

Efeito biológico do extrato de folhas de oliveira (*Olea europaea* L.) em ratos submetidos a dieta hiperlipídica

Biological effect of olive leaves (*Olea europaea* L.) extracts on rats submitted to hyperlipidic diet

Bruna da Fonseca Antunes¹
Cristielle Aguzzi Cougo de Leon¹
Alexandre Lorini²
Camila Castencio Nogueira¹
Elizabeth Helbig¹
Rui Carlos Zambiazzi³

¹ Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Nutrição, Programa de Pós-graduação em Nutrição e Alimentos. Pelotas, RS, Brasil.

² Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Pelotas, RS, Brasil.

³ Universidade Federal de Pelotas, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos. Pelotas, RS, Brasil.

Correspondência / Correspondence

Bruna da Fonseca Antunes
E-mail: brunafonsecaantunes@gmail.com

Resumo

Objetivo: A fim de explorar as características nutricionais e bioativas da folha de oliveira, este estudo teve como objetivo avaliar o potencial biológico das folhas de oliveira, analisando o efeito de seu extrato no perfil glicêmico e lipídico de ratos da linhagem Wistar submetidos a dieta hiperlipídica. **Metodologia:** O experimento teve duração de 70 dias; os animais foram divididos e distribuídos aleatoriamente em quatro grupos de seis ratos cada, sendo N: dieta normocalórica + água; H: dieta hiperlipídica + água; NE: dieta normocalórica + extrato; e HE: dieta hiperlipídica + extrato. Ao final do experimento, determinou-se o efeito do extrato aquoso das folhas de oliveira na glicemia, perfil lipídico e na peroxidação lipídica dos ratos. **Resultados:** O consumo do extrato de folhas de oliveira pelos ratos promoveu alterações no perfil lipídico e efeito benéfico em relação aos níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). **Conclusões:** Devido a sua composição química, rica em nutrientes e compostos com propriedades bioativas, além de suas consideráveis atividades antioxidante e biológica, as folhas de oliveira podem ser uma opção como suplemento alimentar com atividade biológica.

Palavras-chave: Oliveira. Resíduo agroindustrial. Eestresse oxidativo. Ratos Wistar.

Abstract

Objective: In order to explore the nutritional and bioactive characteristics of the olive leaf, the study aimed to evaluate the biological potential of olive leaves by analyzing the effect of leaf extract on the glycemic and lipid profile of Wistar rats subjected to a hyperlipidic diet. *Methodology:* The experiment lasted 70 days; animals were divided and randomly distributed into 4 groups of 6 rats each, being N: normocaloric diet + water; H: hyperlipidic diet + water; NE: normocaloric diet + extract; and HE: hyperlipidic diet + extract. At the end of the experiment the effect of the aqueous extract of olive leaves on glycemia, lipid profile and lipid peroxidation were determined in rats. *Results:* The consumption of olive leaf extract by rats promoted changes in lipid profile and beneficial effect on the thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) levels. *Conclusions:* Due to their chemical composition, rich in nutrients and compounds with bioactive properties, in addition to its considerable antioxidant and biological activities, olive leaves can be an option as a food supplement with biological properties.

Keywords: Olive leaves. Agroindustrial waste. Oxidative stress. Wistar rats.

Introdução

A oliveira (*Olea europaea L.*), uma das frutíferas mais antigas cultivadas pelo homem, produz grande quantidade de folhas que são descartadas durante o ciclo de produção.¹ As folhas contêm quantidades apreciáveis de compostos fenólicos, dentre os quais se destaca a oleuropeína, à qual são atribuídas atividades antioxidante, antimicrobiana, hipoglicemiante, anti-inflamatória, dentre outras. Assim, devido a essas possíveis propriedades benéficas das folhas de oliveira, associadas à necessidade de valorizar sua utilização, torna-se importante estudar seu real valor biológico.²

A população mundial vem demonstrando crescente preocupação com a alimentação,³ uma vez que o tipo e a qualidade dos alimentos consumidos têm sido mencionados no conjunto de fatores para a prevenção de algumas doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), como câncer, diabetes, hipertensão, doenças coronarianas e obesidade.⁴

Considerando que as doenças cardiovasculares têm-se destacado como as principais causas de morte e incapacidade no mundo, e que um dos principais fatores de risco são as dislipidemias,⁵ esta realidade faz com que a indústria alimentícia seja incentivada a investir em produtos saudáveis e em alimentos com propriedades funcionais. Torna-se, assim, de suma importância avaliar a ação

hipocolesterolêmica da folha de oliveira, já que estudos têm demonstrado que elas melhoram o perfil lipídico no sangue.⁶

O colesterol desempenha várias funções essenciais no organismo, sendo componente das membranas celulares e precursor de sais biliares, hormônios e da vitamina D.⁷ É sintetizado no fígado e excretado na circulação como componente das lipoproteínas, sendo também proveniente da dieta. Por não ser considerado um nutriente essencial, não há nenhum requerimento de sua ingestão, pois o organismo é capaz de sintetizá-lo em quantidade suficiente.⁸ O consumo de colesterol deve ser inferior a 300 mg ao dia, e de 200 mg ao dia para pessoas com histórico de doenças cardiovasculares.⁹ O colesterol total e a fração LDL podem ser aumentados pela ingestão excessiva de calorias, gorduras saturadas e colesterol dietético. Inversamente, podem ser reduzidos por diminuição do peso corporal, substituição dietética dos ácidos graxos saturados por ácidos graxos poli-insaturados, fibra alimentar solúvel¹⁰ e pelo consumo de alguns alimentos com propriedade de reduzir o colesterol, como frutas e leguminosas.¹¹

