

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MARIA EUGENIA BALBI

POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE SUPLEMENTOS SOBRE O ESTRESSE  
OXIDATIVO EM PACIENTES COM DIABETES MELLITUS TIPO 2: REVISÃO  
SISTEMÁTICA E META-ANÁLISE

CURITIBA

2018

MARIA EUGENIA BALBI

POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE SUPLEMENTOS SOBRE O ESTRESSE  
OXIDATIVO EM PACIENTES COM DIABETES MELLITUS TIPO 2: REVISÃO  
SISTEMÁTICA E META-ANÁLISE

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Insumos, Medicamentos e Correlatos, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Roberto Pontarolo

CURITIBA

2018



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR CIÊNCIAS DA SAÚDE  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIAS  
FARMACÉUTICAS - 40001016042P8

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS FARMACÉUTICAS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **MARIA EUGENIA BALBI** intitulada: **POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE SUPLEMENTOS SOBRE O ESTRESSE OXIDATIVO EM PACIENTES COM DIABETES MELLITUS TIPO 2: REVISÃO SISTEMÁTICA E META-ANÁLISE**, após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua aprovação no rito de defesa.

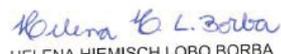
A outorga do título de doutor está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

Curitiba, 12 de Dezembro de 2018.

  
ROBERTO PONTAROLO  
Presidente da Banca Examinadora

  
GERUSA CLAZER HALILA  
Avaliador Externo (UEPG)

  
YANNA DANTAS RATTMANN  
Avaliador Externo (UFPR)

  
HELENA HIEMISCH LOBO BORBA  
Avaliador Externo Pós-Doc (UFPR)

  
ASTRID WIENS SOUZA  
Avaliador Interno (UFPR)

Balbi, María Eugenia

Potencial antioxidante de suplementos sobre o estresse oxidativo em pacientes com diabetes *mellitus* tipo 2: revisão sistemática e meta-análise [recurso eletrônico] / María Eugenia Balbi – Curitiba, 2018.

Tese (doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.  
Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, 2018.

Orientador: Dr. Roberto Pontarolo

*Para minha família.*

*Para meu orientador, Roberto Pontarolo.*

*“Caminante, son tus huellas  
el camino y nada más;  
Caminante, no hay camino,  
se hace camino al andar.  
Al andar se hace el camino,  
y al volver la vista atrás  
se ve la senda que nunca  
se ha de volver a pisar.  
Caminante no hay camino  
sino estelas en la mar.”*

*Antonio Machado*

## AGRADECIMENTOS

A Deus de meu coração, de minha compreensão, sempre presente em cada momento de minha existência, abrindo oportunidades e cuidando meus passos.

A meus pais, Virginio Balbi (*in memorian*) e Érica Cristina Schmidt, meu alfa e ômega, devo tudo que sou. A eles, todo meu amor.

A meu tio Pedro Kainer (*in memorian*), pelo carinho e confiança que ele sempre me transmitia.

Ao meu esposo, Jesse Olimpio de Oliveira, meu maior amigo e companheiro, pela paciência em muitas das minhas ausências, por todo seu amor e incentivo, pela companhia em todos os momentos.

A Felipe Balbi Tristão e Victória Martos Harres, filhos queridos, pelas grandes alegrias que têm me proporcionado.

A Clarice Elaine Balbi, minha neta amada. Mais de mil motivos para agradecer!

Ao Professor Dr. Roberto Pontarolo por sempre ter me incentivado a ter o doutorado, aceito ser meu orientador e seu jeito calmo e incentivador em cada etapa desta jornada. Não posso esquecer seu grande auxílio durante muitos anos no Departamento. Agora posso dizer que tive a honra de ser sua aluna.

A doutoranda Fernanda Tonin e a Dra Helena Borba, pelas orientações e auxílio sem par, nas revisões, nas metanálises realizadas.

A Antonio Mendes pelo auxílio como revisor e coleguismo.

Aos Professores Dra Astrid Wiens e Dr. Fernando Fernandez-Llimós pelas orientações e aulas sobre revisão sistemática e metanálises.

Aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas por contribuírem para minha formação.

Aos Funcionários do Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas pela colaboração e auxílio.

Ao Departamento de Farmácia, nas pessoas das Professoras Débora Brand e Angela B. Trindade, chefes do Departamento nos interstícios que participei do Programa, que me auxiliaram nestes anos de doutoramento.

Aos amigos Maria Madalena Gabriel e Ricardo Wagner, professores como eu nesta instituição, que toda manhã me acolhiam (e ainda acolhem) para uma conversa com café. Agradeço imensamente a amizade, as risadas, os conselhos que recebo.

A amada Patricia Padilha, minha grande e querida amiga.

