



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Instituto de Nutrição

Heloisa Rodrigues Pessoa

**Efeitos da ingestão de azeite de oliva na modulação de biomarcadores
associados ao risco de câncer em humanos: uma revisão sistemática**

Rio de Janeiro

2021

Heloisa Rodrigues Pessoa

Efeitos da ingestão de azeite de oliva na modulação de biomarcadores associados ao risco de câncer em humanos: uma revisão sistemática

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Alimentação, Nutrição e Saúde, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientadora: Prof.^a Dra. Danielly C. Feraz da Costa

Coorientadora: Lilia Zago

Rio de Janeiro

2021

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ / REDE SIRIUS / BIBLIOTECA CEH/A

P475 Pessoa, Heloisa Rodrigues.
Efeitos da ingestão de azeite de oliva na modulação de biomarcadores associados ao risco de câncer em humanos: uma revisão sistemática / Heloisa Rodrigues Pessoa. – 2021.
63 f.

Orientadora: Danielly C. Ferraz da Costa
Coorientadora: Lilia Zago.
Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro.
Instituto de Nutrição.

1. Jazeite de oliva – Teses. 2. Câncer – Teses. 3. Compostos fenólicos – Teses. I. Costa, Danielly C. Ferraz da.. II. Zago, Lilia. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Nutrição. III. Título.

bs

CDU 612.3

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Heloisa Rodrigues Pessoa

Efeitos da ingestão de azeite de oliva na modulação de biomarcadores ao risco de câncer em humanos: uma revisão sistemática

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Alimentação, Nutrição e Saúde, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 28 de julho de 2021.

Banca Examinadora:

Prof.^a Dr.^a. Danielly C. Ferraz da Costa (Orientadora)

Instituto de Nutrição - UERJ

Prof.^a Dr.^a. Renata Brum Martucci

Instituto de Nutrição - UERJ

Prof. Dr. Michel Carlos Mocellin

Instituto de Nutrição - UNIRIO

Rio de Janeiro

2021

DEDICATÓRIA

Dedico todo esforço ao longo deste ciclo aos meus avós (in memoriam), Elias e Teresa, que mesmo diante das dores não perdiam a alegria, e que tiveram forte influência no meu entendimento sobre o valor da comida, do estudo e do ensino.

AGRADECIMENTOS

As dificuldades e barreiras encontradas ao longo desse processo só foram superáveis pelo apoio dos muitos que, de alguma forma colaboraram, agregaram e me impulsionaram para concretização desse trabalho e para que a feliz conclusão desse ciclo fosse alcançada. Para estes quero manifestar o meu profundo agradecimento.

Sou grata principalmente as minhas orientadoras, Danielly Ferraz e Lilia Zago, que, cada uma à sua maneira, me ofereceram desafios, liberdade e suporte necessários ao longo desse caminho. Agradeço especialmente à Dani o acolhimento em seu grupo de estudo, a confiança, todo o estímulo, gestos de cuidados e a parceria. Também agradeço a oportunidade de seguir com o estudo. Para a Lilia meu super obrigado, primeiro por me aproximar da ciência, por acreditar em mim e continuar me guiando, pela participação presente e pela orientação amiga e inspiradora.

Sobretudo agradeço o apoio quando os rumos da pesquisa mudaram e quando tudo era muito incerto. Dani, Lilia e professora Cíntia, foram essenciais e sou infinitamente grata por não deixarem com que eu me sentisse perdida por esses novos trilhos.

Outra peça fundamental a quem sou fortemente grata é o aluno de iniciação científica e tecnológica, Wagner Andrade, por todo apoio, confiança, escuta, incentivo e parceria desde os experimentos iniciais até entrarmos no mundo das revisões. Sua dedicação é inspiradora.

À Ronimara Santos, Emanuelle Dutra, Beatriz Louise e Brenda agradeço imensamente a ajuda no momento inicial – pré-pandemia e pré-mudança de proposta de dissertação – pela acolhida, paciência, incentivo e pelo brilho no olhar que pude notar ao acompanhá-las nos experimentos e ao me passarem os procedimentos.

Sou e sempre serei incondicionalmente grata à minha mãe, Monica, pelo apoio, amparo e por sempre acreditar no meu esforço e empenho. À minha irmã e amigos obrigado pelo estímulo, carinho, palavras de cuidado e compreensão nos momentos que não fui tão presente. “Eu sou porque nós somos”.

Agradeço ainda professora Marta Citelli pela revisão cuidadosa da escrita e aos membros titulares e suplentes da banca de avaliação que prontamente aceitaram o convite e que enriqueceram o trabalho.

Por fim, agradeço a todos meus professores e a toda comunidade que torna a UERJ viva, ativa, lutando e fazendo a diferença! E, agradeço a agência de fomento CAPES.

“Na vida, não existe nada a temer, mas a entender.”
Marie Curie

RESUMO

PESSOA, H. R. Efeitos da ingestão de azeite de oliva na modulação de biomarcadores associados ao risco de câncer em humanos: uma revisão sistemática. 2021. 64f. Dissertação (Mestrado em Alimentação, Nutrição e Saúde) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2021.

O câncer é um conjunto vasto de doenças caracterizadas pela proliferação celular desordenada e disseminação de células anormais, resultante de alterações que se acumulam no genoma, geralmente associadas a fatores de risco ambientais. Doenças crônicas como o câncer possuem desenvolvimento associado ao estresse oxidativo e inflamação. Além da associação inversa entre casos de câncer e consumo de azeite de oliva por evidências observacionais, este óleo tem sido amplamente estudado pelo seu conteúdo bioativo ao qual atribuem-se efeitos antitumorais pré-clínicos pela modulação de vias oxidativas e inflamatórias. O objetivo da revisão foi verificar a modulação de marcadores bioquímicos associados ao risco de câncer por intervenções com azeite de oliva em adultos saudáveis. As buscas ocorreram nas bases de dados MEDLINE, EMBASE, SCOPUS, *Web of Science* e *Cochrane Library* com descritores referentes aos termos: azeite de oliva, redução do risco de câncer e quimioprevenção, marcadores tumorais e marcadores de danos e injúrias genéticas e em DNA. Foram encontrados 704 artigos excluindo-se duplicatas. Ao final da seleção, foram incluídos quatro estudos de intervenção com azeite de oliva, que avaliaram biomarcadores associados ao risco de câncer em participantes saudáveis. A heterogeneidade entre os estudos não possibilitou agrupamento para meta-análise. A avaliação individual por desfechos demonstrou que consumo contínuo de azeite de oliva esteve associado a menores níveis plasmáticos de bases do DNA oxidado, IL-8 e TNF- α , e menores concentrações urinárias de 8-OH desoxiguanosina, mas não exerceu efeito sobre a excreção urinária de adutos eteno-DNA. Houve discordância quanto aos promotores dos efeitos: compostos fenólicos, triterpênicos ou perfil lipídico. Os achados desta revisão sugerem que a ingestão de azeite de oliva por adultos saudáveis parece ser potencialmente promissora à redução do risco de câncer por estar diretamente associada a menores níveis de marcadores de danos oxidativos ao DNA e marcadores inflamatórios.

Palavras-chave: Azeite de Oliva. Compostos fenólicos. Câncer. Quimioprevenção.

ABSTRACT

PESSOA, H. R. Effects of olive oil intake on the modulation of biomarkers associated with reduced cancer risk in humans: a systematic review. 2021. 63f. Dissertação (Mestrado em Alimentação, Nutrição e Saúde) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2021.

Cancer is diseases set characterized by disordered proliferation and dissemination of abnormal cells, resulting from changes that accumulate in the genome, usually associated with environmental risk factors. Chronic diseases such as cancer are associated with oxidative stress and chronic inflammation. Observational studies have associated the incidence of different cancer types with regular olive oil intake. Furthermore, the olive oil bioactive content has preclinical antitumor effects by anti-inflammatory pathways and antioxidants. This study aimed to systematically review randomized controlled trials to assess whether olive oil intake is associated with cancer risk biomarkers modulation in healthy adults. The search was undertaken in electronic databases: MEDLINE, EMBASE, SCOPUS, Web of Science e Cochrane Library; with terms: chemoprevention and cancer risk markers; olive oil, virgin, and extra virgin; and tumor markers and genetic and DNA damage and injury markers. The search identified 704 articles, excluding duplicates. At the end of the selection, were included four intervention studies with olive oil, which evaluated cancer risk biomarkers in healthy participants. The meta-analysis was not performed due to the heterogeneity among the studies. The individual outcome assessment showed that continuous olive oil intake was associated with reduction to oxidized DNA bases, IL-8, TNF- α , and 8-OH deoxyguanosine, but had no effect on ethene-DNA adducts. Besides that, there was divergence between the authors whether the effect observed in the biomarkers was provided by phenolic compounds, triterpenic acids or the lipid profile. In summary, this review showed a promisor effect of olive oil intake for healthy adults, through lower levels of oxidative DNA damage markers and inflammatory.

Key words: Olive Oil. Phenolic compounds. Cancer chemoprevention

RESUMEN

PESSOA, H. R. Efectos de la ingesta de aceite de oliva sobre la modulación de biomarcadores asociados con el riesgo de cáncer en humanos: una revisión sistemática. 2021. 63f.

Dissertação (Mestrado em Alimentação, Nutrição e Saúde) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2021.

El cáncer es un conjunto de enfermedades caracterizadas por la proliferación desordenada y la propagación de células anormales, como resultado de los cambios que se acumulan en el genoma, generalmente asociados con factores de riesgo ambientales. Las enfermedades crónicas como el cáncer tienen desencadenantes asociados con el estrés oxidativo y la inflamación. Además de la asociación inversa entre los casos de cáncer y el consumo de aceite de oliva por la evidencia observacional, el aceite ha sido ampliamente estudiado por su contenido bioactivo al que se atribuyen efectos antitumorales preclínicos al modular las vías oxidativas e inflamatorias. El objetivo de la revisión fue verificar la modulación de marcadores bioquímicos asociados al riesgo de cáncer mediante intervenciones con aceite de oliva en adultos sanos. Se utilizaron las bases de datos MEDLINE, EMBASE, SCOPUS, Web of Science y Cochrane Library con descriptores que se refieren a los términos: aceite de oliva, reducción del riesgo de cáncer y quimioprevención, marcadores tumorales y marcadores genéticos y de daño y lesión del ADN. Se encontraron 704 artículos, excluidos los duplicados. Al final de la selección, se incluyeron cuatro estudios de intervención con aceite de oliva, que evaluaron biomarcadores asociados con el riesgo de cáncer en participantes sanos. La heterogeneidad entre los estudios no permitió la agrupación para el metanálisis. La evaluación de resultados individuales demostró que el consumo continuo de aceite de oliva se asoció con niveles plasmáticos más bajos de bases de ADN oxidado, IL-8 y TNF- α , y concentraciones urinarias más bajas de desoxiguanosina 8-OH, pero no tuvo ningún efecto sobre la excreción urinaria de etano-ADN. aductos. Hubo desacuerdo en cuanto a los promotores de los efectos: compuestos fenólicos, triterpenos o perfil lipídico. Los resultados de esta revisión sugieren que la ingesta de aceite de oliva por parte de adultos sanos parece ser potencialmente prometedora para reducir el riesgo de cáncer, ya que está directamente asociada con niveles más bajos de marcadores de daño oxidativo del ADN y marcadores inflamatorios.

Palabras clave: aceite de oliva. Compuestos fenólicos. Cáncer. Quimioprevención.

PRINCIPAIS ACHADOS

O uso regular de azeite de oliva, inserido em um contexto de alimentação saudável, é uma estratégia potencialmente promissora na prevenção do câncer. Visto que, nesta revisão observamos que a suplementação de azeite de oliva está diretamente associada a redução plasmática e urinária de indicadores biológicos relacionados a eventos de iniciação e progressão do câncer. No entanto, há necessidade de mais ensaios clínicos randomizados para confirmar esta associação.

LISTA SIGLAS E ABREVIACOES

AINE	Anti-inflamatório não esteroideal
DCNT	Doenças Crnicas não Transmissíveis
DNA	cido desoxirribonucleico (do inglês, <i>deoxyribonucleic acid</i>)
EVOO	Azeite de oliva extravirgem (do inglês, <i>extra virgin olive oil</i>)
FOO	Azeite de oliva funcional (do inglês <i>functional olive oil</i>)
GLOBOCAN	Observatrio Global de Cncer (do ingls <i>Global Cancer Observatory</i>)
HPC	Alto conteúdo fenlico (do ingls <i>high phenolic content</i>)
IL	Interleucina
INCA	Instituto Nacional do Cncer
LPC	Baixo conteúdo fenlico (do ingls <i>low phenolic content</i>)
MPC	Mdio conteúdo fenlico (do ingls <i>medium phenolic content</i>)
MUFA	cidos graxos monoinsaturados (do ingls, <i>monounsaturated fatty acids</i>)
NF-kB	Fator nuclear Kappa B (do ingls <i>nuclear factor kappa B</i>)
NOX	Nicotinamida adenina dinucleotdeo fosfato oxidase
OVOO	Azeite de oliva virgem otimizado (do ingls <i>optimized virgin olive oil</i>)
PICOs	Paciente, Intervenco, Comparaco, Desfecho e Tipo de Estudo (do ingls <i>Patient, Intervention, Comparison, Outcome, Study</i>)
PUFA	cidos graxos poliinsaturados (do ingls, <i>polyunsaturated fatty acids</i>)
RCT	Ensaio clnico randomizado (do ingls <i>randomized controlled trials</i>)
RNA	cido ribonucleico (do ingls, <i>ribonucleic acid</i>)
RoB	Risco de vis (do ingls <i>Risk of Bias</i>)
ROS	Espcies reativas de oxignio (do ingls, <i>reactive oxygen species</i>)
RNS	Espcies reativas de nitrognio (do ingls, <i>reactive nitrogen species</i>)
TNF	Fator de necrose tumoral (do inglês, <i>factor de necrose tumoral</i>)
TRAP1	Receptor de TNF tipo 1 (do inglês <i>TNF Receptor-associated protein 1</i>)
VOO	Azeite de oliva virgem (do inglês <i>virgin olive oil</i>)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Os 10 tipos de câncer mais incidentes no mundo.....	18
Figura 2 – As 10 principais capacidades biológicas adquiridas durante o desenvolvimento de tumores.....	19
Figura 3 – Efeitos celulares dos fitoquímicos no processo de carcinogênese.....	23
Figura 4 – Teor de compostos fenólicos totais em azeites de oliva nas cultivares e variedades de oliveiras mais difundidas.....	25
Figura 5 – Resumo do processo de extração de óleo com foco na produção de azeite extravirgem (EVOO)	26
Figura 6 – Estrutura química da oleuropeína.....	27
Figura 7 – Estrutura química do hidroxitirosol.....	28
Figura 8 – Estrutura química do oleocantal	29
Figure 1 – Flow chart of the study selection proces.....	12
Figure 2 – Risk of bias assessment tool.....	53

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1 – Estratégia de busca utilizada no MEDLINE via plataforma Ovid	36
Table 1 – Characteristics of studies included in the systematic review of the effect of the olive oil intake in biomarkers of cancer risk.....	45
Table 2 – Result of interventions with olive oil in urinary and plasma oxidative stress biomarkers, and inflammatory biomarkers concentrations.....	46
Table 3 – Result of interventions with olive oil with different compositions in urinary and plasma oxidative stress biomarkers, and inflammatory biomarkers concentrations	48
Appendix A – Search strategy for the database MEDLINE, including the keywords	55

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	16
1. REFERENCIAL TEÓRICO	18
1.1 Câncer	18
1.2 Ação quimiopreventiva de compostos bioativos	21
1.3 Azeite de oliva e compostos bioativos	24
1.4 Azeite de oliva e redução do risco de câncer	30
2. JUSTIFICATIVA	33
3. OBJETIVO	34
4. MÉTODOS	35
4.1 Critérios de elegibilidade	35
4.2 Tipos de medidas de desfecho	35
4.3 Estratégias de busca	36
4.4 Seleção de artigos	37
4.5 Extração de dados	37
4.6 Avaliação do risco de vieses	37
4.7 Análise e síntese de dados	38
5. RESULTADOS	39
5.1 Introduction	40
5.2 Material & methods	41
5.2.1 Data sources and searches	41
5.2.2 Study selection	42
5.2.3 Data extraction, risk of bias and statistical analyses	42
5.3 Results and discussion	43
5.3.1 Search results	43
5.3.2 Study characteristics	44
5.3.3 Olive oil and phenolic contents	45
5.3.4 Urinary excretion of phenolic compounds	46
5.3.5 Biomarkers of cancer risk	45
5.3.6 Risks of bias assessment	52
5.3.7 Strengths and limitations	53

5.4	Conclusion	54
	CONSIDERAÇÕES FINAIS	56
	REFERÊNCIAS	57

INTRODUÇÃO

As projeções da incidência de câncer, cerca de 29 a 37 milhões de novos casos de câncer até 2040, e seu impacto direto na saúde mundial são expressivos (FERLAY et al., 2019). Doenças crônicas não transmissíveis, como o câncer, possuem desenvolvimento associado, dentre outros fenômenos, ao estresse oxidativo e inflamação crônica, processos interrelacionados e interdependentes (KHATAMI, 2009; REUTER et al., 2010; SHARIFIRAD et al., 2020). Danos genéticos e epigenéticos desencadeados pelo estresse oxidativo e inflamação atuam na iniciação, mas também na progressão de tumores (CHIKARA et al., 2018; MURATA, 2018; SAHA et al., 2017).

