



## REVISIÓN

## Evidencias experimentales con respecto al papel de distintos tipos de grasas insaturadas de la dieta en el envejecimiento



Adrian González-Alonso<sup>a</sup>, Patricia Pérez-López<sup>a</sup>, Alfonso Varela-López<sup>a</sup>,  
M. Carmen Ramírez-Tortosa<sup>b</sup>, Maurizio Battino<sup>c</sup> y José L. Quiles<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos José Mataix Verdú, Departamento de Fisiología, Universidad de Granada, Granada, España

<sup>b</sup> Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos José Mataix Verdú, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular II, Universidad de Granada, Granada, España

<sup>c</sup> Dipartimento di Scienze Cliniche Specialistiche ed Odontostomatologiche, Università Politecnica delle Marche, Ancona, Italia

### INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

#### Historia del artículo:

Recibido el 11 de septiembre de 2014

Aceptado el 13 de mayo de 2015

On-line el 22 de julio de 2015

#### Palabras clave:

Aceite de oliva virgen

Aceite de girasol

Aceite de pescado

Longevidad

Mitocondria

### R E S U M E N

La nutrición ha sido relacionada ampliamente con el proceso fisiológico del envejecimiento. Varios nutrientes, como ciertos tipos de grasa de la dieta y diversos antioxidantes, han demostrado poseer efectos positivos en enfermedades relacionadas con la edad. El tipo de grasa de la dieta afecta a la estructura y función mitocondrial, así como a su susceptibilidad al estrés oxidativo, todos, factores implicados en el envejecimiento. La presente revisión trata de resumir los estudios realizados por nuestro grupo de investigación en los últimos 10 años empleando aceite de oliva virgen, aceite de girasol o aceite de pescado como fuente de grasa insaturada de la dieta en relación con un modelo de envejecimiento en rata.

© 2014 SEGG. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

### Experimental evidence on the role of different types unsaturated fats in the diet on ageing

#### A B S T R A C T

Nutrition has been largely related to the physiological ageing process. Several nutrients, such as certain types of dietary fat and various antioxidants have been shown to have positive effects on age-related diseases. The type of dietary fat affects mitochondrial structure and function, as well as its susceptibility to oxidative stress, all factors involved in ageing. The present review aims to summarise the studies conducted by our research group in the past 10 years, using virgin olive oil, sunflower oil, or fish oil as a source of unsaturated fat diet relative to a rat model of ageing.

© 2014 SEGG. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

#### Keywords:

Virgin olive oil

Sunflower oil

Fish oil

Longevity

Mitochondria

### Introducción

En los últimos años, numerosas evidencias científicas han mostrado que ciertos factores nutricionales podrían jugar un papel importante en la etiología de diversas enfermedades crónicas, deterioro cognitivo, así como diversos procesos con base inflamatoria y cancerígena, proponiendo la existencia de un vínculo entre

patrones dietéticos y longevidad. Varios nutrientes, como ciertos tipos de grasa de la dieta y diversos antioxidantes, han demostrado poseer efectos positivos en enfermedades relacionadas con la edad. Asimismo, el control de la ingesta ha sido propuesto como una herramienta efectiva para modular el envejecimiento.

Además de la producción de especies reactivas del oxígeno (ERO), hay otra característica fundamental en animales de vida larga que relaciona el envejecimiento con el estrés oxidativo, en concreto, el grado de insaturación de los ácidos grasos de las membranas de los tejidos celulares, adaptado para protegerse frente a las ERO<sup>1</sup>. De este modo, algunos estudios han puesto de manifiesto

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [jlquiles@ugr.es](mailto:jlquiles@ugr.es) (J.L. Quiles).

que el grado de insaturación de los ácidos grasos en membranas biológicas de diferentes tejidos en mamífero se correlaciona negativamente con su longevidad<sup>2,3</sup>.

