

Efeitos da folha da oliveira na inflamação causada por distúrbios metabólicos: uma revisão sistemática

Effects of olive leaf on inflammation caused by metabolic disorders: a systematic review

Efectos de la hoja de olivo sobre la inflamación provocada por trastornos metabólicos: una revisión sistemática

Larissa Slongo Faccioli¹, Anna Caroline Cristofoli Bertoletti²,
Isabella Rosa da Mata³, Kathleen Krüger Peres⁴, Juliano Garavaglia⁵,
Matheus Büttner Borges⁶, Simone Morelo Dal Bosco⁷

1. Nutricionista, Mestre no Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Ciências da Saúde (UFCSPA). Porto Alegre-RS, Brasil.

2. Nutricionista, Mestre no Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Ciências da Saúde (UFCSPA). Porto Alegre-RS, Brasil.

3. Nutricionista, Mestre no Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Ciências da Saúde (UFCSPA). Porto Alegre-RS, Brasil.

4. Nutricionista, Mestre no Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Ciências da Saúde (UFCSPA). Porto Alegre-RS, Brasil.

5. Doutor em Biologia Celular e Molecular, Professor Titular da Universidade Federal de Ciências da Saúde (UFCSPA), Departamento de Nutrição. Porto Alegre-RS, Brasil.

6. Nutricionista Clínico pela Universidade Federal de Ciências da Saúde (UFCSPA). Porto Alegre-RS, Brasil.

7. Doutora em Medicina e Ciências da Saúde, Professora Titular da Universidade Federal de Ciências da Saúde (UFCSPA), Departamento de Nutrição. Porto Alegre-RS, Brasil.

Resumo

Introdução. A inflamação crônica de baixo grau está presente em distúrbios metabólicos como obesidade, diabetes e doença hepática, podendo resultar em um desequilíbrio lipídico, estresse oxidativo, resistência à insulina e inflamação. As folhas da oliveira, ricas em polifenóis, apresentam efeitos benéficos, incluindo ação antioxidant e anti-inflamatória. **Objetivo.** Avaliar os efeitos da folha da oliveira na inflamação causada por distúrbios metabólicos em ratos. **Método.** Foi conduzida uma revisão sistemática por meio de três bases de dados eletrônicas: PubMed, Scopus e Web of Science. Após aplicação dos critérios de inclusão e exclusão. A análise das evidências foi realizada através da aplicação da ferramenta robusta SYRCLE's Risk of Bias (RoB) para avaliar o risco de viés dos artigos selecionados. **Resultados.** Um total de 11 estudos foram incluídos até agosto de 2019 para compor esta revisão sistemática. **Conclusão.** A folha da oliveira administrada em ratos parece diminuir marcadores inflamatórios na obesidade, diabetes e doenças hepáticas, possivelmente devido aos efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios dos polifenóis presentes. Entretanto, os atuais estudos publicados, são limitados exigindo continuidade e aprimoramento da metodologia de intervenção empregada. Mais estudos são necessários para investigar os efeitos da folha da oliveira na inflamação em ratos com distúrbios metabólicos.

Unitermos. Folha de Oliveira; Inflamação; Revisão Sistemática; Distúrbios metabólicos; Estudos Experimentais

Abstract

Introduction. Chronic low-grade inflammation is present in metabolic disorders such as obesity, diabetes and liver disease, and can result in lipid imbalance, oxidative stress, insulin resistance and inflammation. Olive leaves, rich in polyphenols, have beneficial effects, including antioxidant and anti-inflammatory actions. **Objective.** To evaluate the effects of olive leaf on inflammation caused by metabolic disorders in rats. **Method.** A systematic review was conducted using three electronic databases: PubMed, Scopus and Web of Science. After

applying the inclusion and exclusion criteria. The evidence analysis was carried out by applying the robust tool SYRCLE's Risk of Bias (RoB) to assess the risk of bias of the selected articles. **Results.** A total of 11 studies were included until August 2019 to compose this systematic review. **Conclusion.** Olive leaf administered to rats appears to reduce inflammatory markers in obesity, diabetes and liver disease, possibly due to the antioxidant and anti-inflammatory effects of the polyphenols present. However, current published studies are limited, requiring continuity and improvement of the intervention methodology used. More studies are needed to investigate the effects of olive leaf on inflammation in rats with metabolic disorders.

Keywords. Olive Leaf; Inflammation; Systematic Review; Metabolic Disorders; Experimental Studies

RESUMEN

Introducción. La inflamación crónica de bajo grado está presente en trastornos metabólicos como la obesidad, la diabetes y las enfermedades hepáticas, y puede provocar un desequilibrio de lípidos, estrés oxidativo, resistencia a la insulina e inflamación. Las hojas de olivo, ricas en polifenoles, tienen efectos beneficiosos, entre ellos acciones antioxidantes y antiinflamatorias.

Objetivo. Evaluar los efectos de la hoja de olivo sobre la inflamación causada por trastornos metabólicos en ratas. **Método.** Se realizó una revisión sistemática utilizando tres bases de datos electrónicas: PubMed, Scopus y Web of Science. Luego de aplicar los criterios de inclusión y exclusión. El análisis de la evidencia se llevó a cabo aplicando la herramienta robusta Risk of Bias (RoB) de SYRCLE para evaluar el riesgo de sesgo de los artículos seleccionados. **Resultados.** Se incluyeron un total de 11 estudios hasta agosto de 2019 para componer esta revisión sistemática. **Conclusión.** La hoja de olivo administrada a ratas parece reducir los marcadores inflamatorios en la obesidad, la diabetes y las enfermedades hepáticas, posiblemente debido a los efectos antioxidantes y antiinflamatorios de los polifenoles presentes. Sin embargo, los estudios publicados actualmente son limitados y requieren continuidad y mejora de la metodología de intervención utilizada. Se necesitan más estudios para investigar los efectos de la hoja de olivo sobre la inflamación en ratas con trastornos metabólicos.

Palabras clave: Hoja de olivo; Inflamación; Revisión Sistemática; Desórdenes Metabólicos; Estudios Experimentales

Trabalho realizado na Universidade Federal de Ciências da Saúde (UFCSPA), Porto Alegre-RS, Brasil.

Conflito de interesse: não Recebido em: 06/04/2024 Aceito em: 18/09/2024

Endereço para correspondência: Simone M Dal Bosco. Porto Alegre-RS, Brasil. Email: simonedb@ufcspa.edu.br

INTRODUCÃO

A inflamação crônica de baixo grau, uma característica marcante dos distúrbios metabólicos, é marcada por alterações histológicas dos tecidos e uma mudança fenotípica nos tipos de células imunes¹. Em condições típicas, as células imunes locais, como os macrófagos e as células T reguladoras, produzem citocinas anti-inflamatórias, que combatem a inflamação e restabelecem a homeostase². No entanto, sem ativação (ou com ativação insuficiente) de mediadores anti-inflamatórios, a inflamação crônica de baixo

grau gera incapacidade de manter a homeostase energética, podendo resultar em descontrole lipídico, estresse oxidativo, resistência à insulina e inflamação^{3,4}.

A obesidade é caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura no tecido adiposo (TA)⁵. Dentre eles há o tecido adiposo branco (WAT) que atua na regulação da homeostase energética sistêmica e no armazenamento de gordura. Em resposta às mudanças no estado nutricional, o TA se expande aumentando o número (hiperplasia) e o tamanho dos adipócitos (hipertrofia)⁶. Numerosos efeitos deletérios foram associados à expansão do WAT, incluindo inflamação, fibrose, hipóxia, secreção alterada de adipocinas e disfunção mitocondrial⁷. Além disso, o excesso de tecido adiposo pode gerar “*reactive oxygen species*” - espécies reativas de oxigênio (ROS), resultando no aumento do estresse oxidativo e metabólico e mediadores inflamatórios. Sendo assim, o TA inflamado faz com que os adipócitos aumentem a secreção de citocinas e adipocinas pró-inflamatória, como tumor necrosis factor- α -TNF- α , e leptina, e diminuam as anti-inflamatórias, por exemplo adiponectina e resistina⁸.