Deste modo, o consumo de alimentos fontes de compostos anti-inflamatórios e antioxidantes é promissor na prevenção do câncer (KUMARI et al., 2018; LIGUORI et al., 2018). Padrões alimentares caracterizados pelo alto consumo de vegetais demonstram promover um risco reduzido de desenvolvimento de todos os tipos de câncer (WORLD CANCER RESEARCH FUND, 2018).

Dentre as evidências epidemiológicas, clínicas e experimentais, que relacionam o risco de câncer a fatores de risco nutricionais, muitas relacionam o perfil alimentar mediterrâneo as menores taxas de incidência de câncer nesta região. Na dieta mediterrânea existe o consumo frequente de produtos provenientes da oliveira (*Olea europaea*) como o azeite de oliva, munidos em compostos potencialmente bioativos aos quais se atribuem diversos benefícios de saúde, incluindo efeitos pré-clínicos de supressão tumoral em diversos tipos de câncer pela modulação de vias oxidativas e inflamatórias (BOSS et al., 2016; FABIANI, 2016; GOLDSMITH et al., 2015; RUZZOLINI et al., 2018).

O principal produto da oliveira, o azeite de oliva é uma matriz complexa repleta de compostos de alto valor nutricional, incluindo ácidos graxos monoinsaturados, fenóis simples (como hidroxitirosol e tirosol), secoiridóides (como oleuropeína, oleocantal), flavonóides e terpenóides (como esqualeno). Estudos observacionais associam à prevenção de diferentes tipos de câncer ao consumo frequente deste ingrediente. A maior parte dos estudos de bases epidemiológicas não dissociam a ingestão do azeite da dieta mediterrânea que, pelo consumo vasto de alimentos de origem vegetal fontes de compostos bioativos, não torna clara a compreensão de causalidade entre o consumo de azeite e casos de câncer (FARRÀS et al., 2020; PELUCCHI et al., 2011; PSALTOPOULOU et al., 2011).

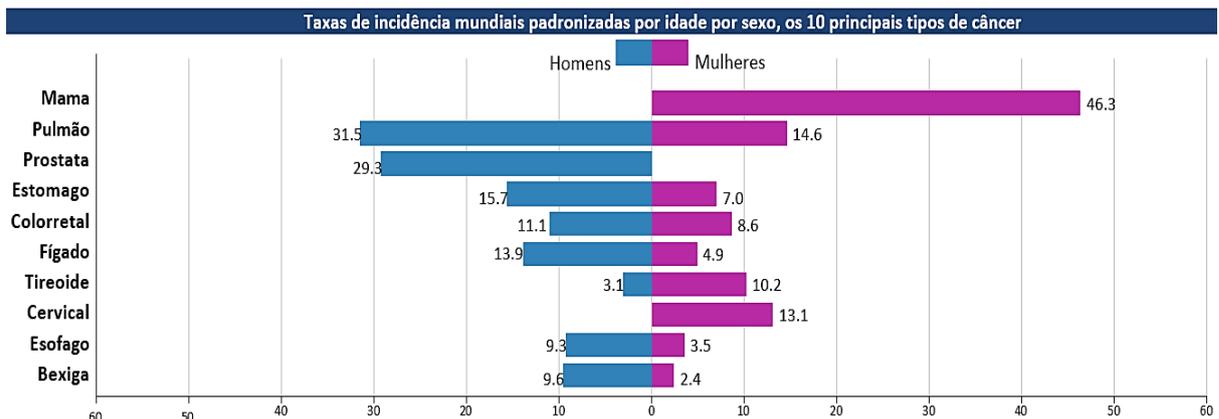
Existe um crescente interesse em compreender os efeitos do consumo de azeite de oliva e seus compostos fenólicos sob a modulação de vias oxidativas e inflamatórias que possuem papel na gênese tumoral, para além dos estudos em sistemas *in vitro* e *in vivo*. Ainda não está clara a relação entre o consumo de azeite de oliva e o risco de diferentes tipos de câncer. Uma revisão sistemática que aborde esta temática poderá ajudar a compreender a relação entre o consumo de azeite de oliva e relação com o risco de ocorrência de diferentes tipos de câncer.

1. REFERÊNCIAL TEÓRICO

1.1 Câncer

O câncer é uma doença crônica não transmissível com incidência e mortalidade aumentando no mundo (INCA, 2019), de acordo com os dados do GLOBOCAN divulgados pela Organização Mundial de Saúde (Figura 1) (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019).

Figura 1 – Percentuais de incidência dos 10 principais tipos de câncer no mundo.



Fonte: Adaptado de The Global Cancer Observatory, 2019.

Em 2018, projetou-se cerca de 29 a 37 milhões de novos casos de câncer até 2040, relacionados ao aumento da expectativa de vida e às transições epidemiológicas e demográficas (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020).

Até os primeiros meses do ano de 2020 o câncer configurava a segunda principal causa de morte por doenças crônicas não transmissíveis na maioria dos países (WILD; WEIDERPASS; STEWART, 2020), sendo responsável por uma em cada seis mortes (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020).

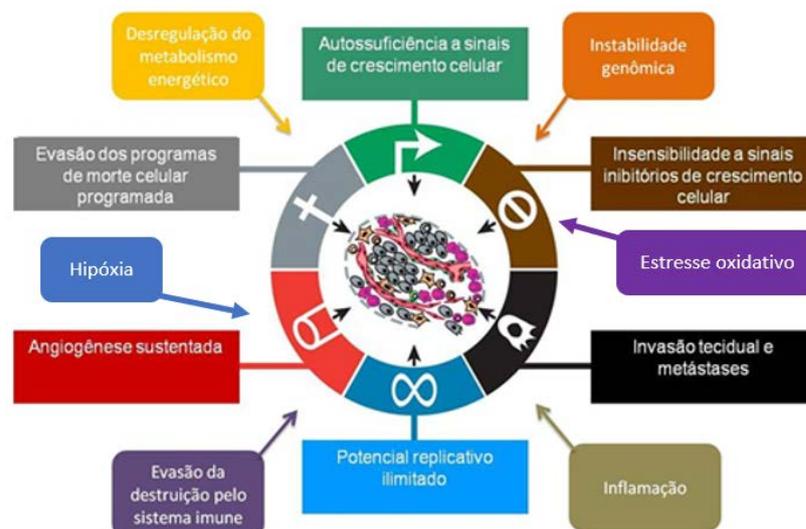
Os padrões e tendências de mortalidade variam entre países e tipos específicos de câncer, devido a diferentes determinantes ambientais locais, tais como mobilidade, alimentação, exposição a poluentes ambientais, estilo de vida, até mesmo a infraestrutura da saúde local (WILD; WEIDERPASS; STEWART, 2020),

No Brasil, de acordo com dados da última estimativa do Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA), para cada ano do triênio 2020-2022 foi apontado que ocorrerão cerca de 625 mil casos novos de câncer, havendo aumento daqueles associados à melhoria das condições socioeconômicas, com a incorporação de hábitos e atitudes relacionados à urbanização, como o sedentarismo, a alimentação não saudável, entre outros.

No entanto, estas estimativas estão condicionadas aos impactos da pandemia da doença COVID-19, causada pelo vírus Sars-Cov-2. Devido a pandemia, houve diminuição significativa de novos diagnósticos de câncer, por subnotificação. Além dos dados de incidência, as projeções de mortalidades sofreram impacto pela suspensão de cirurgias e restrição ao acesso às terapias dos pacientes oncológicos, bem como, o maior risco a desfechos negativos diante da infecção pelo vírus (TULCHINER et al., 2021).

A definição conceitual de câncer engloba um conjunto de mais de cem doenças, que se caracterizam pela proliferação celular desordenada – divisão celular não controlada, rápida e agressiva - que tendem a invadir outros tecidos e órgãos (INCA, 2019). Pode-se observar como características comuns adquiridas durante o desenvolvimento tumoral: (1) angiogênese sustentada, (2) hipóxia (3) evasão dos programas de morte celular, (4) desregulação do metabolismo energético, (5) autossuficiência a sinais de crescimento celular, (6) estresse oxidativo, (7) instabilidade genômica, (8) insensibilidade a sinais inibitórios de crescimento celular, (9) invasão tecidual e metástases; (10) inflamação, (11) potencial replicativo ilimitado e (12) evasão da destruição pelo sistema imune (HANAHAN; WEINBERG, 2017).

Figura 2 - As 10 principais capacidades biológicas adquiridas durante o desenvolvimento de tumores



Fonte: Adaptado de Hanahan & Weinberg, Cell, 2011

O câncer é resultante de alterações que se acumulam progressivamente no genoma, sendo caracterizado pela proliferação desordenada e disseminação de células anormais. Embora as causas do câncer não sejam totalmente compreendidas, sua etiologia está geralmente associada a vários fatores ambientais que aumentam a ocorrência da doença, incluindo tabagismo e consumo de álcool, exposição a agentes infecciosos, obesidade, hábitos alimentares, radiação solar, poluição ambiental, tanto do ar quanto por pesticidas e outros contaminantes químicos. Além disso, há a contribuição de fatores como mutações genéticas herdadas e condições imunológicas, ainda que em menor proporção. Há que se mencionar ainda que esses fatores de risco podem atuar simultaneamente ou em sequência para iniciar e/ou promover o desenvolvimento tumoral (WILD; WEIDERPASS; STEWART, 2020; AMERICAN CANCER SOCIETY, 2019).

Em menor grau, mutações epigenéticas contribuem para o desencadeamento do câncer, enquanto mutações somáticas possivelmente contribuem com 90% dos tumores (LANDIS-PIWOWAR; IYER, 2014). As três principais alterações epigenéticas são: (1) Metilação do DNA: envolve a adição de grupo metila ao quinto carbono da citosina. Processo crucial no desenvolvimento celular, proliferação normal e manutenção da estabilidade gênica, – a avaliação do perfil de metilação já é considerada um potencial marcador molecular de vários tipos de tumor –; (2) Modificações de histonas: podem sofrer metilação, acetilação, fosforilação e ubiquitinação, que desestabilizam as interações entre histonas e DNA prejudicando a transcrição gênica e, no contexto da patologia cancerígena, também podem ser associadas a malignidade e a metástase; (3) A terceira principal são os RNA não-codificadores. MicroRNAs (miRNAs) são capazes de ligar-se ao RNA mensageiro alvo, levando-os ao silenciamento pós-transcritos ou para a degradação, exercendo controle epigenético sobre o ciclo celular, apoptose e outros processos essenciais para a homeostase (RODRIGUES et al., 2019).

A iniciação e progressão tumoral têm sido associadas ao estresse oxidativo, por atuar induzindo danos e mutações ao DNA, instabilidade do genoma e proliferação celular. No metabolismo celular normal a produção de espécies reativas de oxigênio desempenha um papel crucial nas vias de sinalização celular. No entanto, um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio e a defesa antioxidante adequada é considerado estresse oxidativo (KOTECHA; TAKAMI; ESPINOZA, 2016; REUTER et al., 2010; SAHA et al., 2017)

Nesse contexto, um dos mecanismos pelos quais a inflamação pode atuar levando a carcinogênese é através do estímulo à produção de espécies reativas de oxigênio, contribuindo

para o estresse oxidativo, e espécies reativas de nitrogênio. As quais podem causar danos aos ácidos nucleicos, proteínas, lipídios e danos ao DNA, que pode resultar em mutagênese e posterior iniciação do câncer. Outro fator importante na mutagênese induzida por inflamação é a produção de óxido nítrico que pode reagir com o superóxido formando peroxinitrito. (PIOTROWSKI; KULCENTY; SUCHORSKA, 2020).

Durante esses processos, dano oxidativo ao DNA e formação de peróxidonítrito, a 8-OH desoxiguanosina (8-OHdG) pode ser produzida, podendo aumentar significativamente o risco de mutagênese. Este intermediário do dano oxidativo leva à transversão de pares de guanina-citosina em pares de tiamina-adenina, (SAHA et al., 2017) frequentemente presente em cânceres humanos (PIOTROWSKI; KULCENTY; SUCHORSKA, 2020; SAHA et al., 2017).

A 8-OHdG também atua dificultando mecanismos de reparo do DNA, e falhas nestes mecanismos estão fortemente associadas a mutagênese e carcinogênese (POETSCH, 2020). Assim as moléculas de 8-OHdG são indicadores de danos oxidativos durante a mutagênese do DNA e estão amplamente implicadas como uma ferramenta de detecção precoce para a progressão do câncer (SAHA et al., 2017).

Além disso, a inflamação também tem papel importante nas mudanças epigenéticas, acarretadas no tecido inflamado por meio de alterações no metabolismo causadas por células imunes ativadas e por meio da indução de dano ao DNA. Essas alterações epigenéticas também podem resultar no silenciamento de genes supressores de tumor, um fator essencial na tumorigênese (PIOTROWSKI; KULCENTY; SUCHORSKA, 2020).

Nesse contexto, em comum ao câncer e outras doenças crônicas, o estresse oxidativo e a inflamação, que o sustenta, são ocasionados por fatores de risco e pela presença de outras DCNT. O estresse oxidativo acarreta danos moleculares que, associados a oncogenes e falhas no reparo do DNA, desregulam a expressão de genes promovendo o desenvolvimento do câncer, bem como atua na progressão do câncer e na resistência ao tratamento. Com isso, antioxidantes representam uma estratégia promissora de prevenção ao câncer (ALEKSANDROVA; KOELMAN; RODRIGUES, 2021; KUMARI et al., 2018; LIGUORI et al., 2018).

1.2 Ação quimiopreventiva de compostos bioativos

Existem evidências consolidadas de que a alimentação baseada em vegetais, que são fontes de compostos bioativos, está relacionada à prevenção de vários tipos de câncer, bem como ao controle da doença durante o tratamento, um exemplo clássico é o padrão alimentar mediterrâneo (NORAT et al., 2015).

Os compostos bioativos são substâncias que apresentam inúmeras atividades biológicas, sendo capazes de modular processos metabólicos, resultando em benefícios à saúde (SHIRAHIGUE; CECCATO-ANTONINI, 2020). Encontrados naturalmente em frutas, vegetais, grãos, produtos vegetais em geral como óleos os fitoquímicos constituem um conjunto de compostos bioativos classificados de acordo com sua estrutura química que incluem: compostos fenólicos, alcalóides, carotenóides e compostos de nitrogenados. Esses compostos geralmente são responsáveis pela pigmentação, cheiro e cor das plantas, vegetais e frutos (KOTECHA; TAKAMI; ESPINOZA, 2016).