Las membranas biológicas son estructuras dinámicas que generalmente constan de bicapas de moléculas anfipáticas que se mantienen unidas mediante enlaces no covalentes<sup>4</sup>. El lípido de membrana predominante es el fosfolípido, cuyas cadenas acilo son saturadas, monoinsaturadas o poliinsaturadas por cadenas hidrocarbonadas con una longitud media de 18 átomos de carbono en células eucarióticas de especies vertebradas, donde la distribución relativa entre ácidos grasos saturados e insaturados sigue una proporción cercana a 40:60, respectivamente. La susceptibilidad de las membranas biológicas a sufrir alteraciones oxidativas se relaciona con la reactividad química de los ácidos grasos que la componen<sup>3</sup>. Los ácidos grasos insaturados son las moléculas más sensibles al daño de las ERO debido a la alta presencia de electrones inestables cerca de sus dobles enlaces, y también debido a que su sensibilidad a la peroxidación lipídica es tanto mayor cuanto más moléculas con dobles enlaces tienen<sup>5,6</sup>.

Por otra parte, los productos derivados de la oxidación lipídica pueden producir modificaciones covalentes de proteínas. En este sentido, los niveles más bajos de aductos de proteína N <épsilon>- (malondialdehído)-lisina y S-(carboximetil)-lisina se han hallado en mitocondrias y tejidos de mamíferos y aves de larga vida que muestran un bajo grado de insaturación de ácidos grasos<sup>7</sup>. Estudios recientes indican que la reducción experimental en el grado de insaturación de los ácidos grasos de la dieta induce a un menor daño oxidativo y alteraciones en ADN mitocondrial (ADNmt) de hígado<sup>8</sup>, corazón<sup>9</sup> y cerebro<sup>10</sup>.

La alta concentración de ácidos grasos insaturados en los fosfolípidos de las membranas celulares no solo les hace más susceptibles a las reacciones de oxidación, sino que también les hace partícipes en las reacciones de radicales libres en cadena. De ese modo, un bajo grado de insaturación en los ácidos grasos de las membranas biológicas podría disminuir su sensibilidad a la peroxidación lipídica, la cual, a su vez, puede proteger a otras moléculas del daño derivado de la lipooxidación<sup>11</sup>.

Según lo mencionado anteriormente, el tipo de grasa de la dieta afecta a la estructura y función mitocondrial, así como a su susceptibilidad al estrés oxidativo. En este sentido, si pudiéramos construir membranas biológicas «personalizadas» según el tipo de grasa de la dieta, tal vez se podría modificar de forma positiva la manera en la cual los órganos envejecen. Esta hipótesis de trabajo representa un nuevo enfoque en el estudio del envejecimiento desde el punto de vista de la nutrición, y podría tener implicaciones importantes para el estudio del fenómeno del envejecimiento. La presente revisión trata de resumir los estudios realizados por nuestro grupo de investigación en los últimos 10 años empleando aceite de oliva virgen, aceite de girasol o aceite de pescado como fuente de grasa insaturada de la dieta en relación con un modelo de envejecimiento en rata.

### **Deleciones en el ADN mitocondrial, estrés oxidativo y alteraciones ultraestructurales durante el envejecimiento en función de la fuente grasa**

El papel de la grasa de la dieta durante el envejecimiento se ha analizado en nuestro laboratorio a nivel mitocondrial desde el enfoque del estrés oxidativo, las alteraciones ultraestructurales y la frecuencia de aparición de deleciones en el ADNmt en diversos tejidos en rata, tanto mitóticos (hígado) como posmitóticos (corazón y cerebro).

La dieta puede tener influencia sobre el grado de envejecimiento del hígado y, en consecuencia, sobre la salud del mismo<sup>12,13</sup>. La respuesta podría estar en la teoría de envejecimiento

mitocondrial (el envejecimiento es consecuencia de la acumulación del daño en el ADNmt). Para estudiar esta posibilidad, alimentamos ratas macho Wistar durante toda su vida con aceite de oliva virgen (rico en ácido oleico, monoinsaturado) o de girasol (rico en ácido linoleico, poliinsaturado). A los 6 y 24 meses se analizaron las mitocondrias de hígado en relación con la frecuencia de aparición de deleción común en ADNmt, ERO, antioxidantes y alteraciones ultraestructurales<sup>8</sup>. Se observó un aumento relacionado con el envejecimiento en la cantidad relativa de ERO en ambos grupos dietéticos, siendo mayor en los animales alimentados con aceite de girasol. El envejecimiento condujo a mayores actividades de superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa, así como a mayores concentraciones de  $\alpha$ -tocoferol y coenzima Q. Por otro lado, las mitocondrias de animales viejos alimentados con aceite de girasol exhibieron un menor número de crestas y una circularidad superior, factores ambos que han sido relacionados con una menor funcionalidad del orgánulo<sup>8</sup>. Del mismo modo, la frecuencia de aparición de deleción común en el ADNmt de los animales viejos fue superior en las ratas alimentadas con aceite de girasol. En este estudio se puso de manifiesto, por tanto, una relación entre la producción de ERO y la aparición de alteraciones ultraestructurales y a nivel de ADN en mitocondria de hígado de animales viejos. Pero lo más interesante fue poder comprobar cómo estos aspectos, que podrían ser definitorios de la aparición del fenotipo de envejecimiento, podían ser modulados a través de la dieta mediante la elección de una fuente grasa más o menos insaturada, lo cual da pie a la posibilidad de modular el envejecimiento a través de la dieta.