A Diabetes Mellitus é dividida em dois tipos: diabetes mellitus tipo 1 (termo em inglês, T1DM), na qual há uma deficiência absoluta de insulina, resultante da destruição das células beta pancreáticas⁹ e diabetes mellitus tipo 2 (termo em inglês, T2DM), na qual a resistência à insulina com disfunção das células β pancreáticas¹⁰. Conforme a doença progride, a secreção de insulina é incapaz de manter a homeostase da glicose, produzindo hiperglicemia¹¹. Em

decorrência da hiperglicemia, ocorre a inflamação¹², reação primária do sistema imunológico para restaurar as células ao estado normal. As células do sistema imunológico inato secretam citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias como interleucina-6 (IL-6) e TNF-α que estimulam a produção de ROS contribuindo para o aumento do estresse oxidativo¹³ confirmado a ligação com inflamação¹². As células possuem um sistema de defesa para prevenir ou eliminar a superprodução de ROS, composto pelas enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutationa peroxidase (GPX)¹⁴.

A inflamação também pode estar presente em doenças hepáticas. A doença hepática gordurosa não alcoólica (termo em inglês, NAFLD) é caracterizada por um aumento no conteúdo de triglicerídeos hepáticos¹⁵. Contudo, essa doença pode progredir, apresentando inflamação lobular, sinais de dano hepatocelular e fibrose¹⁶, condição característica da esteatohepatite não alcoólica (termo em inglês, NASH), que eleva o risco do desenvolvimento de cirrose e carcinoma hepatocelular¹⁷. O acúmulo excessivo de triglicerídeos intra-hepáticos, presente nessas doenças, está associado a alterações no metabolismo da glicose, ácidos graxos, lipoproteínas e inflamação, com consequências adversas para a saúde¹⁸. A patogênese da NAFLD e NASH é considerada multifatorial, mas o estresse oxidativo desempenha um papel fundamental na progressão da doença, uma vez que aumenta a peroxidação lipídica e

produção de citocinas inflamatórias, contribuindo para lesão hepatocelular e fibrose¹⁹.

Outras disfunções no fígado são descritas devido à exposição crônica de bisfenol A (BPA), composto sintético utilizado como monômero em plásticos de policarbonato e resinas epóxi que imita estrogênio²⁰. O BPA, disruptor endócrino, está correlacionado ao desenvolvimento de distúrbios metabólicos devido à capacidade de desregular citocinas²¹, induzir apoptose celular em hepatócitos e produzir estresse oxidativo no tecido hepático²⁰. Isso resulta em acúmulo de lipídeos e inflamação, contribuindo para a esteatose e esteato-hepatite²². A resposta inflamatória hepática é mediada por citocinas pró-inflamatórias, especialmente TNF-α, que é liberada em lesão hepática¹³.

Os compostos antioxidantes como Vitamina C, Vitamina E, carotenoides, selênio e zinco são também agentes anti-inflamatórios. Além destes, existem os compostos fenólicos nos quais destacam-se os flavonoides, os ácidos fenólicos, os taninos, os tocoferóis e os secoiridoides²³. Esses são provenientes do metabolismo secundário de plantas e muitos deles estão presentes na folha da oliveira²⁴.

Nativas da bacia do Mediterrâneo, as folhas de oliveira (*Olea europaea L.*) são consideradas um subproduto da olivicultura e amplamente utilizadas em remédios tradicionais em países europeus e mediterrâneos²⁵. Com a realização da poda e a colheita da azeitona, utilizada para a produção de azeite de oliva e azeitonas de mesa, gera-se um volume considerável de folhas de oliveira que são

comumente descartadas e, portanto, consideradas matéria-prima de baixo custo²⁶.

As folhas de oliveira contêm grandes quantidades de compostos fenólicos, especialmente oleuropeína e hidroxitirosol. Além disso, outros compostos fenólicos foram identificados na folha de oliveira, mas em menores quantidades: luteolina, rutina, apigenina, ácido cafeico, quercitrina, ácido p-cumárico, ácido ferúlico, quercetina, 6-hidroxicumarina e resveratrol²⁷.

Os polifenóis da folha da oliveira apresentam efeitos anti-hipertensivo, hipoglicêmico, anti-ateroscleróticos, anti-inflamatórios e hipocolesterolêmicos²⁸. As folhas apresentam grande poder antioxidante²⁴ e todos os efeitos positivos encontrados parecem estar relacionados à ação antioxidante dos compostos fenólicos, em especial a oleuropeína e o hidroxitirosol²⁹. Essa ação antioxidante acontece através da diminuição dos níveis de ROS, que protegem as biomoléculas dos danos causados pelo estresse oxidativo, reduzindo a inflamação em distúrbios metabólicos²³. O objetivo deste estudo foi realizar uma revisão sistemática sobre os efeitos da folha da oliveira na inflamação causada por distúrbios metabólicos em ratos.

MÉTODO

Protocolo e registro

Esta revisão sistemática foi realizada de acordo com os itens de relatório preferenciais para revisões sistemáticas e metanálise (PRISMA)³⁰. A revisão foi registrada no

International Prospective Register of Systematic Reviews
(PROSPERO) com o número CRD42020152008.

Estratégia de busca e critérios de elegibilidade

Os estudos foram encontrados por meio de busca nas bases de dados eletrônicas: PubMed, *Web of Science* e Scopus. A pesquisa nos bancos de dados foi realizada até agosto de 2019 e os seguintes termos foram utilizados para a busca: (“olive leaf” OR “olive leaves”) AND (inflammation OR inflammations); (“oleuropein”) AND (inflammation OR inflammations). Todos os termos foram pesquisados no título, resumo e palavra-chave. Não foram aplicadas restrições quanto ao idioma ou data de publicação. Filtros também não foram aplicados. Optou-se por uma busca mais sensível visando a captação de muitos artigos.

Nesta revisão sistemática foram incluídos estudos que: (1) possuíam grupos experimentais com controle em modelos animais (ratos e camundongos); (2) utilizaram a folha da oliveira (extrato de folha de oliveira ou oleuropeína ou hidroxitirosol isolado obtidos da folha da oliveira) via oral; (3) tinham desfecho em obesidade, marcadores inflamatórios, dislipidemia, síndrome metabólica e peso corporal. Foram excluídos do estudo que: (1) utilizaram misturas de folha de oliveira ou oleuropeína obtida do azeite de oliva; (2) estudos *in vitro*, em humanos e outros animais que não ratos e camundongos; (3) inflamação por câncer, doenças neurológicas e reumáticas; (4) revisões sistemáticas, metanálises, revisões de literatura, revisões,

estudos de caso, publicação em pareceres de especialistas, notas, livros e congressos.

Extração de dados

Os revisores extraíram informações relevantes de cada estudo: autor principal, ano de publicação, modelo animal, dose de intervenção, via de administração, grupo controle, duração do estudo, desfecho e resultados. A extração foi realizada de forma independente por quatro revisores e as informações coletadas foram resumidas em modelo padronizado de extração de dados no Microsoft Excel.

Análise de risco de viés

Nesta revisão, utilizamos a ferramenta *SYRCLE's Risk of Bias* (RoB)³¹ para estudos em animais a fim de avaliar o risco de viés dos 11 artigos incluídos. Essa ferramenta é uma versão adaptada da ferramenta RoB da Cochrane e possui 10 itens para avaliação do risco de viés. Esses itens estão relacionados a seis tipos de viés: viés de seleção, viés de desempenho, viés de detecção, viés de atrito, viés de relatórios e outros vieses.

As avaliações foram feitas por dois revisores independentes e as divergências foram resolvidas por consenso. A indicação "+" indica que o risco de viés é alto, a indicação "-" indica um baixo risco de viés e se os detalhes foram insuficientes ou pouco claros para avaliar o risco de viés, a indicação foi "?".

