

## Efecto de la dieta mediterránea en los valores plasmáticos de factor VII activado en personas sanas

Purificación Gómez<sup>a</sup>, Rafael A. Fernández de la Puebla<sup>a</sup>, Pedro Castro<sup>a</sup>, José López-Miranda<sup>a</sup>, Carmen Marín<sup>a</sup>, Francisco Fuentes<sup>a</sup>, Pablo Pérez-Martínez<sup>a</sup>, Francisco Velasco<sup>b</sup>, Juan A. Moreno<sup>a</sup>, Antonio Torres<sup>b</sup> y Francisco Pérez-Jiménez<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Unidad de Lípidos y Arteriosclerosis. Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba. España.

<sup>b</sup>Servicio de Hematología. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba. España.

**Introducción y objetivos.** Numerosos estudios clínicos y epidemiológicos sugieren que el factor VII activado puede estar implicado en la patogenia de la enfermedad coronaria. Nuestro objetivo es determinar el efecto de una dieta típica mediterránea en los valores plasmáticos de dicho parámetro, cuando se compara con una dieta pobre en grasa y con una dieta rica en grasa saturada.

**Pacientes y métodos.** Dieciséis varones sanos normolipémicos recibieron 3 dietas, durante 4 semanas cada una. La primera era rica en grasa saturada (38% grasa, 20% saturada), la segunda rica en hidratos de carbono y pobre en grasa (28% grasa, 10% saturada) y, finalmente, una dieta mediterránea (38% grasa, 22% de grasa monoinsaturada). Al final de cada período se determinaron las concentraciones plasmáticas de colesterol total, colesterol unido a lipoproteínas de baja (cLDL) y alta (cHDL) densidad, triglicéridos totales, apolipoproteína A-1, apolipoproteína B y glucosa. El factor VII activado se midió mediante un ensayo de coagulación.

**Resultados.** La dieta rica en grasa saturada se asoció con un incremento significativo de los valores de colesterol total, cLDL, apolipoproteína A-1 y apolipoproteína B, en comparación con las otras 2 dietas. No hubo diferencias significativas entre la dieta rica en hidratos de carbono y la mediterránea para cualquiera de los parámetros lipídicos examinados. El paso de una dieta rica en grasa saturada a una dieta mediterránea produjo un descenso en los valores de FVIIa ( $101,5 \pm 19,2$  frente a  $34,6 \pm 15,3$  mU/ml;  $p < 0,05$ ).

**Conclusiones.** La dieta mediterránea, cuando se compara con la dieta rica en grasa saturada o la rica en hidratos de carbono, disminuye las concentraciones plasmáticas del factor VII activado en varones sanos. Este fenómeno podría constituir otro mecanismo protector de la dieta mediterránea en la reducción del riesgo cardiovascular.

Este trabajo se ha realizado gracias a las ayudas de la CICYT (SAF 2001-2466-C05-04 a F P-J), del FIS (01/0449 a L-M y 99/0949 a F P-J), PAI y Fundación Cultural Hospital Reina Sofía-Cajasur.

Correspondencia: Dr. F. Pérez-Jiménez.  
Unidad de Lípidos y Arteriosclerosis. Hospital Universitario Reina Sofía.  
Avda. Menéndez Pidal, s/n. 14004 Córdoba. España.  
Correo electrónico: md1pejif@uco.es

Recibido el 16 de enero de 2003.

Aceptado para su publicación el 23 de diciembre de 2004.

**Palabras clave:** *Dieta mediterránea. Factor VII activado. Enfermedad cardiovascular.*

### Effect of the Mediterranean Diet on Fasting Concentrations of Activated Factor VII in Healthy Persons

**Introduction and objectives.** Many clinical and epidemiologic studies suggest that activated factor VII may be involved in the pathogenesis of coronary heart disease. Our objective was to determine the effect of a Mediterranean diet on plasma levels of activated factor VII in comparison to a low-fat diet and a diet rich in saturated fat.

**Patients and method.** The study population comprised 16 healthy normolipemic men who consumed 3 different diets in consecutive 28-day periods. The first diet was rich in saturated fat (38% calories as fat, 20% saturated fat), the second was a low-fat, high-carbohydrate diet (28% calories as fat, 10% saturated fat), and the third was enriched in monounsaturated fatty acids (38% calories as fat, 22% monounsaturated fat). At the end of each period, plasma concentrations of total cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol, total triglycerides, apolipoprotein A-I, apolipoprotein B, and glucose were measured. Activated factor VII was determined with a coagulation assay.