El tejido miocárdico durante el envejecimiento se caracteriza por la acumulación de tejido conectivo, un mayor volumen de miocitos y un aumento en los procesos necróticos y apoptóticos<sup>14</sup>. Además, el corazón es un tejido posmitótico con un gran metabolismo aeróbico gracias a su abundancia de mitocondrias. En un estudio similar al descrito anteriormente, pero centrado en el corazón, se estudiaron animales jóvenes y viejos (6 y 24 meses de edad) alimentados con aceite de oliva virgen o de girasol (este último con o sin suplementación de coenzima Q10) con el objetivo de estudiar las deleciones mitocondriales relacionadas con el envejecimiento y la dieta<sup>9</sup>. Se obtuvieron resultados parecidos a los conseguidos en tejido hepático con respecto a parámetros ultraestructurales<sup>8</sup>. También se estudió la frecuencia de una deleción concreta en ADNmt correspondiente al complejo I de la cadena respiratoria mitocondrial, ya que es uno de los complejos más afectados por el envejecimiento<sup>15</sup>. La frecuencia de aparición de esta deleción fue menor durante el envejecimiento en los animales alimentados durante toda su vida con aceite de oliva virgen extra o los alimentados con aceite de girasol suplementado en coenzima Q10, demostrando así que el aumento de la frecuencia de las deleciones en el ADNmt debidas a la edad pueden ser atenuadas interviniendo dietéticamente también desde el punto de vista cardíaco<sup>9</sup>.

Diversos estudios han puesto de manifiesto una disminución de la actividad enzimática de ciertos complejos de la cadena de transporte electrónico mitocondrial debida a la edad en el cerebro<sup>16</sup>, aunque no se sabe con certeza si dichas alteraciones se traducen necesariamente en una disminución respiratoria o, incluso, en una disminución en la producción de ATP<sup>17</sup>. Al igual que en el hígado y el corazón, nuestro grupo ha estudiado los cambios en la frecuencia de deleción común del ADNmt de tejido cerebral debidos a la edad, con intervención dietética al variar la fuente grasa de la dieta<sup>10</sup>. Con respecto a la peroxidación lipídica, se demostró que los niveles de peróxidos lipídicos eran más bajos en los grupos alimentados con aceite de oliva virgen y en los animales alimentados con aceite de girasol y suplementados con coenzima Q10, así como la frecuencia de aparición de deleciones en ADNmt<sup>10</sup>.