Por sua vez, a *diabetes mellitus* é uma doença metabólica crônica causada pela falta absoluta ou relativa de insulina. Caracteriza-se por hiperglicemia, e em longo prazo ocasiona complicações que afetam os olhos, rins, nervos, pâncreas, sendo o transtorno endócrino mais comum.¹² O mecanismo das complicações da doença não é claro, mas muita atenção tem sido dada ao papel do estresse oxidativo.¹³ Sabe-se que muitos dos efeitos negativos do estresse oxidativo diminuem após a suplementação com certos antioxidantes dietéticos, como vitaminas e outros antioxidantes não nutrientes como os compostos fenólicos.¹⁴

Na literatura está documentado que uma alta concentração de radicais livres na célula leva a reações em cadeia descontroladas e à peroxidação de lipídeos, resultando em várias condições patológicas que podem incluir aterogênese e câncer.¹⁵ Há relatos de que a aterosclerose hipercolesterolêmica está associada com um aumento no nível do produto de peroxidação lipídica, ou seja, as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Assim, uma diminuição da peroxidação lipídica leva à redução de aterosclerose causada por hipercolesterolemia.¹⁶ Espécies reativas de oxigênio reagem com lipídios, causando lipoperoxidação, com conseqüente formação de malondialdeído (MDA), sendo que o acúmulo desses subprodutos é considerado um marcador do processo de oxidação no organismo, e a redução da peroxidação lipídica representa um mecanismo de proteção contra injúrias por estresse oxidativo.¹⁷

Para investigar a relação entre as disfunções do metabolismo do colesterol e a aterogênese, diversos modelos animais têm sido utilizados. Esses modelos têm sido de grande importância para a compreensão da origem da aterosclerose e para a descoberta de novos agentes terapêuticos. O rato é a espécie mais adequada para fornecer informações da lipogênese, pois a via é bem representada no tecido adiposo e no fígado.¹⁸ Alguns estudos têm demonstrado a eficácia da ingestão de dietas hiperlipídicas na gênese da obesidade e de suas comorbidades, principalmente em roedores da

linhagem *Wistar*. Este modelo de indução da obesidade por dieta também tem sido utilizado para investigar disfunções endoteliais, visto que a maioria dos estudos os animais submetidos a esse tratamento apresentam importantes alterações metabólicas, como o aumento do colesterol.¹⁹

Diante disso, visando explorar as características nutricionais e bioativas das folhas de oliveira, este estudo teve como objetivo avaliar o potencial biológico de seu extrato aquoso no perfil glicêmico e lipídico de ratos da linhagem *Wistar* submetidos a dieta hiperlipídica.

Metodologia

Obtenção das amostras

Folhas de oliveiras da cultivar *Koroneiki* foram cedidas pela Estância Guarda Velha, localizada no município de Pinheiro Machado-RS (31°29'59,4" S e 53°30'32,7" W). Aproximadamente 2 kg de folhas foram coletados aleatoriamente de várias plantas. Após a colheita, as folhas foram moídas e congeladas a - 80°C, para posterior realização das análises e do experimento biológico.

Experimento

O delineamento foi completamente casualizado, com esquema bifatorial, com seis repetições. Os fatores de tratamento foram o tipo de ração (normocalórica e hiperlipídica) e o líquido (água e extrato).

Foi realizado o ensaio biológico com 24 ratos machos, cepa *Wistar/UFPel* (adultos), provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas, acomodados em trios em caixas-moradia de polipropileno (41 x 34 x 16 cm) adaptadas com bebedouro de polipropileno de capacidade para 300 mL, e com rolha de borracha antiácida e bico de aço inoxidável reto acoplado à caixa.

Os animais foram mantidos no Laboratório de Nutrição Experimental da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Pelotas, com temperatura de 23±1°C, umidade relativa de 50-60%, e com alternância automática de ciclos claro-escuro em períodos de 12 h. Semanalmente foram alteradas as disposições das caixas, a fim de proporcionar aos animais uma melhor distribuição de luz e de ruídos presentes no ambiente e, conseqüentemente, diminuir fatores ambientais causadores de estresse.

O ensaio teve duração de 70 dias, incluindo quatro dias de adaptação ao ambiente de experimentação. O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA)²⁰ da Universidade Federal de Pelotas, sob o número 23110.004842/2016-64. Foram tomadas todas as medidas necessárias para o bem-estar dos animais, conforme recomendação do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA),²¹ descritas no manual sobre cuidados e usos de animais de laboratório.