**Results.** The diet rich in saturated fat was associated with a significant increase in total cholesterol, LDL cholesterol, apolipoprotein AI, and apolipoprotein B in comparison to the other 2 diets. There were no significant differences between the carbohydrate-rich diet and the Mediterranean diet in any of the lipid parameters. The Mediterranean diet decreased plasma levels of factor VIIa in comparison to the diet rich in saturated fat ( $34,6 \pm 15,3$  mU/mL vs  $101,5 \pm 19,2$  mU/mL;  $P < 0,05$ ).

**Conclusions.** In comparison to the diet rich in saturated fat or the high-carbohydrates diet, the Mediterranean diet decreased plasma concentrations of activated factor VII in healthy young men. This phenomenon may constitute another protective mechanism of the Mediterranean diet in reducing cardiovascular risk.

**Key words:** *Mediterranean diet. Activated factor VII. Cardiovascular risk.*

Full English text available at: [www.revespcardiol.org](http://www.revespcardiol.org)

## ABREVIATURAS

cHDL: colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad.

cLDL: colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad.

FVII: factor VII

FVIIc: factor VII coagulante.

FVIIa: factor VII activado.

## INTRODUCCIÓN

El factor VII (FVII) es una glucoproteína plasmática dependiente de la vitamina K que desempeña un papel importante en la iniciación de la cascada de coagulación inducida por el factor tisular (vía extrínseca de la coagulación sanguínea)<sup>1</sup>. Diversos estudios clínicos han sugerido que en personas de mediana edad, la actividad coagulante del FVII (FVIIc) se asocia de forma directa con el riesgo de presentar enfermedad coronaria<sup>2,3</sup>. Además, los valores de factor VII activado (FVIIa) se relacionan con dicho riesgo, independientemente de otros factores tales como la presión arterial sistólica, los triglicéridos, la obesidad o los valores de apolipoproteína A-I<sup>4</sup>. Por todo ello, el FVII podría desempeñar un papel importante en la patogenia de la arteriosclerosis.

Aunque se utilizan varios métodos para medir este parámetro, no todos ellos son comparables, por lo que los resultados de los diferentes estudios son a veces inconsistentes. El método de ensayo más utilizado es el FVII coagulante (FVIIc) que mide las concentraciones totales, tanto de FVIIc como de factor VII activado (FVIIa). Puesto que la forma activada tiene la función de iniciar la cadena de coagulación, medir el FVIIa parece ser el camino más interesante para estudiarlo. Hasta ahora, la disponibilidad de ensayos específicos para determinar el FVIIa en el plasma (un predictor de riesgo mejor que el FVII o FVIIc) ha permitido mostrar que en sujetos sanos hay valores bajos, pero significativos<sup>5</sup>.

Recientemente, los estudios de intervención dietética han revelado que distintos componentes plasmáticos relacionados con el proceso trombótico podrían estar afectados por la composición de los ácidos grasos de la dieta<sup>6</sup>. Un ejemplo es la demostración de que las dietas enriquecidas con ácidos grasos saturados aumentan los valores plasmáticos del FVII e inducen la activación del FVIIc durante el estado posprandial<sup>7-9</sup>. Con respecto al consumo de dietas bajas en grasa y ricas en hidratos de carbono, estudios previos han demostrado que tienen un efecto reducido en el FVIIc. Sin embargo, la influencia de este tipo de dietas sobre el FVIIa no ha sido estudiada previamente. Por ello,

nuestro objetivo es investigar los efectos de 3 tipos de dieta: rica en grasa saturada, rica en hidratos de carbono y mediterránea sobre los valores de FVIIa.