## Tipo de grasa de la dieta y pérdida de hueso alveolar debida a la edad

La periodontitis es una enfermedad inflamatoria crónica caracterizada por una destrucción progresiva de los tejidos que soportan los dientes. Se ha relacionado con los desórdenes debidos a la edad mediante la rotura de los tejidos que sostienen al diente, principalmente la pérdida del hueso alveolar. Por otro lado, evidencias crecientes vinculan la periodontitis a enfermedades sistémicas como la aterosclerosis, habiéndose puesto atención en el síndrome metabólico y el estrés oxidativo como lazos potenciales que explican esta relación<sup>18,19</sup>. Tradicionalmente, muchas de las investigaciones sobre dieta y enfermedades periodontales se focalizan en unos pocos nutrientes con roles bien establecidos en la formación y manutención de los componentes estructurales de los tejidos orales como el colágeno (vitamina C) y el hueso (calcio), la integridad del tejido epitelial (vitamina A) o en la formación de placa que alberga los patógenos periodontales (hidratos de carbono). De forma más reciente, las investigaciones se han ampliado para incluir nutrientes que parecen atenuar los procesos inflamatorios o que poseen propiedades antiinflamatorias, como son los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) n3. Sin embargo, no se ha estudiado el posible papel de otros ácidos grasos con conocidas propiedades beneficiosas para otros aspectos de la salud, como son los ácidos grasos monoinsaturados (AGMI)<sup>20</sup>. Con base en esto, Bullon et al. recientemente han reproducido un modelo de periodontitis asociada al envejecimiento, dándole un enfoque completamente fisiológico a las condiciones periodontales para evaluar el impacto del tipo de grasa de la dieta sobre el tejido<sup>21</sup>. Así, los animales fueron alimentados durante toda su vida con dietas basadas en AGMI (procedentes de aceite de oliva virgen extra), AGPI n6 (procedentes de aceite de girasol) o AGPI n3 (procedentes de aceite de pescado). Estudiaron la altura del hueso alveolar a 2 niveles, en concreto a nivel mesial y a nivel distal, en el primer molar y segundo premolar. También se analizó la histología del tejido gingival en la mucosa molar gingival. Los resultados mostraron diferencias con respecto a la pérdida de hueso alveolar durante el envejecimiento en función de la grasa ingerida a través de la dieta. En concreto, la mayor pérdida de masa ósea, junto con un alto grado de fibrosis y un moderado grado de inflamación se observaron en los animales alimentados con aceite de girasol, seguidos de aquellos alimentados con aceite de pescado. Por otro lado, se observaron niveles circulantes de citocinas inflamatorias superiores en todos los grupos viejos, pero sin diferencias significativas en función del tratamiento dietético, lo cual fue corroborado cuando se estudió la expresión génica de estas moléculas a nivel de ARNm de tejido gingival. El hecho de no existir diferencias en los niveles de citocinas podría deberse a que la inflamación periodontal no fue promovida en exceso mediante tratamientos más intensivos, sino que la periodontitis se generó simplemente a través del envejecimiento fisiológico y con una dieta optimizada en todos los casos. Con el objeto de intentar vincular mecanismos a los hallazgos observados a nivel de pérdida de hueso alveolar, y ante la ausencia de inflamación, se procedió al análisis de los niveles de ARNm y de niveles circulantes de 2 de los marcadores más importantes asociados con la resorción ósea, en concreto, el ligando de receptor activador para el factor nuclear  $\kappa$ B (RANKL) y la osteoprotegerina (OPG). La cantidad relativa de RANKL fue la más elevada en animales alimentados con aceite de oliva virgen a los 6 meses de edad, mientras que la cantidad relativa de OPG fue la menor para los animales alimentados con aceite de pescado. Las diferencias de niveles plasmáticos de RANKL fueron asociadas únicamente a la edad, mostrando los animales de 6 meses niveles más altos que los de 24 meses de edad. Sin embargo, se mostraron diferencias en los niveles plasmáticos de OPG entre animales jóvenes y viejos, siendo los animales alimentados con aceite de oliva virgen los que presentaron los niveles más bajos. Estos resultados son de gran

interés, ya que se ha establecido previamente que la periodontitis cursa con niveles elevados de RANKL junto con bajas concentraciones de OPG, lo que en su conjunto provoca un aumento de la ratio RANKL/OPG, marcador que podría ser usado para realizar un seguimiento más real de la enfermedad<sup>22</sup>. Parece, por tanto, que la pérdida de hueso alveolar debida a la edad podría estar condicionada por la grasa de la dieta. Según lo observado en este estudio, un exceso de AGPI n6 a lo largo de la vida podría provocar un bloqueo de la capacidad celular de adaptación al envejecimiento. Los análisis de expresión genética evidenciaron que los AGMI o los AGPI n3 permitían a la mitocondria mantener un recambio adecuado mediante la inducción de biogénesis o autofagia. Dichos ácidos grasos serían también capaces de inducir a los sistemas antioxidantes pertinentes a contrarrestar el estrés oxidativo debido a la edad y no inhibir la cadena de transporte electrónico mitocondrial. Un tratamiento dietético adecuado podría reducir, por tanto, el exceso de pérdida de hueso alveolar, característico de las enfermedades periodontales<sup>21</sup>.

