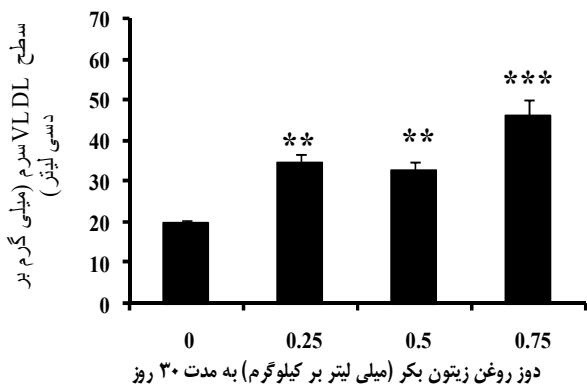
شکل ۳- اثر روغن زیتون بکر (VOO) خوراکی بر سطح HDL سرم. مقایسه دوزهای مختلف VOO با گروه کنترل ($P=0.001$, $P=0.004$, $P=0.000$; $n=6$).

افزایشها از لحاظ آماری معنی دار بود (شکل ۳).

سطح LDL با مصرف روغن زیتون بکر در تمام دوزها کاهش یافت ولی این کاهش فقط در دوز ۰.۷۵ از لحاظ آماری معنی دار بود ($P=0.017$) (شکل ۴). روغن زیتون سبب افزایش معنی دار VLDL در دوزهای ۰.۲۵، ۰.۵ و ۰.۷۵ میلی لیتر بر کیلوگرم وزن بدن بر روز نسبت به گروه شاهد گردید: (به ترتیب: $P=0.001$, $P=0.004$ و $P=0.000$) (شکل ۵). LDL/HDL در گروه شاهد 8.55 ± 0.2 بود، در حالیکه در دوزهای ۰.۲۵، ۰.۵ و ۰.۷۵ میلی لیتر بر کیلوگرم وزن بدن بر روز به ترتیب 4.27 ± 0.64 ، 3.85 ± 0.72 و 1.78 ± 0.48 بود و تمام این کاهشها از لحاظ آماری معنی دار بود (به ترتیب: $P=0.000$ ، $P=0.000$ و $P=0.000$) شکل ۶. روغن زیتون بکر خوراکی در



شکل ۴- اثر روغن زیتون بکر (VOO) خوراکی بر سطح LDL سرم. مقایسه دوزهای مختلف VOO با گروه کنترل ($P=0.005$; $n=6$).



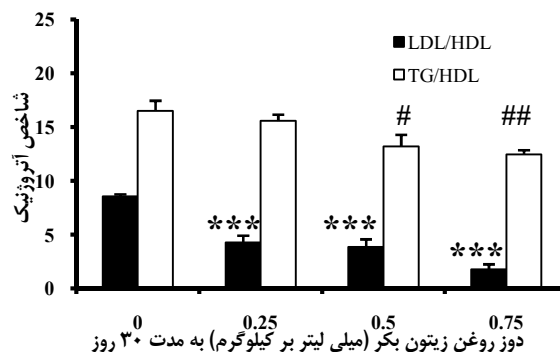
شکل ۵- اثر روغن زیتون بکر (VOO) خوراکی بر سطح VLDL سرم. مقایسه دوزهای مختلف VOO با گروه کنترل (n=6; $P < 0.001$, $P < 0.01$, $P < 0.001$).

البته مطالعات اخیر نشان داده اند که آثار سودمند روغن زیتون بکر نه فقط به خاطر غنی بودن آن از اولئیک اسید، بلکه به علت وجود پلی فنولها که پتانسیل آنتی اکسیدانی دارند نیز می باشد. در واقع روغن زیتون بکر حاوی مقادیر متنوعی از ترکیبات مینور با خواص بیولوژیکی نیز هست. از جمله این ترکیبات آلفا تگوفرول با خاصیت آنتی اکسیدانی، استرولها با خاصیت کاهش LDL پلاسما و فنولها میباشند که فنولها با افزایش محتوی کل فنولی LDL می توانند باعث کاهش اکسیداسیون آن شوند [۱۳]. مصرف چربی می تواند باعث چاقی شود، اما نتایج این مطالعه نشان داد VOO در دوزهای ۰.۲۵، ۰.۵ و ۰.۷۵ میلی لیتر بر کیلوگرم وزن بدن در مقایسه با گروه شاهد سبب افزایش وزن بدن نمی شود. روغن زیتون بکر خوراکی احتمالاً با کاهش شاخص های آتروژنیک، می تواند سبب کاهش خطر ابتلا به بیماری های قلبی-عروقی شود.