Para a realização do ensaio biológico, os ratos foram divididos e distribuídos aleatoriamente em quatro grupos de seis animais cada, com dieta e água fornecidas à vontade. O experimento teve dois grupos controle (N e H) e dois grupos tratamento (NE e HE), nos quais os animais foram alimentados com dieta normocalórica – ração comercial (Nuvilab®) e com ração comercial acrescida de 20% de gordura animal suína. Para a preparação dos extratos vegetais, foi realizada uma infusão com folhas de oliveira na concentração $0,008 \text{ g.mL}^{-1}$, que foi oferecida aos animais conforme a tabela 1. Nas primeiras quatro semanas do experimento, 12 animais foram alimentados com ração (N) e os outros 12 com ração e gordura animal suína (H). Nas quatro semanas posteriores, seis animais continuaram com ração (N) e os outros seis foram alimentados com ração e extrato (NE); seis ratos continuaram com ração e gordura animal suína (H), e outros seis com ração, gordura animal suína e extrato (HE). Ao final do experimento, após jejum de seis horas, os animais foram submetidos a eutanásia, e a finalização foi realizada com pentobarbital sódico, com via de acesso intraperitoneal, na concentração 100 mg.Kg^{-1} . Posteriormente, foi coletado sangue e retirados o fígado, coração e rins dos animais.

Tabela 1. Dietas experimentais elaboradas para experimento com ratos Wistar, Pelotas-RS, 2018.

Grupos	Dietas
NE	Ração comercial e Extrato
N	Ração comercial e Água
HE	Ração comercial + 20% de gordura animal suína e Extrato
H	Ração comercial + 20% de gordura animal suína e Água

Análises Bioquímicas

A medida da glicemia foi realizada em glicosímetro Advantage Roche®, utilizando uma gota de sangue coletado em seguida da eutanásia, expressa em mg.dL^{-1} .

Para a análise do perfil lipídico, o sangue coletado foi centrifugado a 3.500 rpm por 10 minutos, para se obter o plasma sanguíneo, que foi transferido para tubos de Eppendorfs e congelado a -20°C até o momento das análises das frações lipídicas. O colesterol total (CT) foi quantificado por sistema enzimático Labtest Diagnóstica® colesterol liquiform cat. 76-2/100. O colesterol HDL foi determinado através da precipitação das lipoproteínas de baixa densidade e de muito baixa densidade (LDL e VLDL), utilizando o sistema enzimático Labtest Diagnóstica® colesterol liquiform

cat. 13. O VLDL foi calculado pela Equação 1. Os triacilgliceróis (TAG) foram determinados pelo sistema enzimático Labtest Diagnóstica® (GPO-ANA cat. 59-4/50), com posterior leitura em espectrofotômetro a 510 nm.^{22,23}

$$\text{VLDL} = \frac{\text{Triacilglicerol}}{5} \quad (1)$$

A formação de malonaldeído (MDA), que é um índice de peroxidação lipídica, foi medido no fígado, coração e rins dos animais, por meio da quantificação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), conforme descrito por Esterbauer & Cheeseman.²⁴ As amostras foram preparadas fazendo-se um *pool* dos órgãos de cada grupo, em que foram macerados os órgãos isoladamente. Então 1 g do *pool* dos órgãos foi adicionado de 10 mL de NaCl 0,9% e homogeneizado em homogeneizador tipo “potter”, e então centrifugado a 10.000 rpm por cinco minutos.

Foram utilizados 200 µL de amostra, adicionados de 500 µL de água ultrapura, 200 µL de lauril sulfato de sódio (SDS) 8,1%, e 500 µL de tampão de ácido acético (pH 3,4) e ácido tiobarbitúrico 0,6% (pH 4,0). A mistura foi deixada em banho termostático por uma hora a 100°C, e após foi centrifugada a 10.000 rpm por cinco minutos. Para cada amostra foi feito um branco, ao qual não se adicionou TBA. A leitura da absorbância das amostras foi realizada em espectrofotômetro Fento Cirrus 80 MB, usando metanol para leitura do branco. Os resultados foram expressos em mmol de malonaldeído (MDA) por grama de amostra.

Análise estatística

Os resultados foram expressos em função da média e o desvio padrão, e estatisticamente avaliados. Utilizando-se análise de variância (ANOVA), as diferenças significativas entre médias ($p < 0,05$) foram estabelecidas pelo teste estatístico de Tukey. Para as análises, utilizaram-se o aplicativo Microsoft Excel 2013 e o *software* Statistica versão 11.0.

Resultados e Discussão

O consumo de ração, água e extrato de folhas de oliveira foi calculado por meio do somatório de avaliações diárias entre dieta fornecida e consumida durante o experimento. Na tabela 2, estão os valores de consumo alimentar durante o experimento. Observa-se que não houve diferença significativa para o consumo de ração entre os grupos NE e N, e entre os grupos N, HE e H, indicando que o extrato da folha de oliveira não afetou o consumo de ração dos ratos entre os diferentes grupos. No entanto, ao observar isoladamente a utilização do extrato da folha de

oliveira e dietas hiperlipídicas, verificou-se o efeito positivo quando consumido juntamente com a dieta normocalórica.

Além disso, entre os animais alimentados com as dietas hiperlipídicas, o efeito do maior conteúdo lipídico da dieta poderia ter influenciado na maior saciedade, diminuindo a ingestão de líquidos.²⁵ Com relação à ingestão de líquidos, os grupos de ratos apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre si, havendo maior consumo do extrato para o grupo NE e, por conseguinte, maior ingestão de antioxidantes e/ou compostos bioativos.