## Comportamiento del páncreas durante el envejecimiento en función del tipo de grasa ingerido

El páncreas es un órgano vital para la digestión y consumo de los nutrientes de la dieta. Una adecuada estructura pancreática es requisito para su funcionamiento óptimo<sup>23</sup>. Ciertas enfermedades asociadas con la dieta alteran la masa celular pancreática, desembocando en inflamación, obstrucción ductal, fibrosis e, incluso, necrosis, acelerando el proceso de envejecimiento de los órganos<sup>24</sup>. La identificación de factores capaces de revertir o evitar estas condiciones patológicas es un instrumento útil para diseñar estrategias de prevención frente a los distintos desórdenes pancreáticos que ocurren durante el envejecimiento. En línea con el estudio de diferentes fuentes grasas insaturadas en relación con diversos aspectos de la salud durante el envejecimiento, Roche et al.<sup>25</sup> compararon 3 grupos de ratas alimentadas durante 2 años con dietas isocalóricas de diferente composición para estudiar su implicación en el envejecimiento del páncreas.

Las ratas se dividieron en 3 grupos experimentales alimentados con dietas isoenergéticas de acuerdo con el criterio AIN93, pero modificando su fuente grasa, usando aceite de oliva virgen, de girasol o de pescado, respectivamente. Al final del experimento no se detectaron síntomas patológicos como la obesidad, no obstante, el hallazgo importante de este estudio fue que el tipo de grasa afectó al compartimento endocrino y exocrino del páncreas de modo diferente. Tomando islotes de ratas alimentadas con aceite de oliva como referencia, los islotes de las ratas alimentadas con aceite de girasol contuvieron un número mayor de células  $\beta$ , reflejado por un aumento en el contenido de insulina e hiperleptinemia. Estos signos, junto con otros parámetros, han sido descritos en obesidad, intolerancia a la glucosa, resistencia a la insulina, desorganización del axis adipoinular o prediabetes<sup>26</sup>. En los análisis inmunohistoquímicos (insulina y glucagón), las áreas inmunopositivas por islote fueron significativamente mayores en el grupo de aceite de girasol en comparación con el grupo de aceite de oliva virgen. Este incremento parecía correlacionarse con un aumento en el número de células positivas a la hormona en el islote. Por otra parte, el número de células positivas para glucagón fue similar en los 3 grupos, evidenciando que los cambios de los islotes parecían ser exclusivos de las células  $\beta$ . Ha sido bien documentado que la replicación de las células  $\beta$  disminuye con la edad en roedores y humanos<sup>27</sup>, pero, en compensación, se presenta una apoptosis mínima<sup>28</sup>. Por otro lado, la presencia de aceite de pescado en la dieta parece afectar principalmente al compartimento exocrino del páncreas. Las alteraciones histológicas pancreáticas observadas en los animales alimentados con aceite de pescado se parecen a aquellas observadas en la fibrosis pancreática de la vejez<sup>29</sup>. El contenido de insulina y glucagón

medido confirmó que el grupo de aceite de girasol contenía 2 veces la cantidad de insulina detectada en los otros grupos, mientras que los niveles de glucagón permanecieron intactos.

Es bien conocido que la grasa de la dieta puede modificar la composición de los ácidos grasos circulantes<sup>11</sup>. Como sería de esperar, los porcentajes de AGMI circulantes fueron significativamente superiores en ratas alimentadas con aceite de oliva virgen; los niveles más altos de AGPI n6 se lograron en las ratas alimentadas con aceite de girasol, y los niveles más altos de AGPI n3 fueron superiores en aquellas ratas alimentadas con aceite de pescado.

Con el propósito de aclarar los mecanismos asociados a los cambios antes descritos, se analizaron diversos marcadores de proliferación y apoptosis. Así, en relación con el número de células positivas para el marcador de proliferación Ki-67 no se observaron diferencias entre los distintos grupos experimentales. Lo mismo ocurrió para la expresión de los marcadores apoptóticos Bcl-2 y Bad, pero no para el factor de necrosis tumoral  $\alpha$ , el cual presentaba una menor expresión en sus niveles para el aceite de oliva virgen comparado con los grupos de rata alimentadas con aceite de pescado y girasol. En conjunto, estos resultados podrían demostrar que la ruta mitocondrial apoptótica no se activó en ninguno de los grupos animales, y que en caso de producirse apoptosis, fuese a través de la ruta citoplasmática, donde se implica de forma mayoritaria el factor de necrosis tumoral  $\alpha$ <sup>30</sup>.