Aos amigos e colegas do Curso de Farmácia, que sempre incentivaram minha formação. Meu carinho em especial para Tania Maria Bordin Bomfim, Sandra Maria Warumbi Zanin, Marilis Dallarmi Miguel, Obdulio Gomes Miguel, Josiane Dias, Nilce Nazareno da Fonte, Almeriane Maria Welfort Santos, Tomoe Nakashima, Vitor Kerber e Paulo Roberto Wunder, que ajudaram e abraçaram esta amazonense de coração desde que aqui cheguei.

Meu carinho em especial a Inêz Maria Machado Marques e Isabella Florentino, companheiras diárias de jornada.

Aos amigos que fiz nesta jornada, companheiros do Programa de Pós Graduação, meu muito obrigada por cada instante e auxílio.

A todos aqueles que, de forma direta ou indireta, contribuíram por este trabalho,

Meu mais sincero muito obrigada!

## RESUMO

As vitaminas e minerais são micronutrientes essenciais com potencial antioxidante que podem representar um tratamento complementar para pacientes com doenças crônicas. No entanto, o relatório de resultados neste campo ainda é inconsistente (por exemplo, falta de medidas na dose de suplementação). O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da suplementação vitamínica e mineral sobre o estado antioxidante em pacientes com diabetes mellitus tipo 2.

Para isto, foram realizadas revisões sistemáticas com meta-análise, a partir de pesquisas eletrônicas foram realizadas no PubMed, Scopus e Web of Science. Foram incluídos ensaios clínicos controlados randomizados, avaliando a eficácia de qualquer suplementação de complexo vitamínico ou minerais no estado por meio dos desfechos redução de malodialdeído - MDA; aumento da glutathione peroxidase - GPx; alterações na capacidade antioxidante total - TAC, aumento na enzima superóxido dismutase - SOD e ácido tiobarbitúrico reativo substâncias - TBARS. Outros resultados como o controle glicêmico e alterações na hemoglobina glicada - HbA1c e no efeito hipolipemiante também foram avaliados. Meta-análises em pares foram realizadas comparando vitaminas com placebo, e minerais com placebo.

Trinta estudos preencheram os critérios de inclusão da revisão sistemática, mas apenas 12 puderam ser incluídos nas meta-análises de resultados antioxidantes para vitaminas. Treze ensaios puderam ser analisados na revisão sistemática e meta-análises para suplementação com minerais. As principais vitaminas relatadas foram B, C, D e E. Zinco, Selênio, Magnésio e Cromo foram os minerais mais citados nos ensaios clínicos. A vitamina E foi relacionada à redução significativa da glicose no sangue bem como hemoglobina glicada, enquanto ambas as vitaminas C e E foram principalmente referidas na redução de MDA e TBARS e elevando GPx, SOD e TAC. As suplementações com Zinco e Selênio foram eficazes na redução da glicemia, nos níveis de TBARS e TAC.

As suplementações de vitamina E, Zinco e Selênio podem ser uma estratégia valiosa para controlar as complicações do diabetes e aumentar a capacidade antioxidante. Os efeitos de outros micronutrientes (vitamina C, Cromo, por exemplo) devem ser investigados em estudos maiores e bem delineados para posicionar adequadamente essas terapias complementares na prática clínica.

**Palavras-chaves:** diabetes mellitus; antioxidante; revisão sistemática

## ABSTRACT

Vitamins and minerals are essential micronutrients with antioxidant potential that may represent a complementary treatment for patients with chronic diseases. However, the results report in this field is still inconsistent (eg, lack of supplementation dose measures). The objective of this study was to evaluate the effects of vitamin and mineral supplementation on antioxidant status in patients with type 2 diabetes mellitus.

For this, we conducted systematic reviews with meta-analysis, from electronic searches were performed in PubMed, Scopus and Web of Science. We included randomized controlled clinical trials evaluating the efficacy of any supplementation of vitamin or mineral complex in the state through the reduction of malodialdehyde - MDA; increased glutathione peroxidase - GPx; changes in total antioxidant capacity - TAC, increase in enzyme superoxide dismutase - SOD and thiobarbituric acid reactive substances - TBARS. Other results such as glycemic control and changes in glycated hemoglobin - HbA1c and in the lipid - lowering effect were also evaluated. Meta-analyzes in pairs were performed comparing vitamins with placebo, and minerals with placebo.

Thirty studies met the inclusion criteria of the systematic review, but only 12 could be included in the meta-analyzes of antioxidant results for vitamins. Thirteen trials could be analyzed in the systematic review and meta-analyzes for mineral supplementation. The major vitamins reported were B, C, D and E. Zinc, Selenium, Magnesium and Chromium were the most frequently mentioned minerals in clinical trials. Vitamin E was related to significant reduction of blood glucose as well as glycated hemoglobin, while both vitamins C and E were mainly referred to in reducing MDA and TBARS and elevating GPx, SOD and CT. Supplements with Zinc and Selenium were effective in reducing blood glucose, TBARS and TAC levels.

Vitamin E, Zinc and Selenium supplementation can be a valuable strategy to control the complications of diabetes and increase antioxidant capacity.

The effects of other micronutrients (vitamin C, chromium, for example) should be investigated in larger, well-designed studies to adequately position these complementary therapies in clinical practice.