Tabela 2. Consumo total de ração, água e extrato de folhas de oliveira durante o experimento com ratos Wistar, Pelotas-RS, 2018.

Grupos	Consumo de ração (Kg)	Consumo de água ou extrato (L)
NE	4,81±0,34b ^{1/}	4,17±0,03 ^a
N	5,15±0,10ab	3,74±0,06b
HE	5,24±0,06 ^a	2,86±0,14c
H	5,30±0,06 ^a	2,78±0,05c

^{1/} Médias (± desvio padrão) acompanhadas por mesma letra na mesma coluna não diferem entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

O ganho de peso dos animais foi calculado por diferença entre os pesos mensurados no início e no final do experimento (figura 1). O grupo NE apresentou o menor ganho de peso, diferindo somente do grupo hiperlipídico; o extrato demonstrou efeito positivo quando associado à dieta normocalórica. Jemai et al.,²⁶ ao avaliarem ratos Wistar alimentados com uma dieta rica em colesterol e tratados com hidroxitirosol para avaliar seu efeito na redução do colesterol, não verificaram diferença estatística quanto ao ganho de peso total em relação ao grupo controle, demonstrando que o hidroxitirosol não apresentou ação no ganho de peso em dieta normocalórica e em dieta hiperlipídica. Este resultado difere dos achados no presente estudo, no qual se observou diferença significativa ($p < 0,05$) no consumo de extrato das folhas de oliveira associado à dieta normocalórica, quando comparada à dieta hiperlipídica.

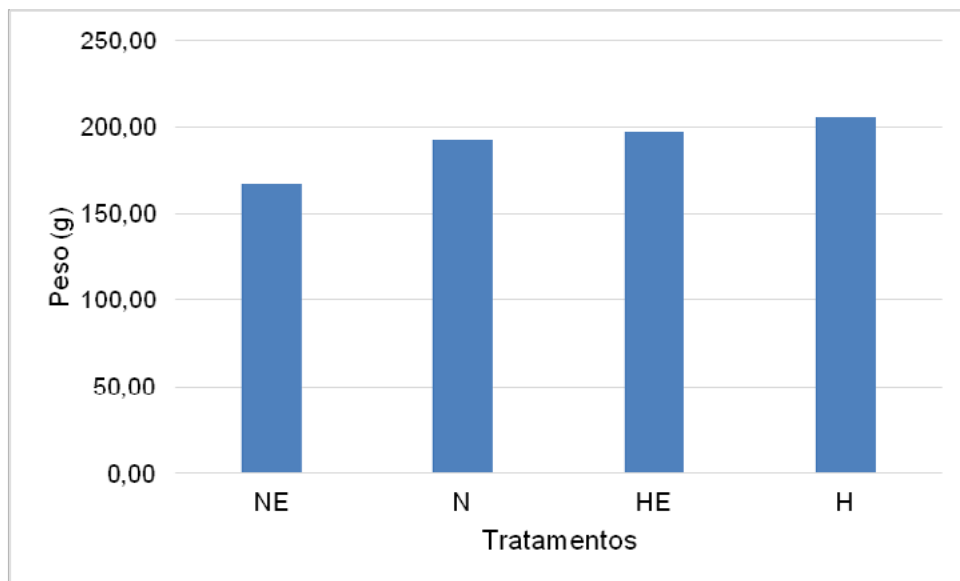


Figura 1. Ganho de peso de ratos Wistar durante o experimento, Pelotas-RS, 2018.

Fonte: Dados coletados pelos autores.

O ganho de peso foi devido ao valor calórico total consumido pelos animais, que de acordo com os dados de consumo, foi menor para o grupo em dieta normocalórica, que consumiu o extrato de folhas de oliveira, assim os dados se justificam. Além disso, o ganho de peso pode ocorrer também pela alimentação rica em gorduras, que é comprovadamente um dos fatores indutores do ganho de peso e que pode estar relacionada com o aparecimento de morbilidades, como as dislipidemias, além de influenciar na peroxidação lipídica, uma vez que são observadas correlações positivas entre marcadores de peroxidação lipídica e os níveis de colesterol e triacilgliceróis no organismo.^{4,9,27}

Na tabela 3, são apresentados os valores para o peso do fígado, rins e coração dos animais experimentais. Observa-se que os maiores valores absolutos de peso para fígado e rins foram em animais submetidos às dietas hiperlipídicas com extrato (15,03 g no grupo HE) e normocalórica com água (2,87 g no grupo N). Em se tratando do coração, o maior peso ocorreu no grupo NE, com o valor de 1,34 g; e menor peso nos grupos HE e H, com o valor de 1,18 g para ambos os grupos. O peso dos órgãos não diferiu significativamente nos grupos avaliados.