Os compostos fenólicos são amplamente distribuídos em todas as plantas e representam o maior grupo entre os compostos bioativos encontrados nos vegetais (CORRÊA et al., 2015). São metabólitos secundários produzidos e estão relacionados a respostas de defesa dos vegetais contra agressões externas. A concentração dos compostos fenólicos depende do tipo do vegetal, da estação do ano, estágios de desenvolvimento e maturação, colheita, condições de cultivo, do solo, armazenamento depois de colhidos, entre outros fatores relacionados ao processamento (ARNOSO; DA COSTA; SCHMIDT, 2019).

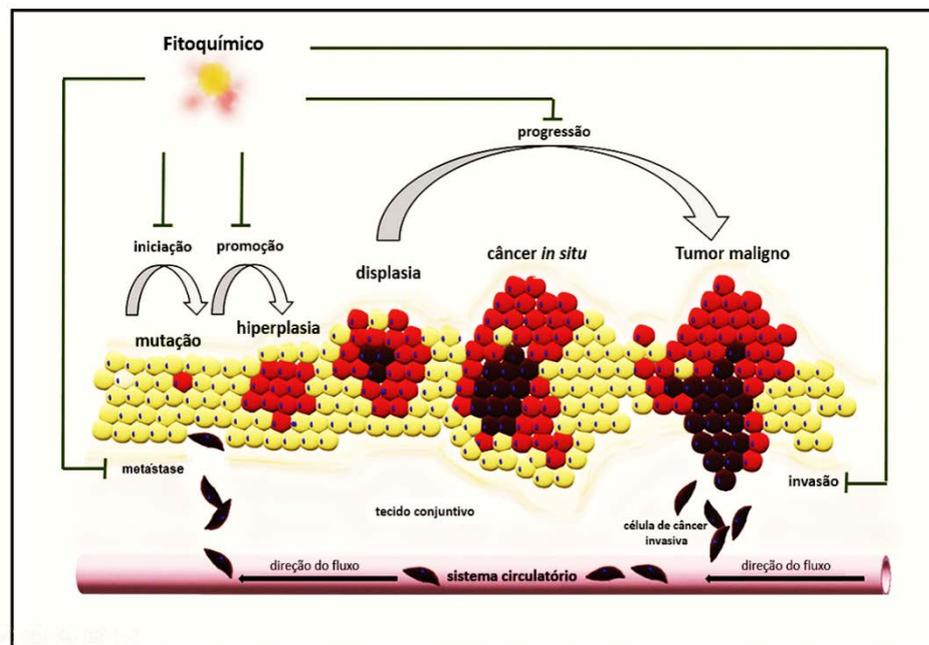
Quimicamente, os compostos fenólicos são constituídos de anéis aromáticos ligados a uma ou mais hidroxilas (ARNOSO; DA COSTA; SCHMIDT, 2019). O número e a posição do grupo hidroxila em um composto fenólico específico leva à variação em seu potencial antioxidante (KUMAR; GOEL, 2019). A atividade antioxidante dos compostos fenólicos é atribuída à capacidade de eliminar os radicais livres, doar átomos de hidrogênio, elétrons ou cátions metálicos quelatos (MINATEL et al., 2017).

Os polifenóis antioxidantes também podem exercer efeitos de supressão da produção de espécies reativas, reparando e/ou eliminando danos às células. Além da possibilidade de atuar induzindo a biossíntese de antioxidantes endógenos ou enzimas de defesa (LI et al., 2016), bem como, inibir enzimas responsáveis pela geração endógena de espécies reativas de oxigênio (YAHFOUFI et al., 2018). Os diversos benefícios à saúde desses compostos geralmente são conferidos pela sua ação antioxidante, que resulta principalmente na prevenção de doenças que tem seu desencadeamento associado ao estresse oxidativo e resposta inflamatória, as DCNT, incluindo o câncer devido a efeitos de prevenção da gênese e

de supressão tumoral (ALEKSANDROVA; KOELMAN; RODRIGUES, 2021; BOSS et al., 2016; FABIANI, 2016; GOLDSMITH et al., 2015).

De acordo com estudos experimentais e clínicos, o efeito preventivo e antitumoral dos fitoquímicos resulta da capacidade desses compostos em: (1) atuar sob o estresse oxidativo, o qual é mutagênico, (2) atuar promovendo condições que favorecem o reparo ao DNA, (3) induzir a supressão tumoral, (4) inibir ou reduzir a proliferação celular, (5) participar das vias de sinalização, por meio da interrupção da iniciação e proliferação, (6) atuar no estágio pré-maligno, inibindo ou retardando a progressão e a invasão tumoral (Figura 3) (KOH; HO; PAN, 2020; KOTECHA; TAKAMI; ESPINOZA, 2016).

Figura 3. Efeitos celulares dos fitoquímicos no processo de carcinogênese.



Fonte: Adaptado de Koh, Ho & Pan, 2020

Esses efeitos podem ser considerados quimiopreventivos, por prevenir e/ou diminuir a carcinogênese. Com isso, compostos bioativos dietéticos podem contribuir para menor incidência tumoral (LEO; ALTAMIRANO; CAMPOS, 2018).

Ainda, existe a hipótese de que essa ação antitumoral é mais eficaz diante da combinação dos fitoquímicos, que juntos – na forma como se apresentam na matriz alimentar – podem exercer efeitos aditivos ou sinérgicos sobre alvos específicos (KAPINOVA et al., 2017; NIEDZWIECKI et al., 2016). Esses achados suportam que o consumo de compostos bioativos na forma como ocorrem nas matrizes alimentares, que carregam uma variedade

desses compostos, em detrimento da ingestão dos compostos isolados para atuar na redução de doenças como câncer.

1.3 Azeite de oliva e compostos bioativos

A oliveira (*Olea europaea*), árvore frutífera pertencente à família *Oleaceae*, faz parte de uma das culturas agrícolas mais antigas, caracterizada por um grande número de cultivares localizados predominantemente na região do mediterrâneo. Os frutos da oliveira são as azeitonas, utilizadas para a produção de azeite de oliva (PATSIOS; KONTOGIANNOPOULOS; BANIAS, 2021), o principal produto derivado da olivicultura, comercialmente essencial para esta região (NICOLÌ et al., 2019; ÖZCAN; MATTHÄUS, 2017). No Brasil a olivicultura ainda está em ascensão (MEDEIROS et al., 2016) e a demanda interna dos produtos da oliveira é atendida pela importação (AUED-PIMENTEL, 2016).

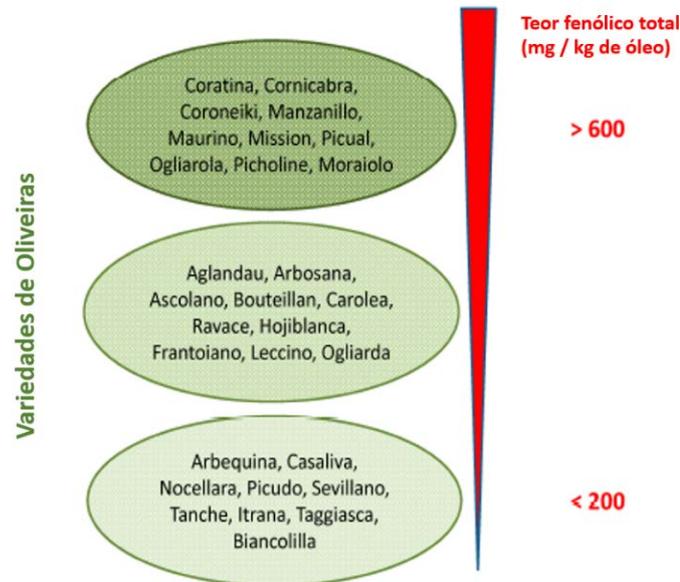
O azeite é um ingrediente amplamente consumido. Em 2020, o consumo mundial ultrapassou 3 milhões de toneladas, 2,9% representaram o consumo brasileiro (IOC, 2020). Seu uso é impulsionado por suas características sensoriais únicas e benefícios em saúde (ZAGO et al., 2019).

A composição do azeite de oliva tem papel importante em seus efeitos em saúde, características sensoriais e resistência à oxidação. A composição lipídica e o conteúdo fenólico podem variar segundo cultivar, estágio de maturação da fruta, fatores ambientais e condições e tempo de armazenamento, devido à oxidação espontânea (GORZYNIK-DEBICKA et al., 2018; RIGACCI; STEFANI, 2016).

O azeite de oliva é composto principalmente de triacilgliceróis (97–99%), com predomínio do ácido graxo monoinsaturado (MUFA), o ácido oleico (até 83%), e de compostos menores (1–3%), que correspondem aos compostos bioativos. Seu conteúdo de compostos bioativos (fenóis hidrofílicos, fitoesteróis, tocoferóis e carotenos) o munem de propriedades funcionais, além de conferir alta estabilidade oxidativa propiciando longo tempo de armazenamento (JIMENEZ-LOPEZ et al., 2020).

A variedade da oliveira é um dos fatores relevantes na variação da composição do azeite de oliva (ANTUNES et al., 2020). A variedade de oliveira Coratina é conhecida entre as que possuem maior conteúdo fenólico, dentre as variedades mais difundidas das culturas oleícolas (Figura 4), com alto teor fenólico reconhecido no óleo (GHASEMI et al., 2018; RIGACCI; STEFANI, 2016).

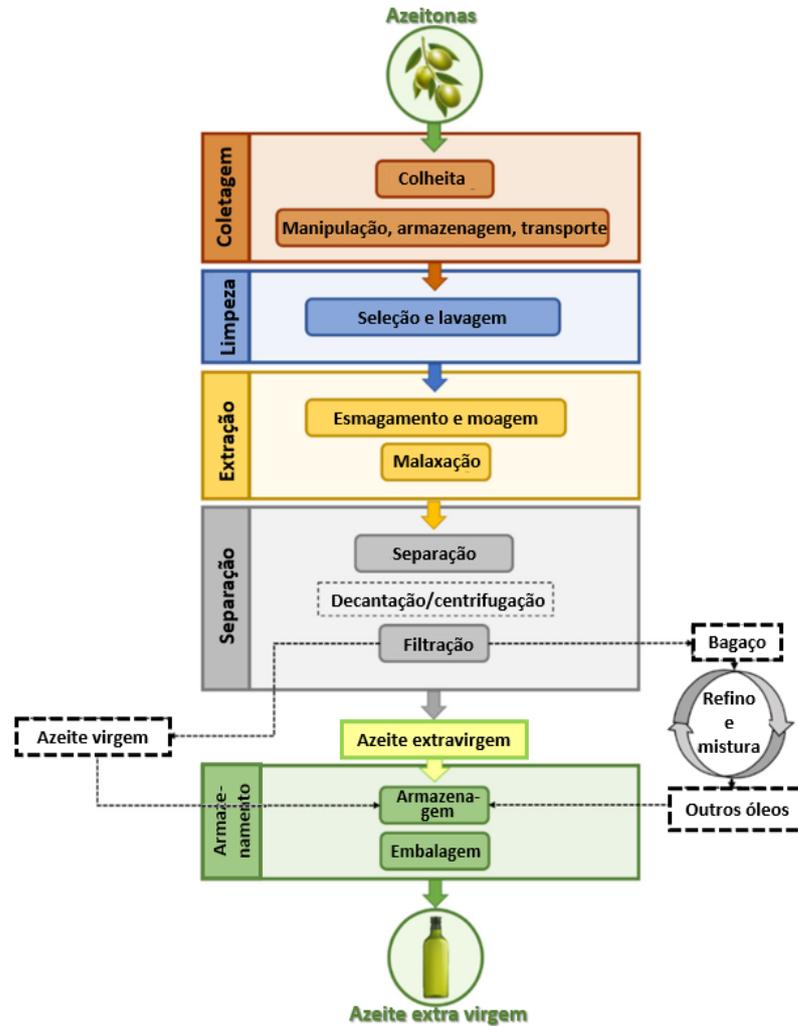
Figura 4. Teor de compostos fenólicos totais em azeites de oliva nas cultivares e variedades de oliveiras mais difundidas.



Fonte: Adaptado de Rigacci e Stefani, 2016

O processo tecnológico de extração do azeite (Figura 5), dá origem a óleos de diferentes categorias e concentrações fenólicas (GORZYNIK-DEBICKA et al., 2018; JIMENEZ-LOPEZ et al., 2020; RIGACCI; STEFANI, 2016). Dentre as categorias próprias ao consumo mais utilizadas estão o azeite de oliva extravirgem (EVOO – do inglês, *extravirgem olive oil*), considerado de melhor qualidade (AUED-PIMENTEL, 2016); e o azeite de oliva virgem (VOO – do inglês, *virgem olive oil*), ambos são obtidos a partir do fruto da oliveira apenas por processos mecânicos ou físicos em condições que não afetam a qualidade do azeite (IOC, 2019). Contudo, enquanto o primeiro possui conteúdo fenólico variando de aproximadamente 200 a 600 mg / kg de óleo, o segundo varia de aproximadamente 150 a 400 mg / kg de óleo (GORZYNIK-DEBICKA et al., 2018).

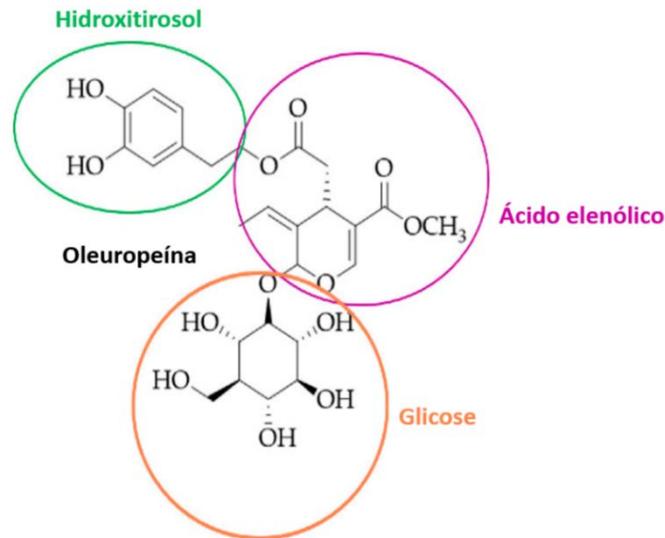
Figura 5 – Resumo do processo de extração de óleo com foco na produção de azeite extravirgem (EVOO); e as caixas com contorno descontínuo referem-se à obtenção de outros tipos de óleos.



Fonte: Jimenez-Lopez et al. 2020

Hidroxitirosol, oleuropeína e oleocantal são os compostos fenólicos mais abundantes no EVOO (JIMENEZ-LOPEZ et al., 2020). A oleuropeína pertence à família dos secoiridóides, que são compostos ligados glicosidicamente, produtos do metabolismo secundário dos terpenos. Os secoiridóides em *Oleaceae* são geralmente derivados do tipo oleosídeo de glicosídeos. A oleuropeína é um éster do ácido elenólico e do hidroxitirosol, ligado ao esqueleto oleosídeo (Figura 6) (AHMAD FAROOQI et al., 2017; BARBARO et al., 2014; GAMLI, O, 2016; IMRAN et al., 2018; NEDIANI et al., 2019).

Figura 6. Estrutura química da oleuropeína



Fonte: Adaptado de Nediani et al. 2019

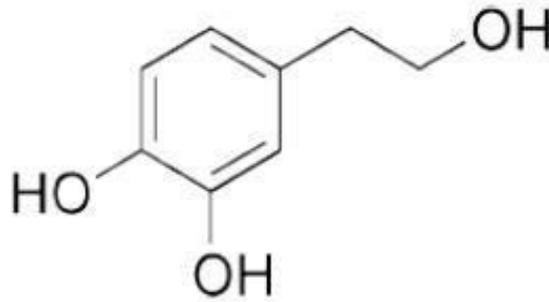
O potencial antioxidante da oleuropeína resulta da sua capacidade de estabilizar as espécies reativas de oxigênio com uma ligação intramolecular de hidrogênio livre do grupo hidroxila e seus radicais fenoxila, sem perder estabilidade (BARBARO et al., 2014; NEDIANI et al., 2019).