Lo más importante del estudio de Roche et al. es el hecho de que el tipo de grasa puede afectar a los compartimentos exocrinos y endocrinos del páncreas de manera diferente. Así, las fuentes grasas poliinsaturadas de tipo n6 condicionan fundamentalmente un sobreesfuerzo a nivel endocrino, lo que podría predisponer a un entorno prediabético, lo cual, en caso de tener lugar un episodio patológico adicional, podría acelerar el paso hacia la diabetes como consecuencia de la ingesta de ese tipo de grasa. Por su parte, los AGPI de tipo n3 alteran sobre todo el componente exocrino. De este modo, la fuente grasa de elección desde el punto de vista de un envejecimiento óptimo del páncreas sería el aceite de oliva virgen como fuente de AGMI, lo cual refuerza hallazgos previos anteriores<sup>31</sup>.

## Financiación

Los resultados expuestos en esta revisión han sido financiados con diferentes proyectos de investigación nacionales (ALI95-1036-C05-04, 1FD97-0457-C02-01, AGL2008-01057) y regionales (AGR832).

## Conflicto de intereses

Adrian González-Alonso y Alfonso Varela-López son contratados FPU del Ministerio de Educación, Cultura y Deporte.

## Agradecimientos

Los autores agradecen a la Universidad de Granada y a la Junta de Andalucía el soporte que proporcionan al Grupo de Investigación.