Poudyal et al.,²⁸ ao avaliarem ratos suplementados com extrato seco de folhas de oliveira misturadas à dieta, observaram redução no peso do fígado, o que provavelmente se deve à deposição reduzida de colágeno e de gordura naquele órgão. O mesmo efeito foi encontrado por Jemai et al.,²⁶ ao avaliarem o efeito do hidroxitirosol, um polifenol presente na folha da oliveira, isolado

e diluído em água, em ratos alimentados com dieta rica em colesterol, nos quais se observou diminuição do peso do fígado, rins e coração. Os autores concluíram que os compostos fenólicos poderiam reduzir a acumulação de lipídeos nos órgãos. Fki et al.²⁹ observaram o mesmo efeito nos órgãos, com a diminuição do peso, quando ratos foram suplementados com extrato de folhas de oliveira da cultivar Chemlali da Tunísia, evaporado e misturado à água.

Na tabela 4, apresentam-se os valores de glicose dos ratos submetidos a dietas experimentais. Observa-se que, na glicemia de jejum, não ocorreu diferença significativa ($p < 0,05$) quando comparados os grupos que ingeriram o extrato das folhas de oliveira com os grupos controle.

Os antioxidantes naturais estão ganhando popularidade no tratamento da diabetes e suas complicações, como estratégia para aliviar o dano oxidativo. Entre esses antioxidantes naturais, a oliveira tem se destacado como uma das espécies com maior atividade antioxidante, devido à presença de compostos como os polifenóis oleuropeína, hidroxitirosol e tirosol.³⁰ No entanto, não foi possível observar tal efeito no presente estudo, o que se pode justificar pelo fato de se utilizado o extrato na integralidade, que poderia estar muito diluído, diferentemente dos estudos encontrados, que isolaram e utilizaram componentes específicos do extrato de folhas de oliveira.

Tabela 3. Peso dos órgãos ratos Wistar em experimento com e sem utilização de extrato de folhas de oliveira, Pelotas-RS, 2018.

Grupos	Fígado (g)	Rins (g)	Coração (g)
NE	14,45±1,05 ^{NS}	2,76±0,21 ^{NS}	1,34±0,11 ^{NS}
N	14,90±0,71	2,87±0,30	1,33±0,13
HE	15,03±1,09	2,71±0,45	1,18±0,10
H	13,96±1,15	2,48±0,13	1,18±0,09

^{NS} Não significativo pelo teste Tukey da análise de variância ($p \leq 0,05$)

Tabela 4. Glicemia de ratos Wistar em experimento com e sem utilização de extrato de folhas de oliveira, Pelotas-RS, 2018.

Grupos	Glicose (mg.dL ⁻¹)
NE	138±22,63 ^{NS}
N	137±9,27
HE	137±4,18
H	142±6,71

^{NS} Não significativo pelo teste Tukey da análise de variância ($p \leq 0,05$).

Al-Azzawie & Alhamdani,³¹ ao avaliarem a glicose no sangue de coelhos diabéticos tratados com oleuropeína, observaram que os níveis de glicose no sangue de coelhos diabéticos foram significativamente reduzidos após o início do tratamento, em comparação com o controle. A mesma tendência foi observada no estudo realizado por Jemai et al.,³² ao avaliarem a glicose de ratos diabéticos tratados com oleuropeína e hidroxitirosol. Após o tratamento, os níveis da glicose foram significativamente restaurados para estabelecer valores que não eram diferentes do normal, como no grupo controle.

No presente estudo, a dieta rica em colesterol induziu a hipercolesterolemia, que se manifestou na elevação de colesterol total (CT), das lipoproteínas de baixa densidade (LDL), dos triglicerídeos (TAG) e das lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), segundo a tabela 5. Em estudo realizado por Jemai et al.,²⁶ após induzirem hipercolesterolemia em ratos, os autores observaram elevação do CT, TAG e LDL. Ao administrar hidroxitirosol, observou-se redução significativa nos níveis séricos de CT, TAG e LDL, e aumento no nível sérico de HDL. O mesmo foi observado em estudo realizado por Fki et al.,³³ no qual uma dieta rica em colesterol induziu a elevação de CT e LDL, e com a administração de extratos aquosos de frutos da oliveira, os níveis séricos de CT e LDL reduziram significativamente, ocorrendo também aumento do nível sérico de HDL. Entretanto, no presente estudo não foi possível observar o mesmo efeito, o que demonstra que na concentração do extrato de folha de oliveira utilizado, os compostos extraídos que conferem o efeito protetor com relação aos lipídeos avaliados não foram efetivos, uma vez que não houve diferença significativa no perfil lipídico dos ratos que consumiram o extrato de folhas de oliveira, quando comparados ao controle.

Tabela 5. Perfil lipídico de ratos Wistar em experimento com e sem utilização de extrato de folhas de oliveira, Pelotas-RS, 2018.