RESULTADOS

Artigos selecionados

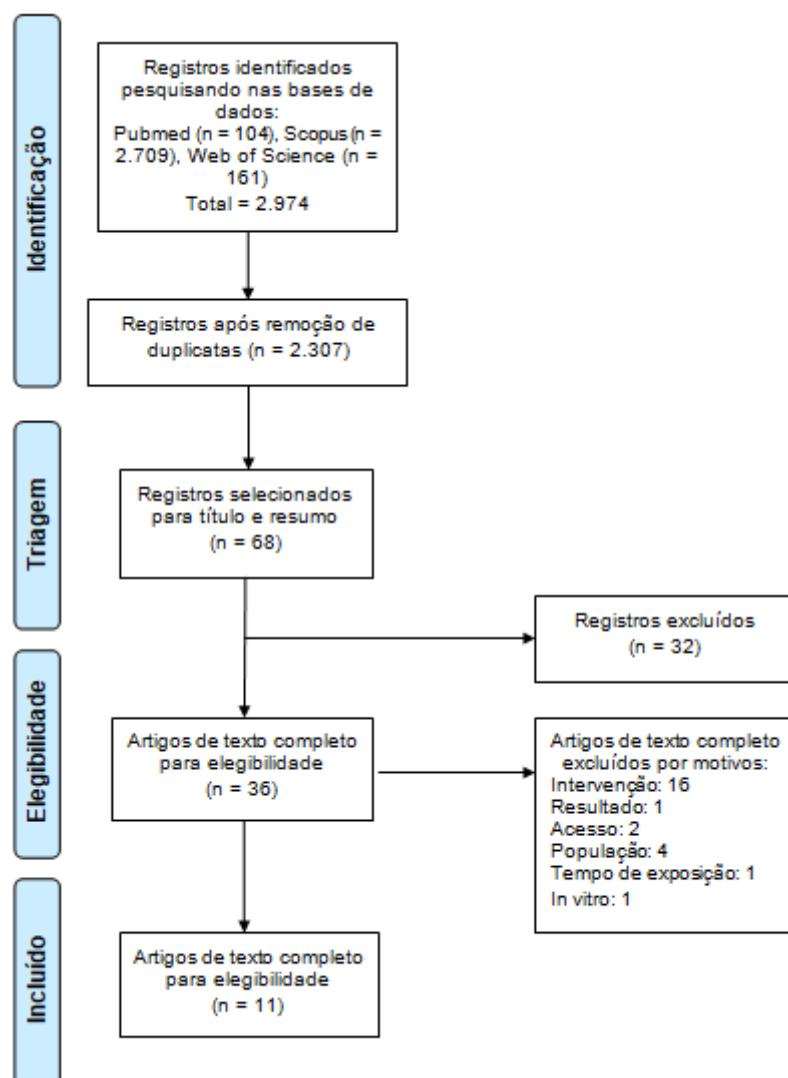
A busca eletrônica resultou em 2974 artigos, sendo 2307 identificados após duplicata exclusão. Seguindo as recomendações do PRISMA³⁰, dois revisores (LSF; AB) avaliaram independentemente título e resumo dos artigos e identificaram 36 artigos potencialmente elegíveis para leitura completa. As discrepâncias entre os revisores foram avaliadas por um terceiro revisor (IRM). Após a leitura dos textos completos, 24 artigos foram excluídos devido a intervenção ($n= 17$), população ($n=4$), falta de acesso ao artigo completo ($n=2$), tempo de exposição não relatado ($n=1$), *in vitro* ($n=1$), *outcome* ($n=1$). 11 artigos^{27,32-41} foram selecionados para compor esta revisão sistemática, conforme mostra o fluxograma da Figura 1.

Características dos estudos

As principais características dos estudos incluídos nesta revisão são apresentadas na Tabela 1. As amostras dos 11 estudos selecionados totalizam 394 rodents. Seis estudos foram realizados com ratos Wistar^{27,32-36} um estudo utilizou ratos SHR/NDmcr-cp (ratos geneticamente modificados, modelo de hipertensão adequado de síndrome metabólica)³⁷; um estudo com ratos Sprague-Dawley³⁸; um estudo com ratos C57BL/6JOlalHsd³⁹; um estudo com ratos Swiss⁴⁰ e um estudo com ratos ICR⁴¹. Os estudos avaliaram o efeito da folha da oliveira em diferentes desfechos: três estudos em doença hepática^{37,38,40}; quatro estudos T2DM^{27,32,34,36}; um

estudo em T1DM⁴¹; um estudo em sinais cardiovasculares, hepáticos e metabólicos³⁵ e dois estudos em obesidade e adiposidade^{33,39}.

Figura 1. Diagrama de fluxo “Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses” (PRISMA) para revisões sistemáticas.



Diferentes formas de intervenções e dosagens foram utilizadas: seis estudos utilizaram como intervenção o extrato de folha de oliveira (OLE) com doses variando de

17,8mg/kg de peso/dia à 2.000mg/kg de peso/dia^{32,34-38}; um estudo utilizou extrato etanólico de folha de oliveira na dose de 200mg/kg e 400mg/kg²⁷; dois estudos utilizaram a oleuropeína isolada extraída da folha de oliveira com doses de 50mg/kg de peso/dia³³ e 758mg/kg de peso/dia³⁹; um estudo utilizou oleuropeína (16mg/kg de peso/dia) e hidroxitirosol (16mg/kg de peso/dia) isolados extraídos da folha da oliveira⁴⁰ e um estudo utilizou folha de oliveira em pó (0,3% a 3%)⁴¹.

Tabela 1. Características dos estudos incluídos.

Estudo	População	Grupo de intervenção	Grupo controle	Via de administração	Tempo de exposição	Desfecho	Outcomes (desfecho)
Hadrich <i>et al.</i> ³³	50 ratos Wistar machos	G2: dieta rica em colesterol (HCD) (3.987,5 kcal/kg; dieta normal suplementada com 10% de colesterol, 5% de frutose e 0,1% de sais biliares). G3: HCD + gavagem oral com oleuropeína (50mg/kg).	G1: dieta padrão de laboratório (CD) (2.900 kcal/kg)	gavagem oral	8 semanas	obesidade	A oleuropeína diminuiu o peso corporal e os níveis de TG, COT ($p<0,01$) e LDL ($p<0,05$). Além disso, os níveis de HDL-C ($p<0,05$) e de adiponectina sérica aumentaram ($p<0,01$). O peso do fígado, o escorre do fígado gorduroso e os níveis de AST diminuíram ($p<0,01$) e epiWAT. O tamanho dos adipócitos e a ALT ($p<0,05$) foram menores no G3. A oleuropeína induziu a ativação de AMPK e suprimiu PPARy, SREBP-1c e FAS na tecido adiposo ($p<0,01$)
Afify <i>et al.</i> ³⁴	24 ratos Wistar machos	G3: ratos normais tratados com OLE (17,8 mg/kg peso corporal) 20 mg oleuropeína/kg peso corporal. G4: ratos diabéticos tratados com OLE (17,8 mg/kg peso corporal) 20 mg oleuropeína/kg peso corporal	G1: controle normal G2: controle diabético	gavagem oral	10 semanas	T2DM	O G4 diminuiu os níveis de MDA e aumentou GSH quando comparado ao grupo controle ($p<0,05$). A SOD diminuiu no G2, aumentou no G4 e G3. A atividade da GPX no grupo controle suplementado com folha de oliveira foi maior ($p<0,05$) quando comparada ao grupo diabético, enquanto a atividade da CAT tendeu a aumentar. Correlação negativa foi encontrada entre MDA e SOD ($r^2=0,62$, $p\le0,05$), entre MDA e GPX ($r^2=0,68$, $p\le0,05$), MDA e CAT ($r^2=0,58$, $p\le0,05$) e entre MDA e GSH ($r^2=0,57$, $p\le0,05$). A forte correlação positiva foi encontrada entre SOD e GPX ($r^2=0,53$, $p\le0,05$).
Guex <i>et al.</i> ²⁷	25 ratos Wistar machos	G4: animais diabéticos tratados com folhas de <i>Olea europaea L.</i> (200mg/kg) G5: animais diabéticos tratados com <i>Olea europaea L.</i> (400mg/kg)	G1: Controle normal com 10mL/kg de extrato etanólico G2: Controle diabético com 10mL/kg G3: Controle positivo com metformina 250mg/kg	gavagem oral	10 semanas	T2DM	O peso corporal diminuiu no G2, G4 e G5, quando comparado ao G1. Os níveis de glicose e AST foram reduzidos no G4 e G5 quando comparados ao G1 ($p<0,05$). Níveis de ALT e COT sem alterações significativas. G5 aumentou os níveis de insulina quando comparado ao G1 ($p<0,05$); TNF- α e IL-1 apresentaram redução em G4 e G5 ($p<0,05$). IFN- γ e IL-6 apresentaram redução no G5 ($p<0,05$). A IL-10 foi maior no G5 quando comparado aos demais grupos. Os níveis de resistina e leptina estavam diminuídos no G4 e G5 ($p<0,05$), enquanto os níveis de adiponectina estavam aumentados no G5 ($p<0,05$). Os níveis de MDA nos rins, CAT e SOD não apresentaram diferença significante entre os grupos.