**Keywords:** diabetes mellitus; antioxidant; systematic review

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - NÚMERO ESTIMADO DE PESSOAS NO MUNDO COM DIABETES EM 2015. ....	6
FIGURA 2 - RESUMO DO PAPEL DA HIPERGLICEMIA NO DESENVOLVIMENTO DE COMPLICAÇÕES DIABÉTICAS. ....	11
FIGURA 3 - REDUÇÃO TETRAVALENTE DA MOLÉCULA DE O <sub>2</sub> . ....	15
FIGURA 4 - ESQUEMA DO BALANCEAMENTO DE REDUÇÃO-OXIDAÇÃO (REDOX) DO ORGANISMO HUMANO. ....	16
FIGURA 5 - O PROCESSO COMUM DE REVISÃO CONDUZIDO PARA REVISÃO SISTEMÁTICA DE ECRs E PARA OVERVIEW. ....	27
FIGURA 6 - FLUXOGRAMA DO PROCESSO DE REVISÃO SISTEMÁTICA PARA VITAMINAS. ....	35
FIGURA 7 - FLUXOGRAMA DO PROCESSO DE REVISÃO SISTEMÁTICA DE MINERAIS. ....	48

## LISTAS DE QUADROS

QUADRO 1 - VALORES RECOMENDADOS PARA O DIAGNÓSTICO DO DM.	14
QUADRO 2 - CARACTERÍSTICAS DAS ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO (ROS).....	18
QUADRO 3 - DOENÇAS RELACIONADAS AO ESTRESSE OXIDATIVO.....	20
QUADRO 4 - TIPOS E FONTES ANTIOXIDANTES DERIVADOS DE PLANTAS. .....	24

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - CARACTERÍSTICAS DO ESTUDOS INCLUÍDOS PARA VITAMINAS. .....	36
TABELA 2 - CARACTERÍSTICAS DOS ESTUDOS INCLUÍDOS NA REVISÃO SISTEMÁTICA DE MINERAIS.....	49

## LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 - AVALIAÇÃO GLOBAL DO RISCO DE VIÉS PELA FERRAMENTA COCHRANE DA SUPLEMENTAÇÃO VITAMÍNICA.....	40
GRÁFICO 2 - AVALIAÇÃO COMPLETA DO RISCO DE VIÉS PELA FERRAMENTA COCHRANE APRESENTADA PARA CADA UM DOS ESTUDOS INCLUÍDOS NA REVISÃO SISTEMÁTICA DE VITAMINAS.....	41
GRÁFICO 3 - META-ANÁLISES DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE VITAMINAS COMPARADAS A PLACEBO.....	43
GRÁFICO 4 - META-ANÁLISE DO EFEITO DE VITAMINAS COMPARADAS A PLACEBO SOBRE A GLICEMIA EM JEJUM (MG/DL).....	44
GRÁFICO 5 - META- ANÁLISE DO EFEITO DE VITAMINAS COMPARADAS A PLACEBO SOBRE HbA1C.....	45
GRÁFICO 6 - META-ANÁLISE DO EFEITO DE VITAMINAS COMPARADAS A PLACEBO SOBRE EFEITO HIPOLIPEMIANTE.....	46
GRÁFICO 7 - AVALIAÇÃO GLOBAL DO RISCO DE VIÉS PELA FERRAMENTA COCHRANE DA SUPLEMENTAÇÃO MINERAL.....	50
GRÁFICO 8 - AVALIAÇÃO COMPLETA DO RISCO DE VIÉS PELA FERRAMENTA COCHRANE APRESENTADA PARA CADA UM DOS ESTUDOS INCLUÍDOS NA REVISÃO SISTEMÁTICA DE MINERAIS. ....	50
GRÁFICO 9 - META-ANÁLISE DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE MINERAIS COMPARADAS A PLACEBO.....	52
GRÁFICO 10 - META-ANÁLISES DO EFEITO DE MINERAIS COMPARADAS A PLACEBO SOBRE A GLICEMIA (MG/DL). ....	53
GRÁFICO 11 - META-ANÁLISE DO EFEITO DE MINERAIS COMPARADAS A PLACEBO SOBRE A HbA1C.....	54
GRÁFICO 12 - META-ANÁLISES DO EFEITO DE MINERAIS COMPARADAS A PLACEBO SOBRE EFEITO HIPOLIPEMIANTE.....	55

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ADA	Associação Americana de Diabetes
AGEs	Produtos Finais de Glicação Avançada
AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
ATP	Adenosina Trifosfato
DCNT	Doenças Crônicas não Transmissíveis
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DM	Diabetes mellitus
DM1	Diabetes mellitus tipo 1
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
e <sup>-</sup>	Elétron
EASD	Associação Europeia para o Estudo do Diabetes
ECRs	Ensaio Clínico Randomizado
Fe <sup>2+/3+</sup>	Íon Ferro
G-6-P	Glucose 6 fosfato
GPx	Glutathione Peroxidase
GSH	Glutathione
GSSG	Glutathione dissulfeto
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio
Hb	Hemoglobina
HbA1c	Hemoglobina Glicada
HDL	Lipoproteínas de alta densidade
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HLA	Antígenos Leucocitários Humanos
IDR	Ingestas Diárias Recomendadas
iNOS	Óxido Nítrico Sintase induzível
LDL	Lipoproteínas de baixa densidade
LPO	Lipoxigenase
MDA	Malodialdeído
MODY	Diabetes da maturidade de início precoce
NADP	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato

NADPH	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato Reduzida
P-450	Citocromo P450
PSH	Prostaglandina H sintetase
PKC	Proteína quinase C
O <sub>2</sub>	Molécula de oxigênio
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Superóxido
OH <sup>-</sup>	Radical hidroxila
RI	Resistência à Insulina
ROS	Espécies Reativas de Oxigênio
RNA	Ácido ribonucléico
RNS	Espécies Reativas de Nitrogênio
SBD	Sociedade Brasileira de Diabetes
SM	Síndrome Metabólica
SOD	Superóxido dismutase
TAC	Capacidade Antioxidante Total
TBARS	Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico
TOTG	Tratamento Oral de Tolerância à Glicose

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>3</b>
<b>2.1</b>	<b>OBJETIVO GERAL</b>	<b>3</b>
<b>2.2</b>	<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b>	<b>3</b>
<b>3</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b>	<b>4</b>
<b>3.1</b>	<b>DIABETES</b>	<b>4</b>
3.1.1	Definição e etiologia	4
3.1.2	Epidemiologia	5
3.1.3	Classificação do diabetes	7
3.1.4	Fisiopatologia	9
3.1.5	Diagnóstico	13
3.1.6	Controle e tratamento da doença	14
<b>3.2</b>	<b>ESTRESSE OXIDATIVO</b>	<b>15</b>
<b>3.3</b>	<b>ANTIOXIDANTES</b>	<b>21</b>
<b>3.4</b>	<b>SUPLEMENTOS ALIMENTARES</b>	<b>25</b>
<b>3.5</b>	<b>REVISÃO SISTEMÁTICA</b>	<b>26</b>
<b>4</b>	<b>MÉTODOS</b>	<b>28</b>
<b>4.1</b>	<b>Revisão sistemática do potencial antioxidante de vitaminas em pacientes com DM2</b>	<b>28</b>
4.1.2	Extração de dados e avaliação da qualidade metodológica	29

<b>4.2. Revisão sistemática do potencial antioxidante de minerais em pacientes com DM2 .....</b>	<b>30</b>
4.2.1 Estratégias de busca e critérios de elegibilidade .....	30
4.2.2 Extração de dados e avaliação da qualidade metodológica .....	32
<b>4.3 TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS RESULTADOS .....</b>	<b>32</b>
<b>5 RESULTADOS .....</b>	<b>34</b>
<b>5.1 REVISÃO SISTEMÁTICA DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE VITAMINAS EM PACIENTES COM DM2.....</b>	<b>34</b>
<b>5.2 META-ANÁLISES DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE VITAMINAS EM PACIENTES COM DM2.....</b>	<b>42</b>
5.2.2 Meta-análises do efeito da suplementação vitamínica sobre a glicemia	44
5.2.3 Meta-análises do efeito de vitaminas sobre efeito Hipolipemiante .....	46
<b>5.3 REVISÃO SISTEMÁTICA DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE MINERAIS EM PACIENTES COM DM2.....</b>	<b>47</b>
<b>5.4 META-ANÁLISES DO EFEITO ANTIOXIDANTE DE MINERAIS EM PACIENTES COM DM2.....</b>	<b>51</b>
5.4.2 Meta-análises do efeito da suplementação mineral sobre a glicemia ....	53
5.4.3 Meta-análises do efeito de minerais sobre efeito Hipolipemiante .....	55
<b>6 DISCUSSÃO .....</b>	<b>57</b>
<b>7 CONCLUSÃO .....</b>	<b>62</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>63</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O termo “diabetes mellitus” descreve um grupo heterogêneo de distúrbios metabólicos que apresentam em comum a hiperglicemia, a qual é o resultado de defeitos na ação da insulina, na secreção de insulina ou em ambas. Os efeitos do diabetes incluem danos a longo prazo, disfunções e insuficiência de vários órgãos (WHO, 2016; ADA, 2018).

A Associação Americana de Diabetes (ADA) e a Associação Europeia para o Estudo do Diabetes (EASD) em declaração de consenso sobre a gestão do diabetes mellitus tipo 2 (DM2) recomendam mudanças de estilo de vida (dieta saudável e prática de atividade física) em combinação com Metformina, assim que diagnosticado, e a adição de outros medicamentos, no caso de pacientes que não alcançam o controle glicêmico desejado com estas medidas (ADA, 2009; NATHAN et al., 2009).