## PACIENTES Y MÉTODO

### Población y dietas

El estudio se realizó en 16 varones normolipémicos sanos procedentes de la Universidad de Córdoba. A todos se les realizó una historia clínica con un análisis clínico antes del inicio del estudio. Los seleccionados eran < 30 años de edad (edad media, 20,8 ± 2,1), con concentraciones de colesterol total plasmático < 5,2 mmol/l y sin evidencia de enfermedades crónicas (insuficiencia hepática, renal, cardíaca o disfunción tiroidea) o altos grados de actividad física. Ninguno de ellos tenía historia familiar de enfermedad cardiovascular y ninguno había recibido medicación ni suplementos dietéticos o vitamínicos durante los 6 meses previos al estudio. La información dietética, incluido el consumo de alcohol, fue recogida durante 7 días consecutivos. Los requerimientos de energía individual fueron calculados teniendo en cuenta la actividad física de cada individuo. Los participantes fueron animados a mantener su actividad física regular y estilo de vida, y se les pidió que anotaran en un diario cualquier acontecimiento que lo modificara, como estrés, cambios en el hábito tabáquico y el consumo de alcohol o comidas no incluidas en el diseño experimental.

Todos recibieron 3 períodos de dieta de 4 semanas de duración, isocalóricas en relación con su consumo previo habitual, con el objeto de mantener el peso estable. El primero consistió en una dieta de estabilización rica en grasa saturada (dieta SAT), con un 15% de energía en forma de proteínas, un 47% en hidratos de carbono y un 38% en forma de grasa (20% grasa saturada, 12% monoinsaturada y 6% poliinsaturada). Posteriormente se administró una dieta rica en hidratos de carbono (dieta HC) con un 15% de proteínas, un 57% de hidratos de carbono y un 28% de grasa (< 10% saturada, 12% monoinsaturados y 6% poliinsaturados). Por último, recibieron una dieta mediterránea (dieta MED) enriquecida con aceite de oliva, con un 15% de proteínas, un 47% de hidratos de carbono y un 38% de grasa total (10% saturada, 22% monoinsaturados y 6% poliinsaturados). No transcurrió ningún período entre las intervenciones dietéticas puesto que éstas tenían una duración de 4 semanas cada una. La media de ingestión de colesterol durante los 3 períodos dietéticos fue de 115 mg/1.000 kcal. El estudio fue aprobado por el comité ético de investigación clínica del Hospital Universitario Reina Sofía.

La composición de las dietas experimentales se calculó por medio de las tablas de alimentos del United States Department of Agriculture (USDA)<sup>10</sup> o las de

composición de alimentos españoles correspondientes a los alimentos locales<sup>11</sup>. En el diseño experimental del presente trabajo utilizamos 20 menús rotatorios, previamente establecidos, en los que se emplearon alimentos naturales y calibrados para administrar las proporciones establecidas en cada período de dieta. El aporte de grasa monoinsaturada en la dieta mediterránea se consiguió utilizando aceite de oliva virgen en el cocinado de las comidas, aliño de las ensaladas y añadido en las tostadas. Los almuerzos y las cenas se administraron y consumieron en el comedor del Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba, bajo nuestra supervisión y la de un dietista del equipo. Los desayunos y las meriendas se sirvieron según nuestras instrucciones en las cafeterías de las Facultades de Medicina y de Ciencias de la Universidad de Córdoba. Estos últimos consistieron en café con leche y galletas con mermelada durante el período de dieta rica en hidratos de carbono; las galletas con mermelada se sustituyeron por pan tostado aderezado con aceite de oliva o mantequilla durante la alimentación mediterránea y occidental, respectivamente.

Se recogieron muestras dobles de cada menú, que fueron homogeneizadas y almacenadas a  $-80^{\circ}\text{C}$ . Los contenidos en proteínas, grasas e hidratos de carbono de la dieta fueron analizados mediante métodos estándar. El seguimiento dietético de los ácidos grasos en los ésteres de colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (cLDL) se recogió al final de cada período dietético<sup>12</sup>.

### Determinaciones bioquímicas

Al final de cada uno de los períodos de intervención dietética, tras 12 h de ayuno, se extrajeron 15 ml de sangre venosa en tubos con EDTA. La sangre venosa para determinar los valores plasmáticos del FVIIa se colocó en tubos que contenían un 3,8% de citrato sódico en una proporción de 1:9. El plasma con una baja concentración de plaquetas se obtuvo mediante su centrifugación a temperatura ambiente y a 3.000 g durante 1 h. Se utilizaron métodos enzimáticos para hallar las concentraciones plasmáticas de colesterol total y los triglicéridos<sup>13,14</sup>. El colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (cHDL) se determinó mediante precipitación con ácido fosfotúngstico<sup>15</sup>. El cLDL se calculó según la fórmula de Friedewald<sup>16</sup>. Las concentraciones de apo A-1 y apo B se determinaron mediante inmuno-turbidimetría<sup>17</sup>.