Tabela 1 (cont.). Características dos estudos incluídos.

Estudo	População	Grupo de intervenção	Grupo controle	Via de administração	Tempo de exposição	Desfecho	Outcomes (desfecho)
Park et al. ⁴¹	40 ratos ICR	VLOL: Diabetes suplementado com dose muito baixa de folha de oliveira em pó (0,3%) LOL: Diabetes suplementado com baixa dose de pó de folha de oliveira (0,6%) HOL: Alta dose de pó de folha de oliveira (3%)	C: Controle D: Diabetes com injeção intraperitoneal de STZ (180mg/kg de peso corporal) Os ratos utilizados neste estudo foram alimentados com pó AIN-93G (G-bio)	Via oral	4 semanas	T1DM	O peso corporal nos grupos VLOL e HOL foi maior que no grupo D. Os pesos do fígado e da gordura epididimal aumentaram nos grupos VLOL e LOL quando comparados ao grupo D ($p<0,05$). A glicose nos grupos VLOL e LOL foi menor quando comparada ao grupo D, enquanto os níveis de insulina aumentaram ($p<0,05$). As atividades de SOD e CAT diminuiram no grupo D, quando comparado ao VLOL e LOL. A atividade GPX também diminuiu ($p<0,05$). Os níveis de NO foram ligeiramente mais baixos nos grupos VLOL e LOL. A secreção de TNF- α , IFN- γ , IL-6 e IL-2 tendeu a diminuir nos grupos VLOL e LOL, quando comparados ao D. Os níveis de IL-17 foram menores nos grupos VLOL e HOL ($p<0,05$). Os níveis de IL-10 foram maiores no grupo D e baixos nos demais grupos. Os níveis de IL-4 foram maiores nos grupos VLOL e LOL quando comparados ao grupo D. Os níveis de IFN- γ foram reduzidos no fígado dos grupos VLOL, LOL e HOL ($p<0,001$, $p<0,001$ e $p<0,01$) quando comparado ao grupo D.
Liu et al. ³⁶	20 ratos Wistar machos	LOE: alimentado com uma dieta rica em gordura de 45%. Diabetes + 200mg/kg de peso corporal de OLE (dose baixa de OLE) HOE: alimentado com dieta rica em gordura de 45%. Diabetes + 400mg/kg de peso corporal de OLE (alta dose de OLE)	DE: controle não diabético; dieta normal (AIN-93G) DC: controle diabético (alimentado com dieta rica em gordura de 45%)	Via oral	8 semanas	T2DM	A administração de OLE não influenciou significativamente a perda de peso. Os grupos LOE e HOE apresentaram diminuição da glicemia, COT, TG e menor índice HOMA-IR quando comparado ao CD ($p<0,05$). Os grupos tratados com OLE apresentaram aumento na expressão IRS-1, retornando aos níveis de ND ($p<0,05$). As expressões de mRNA de TNF α e IL-6 no fígado foram menores em LOE e HOE. TNF α , IL-1 β e IL-6 no tecido adiposo epididimal foram menores no HOE quando comparado ao DC ($p<0,05$). No grupo DC e LOE foram encontradas pequenas infiltrações linfocíticas, mas não significantes, pois o grupo HOE não apresentou infiltração linfocítica.
Mahmoud et al. ⁴⁰	32 ratos suíços machos	Grupo BPA: BPA a 10mg/kg de peso corporal. OLE-BPA recebeu BPA a 10mg/kg peso corporal + 16mg/peso corporal/dia de oleuropeína HYT-BPA recebeu BPA na dose de 10mg/kg peso corporal + 16mg/kg peso corporal de hidroxitiroisol	Grupo Controle: água normal + dieta padrão fornecida pela Company of Animal Nutrition, Sfax, Tunísia.	Via oral	8 semanas	Lesão hepática em tratamento com BPA	OLE-BPA e HYT-BPA reduziram o peso corporal ($p<0,01$) e o índice de massa corporal ($p<0,05$) quando comparados ao grupo BPA. O volume do tecido adiposo interescapular e da superfície da gordura subcutânea diminuiu com a suplementação de oleuropeína e hidroxitiroisol ($p<0,05$). OLE-BPA e HYT-BPA diminuíram o peso do fígado, AST TG hepático ($p<0,01$), ALT, TNF- α , ($p<0,05$), TG, COT plasmático ($p<0,001$), LDL, COT no fígado ($p<0,001$). OLE-BPA e HYT-BPA reduziram o acúmulo de lipídios e a inflamação no tecido hepático, melhoraram a capacidade antioxidante ($p<0,05$), reduziram a concentração de TBARS em relação aos valores controle, AST, e a expressão de p53 e COX -2 ($p<0,001$). OLE-BPA e HYT-BPA diminuíram a área de superfície da maioria dos adipócitos e aumentaram o número de adipócitos quando comparados ao caso de ratos tratados com BPA ($p<0,001$). O uso do extrato também reduziu a expressão de NF- κ B ($p<0,0001$)
Al-Attar et al. ³²	60 ratos albinos machos Wistar	G3: ratos diabéticos com OLE (200mg/kg de peso corporal/dia). G4: ratos diabéticos com OLE (400mg/kg de peso corporal/dia). G5: ratos não diabéticos, com OLE (200mg/kg de peso corporal/dia). G6: ratos não diabéticos, com OLE (400mg/kg de peso corporal/dia)	G1: controle normal e saudável G2: controle diabético	Via oral	8 semanas	T2DM	Todos os grupos ganharam peso. Os níveis séricos de glicose, proteína total, albumina, TG, COT, LDL e VLDL-C foram menores no G3 e G4 ($p<0,05$), enquanto os níveis de HDL-C e insulina aumentaram nesses grupos quando comparados ao G2. Foram observadas alterações insignificantes nos níveis de glicose, insulina, proteína total, albumina em TG, HDL-C, LDL e VLDL-C no G5 e G6 quando comparado ao G1. Os níveis de LDH diminuíram com o uso de OLE no G3 ($p<0,05$). Em relação ao estresse oxidativo, os níveis de SOD, GSH e CAT aumentaram no G3 e G4 quando comparado ao G1 ($p<0,05$). No G5 e G6 as alterações foram insignificantes. Os níveis de MDA foram reduzidos nos grupos G3 e G4 quando comparados ao G2, e nos G5 e G6 as alterações foram insignificantes. Os níveis de IRS1 e IRA aumentaram com o uso de OLE no G3 e G4 ($p<0,05$) quando comparado ao G2. Porém, no G5 e G6 as alterações foram insignificantes.

Tabela 1 (cont.). Características dos estudos incluídos.