A oleuropeína já foi associada a uma ação antioxidante indireta, por atuar no estímulo da expressão de enzimas antioxidantes intracelulares e no aumento do nível de antioxidantes não enzimáticos (glutathione, α -tocoferol, β -caroteno e ácido ascórbico). Além de ser uma molécula capaz de atuar sob a expressão gênica, modifica as vias celulares relevantes para os processos patológicos de doenças crônicas, incluindo o câncer (GAMLI, O, 2016; NEDIANI et al., 2019).

A oleuropeína predomina nas fases iniciais da maturação da azeitona. À medida que a maturação prossegue, é hidrolisada e produz hidroxitirosol (WANI et al., 2018). Ao final do processo, a concentração de hidroxitirosol, tirosol e seus derivados constituem cerca de 90% do conteúdo fenólico total do azeite virgem (BULOTTA et al., 2013).

Secoiridóide resultante da oleuropeína, o hidroxitirosol, é um álcool fenólico. Seu potencial bioativo caracterizado pela forte atividade antioxidante, como eliminador de radicais livres e quelante de metais, é atribuído a sua conformação química (Figura 7), em especial à fração di-hidroxifenil, isto é, a presença de duas hidroxilas no anel aromático (BOSS et al., 2016; IMRAN et al., 2018; MARKOVIĆ et al., 2019; MARTÍNEZ; ROS; NIETO, 2018; SILVA et al., 2015).

Figura 7. Estrutura química do hidroxitirosol.



Fonte: Adaptado de Martínez; Ros; Nieto, 2018

Ao hidroxitirosol foi proposto uma atividade antioxidante adicional, de atuar contra o estresse oxidativo induzindo a síntese endógena de enzimas antioxidantes e redução da produção endógena de moléculas promotoras de vias inflamatórias com características oxidativas (ciclooxigenase e lipoxigenase) (GORZYNIK-DEBICKA et al., 2018; MARKOVIĆ et al., 2019; MARTÍNEZ; ROS; NIETO, 2018; RIGACCI; STEFANI, 2016).

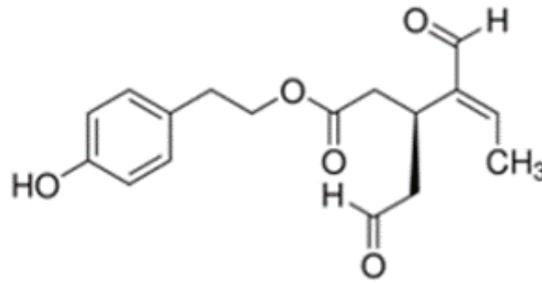
Sua estrutura molecular simples é vantajosa também por ser anfipática – solúvel em água e lipossolúvel, de fácil transporte sanguíneo, penetração em membrana celular e assimilação pelo corpo humano, não apresentando problemas de acumulação ou toxicidade (MARTÍNEZ; ROS; NIETO, 2018).

Diante do revisado por Wani e colaboradores (2018), o hidroxitirosol mostra resultados clínicos e pré-clínicos promissores no combate a inflamação, estresse oxidativo, oxidação de LDL, distúrbios nervosos, diabetes, câncer, toxicidade de metais pesados, dano muscular e nefrotoxicidade.

Derivado do hidroxitirosol, o oleocantal é responsável pela sensação de pungência ao ingerir o azeite, pode representar até 10% do teor de polifenol total do azeite de oliva extravirgem, e pode variar de baixas concentrações como 0,2 mg / kg até 498 mg / kg (FRANCISCO et al., 2019; KOUKA et al., 2019)

Devido a sua estrutura química (Figura 8), é um composto fenólico que se mantém estável ao aquecimento (FRANCISCO et al., 2019). Também resiste a acidez gástrica (PANG; CHIN, 2018).

Figura 8 – Estrutura química do Oleocantal.



Fonte: Adaptado de Francisco et al., 2019

Sua capacidade antioxidante endógena, até o momento, é demonstrada pela capacidade de inibir a nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato oxidase (NOX), com consequente modulação negativa de espécies reativas de oxigênio – ROS (PANG; CHIN, 2018).

É reconhecido que o oleocantal possui forte atividade antiinflamatória, dependente da dose, equivalente ao ibuprofeno – droga antiinflamatória não esteroideal (AINE), por inibir atividade da cicloxigenase 1 e 2. Outro mecanismo de ação antiinflamatória tem relação com a característica sensorial que proporciona, de pungência, uma sensação picante na região orofaríngea que implica na existência de um receptor sensorial específico nessa região, ao que tudo indica TRAP1 (receptor transiente de canal catiônico subtipo A1), envolvido na inflamação crônica (FRANCISCO et al., 2019). A ligação a este receptor tem relação com sua estrutura química, dependente de suas frações dialdeído carbonila insaturadas. Estudos pré-clínicos também apontam que efeitos antiinflamatórios do oleocantal resultam da mediação da síntese de enzimas relacionadas a cascatas inflamatórias e a inflamação crônica (PANG; CHIN, 2018).

O azeite de oliva é uma matriz complexa rica em compostos bioativos e seus potenciais em saúde não podem ser atribuídos há um único composto. Com doenças crônicas de base inflamatórias relacionadas ao estilo de vida cada vez mais incidentes, este óleo é um ingrediente com potenciais preventivos e terapêuticos (FRANCISCO et al., 2019). A maioria das evidências são de base experimental e as concentrações usadas podem não ser alcançáveis fisiologicamente (PANG; CHIN, 2018). Além disso, demonstram resultados de compostos isolados, que podem não representar o mesmo efeito do consumo da matriz alimentar complexa.

1.4 Consumo de azeite de oliva e redução do risco de câncer

Como visto, compostos bioativos naturalmente presentes em alimentos têm demonstrado potencial preventivo e/ou terapêutico para doenças crônicas (FRANCISCO et al., 2019). Os azeites de oliva virgem possuem atividades não exibidas por outros óleos vegetais (PANG; CHIN, 2018). A composição química, em especial a fenólica, é responsável pelos impactos em saúde ocasionados pelo consumo de EVOO, com atividades biológicas de prevenção e desaceleração da progressão de patologias relacionadas ao estresse oxidativo e inflamação crônica (RODRÍGUEZ-LÓPEZ et al., 2020). Porém, inicialmente os benefícios da ingestão do azeite de oliva foram inicialmente associados ao conteúdo de ácido oleico (18: 1 n-9), um ácido graxo monoinsaturado (AMIOT, 2014).

Geralmente os benefícios investigados em saúde e prevenção de doenças a partir da adesão ao consumo frequente de azeite de oliva compõe o padrão alimentar do mediterrâneo, com ingestão diária que varia entre 25 e 50 ml, representando a principal fonte alimentar de lipídios (FRANCISCO et al., 2019). Nesse contexto, efeitos preventivos têm sido apontados ao azeite de oliva, corroborando com a menor incidência, nessa região, de doenças como as cardiovasculares, metabólicas, degenerativas e câncer. Evidências também revelam que adesão ao consumo frequente desse óleo é capaz de exercer efeitos positivos em grupos não saudáveis, especialmente, na modulação de biomarcadores relacionados a saúde cardiovascular em humanos (FERNANDES et al., 2020; GORZYNIK-DEBICKA et al., 2018; RIGACCI; STEFANI, 2016; SCHWINGSHACKL; CHRISTOPH; HOFFMANN, 2015).

No início da última década, duas revisões sistemáticas reuniram estudos observacionais que apoiaram a relação do consumo de azeite de oliva à prevenção de diferentes tipos de câncer. Pelucchi e colaboradores (2011) analisaram 24 estudos caso-controle e 1 estudo de coorte, enquanto Psaltopoulou e colaboradores (2011) revisaram 19 estudos caso-controle.

Apoiado por evidências epidemiológicas, o consumo regular de azeite de oliva virgem, majoritariamente no contexto da dieta mediterrânea, demonstra ser inversamente associado ao risco de câncer (BUCKLAND; GONZALEZ, 2015). Em paralelo, compostos fenólicos isolados do EVOO demonstraram em estudos pré-clínicos atividades antiproliferativa, pró-apoptótica e pró-diferenciação (FABIANI; VELLA; ROSIGNOLI, 2021). Ainda assim,

ensaios clínicos randomizados podem superar limitações desses estudos, principalmente para compreensão de causalidade (BUCKLAND; GONZALEZ, 2015).

Para compreender se os efeitos observados em modelos experimentais se aplicam ao organismo humano é preciso entender se estão disponíveis em concentrações semelhantes às doses estudadas (D'ARCHIVIO et al., 2010). A este respeito, a biodisponibilidade e bioatividade dos compostos fenólicos dependem de uma miríade de fatores, como condições fisiológicas, estabilidade em condições gastrointestinais, saúde intestinal/composição da microbiota, metabolismo pós absorptivo e outras questões (ALEMÁN-JIMÉNEZ et al., 2021). A biodisponibilidade tem papel importante no efeito biológico esperado, é dependente da fonte alimentar, e é entendida como a fração do composto disponível para atuar em funções fisiológicas no organismo (VITALI ČEPO et al., 2020).

A matriz lipídica oferece vantagem para absorção dos compostos fenólicos do EVOO (RODRÍGUEZ-LÓPEZ et al., 2020), bem como favorecem a biodisponibilidade desses compostos, altamente biodisponíveis, quando consumidos tendo como fonte o EVOO (D'ARCHIVIO et al., 2010).

Um dos fatores que interferem na biodisponibilidade é a interação polifenol-alimento que, em condições saudáveis, incluem a presença de alimentos no sistema gastrointestinal e a possibilidade de formar complexos com fibras alimentares, carboidratos, proteínas e lipídios (VITALI ČEPO et al., 2020). Fato a se considerar, visto que o EVOO é consumido como ingrediente adjacente a outros alimentos (FRANCISCO et al., 2019).

A partir da ingestão do EVOO, os compostos fenólicos passam pela primeira fase de metabolização durante a digestão. No estômago sofrem hidrólise, em seguida atingem intestino delgado e cólon. Alguns sofrem perdas absorptivas gástricas, duodenal ou colônica, podendo haver posterior recuperação por absorção a nível duodenal e fermentação pela microbiota colônica, formando produtos com efeitos prebióticos e efeitos sistêmicos. Sua segunda fase de metabolização ocorre no epitélio terminal do intestino grosso e hepatócitos. Após absorvidos, os compostos fenólicos do EVOO, são distribuídos e podem atuar em todo o organismo (ALEMÁN-JIMÉNEZ et al., 2021; RODRÍGUEZ-LÓPEZ et al., 2020).

Após a ingestão, é possível identificar compostos fenólicos do EVOO na urina humana, especialmente oleuropeína aglicona, oleocantal e hidroxitirosol, o que significa que foram absorvidos e chegaram à corrente sanguínea onde se tornaram biodisponíveis. No entanto, ainda não há pesquisas que determinem concentrações aproximadas em que esses compostos chegam aos órgãos-alvos e se são suficientes para exercer efeitos biológicos descritos *in vitro* (ALEMÁN-JIMÉNEZ et al., 2021; RODRÍGUEZ-LÓPEZ et al., 2020).

O EVOO é uma matriz repleta de compostos fenólicos que, como revisado recentemente por Rodriguez-Lopez e colaboradores (2020) e por Buckland e Gonzalez (2015), exercem efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios sinérgicos, já bem estabelecidos. Por isso, combatem o desencadeamento dessas doenças, estreitamente relacionadas ao estresse oxidativo e resposta inflamatória, como o câncer (ALEKSANDROVA; KOELMAN; RODRIGUES, 2021; FERNANDES et al., 2020).

A formação excessiva de espécies reativas de oxigênio causa extensos danos moleculares a camada lipídica, proteínas e DNA. Com isso o estresse oxidativo está associado ao desencadeamento e desenvolvimento do câncer e de outras doenças crônicas (SANCHEZ-RODRIGUEZ et al., 2019).

O 8-OH desoxiguanosina foi descrito como um biomarcador sensível ao dano oxidativo no DNA, produzido durante o estresse oxidativo pela oxidação do nucleosídeo desoxiguanosina, que posteriormente é excretado pela urina (SANCHEZ-RODRIGUEZ et al., 2019). O estresse oxidativo relativo à presença de doenças crônicas também influencia na excreção do adutos de eteno-DNA, também afetados por estilo de vida e hábito alimentar, incluindo ingestão de antioxidantes e perfil de ácido graxos dietéticos (HILLESTRØM; COVAS; POULSEN, 2006).

Adutos de DNA exocíclico são formados pela reação entre bases de DNA e intermediários da peroxidação lipídica de ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs). Eles podem se acumular no DNA após a exposição crônica ao carcinógeno para serem reconhecidos por enzimas específicas de reparo, confirmando que essas lesões genotóxicas de DNA são reconhecidas por mecanismos de defesa celular. Também são considerados agentes de lesões altamente mutagênicas (HILLESTRØM; COVAS; POULSEN, 2006).

A atividade antioxidante tem relação com efeito protetor do EVOO contra a iniciação do câncer, através da prevenção de danos produzidos por injúrias oxidativas ao DNA, incluindo quebras de fitas (HILLESTRØM; COVAS; POULSEN, 2006). Segundo Fabiani, Vella e Rosignoli (2021), em sistemas *in vitro* e *in vivo*, efeitos preventivos foram recentemente atribuídos à capacidade dos compostos do EVOO em induzir modificações epigenéticas, como expressão de miRNAs, metilação de DNA e modificações de histonas.

2. JUSTIFICATIVA

O azeite de oliva é veículo de compostos funcionais valiosos, conhecidos pelo efeito protetor à saúde. Além dos dados epidemiológicos, que demonstram associação inversa entre consumo de azeite de oliva e casos de câncer, em modelo celular e animal já existem dados na literatura que suportam o efeito antitumoral do oleocantal, da oleuropeína e do hidroxitirosol, compostos bioativos majoritários do azeite de oliva.

Estudos pré-clínicos concentram-se na investigação dos efeitos destes compostos fenólicos na forma isolada, sendo importante considerar o efeito do consumo dessas substâncias enquanto presentes na matriz alimentar e a possibilidade de interações multiníveis entre diferentes compostos biologicamente ativos do azeite de oliva. Por outro lado, a maioria dos estudos em humanos que sustentam esta associação são de base observacional, e muitos desses não dissociam o consumo do azeite da dieta mediterrânea.

A investigação do papel do azeite e sua possível ação na modulação de redução do risco de desenvolvimento tumoral permitirá uma melhor compreensão dos mecanismos de acordo com os biomarcadores envolvidos e possivelmente trará expectativas para obtenção de uma perspectiva que embase o efeito quimiopreventivo do seu consumo.

No entanto, até o momento não há uma revisão sistemática com ensaios clínicos randomizados que tenha investigado o efeito do consumo de azeite de oliva sobre marcadores do risco de câncer em humanos. Desta forma, se faz necessário avaliar e analisar criticamente intervenções que investiguem os efeitos sobre esses biomarcadores após o consumo do azeite de oliva em humanos.

3. OBJETIVO

Revisar sistematicamente ensaios clínicos randomizados para avaliar os efeitos da suplementação com azeite de oliva sobre a modulação de marcadores bioquímicos associados ao risco de câncer em adultos saudáveis.

4. MÉTODOS

Nesta revisão a pergunta de estudo foi: “O consumo de azeite de oliva por indivíduos saudáveis, promove alterações em biomarcadores (genéticos ou bioquímicos) associados ao risco de câncer?”.

Nosso protocolo de estudo foi registrado no PROSPERO (<https://www.crd.york.ac.uk/prospero/>) com o número de registro “CRD42021245216”.

4.1. Critérios de elegibilidade

Foram incluídos os estudos que se enquadraram nos critérios abaixo:

(P) Participantes: Indivíduos saudáveis.

(I) Intervenção: Suplementação de azeite de oliva, enriquecidos ou não com compostos fenólicos naturalmente presentes em azeite de oliva.

(C) Comparação: grupo controle recebendo placebo ou outros óleos ou azeites de oliva com teores fenólicos diferentes; ou comparando período com intervenção e sem intervenção dos mesmos indivíduos (separados por um período de *washout*).

(O) Outcome (Desfecho): Alterações em biomarcadores associados ao risco de câncer.