O aumento de glicose plasmática gera uma alteração no metabolismo proteico, resultando em reações de condensação de proteínas e carboidratos, resultando em produtos finais de glicação avançada (AGEs) que por sua vez, proporcionam um aumento das reações oxidativas (BARBOSA et al. 2008).

Estudos tem mostrado que o estresse oxidativo desempenha um papel importante na patogênese de doenças crônicas como DM (JOHANSEN et al., 2005; PITTAS, et al., 2007; CERIELLO et al., 2016), e pode diminuir o sistema de defesa antioxidante do corpo, aumentando a carga oxidativa (RATNAM et al., 2006; JAFARI et al., 2013; MANNA, 2015).

Segundo alguns estudos, indivíduos que apresentam baixas concentrações de antioxidantes no organismo, em geral, têm maior risco de complicações do diabetes (GEY et al., 1991; GEY et al., 1993; KATAJA-TUOMOLA et al., 2011; KOSITSAWAT, 2011; SANKHLA et al., 2012). Além disso, o DM2 está diretamente associado à disfunção endotelial (CALLES -ESCANDON; CIPOLLA, 2001; JOHANSEN et al., 2005; RATNAM et al., 2006)

Estas situações de baixa concentração de antioxidantes naturais são capazes de promover o desenvolvimento de complicações macro e microvasculares como retinopatia e nefropatia, que podem levar a doenças

cardiovasculares e a amputações de membros inferiores (DUCKWORTH, 2001; HINK et al., 2003; SASAKI, 2012). As complicações macro e microvasculares, bem como as doenças cardiovasculares são as principais causas de morbidade e mortalidade no mundo (STAMLER et al., 1993; BECKMAN; CREAGER, 2002).

Os efeitos prejudiciais do estresse oxidativo são causados principalmente pela produção de radicais livres de oxigênio e espécies reativas de oxigênio (ROS), mas podem ser modificados por antioxidantes enzimáticos ou não-enzimáticos como superóxido dismutase, vitaminas como Vitamina C, B9, A, D e E, minerais (Cromo, Zinco, Selênio) e polifenóis, entre outros compostos (JOHANSEN et al., 2005; EVANS et al., 2005; LAMB; GOLDSTEIN, 2008).

Vários grupos de pesquisa têm analisado as propriedades antioxidantes de produtos naturais através de métodos químicos e / ou biológicos. Tem sido sugerido que o consumo de alimentos ricos em antioxidantes pode retardar ou evitar a ocorrência de muitas doenças (WHITE et al., 2014; SINGH et al., 2015).

Ensaio clínicos controlados randomizados que têm avaliado o efeito da suplementação vitamínica visando o efeito antioxidante e o controle glicêmico não têm apresentado resultado conclusivo, de modo que o benefício de tal suplementação permanece ainda incerto (BRIGELIUS-FLOHE et al., 2002; XU et al., 2014).

Assim, o presente estudo visa reunir evidências através da realização de uma revisão sistemática com meta-análises sobre o efeito da utilização de suplementos vitamínico e/ou minerais em pacientes com DM2, sobre seu impacto em relação a parâmetros glicêmicos e estresse oxidativo.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Reunir informações e sintetizar as evidências disponíveis na literatura científica a respeito do impacto do uso de antioxidantes naturais na forma de suplementos alimentares (vitaminas e minerais) sobre o estresse oxidativo em indivíduos com DM2.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Selecionar ensaios clínicos randomizados - ECRs referentes ao uso de produtos naturais com potencial antioxidante na forma de suplementos alimentares (nomeadamente vitaminas e minerais) em portadores de DM2.

Comparar quali e quantitativamente o potencial antioxidante dessas substâncias (vitaminas e minerais) sobre desfechos relacionados ao estresse oxidativo e controle fisiológico do DM2.

Verificar a força da evidência encontrada e elencar os potenciais benefícios do uso de suplementos alimentares com potencial antioxidantes na população em estudo.

### 3 REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1 DIABETES

##### 3.1.1 Definição e etiologia

Diabetes mellitus (DM), é uma doença considerada epidêmica segundo a Organização Mundial da Saúde (*World Health Organization – WHO*), com elevada prevalência mundial (WHO, 2014).

DM é uma doença multifatorial, caracterizada por hiperglicemia crônica (glicemia em jejum  $\geq 126$  mg / dL), resultantes de defeitos na secreção de insulina e/ou da ação da insulina no organismo (THE EXPERT COMMITTEE, 2003; AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2009). Ressalta-se que a resistência à insulina pode estar presente por vários anos antes do aparecimento de alterações dos níveis plasmáticos de glicose. Dessa forma, indivíduos que irão desenvolver DM2 apresentam deterioração progressiva da tolerância à glicose. Eles geralmente progridem de normoglicêmicos a intolerantes à glicose e finalmente diabéticos (CARVALHO, COLAÇO E FORTES, 2006).