Los valores plasmáticos del FVIIa se midieron mediante un ensayo de coagulación en el que se utilizó un factor tisular recombinante y soluble que posee una actividad como cofactor para el FVIIa pero falla para mantener la activación del FVII<sup>5</sup>. Se utilizó un equipo comercial (Staclot VIIa-rTF, Diagnostica Stago, Francia) para la determinación del FVIIa. Para reducir la variación interanálisis, las muestras se almacenaron a

$-80^{\circ}\text{C}$  y se analizaron por triplicado al final del estudio.

### Análisis estadístico

Los análisis estadísticos se llevaron a cabo con el programa estadístico SPSS (versión 7.5, en castellano, Inc., Estados Unidos, 1997). Para determinar el efecto de las diferentes dietas sobre las variables estudiadas se utilizó el análisis de la varianza (ANOVA) para medidas repetidas. Cuando se observaron diferencias significativas, se realizó un análisis *post hoc* mediante la prueba de Tukey para identificar las diferencias entre cada grupo. Las diferencias en las concentraciones plasmáticas de FVIIa entre las 3 dietas se analizaron por ANOVA de Friedman y la prueba de Wilcoxon (la cual corresponde a datos emparejados), ya que no seguían una distribución normal. Se consideraron significativos los valores de  $p < 0,05$ . Los datos se presentan como media  $\pm$  desviación estándar (DE).

### RESULTADOS

La edad, el índice de masa corporal, los valores basales de lípidos plasmáticos y los niveles de apolipoproteínas de los sujetos que participaron en el estudio se presentan en la tabla 1. La composición dietética se analizó por duplicado en porciones de comidas y esta-

TABLA 1. Características basales (media  $\pm$  DE) de los varones (n = 16) que participaron en el estudio

Edad, años	20,8 $\pm$ 2,1
IMC	23,6 $\pm$ 1,9
Triglicéridos, mmol/l	0,9 $\pm$ 0,4
Colesterol total, mmol/l	3,9 $\pm$ 0,6
cHDL, mmol/l	1,2 $\pm$ 0,3
cLDL, mmol/l	2,3 $\pm$ 0,6
Apo A-1, g/l	1,10 $\pm$ 0,2
Apo B, g/l	0,56 $\pm$ 0,1

Apo: apolipoproteína; cHDL: colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad; cLDL: colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad; IMC: índice de masa corporal.

TABLA 2. Ingestión diaria media (media  $\pm$  DE) durante los 3 períodos de dieta

	Dieta SAT	Dieta HC	Dieta MED
Proteína (% de energía)	17,9 $\pm$ 2,5	17,3 $\pm$ 1,5	17,5 $\pm$ 2,0
Grasa (% de energía)	38,1 $\pm$ 2,9	28,1 $\pm$ 2,8	38,6 $\pm$ 3,5
Saturada	23,1 $\pm$ 4,1	9,0 $\pm$ 3,5	9,1 $\pm$ 4,2
Monoinsaturada	10,0 $\pm$ 2,9	13,1 $\pm$ 1,2	24,7 $\pm$ 2,2
Poliinsaturada	5,0 $\pm$ 1,5	6,0 $\pm$ 2,4	4,8 $\pm$ 1,1
HC (% de energía)	44,0 $\pm$ 8,3	54,6 $\pm$ 8,6	43,9 $\pm$ 7,8
Colesterol (mg/1.000 kcal)	112 $\pm$ 39	114 $\pm$ 48	115 $\pm$ 42
Energía (MJ)	10,2 $\pm$ 1,1	10,3 $\pm$ 1,0	10,5 $\pm$ 1,5

HC: dieta rica en hidratos de carbono; MED: dieta rica en grasa monoinsaturada; SAT: dieta rica en grasa saturada.