Estudo	População	Grupo de intervenção	Grupo controle	Via de administração	Tempo de exposição	Desfecho	Outcomes (desfecho)
Van der Stelt et al. ³⁹	36 camundongos C57BL/6JOlalH sd machos do tipo selvagem	HFD + O: suplementado com 0,59% (p/p) (ou 758 mg/kg de peso corporal no início do estudo) de oleuropeína	NFD: dieta normal padronizada com gordura (NFD; 3865kcal, 10% de energia (en%) de gordura, 23,1en% de proteína, 66,9en% de carboidratos). DH: dieta rica em gordura padronizada (DH; 4700kcal, 40% de gordura, 23% de proteína, 36,8% de carboidratos).	Suplementação por via oral	16 semanas	Cardiovasculares, hepáticos e metabólicos	O peso corporal em CS+OLE diminuiu quando comparado a CS, mas não em HCHF+OLE ($p<0,05$). OLE diminuiu a gordura abdominal e atenuou o aumento da circunferência abdominal ($p<0,05$). Os níveis de COT e TG foram menores em HCHF+OLE quando comparados a HCHF. O grupo HCHF+OLE melhorou a tolerância oral à glicose. O grupo HCHF+OLE apresentou marcadores de estresse oxidativo mais baixos quando comparado aos ratos HCHF. OLE reduziu as concentrações plasmáticas de MDA e o peso do fígado ($p<0,05$). OLE não alterou a capacidade antioxidante total do plasma. O grupo HCHF+OLE reverteu o aumento da rigidez cardíaca, com um estado inflamatório normalizado e reduziu significativamente a deposição de colágeno. Os ratos OLE mostraram normalização da esteatose macrovesicular, inflamação portal e fibrose.
Omagari et al. ³⁷	20 ratos machos SHR/ND mcr-cp	L: alimentado com AIN-93G + 500mg/kg de dieta com OLE; M: alimentado com AIN-93G + 1000mg/kg de dieta com OLE; H: alimentado com AIN-93G + ração 2000mg/kg com OLE;	C: dieta padrão AIN-93G sem extrato de folha de oliveira	Suplementação por via oral	23 semanas	DHGNA	Todos os grupos ganharam peso e apresentaram obesidade. Peso corporal, relação peso do fígado/peso corporal, peso da gordura epididimal, glicose, COT, TG, AST e ALT não apresentaram diferença significante. Foram encontradas diferenças em ratos com esteatose moderada a grave (C+L=8 ratos; M+H=2 ratos) ($p=0,012$); fibrose hepática leve (C+L=6 ratos; M+H=1 ratos) ($p=0,029$) e esteatohepatite (NAS de 5 pontos ou mais) (C+L=6 ratos; M+H=1 ratos) ($p=0,029$). A pontuação média do NAS foi maior no grupo C+L do que no grupo M+H ($p=0,043$). A expressão hepática de TRX-1 foi menos evidente no grupo C+L do que no grupo M+H. A expressão hepática de 4-HNE foi menor em M+H quando comparada a C+L. O grupo M+C não apresentou inflamação lobular ou fibrose no parênquima hepático.
Omagari et al. ³⁸	37 Sprague-Dawleyrats machos	HDOD: alimentado com DH por 23 semanas seguido de DH contendo 0,1% de extrato de folha de oliveira (1000mg/kg) por 15 semanas HDHD: dieta rica em gordura + extrato de folha de oliveira	LDLD: dieta pobre em gordura - dieta pobre em gordura contendo 10% de gordura (5,5% de óleo de soja e 4,4% de banha, quilocalorias) HDHD: alimentados com dieta hiperlipídica (DH) contendo 45% de gordura (5,5% de óleo de soja e 39,4% de banha, quilocalorias);	Suplementação por via oral	38 semanas	DHGNA	Os ratos sacrificados às 26 semanas de idade não apresentaram diferença significante em todos os parâmetros estudados. A inflamação lobular não foi observada no grupo ODOD. Nos ratos sacrificados com 41 semanas, o peso no grupo LDLD foi menor que nos demais grupos ($p=0,004$). Os TG no HDOD foram inferiores aos do LDLD ($p=0,03$). A relação peso do fígado/peso corporal, níveis de glicose, insulina, COT e peso da gordura epididimal AST e ALT não foram significativamente diferentes entre os grupos. O escore de esteatose HDHD foi maior quando comparado ao LDLD ($p=0,03$). A imunohistoquímica não mostrou diferença significante no TRX-1, escores de esteatose, balão de hepatócitos e NAS. A coloração hepática de TRX-1 foi menos evidente no grupo ODOD. Inflamação lobular não foi observada no grupo ODOD

ALT: alanina aminotransferase; AMPK: proteína quinase ativada por AMP; AST: Aspartato transaminase; BPA: Bisfenol A; CAT: catalase; COX-2: ciclooxygenase-2; COT: colesterol total; EpiWAT: tecido adiposo branco epididimal; FAS: sintase de ácidos graxos; GSH: Glutathione GPX: glutationa peroxidase; HDL-C: Lipoproteína de alta densidade; 4-HNE: 4-hidroxinonenal; HOMA-IR: Modelo de Avaliação Homeostática para Resistência à Insulina; IFN-γ: Interferon gama; IRA: receptor de insulina; IRS-1: Substrato 1 do receptor de insulina; IL-1: Interleucina-1; IL-2: interleucina-2; IL-4: interleucina-4; IL-6: interleucina-6; IL-10: Interleucina-10; IL-1β: Interleucina-1β; IL-17: interleucina-17; LDH: Lactato Desidrogenase; LDL: lipoproteína de baixa densidade-colesterol; MDA: Malondialdeído; NF-κB: fator nuclear kappa; DHGNA: doença hepática gordurosa não alcoólica; NAS: escore de atividade da DHGNA; NO: óxido nítrico; OLE: extrato de folha de oliveira; PPARγ: receptor gama ativado por proliferador de peroxissoma; p-53: proteína 53; SOD: superóxido dismutase; SREBP-1c: proteína de ligação ao elemento-1c; TBARS: substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico; DM1: diabetes mellitus tipo 1; DM2: diabetes mellitus tipo 2; TG: Triglicerídeos; TNF-α: fator de necrose tumoral-α; Trx-1: Tiorredoxina-1; VLDL-C: colesterol-lipoproteína de muito baixa densidade.

Avaliação do risco de viés

A maioria dos estudos, conforme mostra a Figura 2, apresentaram baixo risco de viés nos itens sobre viés de seleção relacionados às características basais semelhantes

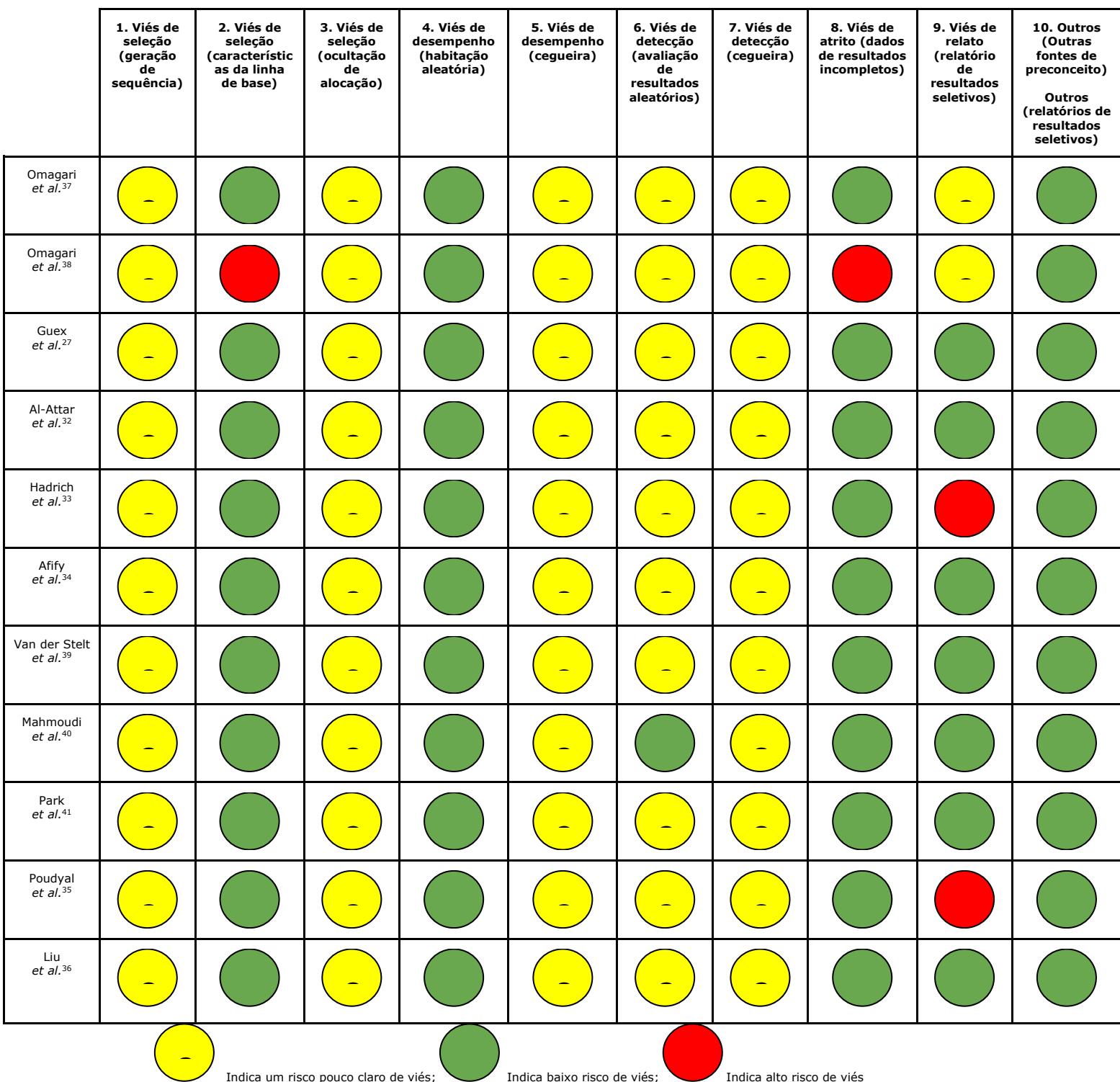
entre os grupos (2) e integridade dos resultados apresentados (8) e viés de relatório (9). Dados insuficientes para avaliação de risco de viés foram identificados em todos os estudos nos itens referentes a sequência de alocação (1), ocultação da alocação (3), cegamento do pesquisador durante o estudo (5), cegamento dos avaliadores de resultados (7). Dados insuficientes também foram identificados na maioria dos estudos no item referente a seleção aleatória dos animais para resultados (6). Todos os estudos tiveram baixo risco de viés para a randomização de alojamento dos animais (4) e outros tipos de vieses como, por exemplo, erros de análises e influência inadequada de financiadores (10). Grande parte dos estudos apresentaram dados insuficientes, sendo classificados como risco de viés pouco claro, e um percentual expressivo, apresenta provavelmente baixo risco de viés.