Aumentos nos ácidos graxos livres (AGL) circulantes e hiperglicemia, as principais características do DM, tanto podem levar ao liberação de radicais  $O_2^-$  - no processo de respiração mitocondrial e ativação da nicotinamida di nucleotideo fosfato oxidase (NADPH oxidase). Esta enzima é encontrada em uma variedade de células, incluindo adipócitos, células musculares lisas vasculares, células endoteliais, fibroblastos e monócitos (GRIENLIND, SORESCU, USHIO-FUKAI, 2000).

A superprodução de  $O_2^-$  - parece ser o primeiro evento chave na ativação de outras vias (por exemplo, sistemas imunológico e metabólico) envolvidas na patogênese da disfunção vascular (LAMB E GOLDESTEIN, 2008).

O transporte de glicose para as células de mamíferos é essencial para a sobrevivência. Grande parte da glicose circulante no estado pós-absortivo é captada por órgãos independentes da insulina: cérebro (50%) e órgãos esplânicos

(25%), sendo que apenas o restante (25%) é utilizado em tecidos dependentes de insulina, principalmente a musculatura esquelética, e, em segundo lugar, o tecido adiposo (DeFRONZO, 1997).

No entanto, qualquer desequilíbrio nesta captação de glicose periférica pode levar à intolerância à glicose ou mesmo ao diabetes mellitus (HOLLMAN et al, 1993; KAHN, 1994).

### 3.1.2 Epidemiologia

As doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), como o DM, são doenças multifatoriais crônicas que se desenvolvem no decorrer da vida, sendo influenciadas por determinantes sociais e condicionantes, além de fatores de risco individuais como tabagismo, consumo nocivo de álcool, inatividade física e alimentação não saudável (BRASIL, 2011). Atualmente, elas são consideradas um sério problema de saúde pública, sendo responsáveis por 63% das mortes no mundo, segundo estimativas da Organização Mundial de Saúde. As quatro DCNT de maior impacto mundial são: doenças cardiovasculares, diabetes, câncer e doenças respiratórias crônicas (BRASIL, 2011).

No Brasil, as DCNT causam cerca 74% de mortes todos os anos, o que representa um novo desafio para os gestores de saúde, especialmente pelo impacto na qualidade de vida dos indivíduos afetados (WHO, 2014). Diante do aumento das DCNT e de seus efeitos para o país, o Ministério da Saúde (MS) protagonizou, junto a outras instituições de relevância nacional e internacional, a construção do Plano de Ações Estratégicas para o Enfrentamento das Doenças Crônicas Não Transmissíveis no Brasil, 2011-2022, lançado em 2011 (BRASIL, 2011).

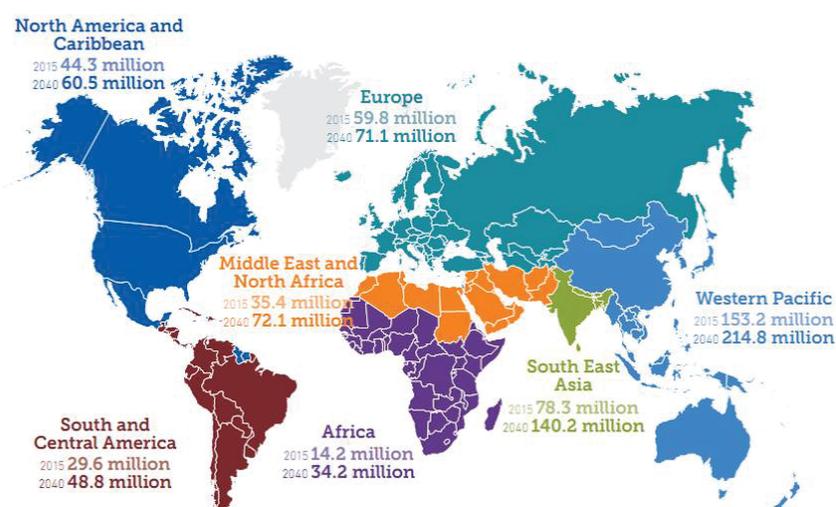
No país, a prevalência de diabetes ainda é estimada por meio de inquéritos de saúde, os quais, em sua maioria, utilizam medidas autorreferidas devido à dificuldade de realizar medidas bioquímicas em âmbito populacional (SCHMIDT

et al, 2006). Em um estudo conduzido em 2013 pela Pesquisa Nacional de Saúde (PNS) em parceria com a Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) e MS, em indivíduos com idades igual ou superior a 18 anos em todo território nacional evidenciou que 6,2% da população referiram diagnóstico médico de diabetes, sendo de 7,0% eram mulheres e 5,4% homens, com maior taxa de diabetes (9,6%) nos indivíduos sem instrução ou com ensino fundamental incompleto. (BRASIL, 2014).

Dados de outra pesquisa realizada pela Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (Vigitel) de 2016 mostraram que houve um aumento de 61,8% de pessoas diagnosticadas com diabetes. De 5,5% em 2006 (primeira pesquisa do programa), para 8,9% de diagnósticos em 2016 (BRASIL, 2017).