**TABLA 3. Concentraciones plasmáticas de lípidos y apolipoproteínas (mmol/l) al final de cada período dietético**

	Dieta SAT	Dieta HC	Dieta MED
Colesterol, mmol/l	4,35 ± 0,6 <sup>a,b</sup>	3,62 ± 0,4	3,79 ± 0,5
Triglicéridos, mmol/l	0,91 ± 0,3	0,85 ± 0,4	0,80 ± 0,3
cHDL, mmol/l	1,60 ± 0,2	1,16 ± 0,3	1,24 ± 0,3
cLDL, mmol/l	2,67 ± 0,5 <sup>a,b</sup>	2,06 ± 0,4	2,18 ± 0,5
Apo A-1, g/l	1,20 ± 0,1 <sup>a,b</sup>	1,08 ± 0,2	1,12 ± 0,2
Apo B, g/l	0,58 ± 0,1 <sup>a,b</sup>	0,46 ± 0,1	0,50 ± 0,1
FVIIa, mU/ml	101,5 ± 19,2	67,8 ± 11,5	34,6 ± 15,3 <sup>a,c</sup>

Apo: apolipoproteína; cHDL: colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad; cLDL: colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad; HC: dieta rica en hidratos de carbono; IMC: índice de masa corporal; MED: dieta rica en grasa monoinsaturada; SAT: dieta rica en grasa saturada.

<sup>a</sup>Significativamente diferente de la dieta HC ( $p < 0,004$ ).

<sup>b</sup>Significativamente diferente de la dieta MED ( $p < 0,0004$ ).

<sup>c</sup>Significativamente diferente de la dieta SAT ( $p < 0,002$ ).

ba en concordancia con la obtenida de las tablas de composición de alimentos (tabla 2). Las concentraciones plasmáticas de lípidos y apolipoproteínas, al final de cada período dietético, se muestran en la tabla 3. La dieta SAT presentó unos valores de colesterol total, cLDL, apo A-1 y apo B superiores a los de la dieta HC ( $p < 0,05$ ) y la dieta MED ( $p < 0,001$ ). No hubo diferencias significativas entre la dieta HC y la MED para cualquiera de los parámetros lipídicos examinados.

El consumo de la dieta MED se asoció con un descenso significativo en las concentraciones plasmáticas del FVIIa en comparación con la dieta HC ( $p < 0,05$ ) y la dieta SAT ( $p < 0,05$ ) (tabla 3).

## DISCUSIÓN

Este estudio muestra que el consumo de una dieta MED, rica en aceite de oliva, disminuye los valores del FVIIa en voluntarios sanos, en comparación con una rica en SAT y otra rica en HC. El descenso en los valores del factor VIIa se correlacionó de forma positiva con los valores de colesterol total, cLDL y apo B. Este dato es interesante, ya que el Northwick Park Heart Study<sup>1</sup> y el estudio PROCAM<sup>2</sup> encontraron una asociación entre los eventos fatales de cardiopatía isquémica y los valores de FVIIc. Además, se observó que los valores de cHDL se mantuvieron sin cambios significativos durante los 3 períodos de intervención dietética, aunque hubo una tendencia biológica a que fueran mayores durante la dieta SAT, circunstancia que puede no ser anormal debido a que durante esta dieta aumenta el colesterol total, lo que supone un aumento del cLDL y del cHDL.

Está demostrado que el contenido de grasa total de la dieta influye en las concentraciones de FVII. En general, la sustitución de una dieta rica en grasa por

una baja en grasa produce una disminución del FVIIc<sup>18</sup>. En nuestro caso, tanto la dieta HC como la dieta MED redujeron los valores de dicho factor respecto a la dieta SAT, aunque las menores concentraciones se obtuvieron con la dieta MED. Determinados estudios han investigado el efecto de los distintos ácidos grasos. En algunos de ellos no se encontraron diferencias al comparar la grasa saturada con la monoinsaturada o la poliinsaturada, tanto en el FVIIc como el FVIIa<sup>19-21</sup>. La diferencia de nuestros resultados con los anteriores<sup>21</sup> podría deberse a que en dichos estudios se analiza a enfermos hiperlipémicos y dicha anomalía metabólica podría hacer que la respuesta fuera distinta de la de nuestros participantes, que eran normolipémicos. En este sentido, ya se ha observado en personas jóvenes y sanas que la sustitución de dietas ricas en grasa saturada por monoinsaturadas reduce la activación posprandial del FVII<sup>22,23</sup>. Del mismo modo, al comparar distintos aceites se observó un descenso del FVIIc tras el consumo de aceite de oliva<sup>24</sup>, hecho que apoya nuestros resultados, ya que la dieta MED era especialmente rica en este alimento. En sujetos con hipertriglicéridemia, una dieta rica en ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados n-3 produjo un descenso del FVIIa cuando se comparó con una dieta baja en grasa, rica en HC<sup>25</sup>. Esto coincide parcialmente con nuestros resultados. En cambio, en otro trabajo<sup>26</sup> se observó que 3 tipos de dietas ricas en ácidos grasos saturados producían un menor incremento en el FVIIa que la dieta rica en ácido oleico. La discordancia entre los resultados de los diferentes estudios pueden explicarse por diferencias en su diseño o porque junto a la grasa monoinsaturada se aportan otros nutrientes con efecto adicional.