DISCUSSÃO

Efeitos da folha de oliveira em dieta hiperlipídica na obesidade

Hadrich *et al.*³³ mostrou que ratos alimentados com dieta hiperlipídica e suplementados com oleuropeína (50mg/kg) obtidas das folhas de oliveira por 8 semanas diminuíram significativamente o peso do tecido adiposo branco epididimal (EpiWAT) e o tamanho dos adipócitos.

Figura 2. Avaliação do risco de viés nos estudos incluídos.



Isso corrobora com o estudo de Van der Stelt *et al.*³⁹, que encontrou diminuição no peso e tamanho do EpiWAT em ratos alimentados com dieta hiperlipídica e suplementados com oleuropeína (0,59% w/w) durante 8 semanas, quando comparado ao grupo controle (com dieta hiperlipídica). Além disso, Van der Stelt *et al.*³⁹ encontrou níveis diminuídos de “crown-like structures” (estruturas semelhantes a coroa) no WAT no grupo “high fat diet” + “oleuropein” (HFD+O) indicando que o menor tamanho dos adipócitos acompanhou menores níveis de inflamação.

Na obesidade, o TA está predominantemente disfuncional, causando desregulação das adipocinas (hormônios secretados pelo WAT), que normalmente aumenta fatores pró-inflamatórios como TNF, interleucina-1 beta (IL-1 β), IL-6, interleucina 8 (IL -8), leptina, resistina e proteína quimioatraente de monócitos 1 (MCP1) e diminui fatores anti-inflamatórios como interleucina 10 (IL-10) e adiponectina⁴². A adiponectina atua também como um sensibilizador de insulina, estimulando a oxidação de ácidos graxos. A leptina tem um papel central na homeostase do peso corporal, induzindo fatores anorexígenos e suprimindo fatores orexigênicos⁴³. Na obesidade, apesar de haver aumento da leptina, há resistência, levando a uma falha na sua funcionalidade e consequente ganho de peso⁴⁴.

O tratamento com folha de oliveira em ratos com dieta hiperlipídica resultou na diminuição significante do peso corporal^{33,35,39}, diferentemente do estudo de Liu *et al.*³⁶ que não mostrou diferença significante. Além disso, o tratamento

com oleuropeína obtidas da folha de oliveira em ratos com dieta hiperlipídica aumentou os níveis de adiponectina^{27,33}, reduziu os níveis de lipídios circulantes^{33,35,38}, diminuiu os níveis de leptina^{27,39} e resistina²⁷. A oleuropeína também ativou a proteína quinase ativada por monofosfato de adenosina (AMPK) em EpiWAT³³. Uma vez ativada, a AMPK exerce um efeito anti-lipogênico ao inibir a captação de glicose e ácidos graxos pelos adipócitos⁴⁵. A ativação da AMPK foi associada a uma redução na secreção de IL-1β, IL-6 e TNF-α, uma vez que inibe a ativação do fator nuclear kappa (NF-κB)⁴⁶.

Corroborando com os estudos anteriores, no trabalho de Poudyal *et al.*³⁵ foi observado que a suplementação com OLE (30ml/kg) durante 16 semanas em ratos com dieta rica em carboidrato e gordura, apresentou potencial de reverter a inflamação crônica e o estresse oxidativo que induz os sintomas cardiovasculares, hepáticos e metabólicos. Ocorreu uma diminuição de infiltração de células inflamatórias no fígado e coração, diminuição da circunferência e da gordura na região abdominal, além de normalização da esteatose hepática e melhora das características histopatológicas da NASH³⁵. Tais desfechos podem estar associados aos efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios dos polifenóis, principalmente oleuropeína e hidroxitirosol presentes nas folhas de oliveira, sendo esses benefícios vistos, igualmente, em outros estudos^{36,41}.

Efeitos da folha da oliveira em modelos animais diabéticos

No estudo de Afify *et al.*³⁴ que avaliou o efeito da administração de OLE (17,8mg/kg/peso) por 10 semanas no estresse oxidativo em ratos T2DM, ocorreu a diminuição significativa na formação de Malondialdeído (MDA) no soro e aumentou glutationa (GSH) quando comparada ao grupo controle. A atividade de GPX no grupo suplementado com OLE foi significativamente maior do que no grupo diabético enquanto o valor de CAT e SOD teve a tendência de aumentar. O estudo de Al-attar *et al.*³² que utilizou diferentes concentrações de OLE (200mg/kg/peso e 400mg/kg/peso) por 8 semanas em ratos T2DM encontrou também níveis diminuídos de MDA e níveis significantemente aumentados de SOD, GSH e CAT.

Corroborando com esses achados, o estudo de Park *et al.*⁴¹ que utilizou o pó de folhas de oliveiras (0,3%, 0,6% e 3%) em camundongos T1DM por quatro semanas verificou maior atividade de CAT, SOD e GPX nos grupos que utilizaram folha de oliveira e níveis levemente mais baixos de *nitric oxide* foram observados. Porém, o estudo de Guex *et al.*²⁷, que administrhou extrato etanólico de folha de oliveira (200mg/kg e 400mg/kg) durante 10 semanas em ratos diabéticos com dieta rica em gordura, não foram encontrados diferença significante na atividade antioxidante de SOD, CAT e MDA.

O estudo de Liu *et al.*³⁶, investigou se o tratamento por 8 semanas com OLE (200mg/kg/peso e 400mg/kg/peso) poderia melhorar a resistência à insulina e a resposta à

inflamação, em ratos T2DM induzidos por dieta hiperlipídica. A utilização de OLE suprimiu a expressão de RNA mensageiro (mRNA) de citocinas pró-inflamatórias e aumentou significativamente a sinalização do substrato 1 do receptor de insulina (IRS-1) reduzindo as complicações associadas ao diabetes. Além disso, OLE diminuiu significativamente a expressão de mRNA de TNF- α , IL-6 e IL-1 β no tecido adiposo do epidídimo³⁶. Outros estudos também apresentaram o potencial de utilização de OLE em ratos diabéticos, para controle de citocinas pró-inflamatórias como diminuição significativa de TNF- α , IL-6^{27,41}, interferão-gama (IFN- γ)^{27,41}, interleucina-2⁴¹, interleucina-1²⁷ a expressão do m-RNA de interleucina-17 (IL-17) ($p<0,05$), e aumento de citocina anti-inflamatória como é o caso da IL-10^{27,36} e interleucina-4⁴¹.