Grupos	CT (mg.dL ⁻¹)	HDL (mg.dL ⁻¹)	TAG (mg.dL ⁻¹)	VLDL (mg.dL ⁻¹)
NE	141,36±9,25 ^{NS}	64,34±7,04 ^{ab[∪]}	103,54±6,30 ^b	20,71±1,26 ^b
N	130,97±9,15	33,16±3,16 ^b	107,40±9,41 ^b	21,48±1,88 ^b
HE	126,10±7,98	79,04±8,33 ^a	358,96±8,88 ^a	81,47±2,98 ^a
H	145,94±7,23	62,43±1,80 ^{ab}	338,54±6,25 ^a	96,88±1,07 ^a

^{NS} Não significativo pelo teste Tukey da análise de variância ($p \leq 0,05$). [∪] Média (\pm desvio padrão) acompanhadas por mesma letra na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Apesar de a maior parte dos dados encontrados na literatura demonstrarem uma possível tendência de redução de valores nos grupos que foram tratados com folhas de oliveira, ou alguns de seus constituintes químicos em comparação ao grupo controle, essa redução não foi comprovada estatisticamente no presente estudo. Este resultado pode ser explicado pela concentração do extrato, já que foi utilizado extrato com a mesma concentração de chás comerciais, e em outros trabalhos podem ter sido utilizadas concentrações superiores, ou até mesmo um composto isolado das folhas de oliveira, como os polifenóis oleuropeína e hidroxitirosol. Dessa forma, sugere-se que mais estudos, com o intuito de investigar extratos mais concentrados, ou de componentes isolados da folha de oliveira e suas respectivas concentrações, devam ser realizados a fim de se elucidar com maior clareza a ação desses compostos no organismo.

Na figura 2 está apresentado o índice de peroxidação lipídica dos órgãos coletados dos animais. Não foi verificada diferença significativa entre os grupos NE, HE e H em relação ao índice de peroxidação lipídica do coração. No fígado, não houve diferença significativa entre os grupos NE, HE e H, e entre os grupos NE, N e H. Nos rins, não se encontrou diferença ($p < 0,05$) entre os grupos NE, N e H, e entre os grupos HE e H. A partir dos resultados obtidos no presente estudo, pode-se constatar o efeito benéfico das folhas de oliveira em relação aos níveis de TBARS, comprovando o potencial antioxidante dos extratos das folhas de oliveiras em ensaios *in vivo*.

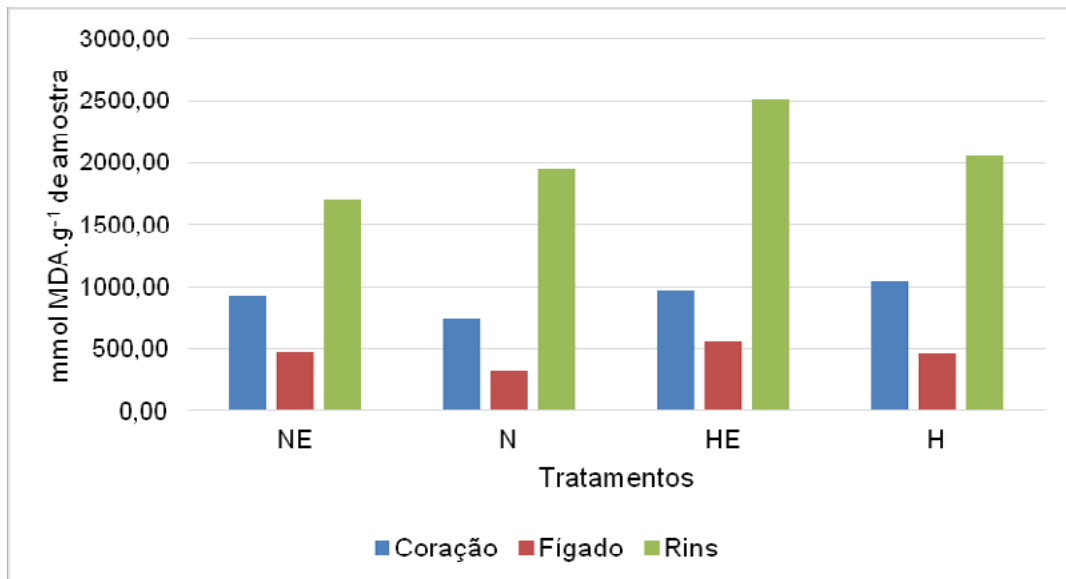


Figura 2. Índice de peroxidação lipídica do coração, fígado e rins de ratos Wistar, Pelotas-RS, 2018.

Fonte: Dados coletados pelos autores.

No presente estudo, observou-se que a dieta hiperlipídica não induziu danos oxidativos nos órgãos dos ratos, que é demonstrado pelo aumento da peroxidação lipídica. Este efeito foi relatado por outros autores, que relacionaram o aumento da ingestão de colesterol com processos de peroxidação lipídica e elevação dos níveis de MDA, sugerindo que a hipercolesterolemia associa-se diretamente com a formação de radicais livres, e que estes compostos poderiam promover injúria celular e, conseqüentemente, a disfunção endotelial, dando início à aterosclerose. Portanto, a redução da colesterolemia influencia na redução do estresse oxidativo.³⁴⁻³⁶

É importante ressaltar que a defesa antioxidante *in vivo* depende de mecanismos endógenos e de sua atuação sinérgica com antioxidantes exógenos. Além disso, os valores de TBARS podem variar entre os animais, e fatores como a idade dos modelos biológicos podem interferir nos mecanismos de respostas adaptativas frente aos compostos antioxidantes da dieta.³

Em estudo realizado por Jemai et al.,³² ratos diabéticos induzidos apresentaram danos hepáticos, nos quais os níveis de TBARS aumentaram significativamente nos fígados dos ratos diabéticos comparados aos do grupo controle. Quando se administraram oleuropeína e hidroxitirosol em duas doses diferentes, a concentração de TBARS foi significativamente reduzida. Fki et al.³³ obtiveram aumento significativo nos níveis de MDA no fígado, coração e rins de animais alimentados com uma dieta rica em colesterol, em comparação com a dieta do grupo controle. No grupo tratado com extratos dos frutos da oliveira, esse aumento foi significativamente reduzido. Os dados obtidos sugeriram que os compostos fenólicos presentes na azeitona podem ser capazes de diminuir ou abrandar os efeitos oxidativos.