Con respecto al mecanismo por el cual la dieta MED reduciría el factor VIIa, Hoffman et al<sup>27</sup> encontraron una asociación positiva entre varios factores coagulantes dependientes de esta vitamina y los valores plasmáticos de colesterol total y cLDL, lo que indicaría una posible relación entre el metabolismo del colesterol y los factores dependientes de la vitamina K producidos en el hígado.

Las 3 dietas se administraron de forma secuencial y no aleatorizada, circunstancia que no excluye la posibilidad de un fenómeno de arrastre o temporal dependiente del orden de la administración. Sin embargo, el control exhaustivo del protocolo de intervención y el seguimiento estricto y periódico de los participantes hacen poco probable que los resultados observados en este estudio sean debidos a un fenómeno de arrastre.

En conclusión, nosotros encontramos que en varones sanos normolipémicos, el cambio de una dieta SAT a una dieta rica en HC y, sobre todo, a una dieta MED basada en el aceite de oliva produjo un descenso del FVIIa. Este factor interviene en la formación del

trombo sobre la placa de ateroma. Además, en hipercolesterolémicos, el FVIIa se relaciona con diferentes parámetros inflamatorios, como la proteína C reactiva y el receptor soluble de la interleucina 6, que están relacionados con eventos cardiovasculares<sup>28</sup>. Dada la implicación del FVIIa en el proceso trombogénico y su relación con parámetros inflamatorios, su descenso con la dieta MED sería un argumento más que apoyaría su consumo para la protección cardiovascular.

## AGRADECIMIENTOS

Expresamos nuestro agradecimiento a Marino Uceda y Antonio Jiménez por los conocimientos técnicos en la determinación de la composición de los ácidos grasos de los ésteres del colesterol en las LDL y a Rosario López por los conocimientos técnicos en la determinación de los valores plasmáticos del FVIIa.