Efeitos da folha da oliveira em modelos animais com doença hepática

O estudo de Omagari *et al.*³⁷ utilizou OLE (500mg/kg, 1.000mg/kg e 2.000mg/kg) por 23 semanas para avaliar seus efeitos preventivos no acúmulo de gordura hepática em um modelo de ratos com NASH. Através da representação imunoistoquímica do fígado, os ratos que utilizaram OLE não apresentaram inflamação lobular ou fibrose, que é um achado significativo e importante sugestivo de NASH, no parênquima hepático. Outro estudo de Omagari *et al.*³⁸ que investigou o possível efeito preventivo ou terapêutico do uso de OLE no acúmulo de gordura hepática (e possível NAFLD ou NASH) em ratos com dieta hiperlipídica mostrou que, com

a utilização de OLE (1.000mg/kg/peso), a inflamação lobular não foi observada nas 26 semanas de idade, sugerindo um possível efeito preventivo e não terapêutico de OLE sobre a inflamação hepática.

O estresse oxidativo desempenha um papel fundamental na progressão de doenças do fígado, uma vez que aumenta a peroxidação lipídica e produção de citocinas, contribuindo para lesão hepatocelular e fibrose¹⁹. Com a utilização de OLE ocorreu diminuição do estresse oxidativo estimado através da maior expressão tiorredoxina-1 (Trx-1) no fígado, proteína com atividade antioxidante, e menor expressão de 4-hidroxinonenal, produto de peroxidação lipídica resultante da elevação de ROS³⁷. Apesar de não mostrar efeitos no metabolismo hepático, OLE apresentou propriedade antioxidante e, portanto, possível efeito preventivo para a ocorrência de NASH. Porém, outro estudo não mostrou diferença significante na expressão de Trx-1 nos grupos que utilizaram OLE, apesar desse marcador ser menos evidente no grupo OLE quando comparado ao controle. Assim, o estudo sugere um papel preventivo de OLE na esteatose hepática³⁸.

O estudo de Mahmoudi *et al.*⁴⁰ teve por objetivo investigar os efeitos protetores do uso de oleuropeína (16mg/peso/dia) e hidroxitiroisol (16mg/peso/dia) obtidas de OLE por 8 semanas contra hiperlipidemia induzida por BPA e lesão hepática em ratos. A administração de oleuropeína e hidroxitiroisol reduziu a esteatose hepática e protegeu o tecido hepático da inflamação, através da diminuição

significativa da expressão de TNF- α e NF- κ B⁴⁰. Além disso, a utilização de oleuropeína e hidroxitirosol diminuiu o estresse oxidativo através do aumento significativo da atividade antioxidante (SOD, CAT e GPX) e redução da concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no fígado dos ratos. Portanto, o estudo sugere que o uso de oleuropeína e hidroxitirosol possuem efeitos hipolipidêmicos e hepatoprotetores em distúrbios metabólicos induzidos pelo BPA, além de melhorar o sistema de defesa antioxidante⁴⁰.

Limitação do estudo

Os estudos apresentaram variação no tipo de intervenção, tamanho amostral, duração dos estudos e dieta padrão dos ratos. Além disso, os marcadores inflamatórios pesquisados não foram os mesmos entre os estudos, dificultando a comparação dos dados. Conforme a aplicação da ferramenta de risco de viés, grande parte dos estudos apresentaram dados insuficientes, sendo classificados como risco de viés pouco claro, necessitando de novos estudos com metodologias mais elaboradas.

CONCLUSÃO

Esta revisão sistemática mostra que as folhas de oliveira parecem atenuar a inflamação na obesidade, diabetes e NASH, possivelmente devido aos efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios dos polifenóis. Além disso, alguns estudos mostram que a utilização das folhas de oliveira parece melhorar o perfil lipídico e a atividade

antioxidante. Entretanto, os atuais estudos publicados são limitados, exigindo continuidade e aprimoramento da metodologia de intervenção empregada. Portanto, mais estudos são necessários para investigar os efeitos da folha da oliveira na inflamação em ratos com distúrbios metabólicos após, possivelmente, estudar os efeitos da folha de oliveira em humanos.

REFERÊNCIAS

1. Hotamisligil GS. Inflammation, metaflammation and immunometabolic disorders. *Nature* 2017;542:177-85. <https://doi.org/10.1038/nature21363>
2. Ortega-Gómez A, Perretti M, Soehnlein O. Resolution of inflammation: an integrated view. *EMBO Mol Med* 2013;5:661-74. <https://doi.org/10.1002/emmm.201202382>
3. Netzer N, Gatterer H, Faulhaber M, Burtscher M, Pramsohler S, Pesta D. Hypoxia, oxidative stress and fat. *Biomolecules* 2015;5:1143-50. <https://doi.org/10.3390/biom5021143>
4. Marseglia L, Manti S, D'Angelo G, Nicotera A, Parisi E, Di Rosa G, et al. Oxidative stress in obesity: a critical component in human diseases. *Int J Mol Sci* 2015;16:378-400. <https://doi.org/10.3390/ijms16010378>
5. Barchetta I, Cimini FA, Ciccarelli G, Baroni MG, Cavallo MG. Sick fat: the good and the bad of old and new circulating markers of adipose tissue inflammation. *J Endocrinol Invest* 2019;42:1257-72. <https://doi.org/10.1007/s40618-019-01052-3>
6. Hammarstedt A, Gogg S, Hedjazifar S, Nerstedt A, Smith U. Impaired adipogenesis and dysfunctional AT in human hypertrophic obesity. *Physiol Rev* 2018;98:1911-41. <https://doi.org/10.1152/physrev.00034.2017>
7. Kusminski CM, Bickel PE, Scherer PE. Targeting adipose tissue in the treatment of obesity-associated diabetes. *Nat Rev Drug Discov* 2016;15:639-60. <https://doi.org/10.1038/nrd.2016.75>
8. Brink WVD, Bilsen JV, Salic K, Hoevenaars FPM, Verschuren L, Kleemann R, et al. Current and Future Nutritional Strategies to Modulate Inflammatory Dynamics in Metabolic Disorders. *Front Nutr* 2019;6:129. <https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00129>
9. Schmidt AM. Highlighting Diabetes Mellitus. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2017;38:e1-8. <https://doi.org/10.1161/atvaha.117.310221>
10. Longo M, Zatterale F, Naderi J, Parrillo L, Formisano P, Raciti GA, et al. Adipose Tissue Dysfunction as Determinant of Obesity-Associated Metabolic Complications. *Int J Mol Sci* 2019;20:2358. <https://doi.org/10.3390/ijms20092358>