## Bibliografía

- Naudí A, Jové M, Ayala V, Portero-Otín M, Barja G, Pamplona R. Membrane lipid unsaturation as physiological adaptation to animal longevity. *Front Physiol*. 2013;4:372. <http://dx.doi.org/10.3389/fphys.2013.00372>.
- Pamplona R, Portero-Otín M, Ruiz C, Gredilla R, Herrero A, Barja G. Double bond content of phospholipids and lipid peroxidation negatively correlate with maximum longevity in the heart of mammals. *Mech Ageing Dev*. 2000;112:169-83.
- Pamplona R. Membrane phospholipids, lipoxidative damage and molecular integrity: A causal role in aging and longevity. *Biochim Biophys Acta*. 2008;1777:1249-62.
- Vance DE, Vance JE. *Biochemistry of lipids, lipoproteins and membranes*. Amsterdam: Elsevier Science BV; 1996. p. 1-553.
- Holman RT. Autoxidation of fats and related substances. En: Holman RT, Lundberg WO, Malkin T, editores. *Progress in chemistry of fats and other lipids*. London: Pergamon Press; 1954. p. 51-98.
- Bielski BH, Arudi RL, Sutherland MW. A study of the reactivity of HO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub><sup>-</sup> with unsaturated fatty acids. *J Biol Chem*. 1983;258:4759-61.
- Pamplona R, Barja G, Portero-Otín M. Membrane fatty acid unsaturation, protection against oxidative stress, and maximum life span: A homeoviscous-longevity adaptation? *Annu N Y Acad Sci*. 2002;959:475-90.
- Quiles JL, Ochoa JJ, Ramírez-Tortosa MC, Huertas JR, Mataix J. Age-related mitochondrial DNA deletion in rat liver depends on dietary fat unsaturation. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2006;61:107-14.
- Quiles JL, Pamplona R, Ramírez-Tortosa MC, Naudí A, Portero-Otín M, Araujo-Nepomuceno E, et al. Coenzyme Q addition to an n-6 PUFA-rich diet resembles benefits on age-related mitochondrial DNA deletion and oxidative stress of a MUFA-rich diet in rat heart. *Mech Ageing Dev*. 2010;131:38-47.
- Ochoa JJ, Pamplona R, Ramírez-Tortosa MC, Granados-Principal S, Pérez-López P, Naudí A, et al. Age-related changes in brain mitochondrial DNA deletion and oxidative stress are differentially modulated by dietary fat type and coenzyme Q<sub>10</sub>. *Free Radic Biol Med*. 2011;50:1053-64.
- Mataix J, Quiles JL, Huertas JR, Battino M, Mañas M. Tissue specific interactions of exercise, dietary fatty acids, and vitamin E in lipid peroxidation. *Free Radic Biol Med*. 1998;24:511-21.
- Anantharaju A, Feller A, Chedid A. Aging liver. A review. *Gerontology*. 2002;48:343-53.
- Quiles JL, Martínez E, Ibáñez S, Ochoa JJ, Martín Y, López-Frías M, et al. Ageing-related tissue-specific alterations in mitochondrial composition and function are modulated by dietary fat type in the rat. *J Bioenerg Biomembr*. 2002;34:517-24.
- Kajstura J, Cheng W, Sarangarajan R, Li P, Li B, Nitahara JA, et al. Necrotic and apoptotic myocyte cell death in the aging heart of Fischer 344 rats. *Am J Physiol*. 1996;271:1215-28.
- Lenaz G, Bovina C, D'Aurelio M, Fato R, Formiggini G, Genova ML, et al. Role of mitochondria in oxidative stress and aging. *Ann N Y Acad Sci*. 2002;959:199-213.
- Gilmer LK, Ansari MA, Roberts KN, Scheff SW. Age-related changes in mitochondrial respiration and oxidative damage in the cerebral cortex of the Fischer 344 rat. *Mech Ageing Dev*. 2010;131:133-43.
- Van Remmen H, Richardson A. Oxidative damage to mitochondria and aging. *Exp Gerontol*. 2001;36:957-68.
- Bullon P, Morillo JM, Ramírez-Tortosa MC, Quiles JL, Newman HN, Battino M. Metabolic syndrome and periodontitis: Is oxidative stress a common link? *J Dent Res*. 2009;88:503-18.
- Bullon P, Cordero MD, Quiles JL, Morillo JM, Ramírez-Tortosa MC, Battino M. Mitochondrial dysfunction promoted by *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide as a possible link between cardiovascular disease and periodontitis. *Free Radic Biol Med*. 2011;50:1336-43.
- Kaye EK. n-3 fatty acid intake and periodontal disease. *J Am Diet Assoc*. 2010;110:1650-2.
- Bullon P, Battino M, Varela-Lopez A, Perez-Lopez P, Granados-Principal S, Ramirez-Tortosa MC, et al. Diets based on virgin olive oil or fish oil but not on sunflower oil prevent age-related alveolar bone resorption by mitochondrial-related mechanisms. *PLoS One*. 2013;8:e74234.
- Jules J, Ashley JW, Feng S. Selective targeting of RANK signaling pathways as new therapeutic strategies for osteoporosis. *Expert Opin Ther Targets*. 2010;14:923-34.
- Ouyang D, Dhall D, Yu R. Pathologic pancreatic endocrine cell hyperplasia. *World J Gastroenterol*. 2011;17:137-43.
- Halter JB. Diabetes mellitus in an aging population: The challenge ahead. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2012;67:1297-9.
- Roche E, Ramírez-Tortosa CL, Arribas MI, Ochoa JJ, Sirvent-Belando JE, Battino M, et al. Comparative analysis of pancreatic changes in aged rats fed life long with sunflower, fish, or olive oils. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2014;69:934-17944.
- Sattar N, Wannamethee SG, Forouhi NG. Novel biochemical risk factors for type 2 diabetes: Pathogenic insights or prediction possibilities? *Diabetologia*. 2008;51:926-40.
- Meier JJ, Butler AE, Saisho Y, Monchamp T, Galasso R, Bhushan A, et al. Beta-cell replication is the primary mechanism subserving the postnatal expansion of beta-cell mass in humans. *Diabetes*. 2008;57:1584-94.
- Teta M, Long SY, Wartschow LM, Rankin MM, Kushner JA. Very slow turnover of beta-cells in aged adult mice. *Diabetes*. 2005;54:2557-67.
- Klöppel G, Detlefsen S, Feyerabend B. Fibrosis of the pancreas: The initial tissue damage and the resulting pattern. *Virchows Arch*. 2004;445:1-8.
- Chu WM. Tumor necrosis factor. *Cancer Lett*. 2013;328:222-5.
- Rajo-Martínez G, Esteve I, Ruiz de Adana MS, García-Almeida JM, Tinahones F, Cardona F, et al. Dietary fatty acids and insulin secretion: A population-based study. *Eur J Clin Nutr*. 2006;60:1195-200.