A Federação Internacional de Diabetes (IDF), na sua sétima edição, reportou que o Brasil se encontra em quarto lugar em relação ao número de diagnosticados com DM (14,3 milhões de pacientes em 2015), precedido por China (109,6 milhões), Índia (69,2 milhões) e Estados Unidos (29,3 milhões). Na figura 1, pode-se observar o panorama mundial e as previsões para os próximos anos realizados pela IDF (IDF, 2015).

FIGURA 1 - NÚMERO ESTIMADO DE PESSOAS NO MUNDO COM DIABETES EM 2015.



Fonte: Federação Internacional de Diabetes (IDF, 2015).

A prevalência é um indicador da magnitude da carga atual que a doença representa para os serviços de saúde e para a sociedade, bem como um preditor da futura carga que as complicações crônicas do diabetes representarão (BRASIL, 2014).

Nos países desenvolvidos, o aumento da prevalência ocorrerá principalmente pelo número de indivíduos com diabetes nas faixas etárias mais avançadas, em função do aumento da expectativa de vida e do crescimento populacional. Nos países em desenvolvimento, indivíduos de todas as faixas etárias serão atingidos, com destaque para a faixa etária de 20 a 44 anos, em que a prevalência deverá duplicar (BRASIL, 2014).

Tradicionalmente, o diabetes tipo 2 tem sido descrito como próprio da maturidade, com incidência após a terceira década de vida. Nos últimos anos, entretanto, tem sido observada uma crescente incidência de diabetes tipo 2 em adolescentes, geralmente associada a história familiar, excesso de peso e sinais de resistência insulínica (um aumento anual de 7,1% ao ano) (MAYERS-DAVIS et al., 2017).

### 3.1.3 Classificação do diabetes

A classificação atualmente aceita do DM está baseada em sua etiologia. Inclui quatro subtipos: DM tipo 1(DM1), DM tipo 2 (DM2), DM gestacional e outros tipos específicos de DM (SBD, 2017; ADA, 2018).

- **Diabetes mellitus Tipo I (DM1):** principal forma endócrina e forma de diabetes diagnosticada na infância e na juventude. Ocorre devido à destruição das células beta, levando a uma insuficiência de insulina. Pode estar subdividido em tipos 1A (diabetes autoimune, acomete 5 a 10% dos casos como resultado da destruição imuno mediada de células beta pancreáticas com consequente deficiência de insulina) e 1B (idiopática, em que não há uma etiologia conhecida para essa forma de DM). Corresponde à minoria dos casos de DM1 e caracteriza-se pela ausência de marcadores de autoimunidade contra as células beta e não

associação a haplótipos do sistema HLA (antígenos leucocitários humanos) (SBD, 2018).

- **Diabetes mellitus Tipo II (DM2):** verificada em 90 a 95% dos casos. Caracteriza-se como distúrbio metabólico que cursa com hiperglicemia decorrente de dois mecanismos: resistência insulínica e secreção deficiente de insulina. O primeiro pode ser conceituado como dificuldade de ação periférica de insulina que, inicialmente, pode ser compensada com aumento da secreção da mesma. Como a insulina é um potente inibidor da gliconeogênese hepática, a diminuição de sua ação, no fígado, acarreta aumento da produção basal de glicose, o que contribui para elevação da glicemia, especialmente a de jejum. A secreção deficiente de insulina reflete falência endócrina progressiva de células beta-pancreáticas e geralmente ocorre mais tardiamente, anos após o desenvolvimento da resistência insulínica (OLIVEIRA; MILECH, 2006; SBD, 2017).

- **Diabetes mellitus Gestacional (DMG):** diagnosticada no segundo ou terceiro trimestre da gravidez, não é uma diabetes declarada, sendo que seis semanas ou mais após o parto, a mulher deve ser reclassificada. Na maioria dos casos, a regulação da glicemia retorna ao normal. Também é definida como intolerância à glicose (SBD, 2017). A identificação clínica do diabetes gestacional é importante, pois o tratamento pode reduzir a morbidade e mortalidade associadas. Complicações maternas relacionadas com DMG também incluem aumento da taxa de partos cesáreos e hipertensão crônica (OLIVEIRA; MILECH, 2006, SBD, 2017).

- **Tipos específicos de diabetes devido a outras causas:** engloba as síndromes o diabetes monogênico (como o diabetes neonatal e o diabetes da maturidade de início precoce [MODY; *maturity-onset diabetes of the Young*;]), o diabetes induzido pelo uso de fármacos e substâncias químicas, como no tratamento do Vírus da Imunodeficiência Humana / Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (HIV/AIDS) ou após transplante de órgão, e doenças do pâncreas exócrino (como a fibrose cística) (SBD, 2017).

### 3.1.4 Fisiopatologia

As complicações do DM são múltiplas. No caso do DM1, a deficiência de insulina devido à destruição das células beta e alteração das células alfa resulta em distúrbios metabólicos (OZOUGWU et al, 2013). Nos demais casos, a falta da insulina ou na eficiência da sua ação levam ao desenvolvimento de complicações micro e macrovasculares, com consequências como diminuição da utilização de glicose pelas células, resultando em hiperglicemia; aumento na mobilização das gorduras, resultando em dislipidemias, e depleção de proteínas nos tecidos corporais (GUYTON; HALL, 1988).