Em outro estudo, o conteúdo de TBARS no fígado, coração e rim diminuiu significativamente quando o hidroxitirosol foi administrado em ratos hipercolesterolêmicos quando comparados com o grupo controle. Estes resultados sugeriram que o efeito hipolipemiante do hidroxitirosol pode ser devido a suas propriedades de diminuir os níveis séricos de colesterol total, triglicerídeos e colesterol de lipoproteínas de baixa densidade, bem como para suas atividades antioxidantes, que impedem o processo de peroxidação lipídica.²⁶

A análise dos resultados do presente estudo evidenciou que mesmo não ocorrendo diferenças entre o ganho de peso e o consumo entre os grupos, a ingestão de extratos de folhas de oliveira resultou em melhoras no perfil lipídico e na lipoperoxidação dos órgãos, demonstrando a atividade biológica das folhas de oliveira. Ficou evidenciado também que o tipo de dieta consumida é um fator de grande influência para o desenvolvimento de patologias, como as dislipidemias.

Ainda permanece não esclarecido se o efeito hipolipidêmico das folhas de oliveira se deve a um único componente ou às interações entre seus constituintes, evidenciando a necessidade de mais estudos para elucidar estas questões.

Conclusões

A ingestão de extratos aquosos de folhas de oliveira resultou em melhoras no perfil lipídico e na lipoperoxidação dos órgãos de ratos Wistar, demonstrando o potencial na atividade biológica das mesmas. Sugerem-se mais pesquisas para elucidar concentrações mínimas do extrato, e se o efeito hipolipidêmico das folhas de oliveira se deve a um único componente ou a interações entre seus constituintes.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (Fapergs), pelo suporte financeiro.

Colaboradores

Antunes BF participou de todas as etapas, desde a concepção do estudo até a revisão da versão final do artigo; de Leon CAC participou da realização do experimento; Lorini A participou da realização do experimento; Nogueira CC participou do experimento; Helbig E e Zambiasi RC participaram de todas as etapas, desde a concepção do estudo até a revisão da versão final do artigo.

Conflito de interesses: Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Referências

1. Coutinho EF. A cultura da Oliveira. Pelotas: Embrapa Clima Temperado; 2007.
2. Roig A, Cayuela ML, Sánchez-Monedero MA. An overview on olive mill wastes and their valorisation methods. *Waste Management*. 2006; 26(9):960-969.
3. Lima FEL, Menezes TN, Tavares MP, Szarfarc SC, Fisberg RM. Ácidos graxos e doenças cardiovasculares: uma revisão. *Rev Nutr*. 2000; 13(2):73-80.
4. Cintra DE, Costa AV, Peluzio MC, Matta SL, Silva MT, Costa NM. Lipid profile of rats fed high-fat diets based on flaxseed, peanut, trout or chicken skin. *Nutrition*. 2006; 22(2):197-205.
5. Riediger ND, Othman R, Fitz E, Pierce GN, Suh M, Moghadasian MH. Low n-6: n-3 fatty acid ratio, with fish- or flaxseed oil, in a high fat diet improves plasma lipids and beneficially alters tissue fatty acid composition in mice. *Eur J Nutr*. 2008; 47(3):153-160.
6. Andrikopoulos N, Antonopoulou S, Kaliora A. Oleuropein inhibits LDL oxidation induce by cooking oil frying by-products and platelet aggregation induced by platelet-activating factor. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*. 2002; 35(6):479-484.