سپاسگزاری

این طرح با پشتیبانی مرکز تحقیقات داروهای گیاهی دانشگاه علوم پزشکی لرستان و دانشگاه شهید بهشتی انجام شده است.

(۰.۲۵، ۰.۵ و ۰.۷۵ میلی لیتر بر کیلوگرم وزن بدن موش صحرایی) تقریباً معادل با میزان VOO مصرفی در مناطق مدیترانه ای است (حدود ۲۵ میلی لیتر بر کیلوگرم وزن بدن). در بررسی دیگر، بیماران مسن با مشکل هایپرلیپیدمیا، روزانه با ۲۰ گرم روغن زیتون به مدت شش هفته تیمار شدند که در نهایت این تیمار سبب کاهش کلسترول و LDL سرم گردید [۱۲]. البته باید توجه داشت که در تحقیق حاضر، عملکرد روغن زیتون بر تعدیل لیپیدهای سرم در موشهایی که دچار هایپرلیپیدمیا هستند بررسی نگردید. در مطالعه ای مشخص شد که مصرف روغن زیتون به صورت کامل نسبت به مصرف ترکیباتش به طور مجزا پروفایل لیپیدها را بیشتر بهبود می بخشد. بنابراین مجزا کردن ترکیبات روغن زیتون و تکرار آزمایش حاضر می تواند از اهداف بعدی کار باشد [۵]. در این مطالعه تنها از رژیم غذایی استاندارد موشهای صحرایی و روغن زیتون استفاده شد، که می توان نتایج را با سایر رژیمهای غذایی خاص هم سنجید. برای مثال مطالعه ای نشان داد که مصرف غذای حاوی روغن زیتون بالا توسط انسان به مدت ده روز، در مقایسه با مصرف رژیمی غذایی غنی از کربوهیدرات و مقدار کمی روغن زیتون، HDL را بالاتر می برد، نسبت کلسترول به HDL و همچنین مقدار تری گلیسیرید را پایین تر می آورد [۱]. آنالیز VOO از رقم زرد نشان داد که این روغن غنی از اسیدهای چرب غیر اشباع با یک پیوند دوگانه از جمله اولئیک اسید است (۶۸.۸۲۲ درصد). در نتیجه ی بالا رفتن مصرف این روغن، میزان بیشتری از اولئیک اسید برای بدن فراهم می شود، اسید چربی که غیر اشباع است و طبق مطالعات انجام شده مسئول اثرات سودمند این روغن است [۳].



شکل ۶- اثر روغن زیتون بکر (VOO) خوراکی بر شاخصهای سخت شدن رگ. مقایسه دوزهای مختلف VOO با گروه کنترل (n=6; $P < 0.001$, $P < 0.01$, $P < 0.05$, $P < 0.001$).