(S) Tipo de Estudo (Study): Ensaios clínicos randomizados

4.2. Tipos de medidas de desfecho

Os desfechos avaliados foram os biomarcadores de dano ao DNA, dano oxidativo e marcadores inflamatórios que representam indicativos de respostas biológicas associadas a redução do risco e/ou desencadeamento do câncer, que incluíram a excreção de adutos eteno-DNA, 8-hidroxi-20-desoxiguanosina urinária, plasma de interleucina-8 (IL-8) e concentrações de fator de necrose tumoral α (TNF α).

4.3. Estratégias de busca

A estratégia de busca foi identificar estudos de intervenção que avaliam a suplementação de azeite de oliva na modulação de biomarcadores de câncer em adultos saudáveis.

A busca de artigos foi realizada nas bases de dados MEDLINE, EMBASE, SCOPUS, *Web of Science* e *Cochrane Library*.

Os termos de busca e palavras-chave (MeSH Terms) utilizados foram relacionados ao azeite de oliva, seus principais compostos bioativos, redução do risco de câncer e quimioprevenção e marcadores de danos e injúrias genéticas e em DNA.

No Quadro 1 está a estratégia de busca utilizada no MEDLINE que foi adaptada às outras bases de dados. Não houve restrição de idioma e ano de publicação nas buscas.

Quadro 1 - Estratégia de busca utilizada no MEDLINE via plataforma Ovid.

Quimioprevenção e marcadores de redução do risco	
<ul style="list-style-type: none"> ● exp chemoprevention ● (Chemoprophylax* or chemoprevention).ti,ab ● (cancer adj1 risk).ti,ab ● cancer adj1 prevention.ti,ab ● exp tumor biomarkers ● Tumor Biomarker*.ti,ab ● (Tumor marker* or Carcinogen Marker*).ti,ab ● (Neoplasm Metabolite Marker)*.ti,ab ● Tumor Metabolite Marker* ● (Cancer Biomarker* or Cancer marker* or Anticarcinogenic Agent*).ti,ab ● (Genetic Marker* or DNA Marker* or DNA Damage* or DNA Injur*).ti,ab 	OR
AND	
Azeite de Oliva e principais compostos fenólicos	
<ul style="list-style-type: none"> ● exp olive oil ● exp olea ● ((Olive adj1 oil*) or (olive adj1 tree*) or (olea adj1 europaea) or (olive adj1 leaf).ti,ab. ● Oleuropein.ti,ab. ● Hydroxytyrosol.ti,ab. ● Tyrosol.ti,ab. ● Oleocanthal.ti,ab. ● EVOO.ti,ab. ● VOO.ti,ab. ● OLE.ti,ab. 	OR
AND	
Ensaio Clínico Randomizado	
<ul style="list-style-type: none"> ● randomized controlled trial.pt. ● controlled clinical trial.pt. ● (randomized or placebo or randomly).ab. ● clinical trials as topic.sh. ● trial.ti. ● exp animals/ not humans.sh. 	OR

4.4. Seleção de artigos

A seleção de artigo foi executada por dois revisores utilizando o aplicativo Rayyan QCRI. Foi realizada por meio da avaliação os títulos e os resumos de todos os estudos identificados nas buscas nas diferentes bases de dados. Houve cegamento durante a fase de inclusão. A seleção dos estudos relevantes ocorreu conforme os critérios de inclusão. Após a inclusão, houve comparação dos estudos incluídos pelos avaliadores. Na ocorrência de discordância na seleção, o consenso se deu a partir da leitura dos artigos na íntegra.

4.5. Extração de dados

A partir dos estudos selecionados, foram extraídos: (I) Informações gerais: título, autores, revista publicada, local, ano, idioma e publicações duplicadas; (II) Características do estudo: desenho de estudo, duração, método de randomização; (III) Características dos participantes: amostragem (eventual ou aleatória), critérios de inclusão e exclusão, número total e número nos grupos de comparação, sexo, faixa etária, similaridade dos grupos, perdas de seguimento (descrição, razões); (IV) Intervenção: propriedades, quantidade e duração; (V) Desfechos: os desfechos mencionados previamente; (VI) Resultados: para os desfechos e tempo e quantidade de intervenção.

4.6. Avaliação do risco de vieses

Para avaliar a qualidade e risco de viés dos ensaios clínicos randomizados incluídos, a versão 2 da ferramenta de risco de viés Cochrane para estudos randomizados (RoB 2) foi utilizada. Focando em diferentes aspectos do desenho do estudo, inclui domínios de processo de randomização, possíveis desvios das intervenções pretendidas, ausência de dados de resultado, mensuração e seleção para apresentação do resultado e permite a caracterização de risco geral de viés em baixo, alto ou que demonstrem preocupações.

4.7. Análise e síntese de dados

Foi realizada uma síntese narrativa dos estudos incluídos, uma vez que a falta de homogeneidade impediu uma síntese quantitativa dos resultados.

5. RESULTADOS

Os resultados serão apresentados na forma de artigo científico intitulado “*Effects of olive oil intake on the modulation of biomarkers associated with cancer risk in humans: a systematic review*”, que será submetido ao periódico *Journal of Functional Foods*.

ARTIGO

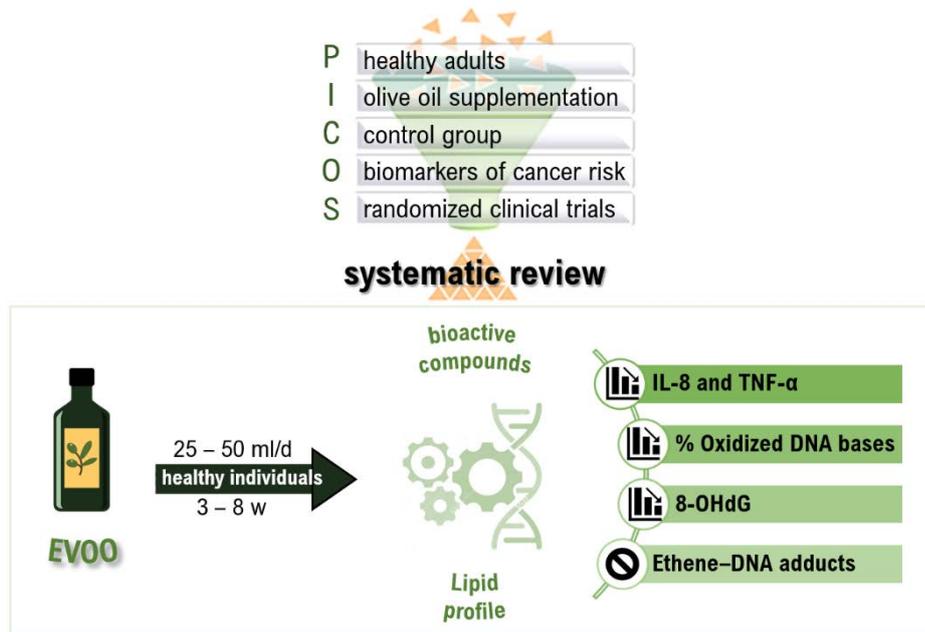
Effects of olive oil intake on the modulation of biomarkers associated with cancer risk in humans: a systematic review

Heloisa Pessoa; Lilia Zago; Cintia Chaves Curioni; Danielly Ferraz da Costa

Abstract

This systematic review summarized the role of olive oil intake on cancer risk biomarkers modulation in healthy adults. A total of five randomized clinical trials with crossover design were included with intervention period ranging from three to eight weeks, none of them at high risk of bias. The meta-analysis was not performed due to the heterogeneity among the studies. Results showed that continuous olive oil intake was associated with reduction to oxidized DNA bases, IL-8, TNF- α , and 8-OH deoxyguanosine, but had no effect on ethene-DNA adducts. In summary, this review showed a promisor effect of olive oil intake for healthy adults for the prevention and stimulus of damage repair associate of cancer risk, through lower levels of oxidative DNA damage markers and inflammatory.

Graphical abstract



Keywords: Olive oil, phenolic compounds, Olive oil polyphenols, Cancer risk, Cancer Biomarkers, Genetic Markers

5.1. Introduction

Chronic diseases such as cancer are associated with oxidative stress and chronic inflammation, which are interrelated and interdependent processes (KHATAMI, 2009; REUTER et al., 2010; SHARIFI-RAD et al., 2020). Genetic and epigenetic damage triggered by oxidative stress and inflammation act not only on cancer initiation but also in tumor progression (CHIKARA et al., 2018; MURATA, 2018; SAHA et al., 2017).

Thus, the consumption of food sources of anti-inflammatory and antioxidants compounds is a promising approach in cancer chemoprevention (KUMARI et al., 2018; LIGUORI et al., 2018). Dietary patterns characterized by high consumption of vegetables promotes a reduced risk of developing all types of cancer (WORLD CANCER RESEARCH FUND, 2018). Studies have linked the Mediterranean diet the lower cancer incidence rates in

this region (BOSS et al., 2016; FABIANI, 2016; GOLDSMITH et al., 2015; RUZZOLINI et al., 2018).

The Mediterranean diet is characterized by a regular olive oil consumption, a complex food matrix with high nutritional value compounds with effects anti-inflammatory and antioxidants, such as monounsaturated fatty acids, simple phenols (as hydroxytyrosol and tyrosol), secoiridoides (as oleuropein, oleocanthal), flavonoids and terpenoids (as squalene). Observational studies have associated the prevention of different cancer types with regular olive oil intake. However, most epidemiological studies do not dissociate the intake of olive oil from the Mediterranean diet which, due to the vast consumption of plant foods sources of bioactive compounds, does not clarify the understanding of causality between olive oil intake and cancer (FARRÀS et al., 2020; PELUCCHI et al., 2011; PSALTOPOULOU et al., 2011).

There is a growing interest to understand the effects of olive oil intake and its phenolic compounds on the modulation of oxidative and inflammatory pathways that act a role in tumor genesis, in addition to in vitro and in vivo studies. The relationship between olive oil consumption and the risk of different types of cancer still is unclear, thus a systematic review that addresses this issue is needed. Therefore, this study aimed to systematically review randomized controlled trials (RCT) to assess whether olive oil intake is associated with cancer risk biomarkers modulation in healthy adults.

5.2. **Material & methods**

5.2.1. Data sources and searches

This systematic review was performed based on (PICOS) criteria including Population: healthy adults, Intervention: olive oil supplementation, Comparison: control group (placebo or interventions with other oils or different phenolic composition of olive oil), Outcomes: biomarkers (genetic or biochemical) of cancer risk and Study design: RCTs were used for this systematic review.

Our study protocol was registered on PROSPERO (registration number: CRD42021245216). A keyword search was undertaken by one of the researchers in five major electronic databases: MEDLINE, EMBASE, SCOPUS, Web of Science e Cochrane

Library. Our search strategy included all possible combinations of relevant keywords to construct the search strategy including Chemoprevention and cancer risk markers; Olive oil and main phenolic compounds; tumor markers and genetic and DNA damage and injury markers; and Randomized Clinical Trials. The full search used on the MEDLINE database and adapted for the other databases is given in the Appendix A.

5.2.2. Study selection

The results from the literature search were transferred to Rayyan QCRI. The repeated references were identified and only one of its records remained for the next step. In the phase of selection, initially, the titles were read and the abstracts, for two reviewers. In case of discrepant judgment about the study eligibility, a consensus was reached. RCTs that investigated the intake of olive oil and modulation of biomarkers associated with cancer risk in adults healthy were eligible for inclusion in this review.

5.2.3. Data extraction, risk of bias and statistical analyses

Data extraction of the eligible studies was performed by one reviewer and reviewed by a second author, registering the data in a form sheet. Methodological quality and risk of bias of included studies were determined by using Cochrane risk of bias tool - RoB 2. A narrative synthesis of the included studies was carried out since the great heterogeneity hindered a quantitative synthesis of the results.

5.3. **Results and discussion**

5.3.1. Search results

The search identified 841 articles. Of them, 137 records were excluded due to duplication. Among 704 remaining articles, only six articles filled the inclusion criteria (PICOS) and were selected for reading of the full texts, but one study was excluded for addressing only biomarkers directly related to atherosclerosis. That way, at the end of the selection process, 4 articles were included in the systematic review (HILLESTRØM; COVAS; POULSEN, 2006; MACHOWETZ et al., 2007; SALVINI et al., 2006; SANCHEZ-RODRIGUEZ et al., 2019). Among them, regarding the NUTRAOLEUM study (SANCHEZ-RODRIGUEZ et al., 2019) was consulted in addition to its protocol published in 2016, for presenting complementary data (BIEL et al., 2016).

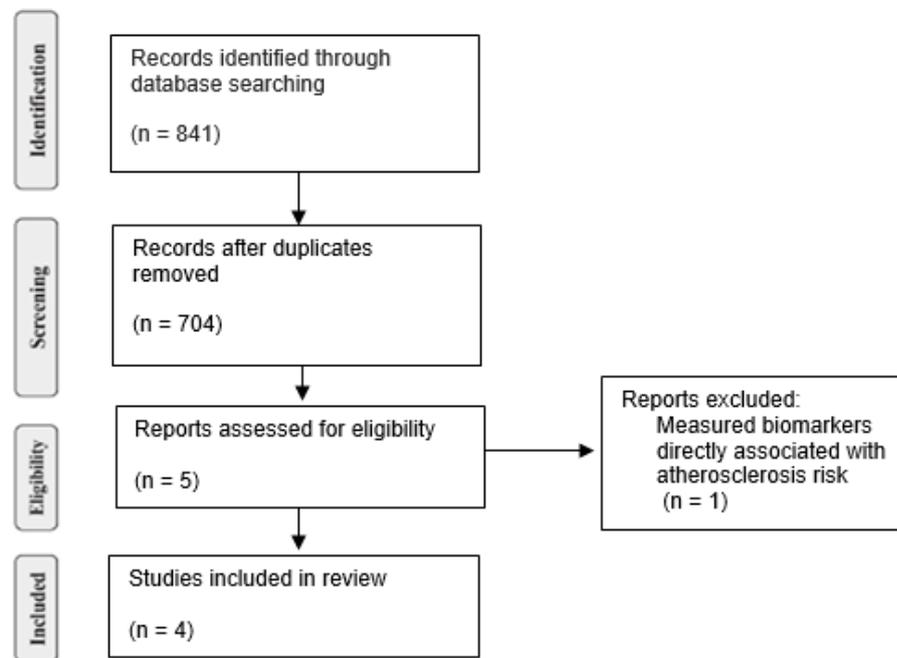


Figure 1. Flow chart of the study selection process

5.3.2. Study characteristics

The included studies have been published between 2006 and 2019. A total of 273 subjects were included in the analysis. All studies had cross-over design and all double-blind except Salvini et al. 2006. The intervention period was 8 weeks in one RCT only (SALVINI et al., 2006), while the others performed 3-week interventions (2-week washout). Out of included studies, 1 study was performed in Italy (SALVINI et al., 2006), 3 articles – 2 represent the same study – conducted in Spain (HILLESTRØM; COVAS; POULSEN, 2006;

SANCHEZ-RODRIGUEZ et al., 2019), and 1 multicentric study (Denmark, Finland, Germany, Italy, and Spain) (MACHOWETZ et al., 2007). About the gender of the volunteers of the interventions, on NUTRAOLEUM study was conducted on both genders (SANCHEZ-RODRIGUEZ et al., 2019), 2 studies that were conducted just in male (HILLESTRØM; COVAS; POULSEN, 2006; MACHOWETZ et al., 2007), and 1 study performed only in females (SALVINI et al., 2006). The characteristics of included trials are present in Table 1.

Table 1. Characteristics of studies included in the systematic review of the effect of the olive oil intake in biomarkers of cancer risk.