- 11.Saisho Y. Importance of Beta Cell Function for the Treatment of Type 2 Diabetes. *J Clin Med* 2014;3:923-43. <https://doi.org/10.1111/j.1742-1241.2007.01360.x>
- 12.Oguntibeju OO. Type 2 diabetes mellitus, oxidative stress and inflammation: examining the links. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol* 2019;11:45-63. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31333808/>
- 13.Emmendoerffer A, Hecht M, Boeker T, Mueller M, Heinrich U. Role of inflammation in chemical-induced lung cancer. *Toxicol Lett* 2000;112:185-91. [https://doi.org/10.1016/S0378-4274\(99\)00285-4](https://doi.org/10.1016/S0378-4274(99)00285-4)
- 14.Jurkovič S, Osredkar J, Marc J. Molecular impact of glutathione peroxidases in antioxidant processes. *Biochem Med (Zagreb)* 2008;18:162-74. <https://doi.org/10.11613/BM.2008.016>
- 15.Fabbrini E, Sullivan S, Klein S. Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: biochemical, metabolic, and clinical implications. *Hepatology* 2010;51:679-89. <https://doi.org/10.1002/hep.23280>
- 16.Vuppalanchi R, Chalasani N. Nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis: selected practical issues in their evaluation and management. *Hepatology* 2009;49:306-17. <https://doi.org/10.1002/hep.22603>
- 17.Neuschwander-Tetri BA, Caldwell SH. Nonalcoholic steatohepatitis: Summary of an AASLD Single Topic Conference. *Hepatology* 2003;37:1202-19. <https://doi.org/10.1053/jhep.2003.50193>
- 18.Conlon BA, Beasley JM, Aebersold K, Jhangiani SS, Wylie-Rosett J. Nutritional management of insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Nutrients* 2013;11:4093-114. <https://doi.org/10.3390/nu5104093>
- 19.Peverill W, Powell LW, Skoien R. Evolving concepts in the pathogenesis of NASH: Beyond steatosis and inflammation. *Int J Mol Sci* 2014;15:8591-638. <https://doi.org/10.3390/ijms15058591>
- 20.Asahi J, Kamo H, Baba R, Doi Y, Yamashita A, Murakami D, et al. Bisphenol A induces endoplasmic reticulum stress-associated apoptosis in mouse non-parenchymal hepatocytes. *Life Sci* 2010;87:431-8. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2010.08.007>
- 21.Wetherill YB, Akingbemi BT, Kanno J, McLachlan JA, Nadal A, Sonnenschein C, et al. In vitro molecular mechanisms of bisphenol A action. *Reprod Toxicol* 2007;24:178-98. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2007.05.010>
- 22.Zhang YH, Campbell SA, Karthikeyan S. Finite element analysis of hollow out-of-plane HfO₂ microneedles for transdermal drug delivery applications. *Biomed Microdev* 2018;20:19. <https://doi.org/10.1007/s10544-018-0262-z>
- 23.Sharifi-Rad M, Kumar NVA, Zucca P, Varoni EM, Dini L, Panzarini E. Lifestyle, Oxidative Stress, and Antioxidants: Back and Forth in the Pathophysiology of Chronic Diseases. *Front Physiol* 2020;11:694. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00694>
- 24.Nicolì F, Negro C, Vergine M, Aprile A, Nutricati E, Sabella E, et al. Evaluation of Phytochemical and Antioxidant Properties of 15 Italian.

- Molecules 2019;24:1998.
<https://doi.org/10.3390/molecules24101998>
- 25.El-Rahman HSMA. The effect of olive leaf extract and α-tocopherol on nephroprotective activity in rats. J Nutr Food Sci 2016;6:479. <https://doi.org/10.4172/2155-9600.10>
- 26.Şahin S, Bilgin M. Olive tree (*Olea europaea* L.) leaf as a waste by-product of table olive and olive oil industry: a review. J Sci Food Agricult 2018;98:1271-9. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8619>
- 27.Guex CG, Reginato FZ, De Jesus PR, Brondani JC, Lopes GHH, Bauermann LF. Antidiabetic effects of *Olea europaea* L. leaves in diabetic rats induced by high-fat diet and low-dose streptozotocin. J Ethnopharmacol 2019;235:1-7.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.02.001>
- 28.Vogel P, Kasper I, Garavaglia J, Zani V, Souza D, Dal Bosco S. Polyphenols benefits of olive leaf (*Olea europaea* L) to human health. Nutr Hosp 2014;31:1427-33.
<https://doi.org/10.3305/nh.2015.31.3.8400>
- 29.Raederstorff D. Antioxidant activity of olive polyphenols in human: a review. Int J Vitam Nutr Res 2009;79:152-65. <https://doi.org/10.1024/0300-9831.79.3.152>
- 30.Liberati A, Altman DG, Tetzlaff J, Mulrow C, Gøtzsche PC, Ioannidis JPA, et al. The PRISMA Statement for Reporting Systematic Reviews and Meta-Analyses of Studies That Evaluate Health Care Interventions: Explanation and Elaboration. Plos Med 2009;6:e1000100. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000100>
- 31.Hooijmans CR, Rovers MM, de Vries RB, Leenaars M, Ritskes-Hoitinga M, Langendam MW. SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. BMC Med Res Methodol 2014;14:43. <https://doi.org/10.1186/1471-2288-14-43>
- 32.Al-Attar AM, Alsalmi FA. Effect of *Olea europaea* leaves extract on streptozotocin induced diabetes in male albino rats. Saudi J Biol Sci 2019;26:118-28. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.03.002>
- 33.Hadrich F, Mahmoudi A, Bouallgui Z, Feki I, Isoda H, Feve B, et al. Evaluation of hypocholesterolemic effect of oleuropein in cholesterol-fed rats. Chem Biol Interact 2016;252:54-60. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2016.03.026>
- 34.Afify AMR, El-Beltagi HS, Fayed SA, El-Ansary AE. In vivo correlation of olive leaves extract on some oxidative stress markers in streptozotocin-induced diabetes mellitus in rats. Grasas Aceites 2018;69:e243. <https://doi.org/10.3989/gya.1104172>
- 35.Poudyal H, Campbell F, Brown L. Olive leaf extract attenuates cardiac, hepatic, and metabolic changes in high carbohydrate-, high fat-fed rats. J Nutr 2010;140:946-53. <https://doi.org/10.3945/jn.109.117812>
- 36.Liu YN, Jung JH, Park H, Kim H. Olive leaf extract suppresses messenger RNA expression of proinflammatory cytokines and enhances insulin receptor substrate 1 expression in the rats with streptozotocin and high-fat diet-induced diabetes. Nutr Res 2014;34:450-7. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2014.04.007>

- 37.Omagari K, Kato S, Tsuneyama K, Hatta H, Sato M, Hamasaki M, et al. Olive leaf extract prevents spontaneous occurrence of non-alcoholic steatohepatitis in SHR/NDmcr-cp rats. Pathology 2010;42:66-72. <https://doi.org/10.3109/00313020903434389>
- 38.Omagari K, Kato S, Tsuneyama K, Hatta H, Ichimura M, Urata C, et al. The Effect of Olive Leaf Extract on Hepatic Fat Accumulation in Sprague-Dawley Rats Fed a High-fat Diet. Acta Med Nagasaki 2010;55:29-39. <https://doi.org/10.11343/AMN.55.29>
- 39.Van der Stelt I, Hans EFH, Swarts HJM, Vervoort JJM, Hoving L, Skaltsounis L, et al. Nutraceutical oleuropein supplementation prevents high fat diet-induced adiposity in mice. J Funct Foods 2015;14:702-15. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.02.040>
- 40.Mahmoudi A, Hadrich F, Feki I, Ghorbel H, Bouallagui Z, Marrekchi R, et al. Oleuropein and hydroxytyrosol rich extracts from olive leaves attenuate liver injury and lipid metabolism disturbance in bisphenol A-treated rats. Food Funct 2018;9:3220-34. <https://doi.org/10.1039/c8fo00248g>
- 41.Park JH, Jung JH, Yang JY, Kim HS. Olive leaf down-regulates the oxidative stress and immune dysregulation in streptozotocin-induced diabetic mice. Nutr Res 2013;33:942-51. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2013.07.011>
- 42.Abella V, Scotece M, Conde J, Pino J, Gonzalez-Gay MA, Gómez-Reino JJ, et al. Leptin in the interplay of inflammation, metabolism and immune system disorders. Nat Rev Rheumatol 2017;13:100-9. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2016.209>
- 43.Zhao X, Dong Y, Zhang J, Li D, Hu G, Yao J, et al. Leptin changes differentiation fate and induces senescence in chondrogenic progenitor cells. Cell Death Dis 2016;7:e2188. <https://doi.org/10.1038/cddis.2016.68>
- 44.Conde J, Scotece M, López V, Abella V, Hermida M, Pino J, et al. Differential expression of adipokines in infrapatellar fat pad (IPFP) and synovium of osteoarthritis patients and healthy individuals. Ann Rheum Dis 2013;73:631. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2013-204189>
- 45.Yamashita Y, Wang L, Wang L, Tanaka Y, Zhang T, Ashida H. Oolong, black and pu-erh tea suppresses adiposity in mice via activation of AMP-activated protein kinase. Food Funct 2014;5:2420-9. <https://doi.org/10.1039/C4FO00095A>
- 46.Ahamad J, Toufeeq I, Khan MA, Ameen MSM, Anwer ET, Uthirapathy S, et al. Oleuropein: A natural antioxidant molecule in the treatment of metabolic syndrome. Phytother Res 2019;33:3112-28. <https://doi.org/10.1002/ptr.6511>