References

- [1] Ahuja KD, Pittaway JK, Ball MJ, Effects of olive oil and tomato lycopene combination on serum lycopene, lipid profile, and lipid oxidation. *Nutrition* 22 (2006) 259-65.
- [2] Baggio G, Pagnan A, Muraca M, Martini S, Opportuno A, Bonanome A, Ambrosio GB, Ferrari S, Guarini P, Piccolo D, Manzato E, Corrocher R, Crepaldi G, Olive-oil-enriched diet: effect on serum lipoprotein levels and biliary cholesterol saturation. *Am J Clin Nutr* 47 (1988) 960-4.
- [3] De La Cruz JP, Quintero L, Villalobos M., De La Cuesta FS, Lipid peroxidation and glutathione system in hyperlipidemic rabbit: influence of olive oil administration. *Biochim-Biophys-Acta* 1485 (2000) 36-44.
- [4] Faine LA, Diniz YS, Galhardi CM, Rodrigues HG, Burneiko RC, Santana LS, Cicogna AC, Novelli EL, Synergistic action of olive oil supplementation and dietary restriction on serum lipids and cardiac antioxidant defenses. *Can J Physiol Pharmacol* 82 (2004) 969-75.
- [5] Faine LA, Rodrigues HG, Galhardi CM, Ebaid GM, Diniz YS, Padovani CR, Novelli EL, Effects of olive oil and its minor constituents on serum lipids, oxidative stress, and energy metabolism in cardiac muscle. *Can J Physiol Pharmacol* 84 (2006) 239-45.
- [6] Gleen MJ, Beynen AC, Consumption of olive oil has opposite effects on plasma total cholesterol and sphingomyelin concentrations in rats. *Br J Nutr* 83 (2000) 541-7.
- [7] González-Correa JA, Muñoz-Marín J, Arrebola MM, Guerrero A, Narbona F, López-Villodres JA, De La Cruz JP, Dietary Virgin Olive Oil Reduces Oxidative Stress and Cellular Damage in Rat Brain Slices Subjected to Hypoxia-Reoxygenation. *Lipids* 42 (2007) 921-929.
- [8] Grundy SM, Bilheimer D, Blackburn H, Brown WV, Kwiterovich PO Jr, Mattson F, Schonfeld G, Weidman WH, Rationale of the diet heart statement of the American Heart Association: report of Nutrition Committee. *Circulation* 65 (1982) 839A-54A.
- [9] Hegsted DM, Mc Gandy RB, Myers ML, Stare FJ, Quantitative effects of dietary fats on serum cholesterol in man, *Am. J. Clin Nutr* 17 (1965) 281-295.
- [10] Jeffery N, Yaqoob P, Newsholme E, Calder P, The effects of olive oil upon rat serum lipid levels and lymphocyte functions appear to be due to oleic acid. *Ann. Nutr. Metab* 40 (1996) 71-80.
- [11] Keys A, Coronary heart disease in seven countries. *Circulation* 41 (1970) 1-211.
- [12] Nagyova A, Haban P, Klvanova J, Kadrabova J, Effects of dietary extra virgin olive oil on serum lipid resistance to oxidation and fatty acid composition in elderly lipidemic patients. *Bratisl Lek* 104 (2003) 218-21.
- [13] Perez-Jimenez F, Alvarez de Cienfuegos G, Badimon L, Barja G, Battino M, Blanco A, Bonanome A, Colomer R, Corella-Piquer D, Covas I, Chamorro-Quiros J, Escrich E, Gaforio JJ, Garcia Luna PP, Hidalgo L, Kafatos A, Kris-Etherton PM, Lairon D, Lamuela-Raventos R, Lopez-Miranda J, Lopez-Segura F, Martinez-Gonzalez MA, Mata P, Mataix J, Ordovas J, Osada J, Pacheo-Reyes R, Perucho M, Pineda-Priego M, Quiles JL, Ramirez-Tortosa MC, Ruiz-Gutierrez V, Sanchez-Rovira P, Solfrizzi V, Sorriquer-Escofet F, de la Torre-Fornell R, Trichopoulos A, Villalba-Montoro JM, Villar-Ortiz JR, Visioli F, International conference on the healthy effect of virgin olive oil. *Eur J Clin Invest* 35 (2005) 421-4.
- [14] Perona JS, Covas MI, Fitl M, Cabello-Moruno R, Aros F, Corella D, Ros E, Garcia M, Estruch R, Martinez-Gonzalez MA, Ruiz-Gutierrez V, Reduction in systemic and VLDL triacylglycerol concentration after a 3-month Mediterranean-style diet in high-cardiovascular-risk subjects. *J Nutr Biochem* (2009) In Press.
- [15] Zeinanloo AA, The olive industry in Iran. *Proceedings Second International Seminar Olivebioteq. Special Seminars and Invited Lectures* (2004) November. 173-182, Mazara del Vallo (TP), Italy.