Study	N	Time (weeks)	Dose (daily)	Types of olive oil	Total phenolic compounds (mg/kg)	Main outcomes
SALVINI et al. 2006	10	8	50 g	High-phenol EVOO	592	Reduction in DNA oxidative damage (high-phenol EVOO)
				Low-phenol EVOO	147	
HILLESTRØM et al. 2006	28	3	25 ml	Virgin	366	There is no significant degree amendment the urinary excretion of ethene-DNA
				Common	164	
				Refined	2.7	
MACHOWETZ et al. 2007	182	3	25 ml	HPC	366	Reduction in the rate of DNA oxidation, independently of phenolic contents
				MPC	164	
				LPC	2.7	
BIEL et al. 2016; SANCHEZ-RODRIGUEZ et al. 2019	53	3	30 ml (28g)	VOO	124	Protection against inflammation and DNA oxidation (FOO)
				OVOO	490	
				FOO	487	

EVOO, extra virgin olive oil; HPC, high phenolic olive oil MPC, medium phenolic olive oil; LPC, low phenolic olive oil; FOO, functional olive oil; OVOO, optimized virgin olive oil; VOO, virgin olive oil.

5.3.3. Olive oil and phenolic contents

RCTs used oils with different phenolic concentrations (Table 1). Salvini et al. (2006) used a blend of Italian EVOO, predominantly from the southern Italian region of Puglia (mostly Coratina cultivar) as High-phenol EVOO, and a sample of a blend of EVOO mainly from the Liguria region as Low-phenol EVOO.

Hillestrøm et al. (2006) and Machowetz et al. (2007), same research group (EUROLIVE), used virgin, common, or refined olive oil (or high phenolic - HPC, medium

phenolic - MPC, and low phenolic – LPC olive oil) containing 366, 164, and 2.7 mg/kg total phenols, respectively, produced from Picual olives (Andalucía, Spain).

Biel et al. (2016) and Sanchez-Rodriguez et al. (2019) used olive oils specially prepared for the trial, also from Picual olives (Andalucía, Spain): an extra virgin olive oil (VOO) obtained by a traditional procedure as control; an optimized virgin olive oil (OVOO) with very high phenolic content and by using optimized extraction procedures; and a functional olive oil (FOO), rich in both high phenolic compounds and triterpenes. VOO, OVOO, and FOO containing 86.5, 86.3 and 388.8 mg/kg total triterpenes, respectively.

5.3.4. Urinary excretion of phenolic compounds

Hydroxytyrosol, oleuropein and oleocanthal are the most abundant phenolic compounds in EVOO, which have strong antioxidant and anti-inflammatory activities (JIMENEZ-LOPEZ et al., 2020). Three studies evaluated urinary excretion of hydroxytyrosol (Table 2) (HILLESTRØM; COVAS; POULSEN, 2006; MACHOWETZ et al., 2007; SALVINI et al., 2006).

Table 2. Result of interventions with olive oil with different compositions in urinary excretion of hydroxytyrosol.

		Urinary hydroxytyrosol
SALVINI et al. 2006	Baseline	682.0 ± 924.6 (mg/24 h)
	High-phenol EVOO	1347.1 ± 1007.2 (mg/24 h)
	Low-phenol EVOO	880.1 ± 1451.7 (mg/24 h)
HILLESTRØM et al. 2006	Baseline	361 µg/L
	Post-intervention (virgin, common, refined OO)	1591 µg/L
MACHOWETZ et al. 2007	HPC vs. baseline	↑ 50 -fold
	MPC vs. baseline	↑ 2,1 -fold
	LPC vs. baseline	0 -fold

Values are expressed as mean or adjusted means ±SEMs or reported increase. EVOO, extra virgin olive oil; OO, olive oil.

The variety, maturation, region and cultivation methods, as well as the technological process of oil extraction, influence on phenolic concentrations of olive oil (GORZYNIK-DEBICKA et al., 2018; JIMENEZ-LOPEZ et al., 2020; RIGACCI; STEFANI, 2016). Among the most used categories are EVOO - considered of better quality (AUED-PIMENTEL, 2016)

-, and VOO, while the first has phenolic content ranging from 200 to 600 mg / kg of oil, the second varies from 150 to 400 mg / kg of oil (GORZYNIK-DEBICKA et al., 2018).

After ingestion, it is possible to identify phenolic compounds from EVOO in human urine, especially oleuropein aglycone, oleocanthal and hydroxytyrosol, which means that they were absorbed and reached the bloodstream where they became bioavailable to exert biological effects (ALEMÁN-JIMÉNEZ et al., 2021; RODRÍGUEZ-LÓPEZ et al., 2020).

Hillestom et al. (2006) showed significantly increased urinary excretion of hydroxytyrosol (mean value from 361 to 1591 $\mu\text{g/L}$, $p < 0.001$) between baseline and treatment. According to them, this indicates adherence to the of RCT protocol.

During intervention conducted by Machowetz et al. (2007), was observed a dose-dependent increase in urinary excretion of phenolic markers. After LPC consumption hydroxytyrosol concentrations remained unchanged. Urinary excretion of hydroxytyrosol showed increase a 1,2-fold at the end of the MPC, and after the HPC intervention period was 50-fold higher than at baseline ($P_{\text{Trend}} 0.001$).

According to Salvini et al. (2006), the volunteers (Tuscan women) is habitually exposed to olive oil phenols, with basal excretion of hydroxytyrosol ranges from 116 to 3146 mg/d, corresponding to the average olive oil consumption of the volunteers estimated at 32.8 ml/d. Searching effects of hydroxytyrosol on DNA oxidation, they observed that urinary excretion of hydroxytyrosol were significantly increased in high-EVOO consuming subjects.

The bioactive potential of hydroxytyrosol is characterized by its strong antioxidant activity as a free radical scavenger and metal chelator. Additional antioxidant activity was also proposed to this compound, act inducing the endogenous synthesis of detoxifying enzymes and reducing the endogenous production of molecules that promote inflammatory pathways with oxidative characteristics (cyclooxygenase and lipoxygenase) (BOSS et al., 2016; IMRAN et al., 2018; GORZYNIK-DEBICKA et al., 2018; MARKOVIĆ et al., 2019; MARTÍNEZ; ROS; NIETO, 2018; RIGACCI; STEFANI, 2016). Worth mentioning that olive oil is a complex matrix rich in bioactive compounds and its health potential cannot be attributed to a single compound.

5.3.5. Biomarkers of cancer risk

The biomarkers of cancer risk measured in the included trials and the results of interventions with olive oil are present in Table 3. The analyzed studies evaluated different biomarkers. Among them, urinary oxidative stress biomarkers: 8-OHdG, and Etheno–DNA adducts; and plasmatic markers: % Oxidized DNA bases, % Basal DNA breaks, and % plasma antioxidant capacity. Moreover, two inflammatory biomarkers were measured IL-8 and TNF- α .

Table 3. Result of interventions with olive oil with different compositions in urinary and plasma oxidative stress biomarkers, and inflammatory biomarkers concentrations.

Salvini et al. 2006			Hillestrøm et al. 2006		Machowetz et al. 2007	Biel et al. 2016; Sanchez-Rodriguez et al. 2019					
Baseline	High-phenol EVOO	Low-phenol EVOO	Baseline	Post-interv.	Pre-interv vs. post-interv.	VOO Pre-Interv.	VOO Post-Interv.	OVOO Pre-Interv.	OVOO Post-Interv.	FOO Pre-Interv.	FOO Post-Interv.
Mean ± SD			Mean ± SD			Median (interquartile range) Mean ± SD					
Oxidized DNA bases (% DNA in comet tail)			εAde (pmol/24 h)		Urinary 8-OH dG, ng/mg creatinine	Urinary 8-OH dG, ng/mg creatinine					
11.9 ± 7.6	5.6 ± 5.1	6.5 ± 5.1	105.5 ± 40.8	116.4 ± 53.4	-13%	7.8 (5.5–12.0) ^a	7.3 (5.1–11.3)	7.0 (4.3–10.4) ^b	7.3 (5.0–11.0)	7.2 (4.8–11.1) ^{a,b}	6.7 (4.2–10.3)
Basal DNA breaks (% DNA in comet tail)			εdA (pmol/24 h)			IL-8, pg/mL					
12.9 ± 7.0	5.1 ± 1.5	5.0 ± 2.3	37.9 ± 24.8	37.6 ± 24.2	-	1.7 ± 0.2	1.8 ± 0.2 ^a	1.5 ± 0.2	1.7 ± 0.2 ^a	1.6 ± 0.2	1.4 ± 0.2 ^b
Plasma antioxidant capacity (mmol/l)			εdC (pmol/24 h)			TNF-α, pg/mL					
0.9 ± 0.3	0.9 ± 0.5	0.8 ± 0.5	218.7 ± 157.2	193.5 ± 64.7	-	2.0 ± 0.2	2.0 ± 0.2 ^{a,b}	1.9 ± 0.2	2.1 ± 0.2 ^a	1.9 ± 0.2	1.8 ± 0.2 ^b

Values are expressed as adjusted means ± SD – Standard Deviation or as adjusted medians (interquartile range) for non-normal variables. Different superscript letters indicated significant differences (a,b). $p < 0.05$ was considered significant. εAde, 1,N6-ethenoadenine; εdA, 1,N6-etheno-2'-deoxyadenosine; εdC, 3,N4-etheno-2'-deoxycytidine; EVOO, extra virgin olive oil; OO, olive oil; FOO, functional olive oil; OVOO, optimized virgin olive oil; VOO, virgin olive oil; 8-OHdG, 8-hidroxy-20 -deoxyguanosine; IL-8, interleukin-8; TNF-α, tumor necrosis factor-α.

After the RCT of 3-week, performed by Hillestrom et al. (2006), was not observed effect of the virgin olive oil on the urinary excretion of ethene-DNA adducts (ϵ Ade, ϵ dA, or ϵ dC). Furthermore, no significant differences were observed among groups of order of oil administration. Hillestrom et al. (2006) investigated the excretion of ethene-DNA adducts, since may qualify as potential markers of risk prediction and as targets for preventive measures, for being present in significantly elevated levels in organs with diseases related to persistent inflammatory processes that can lead to malignancies. Nevertheless, they conducted an olive oil intervention on healthy men.

ROS (reactive oxygen species) can react with polyunsaturated fatty acids derived from membrane phospholipids resulting in the production of reactive aldehydes as lipid oxidation (LPO) byproducts. The LPO byproducts react with DNA and produce the exocyclic etheno-DNA adducts. Exocyclic etheno-DNA adducts are chemically stable and exhibit strong mutagenic properties. In addition, are preferably formed in codon 249 of TP 53, resulting in inactivation of the tumor suppressor p53 and secondary cellular resistance to apoptosis and growth advantage, associated with cancer genesis (LINHART et al., 2015).

The oxidative stress (physiological state in which high levels of ROS) results in extensive irreversible DNA damage, generating genomic instability, such as single or double-strand breaks, base modifications, and DNA cross links which ultimately leads to cell death and/or promote the carcinogenesis. Therefore, phytochemicals, as phenolic compounds, via their antioxidant properties can play a key role in cancer chemoprevention by suppressing oxidative stress-induced DNA damage (CHIKARA et al., 2018).

Salvini et al. (2006) showed a reduction in DNA oxidative damage in postmenopausal women consuming an EVOO with a high concentration of total phenols. This decrease of DNA damage, was a 30 % significant reduction of oxidized bases, expressed as the ratio of the geometric means of the repeated measures (treatment effect 0.70; 95 % CI 0.56, 0.86; $P=0.019$). However, DNA breaks and plasma antioxidant capacity were not affected by treatment.

The reduction in DNA oxidative damage, to Salvini et al. (2006), show that DNA bases were protected by olive oil phenols, although the result was not evident for DNA strand breaks. The effect was attributed to the phenols because the only difference in the olive oils composition was the phenolic content. Indicating a cancer risk reduction mechanism, since a reduction of DNA oxidative damage is a mechanism underlying possible cancer prevention by olive oil.

Indeed, the oxidative stress is prominently known to damage the DNA molecule, alter signaling pathways, and regulate progression of various cancers. Moreover, when hydroxyl radicals bind to DNA generate damage in which the 8-OH deoxyguanosine (8-OHdG) can be produced, which may markedly increase the risk of mutagenesis. Thus, the 8-OH deoxyguanosine are also used as indicators to detect the action of free radicals during DNA mutagenesis and represent an early detection tool for cancer initiation and progression (SAHA et al., 2017).

Machowetz et al. (2007) reported that 25 ml of olive oil per day significantly reduced DNA oxidation as measured by 24 h urinary excretion of 8-OHdG, this marker decreased by – 13% ($P = 0.008$), the effect was independent of the phenolic content. The authors considered that other components in the olive oil must be effective in reducing DNA oxidation, since the three oils used differed only regarding their phenolic content. Thus, the beneficial effect of olive oil on oxidative stress to DNA relates to the monounsaturated fatty acid content.

After the intervention Machowetz et al. (2007) also found a difference among the populations of the participants in urinary excretion of 8-OHdG as biomarker of DNA and RNA oxidation. Their oxidation in Northern European countries was consistently higher than in Central and Southern European countries, this corresponds to a frequent high consumption olive oil, fruits, and vegetables in Mediterranean countries. Reaffirming the protective action of bioactive compounds from foods and the dietary pattern as a whole, nevertheless, according to the authors, there was no relationship between the prevention of oxidative damage and the phenolic content of olive oil.

Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine is a sensitive biomarker of oxidative DNA damage. Sanchez-Rodriguez et al. (2019) also evaluated the change in concentrations this marker after the raw intake of an a standard VOO, an optimized VOO (OVOO), and a functional olive oil (FOO, rich in phenolic compounds and enriched with olive triterpenic acids) supplementation (30 mL per day) for three weeks. In addition of oxidative marker, they measured the inflammatory biomarkers plasma interleukin-8 (IL-8), and tumor necrosis factor α (TNF α) concentrations.

The authors of this recent intervention noted that, urinary 8-OHdG levels change (i.e., decrease post-intervention minus pre-intervention) induced by the FOO was higher than that induced after the OVOO intervention (the same olive oil but without triterpenes) ($p = 0.033$). They pointed out that a longer intervention with the OVOO could have more impact on healthy adults and also on different pathological situations, thus more studies are needed in

order to validate the positive effect of triterpenic acids-rich olive oils on DNA oxidation (SANCHEZ-RODRIGUEZ et al., 2019).

Among olive oil triterpenic acids, oleanolic and maslinic show anticancer, anti-inflammatory, antioxidant and cardioprotective activities in cellular and animal models. The highest content of triterpenic acids is found in the seeds and the skin of the olives, which are usually used for pomace olive oil production. Pomace olive oil is obtained from the residue that remains after mechanical extraction of virgin olive oil. As a consequence of the extraction procedures, pomace olive oil, in spite of the lack of polyphenols, contains higher concentrations of the triterpenic fraction than virgin olive oil. However, until then the pomace oil has been considered a waste product for the olive oil industry (CLARO-CALA et al., 2020; SANCHEZ-RODRIGUEZ et al., 2019).

With respect to plasma inflammation biomarkers, Sanchez-Rodriguez et al. (2019) reported that IL-8 and TNF- α levels were lower after the intervention with FOO than after other oils with less triterpenic acids, VOO ($p = 0.002$) and OVOO ($p = 0.011$). The OVOO improved the IL-8 concentration, but did not modify the TNF- α .

Many environmental causes of cancer and risk factors are associated with some form of chronic inflammation (SINGH et al., 2019). Inflammation contributes to tumor progression and can be induced by excessive production of pro-inflammatory cytokines such as interleukin-6 (IL-6), interleukin-8 (IL-8) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) (MA et al., 2017).

Inflammation is the organism response to different damage and can become chronic if the cause is persistent or if some control mechanisms responsible for stopping the process fail. Chronic inflammatory responses lead to cell mutation and proliferation, often creating an environment conducive to cancer development and disease progression. Inflammatory cells can induce carcinogenesis by mechanisms such as the production of ROS and reactive nitrogen species (RNS), or by release of cytokines like tumor necrosis factor alpha (TNF- α). TNF is involved in cellular events such as cell survival, proliferation, differentiation, and death, as well as in inflammation-associated carcinogenesis, stimulating growth, cancer cell proliferation, invasion and metastasis and angiogenesis tumor (PIOTROWSKI; KULCENTY; SUCHORSKA, 2020; SINGH et al., 2019).