7. Champe PC, Harvey RA, Ferrier DR. *Bioquímica ilustrada*. 4 ed. Porto Alegre: Artmed; 2009.
8. Araújo JMA. *Química de alimentos: teoria e prática*. 3 ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa; 2004.
9. Santos RD, Gagliardi ACM, Xavier HT, Magnoni CD, Cassani R, Lottenberg AM. Sociedade Brasileira de Cardiologia. I Diretriz sobre o consumo de Gorduras e Saúde Cardiovascular. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 2013; 100(1 Supl. 3):1-40.
10. Anderson EL, Van Voris LP, Bartram J, Hoffman HE, Belshe RB. Pharmacokinetics of a single dose of rimantadine in young adults and children. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1987; 31(7):1140-1142.
11. Shutler SM, Low AG, Walker AF. Influence of baked beans on plasma lipids in pigs fed on a hypercholesterolaemic diet. *Proceedings of the Nutrition Society*. 1988; 47:97A.
12. Ceriello A. Oxidative stress and glycemic regulation. *Metabolism*. 2000; 49(2):9-27.
13. Kamtchouing P, Kahpui MS, Dzeufiet DPD. Antidiabetic activity of methanol/Methylene chloride stem bark extracts of *Terminalia superba* and *Canarium schweinfurthii* on Streptozotocin-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol*. 2006; 104(3):306-309.
14. Devalaraja S, Jain S, Yadav H. Exotic fruits as therapeutic complements for diabetes, obesity and metabolic syndrome. *Food Research International Essex*. 2011; 44(7):1856-1865.
15. Halliwell B. Biochemistry of oxidative stress. *Biochemical Society Transactions*. 2007; 35(5):1147-1150.
16. Prasad K. Flaxseed and cardiovascular health. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2009; 54(5):369-377.
17. Halliwell B. Free radicals and antioxidants - quo vadis?. *Trends in Pharmacological Science*. 2011; 32(3):125-129.
18. Dobrian AD, Davies MJ, Prewitt RL, Lauterio TJ. Development of hypertension in a rat model of diet-induced obesity. *Hypertension*. 2000; 35(4):1009-1015.
19. Petry CJ, Ozanne SE, Wang CL, Hales CN. Effects of early protein restriction and adult obesity on rat pancreatic hormone content and glucose tolerance. *Hormone and Metabolic Research*. 2000; 32(6):23-39.
20. Universidade Federal de Pelotas. Comissão de Ética em Experimentação Animal. Regimento da comissão de ética em experimentação animal da Universidade Federal de Pelotas [Internet]. [acesso em: 10 out. 2016]. Disponível em: <http://wp.ufpel.edu.br/ceea/regimento/>
21. Colégio Brasileiro de Experimentação Animal. Princípios éticos na experimentação animal [Internet]. 1991. [acesso em: 10 out. 2016]. Disponível em: <http://www.feis.unesp.br/Home/comissaodeeticausoanimal/principios-eticos-na-experimentacao-animal.pdf>
22. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc writing Committee on the reformulation of the AIN-76A Rodent diet. *J Nutr*. 1993; 123(11):1939-1951.
23. Friedwald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of preparative ultracentrifuge. *Clinical Chemistry*. 1972; 18(6):499-502.

24. Esterbauer H, Cheeseman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malondialdehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods Enzymol.* 1990; 186:407-421.
25. Kristensen M, Jensen MG, Aarestrup J, Petersen KEN, Sondergaard L, Mikkelsen MS, et al. Flaxseed dietary fibers lower cholesterol and increase fecal fat excretion, but magnitude of effect depend on food type. *Nutr Metab.* 2012; 9(8). Disponível em: <https://nutritionandmetabolism.biomedcentral.com/articles/10.1186/1743-7075-9-8>
26. Jemai H, Fki I, Bouaziz M, Bouallagui Z, El Feki A, Isoda H, Sayadi S. Lipid-lowering and antioxidant effects of hydroxytyrosol and its triacetylated derivative recovered from olive tree leaves in cholesterol-fed rats. *J Agric Food Chem.* 2008; 56(8):2630-2636.
27. Muniz LC, Schneider BC, Silva ICM, Matijasevich A, Santos IS. Accumulated behavioral risk factors for cardiovascular diseases in Southern Brazil. *Rev Saúde Pública.* 2012; 46(3):534-542.
28. Poudyal H, Campbell F, Brown L. Olive leaf extract attenuates cardiac, hepatic, and metabolic changes in high carbohydrate-, high fat-fed rats 1-3. *J Nutr.* 2010; 40(5):946-953.
29. Fki I, Sahnoun Z, Sayadi S. Hypocholesterolemic effects of phenolic extracts and purified hydroxytyrosol recovered from olive mill wastewater in rats fed a cholesterol-rich diet. *J Agric Food Chem.* 2007; 55(3):624-631.
30. Visioli F, Galli C. Biological properties of olive oil phytochemicals. *Crit Rev Food Sc Nutr.* 2002; 42(3):209-221.
31. Al-Azzawie HF, Alhamdani MSS. Hypoglycemic and antioxidant effect of oleuropein in alloxan-diabetic rabbits. *Life Sciences.* 2006; 78(12):1371-1377.
32. Jemai H, El Feki A, Sayadi S. Antidiabetic and antioxidant effects of hydroxytyrosol and oleuropein from olive leaves in alloxan-diabetic rats. *J Agric Food Chem.* 2009; 57(19):8798-8804.
33. Fki I, Bouaziz M, Sahnoun Z, Sayadi S. Hypocholesterolemic effects of phenolic-rich extracts of Chemlali olive cultivar in rats fed a cholesterol-rich diet. *Bioorg Med Chem.* 2005; 13(18):5362-5370.
34. Levin BE, Keesey RE. Defense of differing body weight set points in diet induced obese and resistant rats. *Am J Physiol.* 1998; 274(2 pt 2):412-419.
35. Pellizzon MA, Billheimer JT, Bloendon LT, Szapary PO, Rader DJ. Flaxseed reduces plasma cholesterol levels in hypercholesterolemic mouse models. *J Am Coll Nutr.* 2007; 26(1):66-75.
36. Bressan J, Hermsdorff HHM, Zulet MA, Martínez JA. Impacto hormonal e inflamatório de diferentes composições dietéticas: ênfase em padrões alimentares e fatores dietéticos específicos. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2009; 53(5):572-581.

Recebido: 06 de agosto de 2018

Revisado: 10 de outubro, 2018

Aceito: 16 de outubro de 2018