## BIBLIOGRAFÍA

- Nakagaki T, Foster DC, Berkner KL, Kiesel W. Initiation of the extrinsic pathway of blood coagulation: evidence for the tissue factor dependent autoactivation of human coagulation factor VII. *Biochemistry*. 1991;30:10819-24.
- Meade TW, Mellows S, Brozovic M, Miller GJ, Chakrabarti RR, North RR, et al. Haemostatic function and ischaemic heart disease: Principal results of the Northwick Park Heart Study. *Lancet*. 1986;2:533-7.
- Heinrich J, Balleisen L, Schulte H, Assmann G, Van de Loo J. Fibrinogen and factor VII in the prediction of coronary risk: results from the PROCAM Study in healthy men. *Arterioscler Thromb*. 1994;14:54-9.
- Scarabin PY, Vissac AM, Kirzin JM, Bourgeat P, Amiral J, Agher R, et al. Population correlates of coagulation factor VII. Importance of age, sex, and menopausal status as determinants of activated factor VII. *Arterioscler Thromb and Vasc Biol*. 1996;16:1170-6.
- Morrissey JH, Macik BG, Neuenschwander PF, Comp PC. Quantification of activated factor VII levels in plasma using a tissue factor mutant selectively deficient in promoting factor VII activation. *Blood*. 1993;81:734-44.
- Mitropoulos KA, Miller GJ, Martin JC, Reeves BEA, Cooper J. Dietary fat induces changes in factor VII coagulant activity through effects on plasma free stearic acid concentration. *Arterioscler and Thromb*. 1994;14:214-22.
- Mennen LI, Shouten EG, Grobbee DE, Kluft C. Coagulation Factor VII, dietary fat and blood lipids: a review. *Thromb and Haemost*. 1996;76:492-9.
- Sanders T. Effects of unsaturated fatty acids on blood clotting and fibrinolysis. *Curr Opin Lipidol*. 1996;7:20-3.
- Marckmann P, Bladbjerg E-M, Jespersen J. Diet and blood coagulation factor VIIa key protein in arterial thrombosis. *Eur J Clin Nutr*. 1998;52:75-84.
- Human Nutrition Information Service, Department of Agriculture. Composition of foods. Agriculture handbook n.º 8. Washington, DC: US Government Printing Office, 1987.
- Varela G. Tablas de composición de alimentos. Madrid: Instituto de Nutrición, CSIC; 1980.
- Ruiz-Gutiérrez V, Prada JL, Pérez-Jiménez F. Determination of fatty acid and triacylglycerol composition of human very-low-density lipoproteins. *J Chromatography*. 1993;622:117-34.
- Bucolo G, David H. Quantitative determination of serum triglycerides by use of enzymes. *Clin Chem*. 1973;19:476-82.
- Allain CC, Poon LS, Chang CSG, Richmond W, Fu PC. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin Chem*. 1974;20:470-5.
- Assmann G, Schierwer H, Schmitz G, Hägele E. Quantification of high density lipoprotein cholesterol by precipitation with phosphotungstic acid-MgCl<sub>2</sub>. *Clin Chem*. 1983;29:2026-30.
- Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of a preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*. 1972;18:499-502.
- Riepponen P, Marniemi J, Rautaoja T. Immunoturbidimetric determination of apolipoproteins A-I and B in serum. *Scand J Clin Lab Inves*. 1987;47:739-44.
- Marckman P, Sandstrom B, Jespersen J. Effects of total fat content and fatty acid composition in diet of factor VII coagulant activity and blood lipids. *Atherosclerosis*. 1990;80:227-33.
- Marckman P, Sandstrom B, Jespersen J. Low fat, high-fiber diet favourably affects several independent risk markers of ischemic heart disease: observations on blood lipids, coagulation, and fibrinolysis from a trial of middle-age Danes. *Am J Clin Nutr*. 1994;59:935-9.
- Marckman P, Sandstrom B, Jespersen J. Favorable long-term effect of a low-fat/high-fiber diet on human blood coagulation and fibrinolysis. *Arterioscler Thromb*. 1993;13:505-11.
- Foley M, Ball M, Chisholm A, Duncan A, Spears G, Mann J. Should mono or polyunsaturated fats replace saturated fat in the diet? *Eur J Clin Nutr*. 1992;46:429-36.
- Kelly CM, Smith RD, Williams CM. Dietary monounsaturated fatty acids and haemostasis. *Proc Nutr Soc*. 2001;60:161-224.
- Silva KD, Kelly CN, Jones AE, Smith RD, Wootton SA, Miller GJ, et al. Chylomicron particle size and number, factor VII activation and dietary monounsaturated fatty acids. *Atherosclerosis*. 2003;166:73-84.
- Junker R, Kratz M, Neufeld M. Effects of diets containing olive oil, sunflower oil, or rapeseed oil on the haemostatic system. *Thromb Haemost*. 2001;85:280-6.
- Junker R, Pieke B, Schulte H, Nofer R, Neufeld M, Assmann G, et al. Changes in hemostasis during treatment of hypertriglyceridemia with a diet rich in monounsaturated and n-3 polyunsaturated fatty acids in comparison with a low-fat diet. *Thromb Res*. 2001;101:355-66.
- Tholstrup T, Miller GJ, Bysted A, Sandstrom B. Effect of individual dietary fatty acids on postprandial activation of coagulation factor VII and fibrinolysis in healthy young men. *Am J Clin Nutr*. 2003;77:1125-32.
- Hoffman CJ, Lawson WE, Miller RH, Hultin MB. Correlation of vitamin K-dependent clotting factor with cholesterol and triglycerides in healthy young adults. *Arterioscler Thromb*. 1994;14:1737-40.
- Porreca E, Di Febbo C, Di Castelnuovo A, Baccante G, Amore C, Angelini A, et al. Association of factor VII levels with inflammatory parameters in hypercholesterolemic patients. *Atherosclerosis*. 2002;165:159-66.