Furthermore, inflammatory cytokines such as TNF- α stimulate the production of interleukin-8 (IL-8), which participates in the response to infection, but also the pathogenesis of several inflammatory diseases and cancers (BAKOUNY; CHOUEIRI, 2020). IL-8 is able

to promote tumor progression and is a biomarker of tumor burden in cancer patients (ALFARO et al., 2017).

Most studies have systematically reviewed the effect of olive oil on cardiovascular biomarkers. As systematically reviewed by Fernandes et al. (2020) the effect of olive oil consumption in the context of the Mediterranean diet modulated the inflammatory markers TNF- α , IL6 and C-reactive protein (CRP). Their meta-analysis, with 3 RCTs of parallel design, showed that regular EVOO consumption significantly decreased IL 6 levels in participants at risk for cardiovascular disease and type 2 diabetes after 3 months of consumption, indicating its anti-inflammatory potential.

In a recent systematic review, with clinical and preclinical studies, was observed that polyphenol rich EVOO induced changes in mRNA expression codes for genes involved in inflammation and cancer in healthy individuals. The anti-inflammatory effects were the suppression of the expression of the kinase-3 associated with the interleukin-1 receptor, which is involved in the regulation of NF- κ B and IL-8 signaling, and upregulation of the anti-inflammatory miRNAs miRNA-23b-3p. The anticancer activity was through the downregulation of the expression of two oncogenic miRNAs (miRNA-19a-3p and miR-181b-5p) and upregulation of the expression of a tumor suppressor miRNA (miR-23b-3p). Modulation of these pathways in healthy individuals was not observed after the EVOO intervention with low polyphenol content and was less evident in patients with metabolic syndrome. However, no direct evidence has been provided for causal relationships between epigenetic modification and health-related effects (FABIANI; VELLA; ROSIGNOLI, 2021).

Several processes are essential for cancer development, oxidative DNA damage playing a central role in both the initiation and promotion/progression stages of cancer (PIRODDI et al., 2017). As observed in the present review, there was a reduction in DNA damage after cross-over interventions in periods of 3 to 8 weeks with daily intake ranging from 28 – 50g of olive oil with phenolic content of 164 – 592 mg/kg. Corroborating with pre-clinical evidence reviewed by Piroddi et al. (2017), which strongly suggested that the phenolic compounds in olive oil, especially hydroxytyrosol and tyrosol, are able to act in one of the main steps in the initiation phase of carcinogenesis, the damage oxidative to DNA.

According to experimental and clinical studies, the preventive and antitumor of phytochemicals effect results from the ability of: (1) act under oxidative stress, which is mutagenic, (2) promote DNA repair, (3) induce tumor suppression, (4) inhibit or reduce cell proliferation, or (5) slowing tumor progression and invasion (KOH; HO; PAN, 2020; KOTECHA; TAKAMI; ESPINOZA, 2016). The modulation of biomarkers shown in this

review may match capabilities 1 and 2 out of acting under oxidative stress, mutagenic, and promoting DNA repair (KOH; HO; PAN, 2020; KOTECHA; TAKAMI; ESPINOZA, 2016).

Evidence linking olive oil consumption to lower cancer risk is generally observational and does not point to causal mechanisms for this effect. Psaltopoulou et al. (2011) reviewed and performed meta-analysis in 19 case-control studies. The individual group with the highest olive oil consumption were 34% less likely to have any type of cancer. While Pelucchi et al. (2011) analyzed 24 case-control studies and a cohort study and showed that olive oil consumption in European countries was inversely associated with breast, digestive, and upper aero-digestive neoplasm.

More recently a systematic review and meta-analysis with observational studies (two prospective studies and eight case-control studies) suggested that olive oil consumption is inversely associated with breast cancer risk, however the reduction was not significant, but the possible effects can be promoted by the high content of MUFA and polyphenol (SEALY; HANKINSON; HOUGHTON, 2021).

With regard to the relationship between oxidative stress, chronic inflammation, dietary profile and risk of chronic diseases such as cancer, however, more specifically diseases related to aging in general, was the issue addressed in a recent systematic review, which brought together 29 studies (16 observational and 13 interventions). The results indicated an inverse association between plant-based diets (Mediterranean Diet and the Dietary Approach to Stop Hypertension – DASH) and oxidative stress and pro-inflammatory biomarkers. The authors did not identify this protective association for antioxidants present in these diets in their synthetic form, as supplementation (ALEKSANDROVA; KOELMAN; RODRIGUES, 2021).

Furthermore, due to the complex interaction between bioactive compounds in foods and bioavailability after ingestion, it is very difficult to identify the specific nutrients that could prevent carcinogenesis (FARINETTI et al., 2017). Corroborating the understanding that these protective effects come from and depend on the complete food profile and not isolated factors.

5.3.6. Risks of bias assessment

According to the assessment of the quality of the studies using the Cochrane risk of bias tool - RoB 2, two studies report their e assessment of incomplete outcome data or selective outcome reporting was imprecise. The other two studies were rated as having low risk of bias (Figure 2).

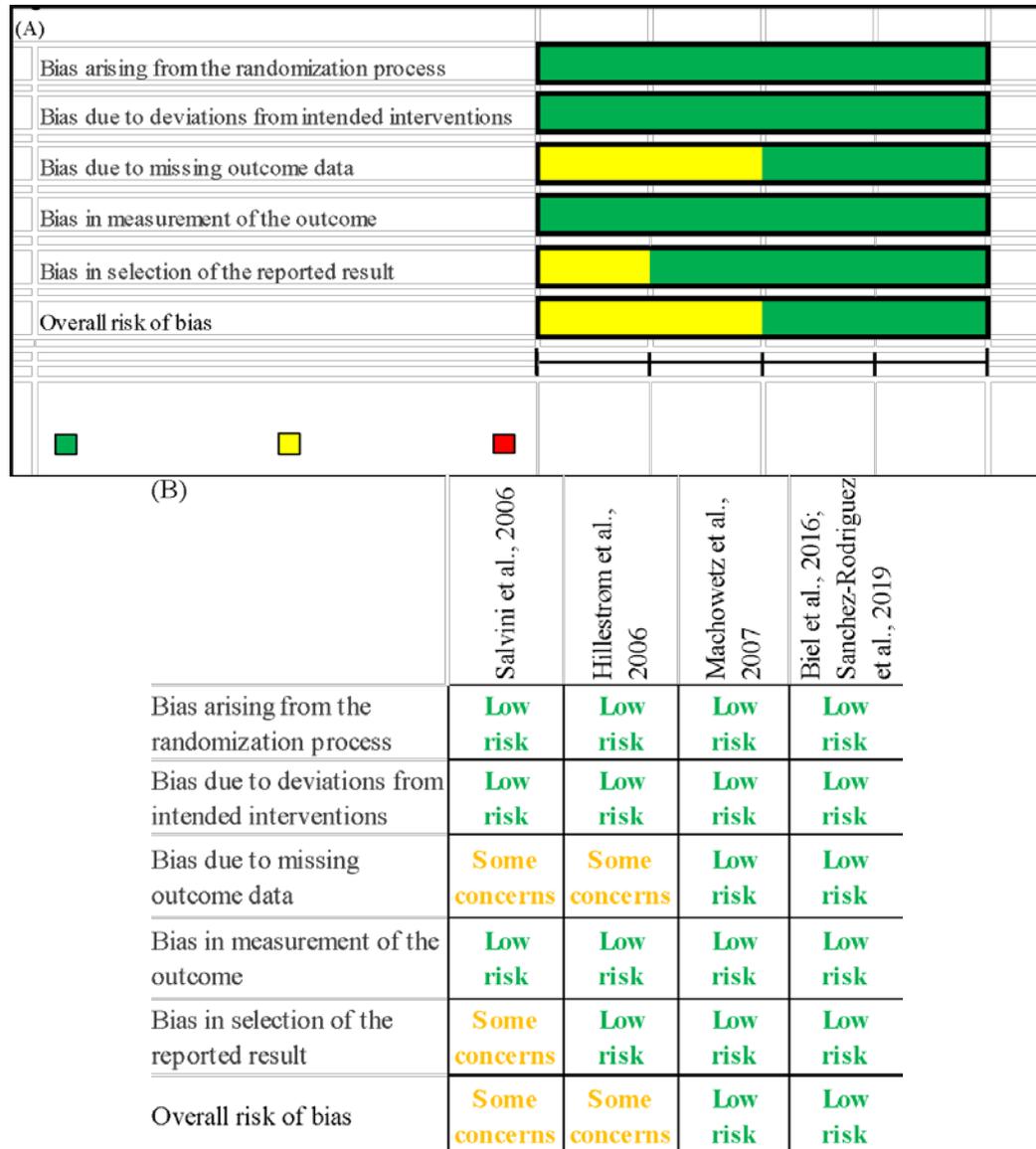


Figure 2. Risk of bias assessment tool. (A) Across trials, information is either from trials at low risk of bias (green), or from trials at some concerns of bias (yellow), or trials with a high risk of bias (red). (B) For each study, every bias domain checked, the given summary represents an assessment of bias risk across studies. For each bias domain, low risk of bias means that information is from studies at low risk of bias (green) and some concerns of bias refers to information from studies at low or unclear risk of bias (yellow).

5.3.7. Strengths and limitations

This study has some strengths and limitations. The main limitations include: the search criteria restrictive as to the type of study (intervention clinical trials) and health status; the low number of RCTs included ($n = 4$); the absence of similarity across the included RCTs; the short duration of the included studies (3 to 8 weeks), thereby limiting the long-term effects evaluation of these biomarkers.

The main strength of this study was the inclusion of RCT to limit bias and support causality; all the included studies were of moderate and high quality; and only one presented a small sample. Furthermore, the population in the included studies were healthy adults, to better understand the chemopreventive action resulting from olive oil consumption.

5.4 Conclusion

This systematic review showed a promising effect of olive oil intake on prevention and stimulus of damage repair associated with cancer risk, through lower urinary concentrations of 8-OH deoxyguanosine, lower plasma levels of oxidized DNA base percentage, IL-8 and TNF- α . Although we found great heterogeneity in the evaluated biomarkers.

Those findings allow us to understand that a regular olive oil intake (<25ml/d) by healthy adults is potentially promising for cancer risk reduction given that it was directly associated with lower levels of oxidative DNA damage and inflammatory markers. Whereas those high levels of these biomarkers are present, and interrelated, with tumoral initiation and triggering events, as well as in other phases. In addition, the divergence between the promoter nutritional factors and effects, can suggest that the anticancer potential was not associated with a specific compound but probably with a complex matrix.

Finally, to become this association robust, more intervention studies are necessary especially high-quality, controlled randomized clinical trials, evaluating similar biomarkers for longer periods.

Supplementary material

Appendix A - Search strategy for the database MEDLINE, including the keywords.

Chemoprevention and cancer risk markers	
<ul style="list-style-type: none"> ● exp chemoprevention ● (Chemoprophylax* or chemoprevention).ti,ab ● (cancer adj1 risk).ti,ab ● cancer adj1 prevention.ti,ab ● exp tumor biomarkers ● Tumor Biomarker*.ti,ab ● (Tumor marker* or Carcinogen Marker*).ti,ab ● (Neoplasm Metabolite Marker)*.ti,ab ● Tumor Metabolite Marker* ● (Cancer Biomarker* or Cancer marker* or Anticarcinogenic Agent*).ti,ab ● (Genetic Marker* or DNA Marker* or DNA Damage* or DNA Injur*).ti,ab 	OR
AND	
Olive oil and main phenolic compounds	
<ul style="list-style-type: none"> ● exp olive oil ● exp olea ● ((Olive adj1 oil*) or (olive adj1 tree*) or (olea adj1 europaea) or (olive adj1 leaf).ti,ab. ● Oleuropein.ti,ab. ● Hydroxytyrosol.ti,ab. ● Tyrosol.ti,ab. ● Oleocanthal.ti,ab. ● EVOO.ti,ab. ● VOO.ti,ab. ● OLE.ti,ab. 	OR
AND	
Randomized Clinical Trials (RCTs)	
<ul style="list-style-type: none"> ● randomized controlled trial.pt. ● controlled clinical trial.pt. ● (randomized or placebo or randomly).ab. ● clinical trials as topic.sh. ● trial.ti. ● exp animals/ not humans.sh. 	OR

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A suplementação de azeite de oliva, esteve associado a menores níveis plasmáticos de percentual de bases do DNA oxidado; menores concentrações urinárias de 8-OH desoxiguanosina e menores níveis de IL-8 e TNF- α , apesar de não exercer efeito excreção urinária de adutos eteno-DNA. No entanto, não foi esclarecido se os efeitos foram proporcionados pelo teor fenólico do azeite, pelos ácidos triterpênicos ou pelo perfil lipídico.

No entanto, os achados dos estudos analisados nesta revisão apesar de isoladamente sugerir que a ingestão de azeite de oliva, principalmente extravirgem, por adultos saudáveis parece ser potencialmente promissora à redução do risco de câncer, por estar diretamente associada a menores níveis de marcadores plasmáticos e urinários de danos oxidativos ao DNA e marcadores inflamatórios plasmáticos, não é possível inferir os benefícios do consumo. Visto que os ensaios clínicos randomizados incluídos foram de desenho cruzado, apresentaram grande heterogeneidade de biomarcadores avaliados e não apresentaram um grupo controle adequado para que a pergunta de estudo fosse respondida.

Ainda que os níveis elevados desses indicadores biológicos estão presentes, e interrelacionados, a eventos de iniciação e desencadeamento do câncer, bem como em outras fases. Além disso, a divergência entre os fatores nutricionais possivelmente responsáveis pelos efeitos, nos permite entender que o potencial anticâncer não está associado a um componente isolado, mas a sua matriz complexa.

Por fim, são necessários mais estudos para tornar esta associação robusta, por meio da realização de mais ensaios clínicos randomizados e controlados de alta qualidade, por períodos mais longos, com n representativos, com doses de consumo semelhantes e realistas, com grupo controle adequado que permita associar os efeitos a suplementação com azeite de oliva.

REFERÊNCIAS

AHMAD FAROOQI, Ammad et al. Oleuropein and Cancer Chemoprevention: The Link is Hot. **Molecules**, v. 22, n. 5, p. 705, 2017.

ALEKSANDROVA, Krasimira; KOELMAN, Liselot; RODRIGUES, Caue Egea. Dietary patterns and biomarkers of oxidative stress and inflammation: A systematic review of observational and intervention studies. **Redox Biology**, p. 101869, 2021.

ALEMÁN-JIMÉNEZ, Carolina et al. Pharmacokinetics and bioavailability of hydroxytyrosol are dependent on the food matrix in humans. **European Journal of Nutrition**, v. 60, n. 2, p. 905–915, 2021.

ALFARO, Carlos et al. Interleukin-8 in cancer pathogenesis, treatment and follow-up. **Cancer Treatment Reviews**, v. 60, p. 24–31, 2017.

AMERICAN CANCER SOCIETY. Cancer Facts & Figures 2019. **Atlanta: American Cancer Society**; 2019.

AMIOT, Marie Josephe. Olive oil and health effects: from epidemiological studies to the molecular mechanisms of phenolic fraction. **OCL Oilseeds and fats crops and lipids**, v. 21, n. 5, p. 1-8, 2014.

ANTUNES, B. DA F. et al. Antioxidant and antimicrobial activity of olive trees cultivated in the Campanha Gaúcha region. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 4, p. 21791–21805, 2020.

DE MORAES ARNOSO, Bernardo Junqueira; DA COSTA, Giselle França; SCHMIDT, Betina. Biodisponibilidade e classificação de compostos fenólicos. **Nutrição Brasil**, v. 18, n. 1, p. 39-48, 2019.

AUED-PIMENTEL, Sabria; BOSKOU, D.; CLODOVEO, M. L. Olive Oil in Brazil: Economic and Regulatory Control Aspects. **Products from Olive Tree**, v. 1, p. 303-313, 2016.

BAKOUNY, Ziad; CHOUEIRI, Toni K. IL-8 and cancer prognosis on immunotherapy. **Nature Medicine**, v. 26, n. 5, p. 650–651, 2020.

BARBARO, Barbara. et al. Effects of the olive-derived polyphenol oleuropein on human health. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 10, p. 18508–18524, 2014.

WILD, Christopher; WEIDERPASS, Elisabete; STEWART, Bernard W. (Ed.). **World cancer report: cancer research for cancer prevention**. IARC Press, 2020.

BIEL, Sara. et al. The NUTRAOLEOUM Study, a randomized controlled trial, for achieving nutritional added value for olive oils. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v.

16, n. 1, p. 1–9, 2016.

BOSS, Anna. et al. Evidence to support the anti-cancer effect of olive leaf extract and future directions. **Nutrients**, v. 8, n. 8, p. 513, 2016.

BUCKLAND, Genevieve; GONZALEZ, Carlos A. The role of olive oil in disease prevention: a focus on the recent epidemiological evidence from cohort studies and dietary intervention trials. **British Journal of Nutrition**, v. 113, n. S2, p. S94–S101, 2015.

BULOTTA, S. et al. Biological Activity of Oleuropein and its Derivatives. **Natural Products**. p. 3605–3638, 2013.

CHIKARA, Shireen. et al. Oxidative stress and dietary phytochemicals: Role in cancer chemoprevention and treatment. **Cancer Letters**, v. 413, n. 11, p. 122–134, 2018.

CLARO-CALA, Carmen Maria et al. Pomace olive oil concentrated in triterpenic acids restores vascular function, glucose tolerance and obesity progression in mice. **Nutrients**, v. 12, n. 2, p. 323, 2020.

CORRÊA, Vanesa Gesser et al. Estimate of consumption of phenolic compounds by Brazilian population. **Revista de Nutricao**, v. 28, n. 2, p. 185–196, 2015.

D'ARCHIVIO, Massimo et al. Bioavailability of the Polyphenols: Status and Controversies. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 11, n. 4, p. 1321–1342, 2010.

FABIANI, R. Anti-cancer properties of olive oil secoiridoid phenols: A systematic review of: In vivo studies. **Food and Function**, v. 7, n. 10, p. 4145–4159, 2016.

FABIANI, Roberto; VELLA, Nicolò; ROSIGNOLI, Patrizia. et al. Epigenetic Modifications Induced by Olive Oil and Its Phenolic Compounds: A Systematic Review. **Molecules**, v. 26, n. 2, p. 273, 2021. 2021.

FARINETTI, Alberto et al. Mediterranean diet and colorectal cancer: A systematic review. **Nutrition**, v. 43–44, p. 83–88, 2017.

FARRÀS, Marta et al. Beneficial effects of olive oil and Mediterranean diet on cancer physiopathology and incidence. In: **Seminars in Cancer Biology**. Academic Press, 2020.

FERLAY, Jacques et al. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. **International journal of cancer**, v. 144, n. 8, p. 1941–1953, 2019.

FERNANDES, João et al. Is olive oil good for you? A systematic review and meta-analysis on anti-inflammatory benefits from regular dietary intake. **Nutrition**, v. 69, p. 110559, 2020.

FRANCISCO, Vera et al. Natural Molecules for Healthy Lifestyles: Oleocanthal from Extra

Virgin Olive Oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 14, p. 3845–3853, 2019.

GAMLI, O, F. The health effects of oleuropein, one of the major phenolic compounds of olives, *Olea Europaea* L. **Italian Journal of Food Science**, v. 28, n. 2, p. 178–189, 2016.

GHASEMI, Saeed et al. Investigation of phenolic compounds and antioxidant activity of leaves extracts from seventeen cultivars of Iranian olive (*Olea europaea* L.). **Journal of Food Science and Technology**, v. 55, n. 11, p. 4600–4607, 2018.

GOLDSMITH, Chloe D. et al. Phytochemical properties and anti-proliferative activity of *Olea europaea* L. leaf extracts against pancreatic cancer cells. **Molecules**, v. 20, n. 7, p. 12992–13004, 2015.

GORZYNIK-DEBICKA, Monika et al. Potential health benefits of olive oil and plant polyphenols. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 3, p. 686, 2018.

HANAHAN, Douglas; WEINBERG, Robert A. Biological Hallmarks of cancer. **Holland-Frei cancer Medicine**, v. 01, n. April, p. 1–10, 2017.

HILLESTRØM, Peter R.; COVAS, Maria-Isabel; POULSEN, Henrik E. Effect of dietary virgin olive oil on urinary excretion of etheno-DNA adducts. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 41, n. 7, p. 1133–1138, 2006.

IMRAN, Muhammad et al. Antitumor Perspectives of Oleuropein and Its Metabolite Hydroxytyrosol: Recent Updates. **Journal of Food Science**, v. 83, n. 7, p. 1781–1791, 2018.

INCA, Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. **ABC do câncer: abordagens básicas para o controle do câncer**. 4. ed. rev. atual, 2019

IOC, International Olive Council. **Estimates crop year and consumption for the 2019/20**. Disponível em: <https://www.internationaloliveoil.org/wp-content/uploads/2020/05/IOC-Olive-Oil-Dashboard-Apr-2020-rev1.html#consumption-1>

IOC, International Olive Council. **Trade standard applying to olive oils and olive pomace oils**. COI/T.15/NC No 3/Rev. 15, 2019.

JIMENEZ-LOPEZ, Cecilia et al. Bioactive Compounds and Quality of Extra Virgin Olive Oil. **Foods**, v. 9, n. 8, p. 1014, 2020.

KAPINOVA, Andrea et al. Are plant-based functional foods better choice against cancer than single phytochemicals? A critical review of current breast cancer research. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 96, p. 1465–1477, 2017.

KHATAMI, Mahim. Inflammation, Aging, and Cancer: Tumoricidal Versus Tumorigenesis of Immunity. **Cell Biochemistry and Biophysics**, v. 55, p. 55–79, 2009.

KOH, Yen-Chun; HO, Chi-Tang; PAN, Min-Hsiung. Recent advances in cancer chemoprevention with phytochemicals. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 28, n. 1, p. 14–37, 2020.

KOTECHA, Ritesh; TAKAMI, Akiyoshi; ESPINOZA, J. Luis. Dietary phytochemicals and cancer chemoprevention: A review of the clinical evidence. **Oncotarget**, v. 7, n. 32, p. 52517–52529, 2016.

KOUKA, Paraskevi et al. The polyphenolic composition of extracts derived from different Greek extra virgin olive oils is correlated with their antioxidant potency. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2019, 2019.

KUMAR, Naresh; GOEL, Nidhi. Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. **Biotechnology Reports**, v. 24, p. e00370, 2019.

KUMARI, Seema et al. Reactive Oxygen Species: A Key Constituent in Cancer Survival. **Biomarker Insights**, v. 13, p. 117727191875539, 2018.

LANDIS-PIWOWAR, Kristin R.; IYER, Neena R. Cancer Chemoprevention: Current State of the Art. **Cancer Growth and Metastasis**, v. 7, p. 19-25, 2014.

LEO, Edwin E. Martínez; ALTAMIRANO, Tania V.; CAMPOS, Maira R. Segura. Functional Foods and Chemoprevention in Cancer. In: **Therapeutic Foods**. Academic Press, 2018. p. 431-448.

LI, Jiao-Kun. et al. Natural plant polyphenols for alleviating oxidative damage in man: Current status and future perspectives. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 15, n. 5, p. 1089–1098, 2016.

LIGUORI, Ilaria et al. Oxidative stress, aging, and diseases. **Clinical Interventions in Aging**, v. 13, p. 757–772, 2018.

LINHART, Kirsten-Berit et al. The generation of carcinogenic etheno-DNA adducts in the liver of patients with nonalcoholic fatty liver disease. **Hepatobiliary Surg Nutr.**, v. 4, n. 2, p. 117–123, 2015.

MA, Yunfeng et al. IL-6, IL-8 and TNF- α levels correlate with disease stage in breast cancer patients. **Advances in Clinical and Experimental Medicine**, v. 26, n. 3, p. 421–426, 30 2017.

MACHOWETZ, Anja. et al. Effect of olive oils on biomarkers of oxidative DNA stress in Northern and Southern Europeans. **The FASEB Journal**, v. 21, n. 1, p. 45–52, 2007.

MARKOVIĆ, Ana Karković et al. Hydroxytyrosol, tyrosol and derivatives and their potential effects on human health. **Molecules**, v. 24, n. 10, p. 2001, 2019.

MARTÍNEZ, Lorena; ROS, Gaspar; NIETO, Gema. Hydroxytyrosol: Health Benefits and Use as Functional Ingredient in Meat. **Medicines**, v. 5, n. 1, p. 13, 2018.

MEDEIROS, Rosalina Marangon Lima et al. Destinação e Reaproveitamento de Subprodutos da Extração Olivícola. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 15, n. 2, p. 100–108, 2016.

MINATEL, Igor Otavio et al. Phenolic Compounds: Functional Properties, Impact of Processing and Bioavailability. In: **Phenolic Compounds - Biological Activity**, v. 8, p. 1-24, 2017.

MURATA, Mariko. Inflammation and cancer. **Environmental Health and Preventive Medicine**, v. 23, n. 1, p. 1-8, 2018.

NEDIANI, Chiara et al. Oleuropein, a bioactive compound from *olea europaea* l., as a potential preventive and therapeutic agent in non-communicable diseases. **Antioxidants**, v. 8, n. 12, p. 578, 2019.

NICOLÌ, Francesca. et al. Evaluation of phytochemical and antioxidant properties of 15 Italian *olea europaea* L. Cultivar Leaves. **Molecules**, v. 24, n. 10, p. 1998, 2019.

NIEDZWIECKI, Aleksandra et al. Anticancer efficacy of polyphenols and their combinations. **Nutrients**, v. 8, n. 9, p. 552, 2016.

NORAT, Teresa et al. European Code against Cancer 4th Edition: Diet and cancer. **Cancer Epidemiology**, v. 39, p. S56–S66, 2015.

ÖZCAN, Mehmet Musa; MATTHÄUS, Bertrand. A review: benefit and bioactive properties of olive (*Olea europaea* L.) leaves. **European Food Research and Technology**, v. 243, n. 1, p. 89–99, 2017.

PANG, Kok-Lun; CHIN, Kok-Yong. The Biological Activities of Oleocanthal from a Molecular Perspective. **Nutrients**, v. 10, n. 5, p. 570, 2018.

PATSIOS, Sotiris I.; KONTOGIANNOPOULOS, Konstantinos N.; BANIAS, Georgios F. Environmental impact assessment in agri-production. In: **Bio-Economy and Agri-production**. Academic Press, 2021. p. 83-116.

PELUCCHI, Claudio. et al. Olive Oil and Cancer Risk: an Update of Epidemiological Findings through 2010. **Current pharmaceutical design**, v. 17, n. 8, p. 805-812, 2011.

PIOTROWSKI, Igor; KULCENTY, Katarzyna; SUCHORSKA, Wiktoria. Interplay between inflammation and cancer. **Reports of Practical Oncology and Radiotherapy**, v. 25, n. 3, p. 422–427, 2020.

PIRODDI, Marta. et al. Nutrigenomics of extra-virgin olive oil: A review. **BioFactors**, v. 43, n. 1, p. 17–41, 2017.

POETSCH, Anna R. The genomics of oxidative DNA damage, repair, and resulting mutagenesis. *Computational and structural biotechnology journal*, v. 18, p. 207-219, 2020.

PSALTOPOULOU, Theodora. et al. Olive oil intake is inversely related to cancer prevalence: a systematic review and a meta-analysis of 13800 patients and 23340 controls in 19 observational studies. **Lipids in Health and Disease**, v. 10, n. 1, p. 1-16, 2011.

REUTER, Simone et al. Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? **Free Radical Biology and Medicine**, v. 49, n. 11, p. 1603–1616, 2010.

RIGACCI, Stefania; STEFANI, Massimo. Nutraceutical properties of olive oil polyphenols. An itinerary from cultured cells through animal models to humans. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 6, p. 843, 2016.

RODRIGUES, Arthur Henrique Fernandes et al. Mecanismos epigenéticos no câncer de mama: o papel dos biomarcadores e da medicina personalizada. **Revista InterScientia**, v. 7, n. 2, p. 174–186, 2019.

RODRÍGUEZ-LÓPEZ, Paloma. et al. Structure–biological activity relationships of extra-virgin olive oil phenolic compounds: Health properties and bioavailability. **Antioxidants**, v. 9, n. 8, p. 685, 2020.

RUZZOLINI, Jessica et al. Oleuropein, the Main Polyphenol of *Olea europaea* Leaf Extract, Has an Anti-Cancer Effect on Human BRAF Melanoma Cells and Potentiates the Cytotoxicity of Current Chemotherapies. **Nutrients**, v. 10, n. 12, p. 1950, 2018.

SAHA, Subbroto Kuar. et al. Correlation between Oxidative Stress, Nutrition, and Cancer Initiation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 7, p. 1544, 2017.

SALVINI, Simonetta et al. Daily consumption of a high-phenol extra-virgin olive oil reduces oxidative DNA damage in postmenopausal women. **British Journal of Nutrition**, v. 95, n. 4, p. 742–751, 2006.

SANCHEZ-RODRIGUEZ, Estefania et al. Effects of virgin olive oils differing in their bioactive compound contents on biomarkers of oxidative stress and inflammation in healthy adults: A randomized double-blind controlled trial. **Nutrients**, v. 11, n. 3, p. 561, 2019.

SCHWINGSHACKL, Lukas; CHRISTOPH, Marina; HOFFMANN, Georg. Effects of Olive Oil on Markers of Inflammation and Endothelial Function—A Systematic Review and Meta-Analysis. **Nutrients**, v. 7, n. 9, p. 7651–7675, 2015.

SEALY, Naria; HANKINSON, Susan E.; HOUGHTON, Serena C. Olive oil and risk of breast cancer: A systematic review and dose-response meta-analysis of observational studies. **British Journal of Nutrition**, v. 125, n. 10, p. 1148–1156, 2021.

SHARIFI-RAD, Mehdi et al. Lifestyle, Oxidative Stress, and Antioxidants: Back and Forth in

the Pathophysiology of Chronic Diseases. **Frontiers in Physiology**, v. 11, p. 694, 2020.

SHIRAHIGUE, Ligianne Din; CECCATO-ANTONINI, Sandra Regina Agro-industrial wastes as sources of bioactive compounds for food and fermentation industries. **Ciencia Rural**, v. 50, n. 4, 2020.

SILVA, S. et al. Protective effects of hydroxytyrosol-supplemented refined olive oil in animal models of acute inflammation and rheumatoid arthritis. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 26, n. 4, p. 360–368, 2015.

SINGH, Nitin. et al. Inflammation and cancer. **Annals of African Medicine**, v. 18, n. 3, p. 121, 2019.

TULCHINER, Gennadi et al. The “covid-19 pandemic gap” and its influence on oncologic outcomes of bladder cancer. **Cancers**, v. 13, n. 8, p. 1754, 2021.

VITALI ČEPO, Dubravka et al. Food (Matrix) Effects on Bioaccessibility and Intestinal Permeability of Major Olive Antioxidants. **Foods**, v. 9, n. 12, p. 1831, 2020.

WANI, Touseef Ahmed et al. Olive oil and its principal bioactive compound: Hydroxytyrosol – A review of the recent literature. **Trends in Food Science & Technology**, v. 77, p. 77–90, 2018.

WORLD CANCER RESEARCH FUND / AMERICAN INSTITUTE FOR CANCER RESEARCH. Continuous Update Project 2018. Diet, nutrition, physical activity and gallbladder cancer. Available at **dietandcancerreport.org**

WORLD HEALTH ORGANIZATION. World – Globocan 2019. International Agency for Research on Cancer. Available in **<https://gco.iarc.fr/today>**

WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO report on cancer: setting priorities, investing wisely and providing care for all. 2020.

YAHFOUFI, Nour et al. The immunomodulatory and anti-inflammatory role of polyphenols. **Nutrients**, v. 10, n. 11, p. 1618, 2018.

ZAGO, Lilia et al. Chemical and sensory characterization of Brazilian virgin olive oils. **Food Research International**, v. 126, p. 108588, 2019.