O transporte de glicose para as células de mamíferos é essencial para a sobrevivência. Grande parte da glicose circulante no estado pós-absortivo é captada por órgãos independentes da insulina: cérebro (50%) e órgãos esplênicos (25%), sendo que apenas o restante (25%) é utilizado em tecidos dependentes de insulina, principalmente a musculatura esquelética, e, em segundo lugar, o tecido adiposo (DeFRONZO, 1997). No entanto, qualquer desequilíbrio nesta captação de glicose periférica pode levar à intolerância à glicose (HOLLMAN et al, 1993; KAHN, 1994).

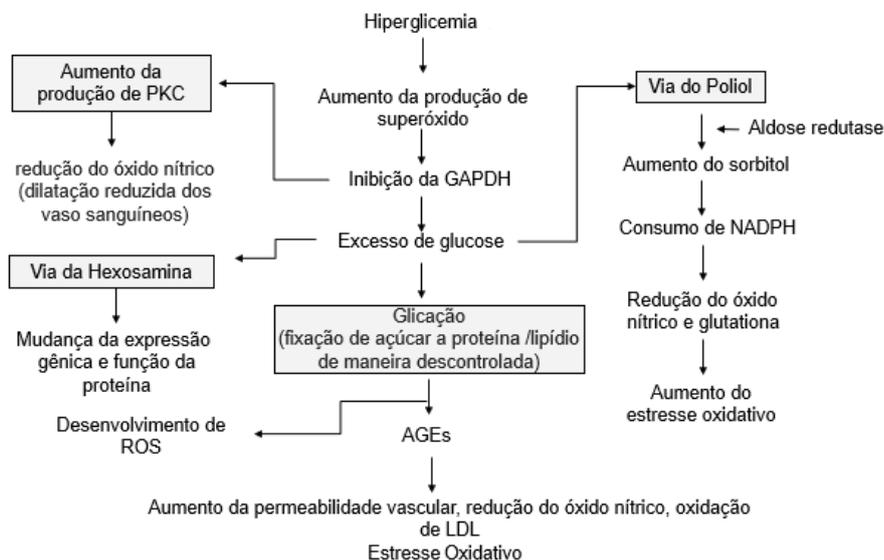
A insulina, além de promover a captação de glicose pelas células, está associada à regulação da produção de glicogênio no fígado. Após as refeições, em condições normais, ocorre a diminuição dos níveis de glicose e insulina na corrente circulatória, ativando a gliconeogênese, liberando glicose no sangue e restabelecendo as suas concentrações plasmáticas. No DM, com a ausência de insulina, há um aumento da produção e liberação de glicose pelo fígado, contribuindo ainda mais para o aumento das suas concentrações séricas (GUYTON; HALL, 1998). Para promover uma segunda fonte de energia, o organismo utiliza a quebra de gordura, uma vez que os carboidratos não estão sendo utilizados pelas células. Ocorre, então, a hidrólise de triglicerídeos armazenados e a liberação de ácidos graxos não esterificados. Estes são convertidos no fígado a fosfolípidios e colesterol, podendo elevar as concentrações no plasma de ácidos graxos livres (AGL), elevando o risco de

desenvolvimento rápido de arteriosclerose, uma das complicações mais graves do diabetes descontrolado (GUYTON; HALL, 1998). A utilização de lipídios como fonte de energia leva ao aumento de produção de ácido aceto acético, gerando quadro de acidose metabólica que, quando não revertidos de forma rápida, pode levar a coma e óbito. (BARONE; RODACKI et al., 2007).

No metabolismo de proteínas, a insulina exerce efeito direto sobre a captação de aminoácidos pelas células, atuando também sobre os ribossomos, aumentando a produção de ácido ribonucleico - RNA mensageiro e, conseqüentemente, a sua tradução. A insulina também inibe o catabolismo das proteínas, diminuindo a velocidade de liberação de aminoácidos pelas células musculares. Todos esses efeitos fazem com que a insulina seja considerada como hormônio anabólico, promovendo a síntese de proteínas, enquanto que a sua ausência teria efeito catabólico, acelerando a degradação de proteínas (GUYTON; HALL, 1998).

De maneira geral, as conseqüências da hiperglicemia e aumento de AGL circulantes provêm de quatro vias principais: (a) aumento da formação de produtos de glicação avançada (AGEs), (b) via do polioliol, (c) ativação de isoformas de proteína quinase C (PKC) e d) aumento da via de hexosamina (BARTELLET; EPERJESI, 2008). (FIGURA 2). Boa parte dessas vias contribui para o desenvolvimento de radicais livres e espécies reativas de oxigênio e aumento do estresse oxidativo. O vazamento de radicais de  $O_2^-$  - no processo de respiração mitocondrial leva à ativação da nicotinamida dinucleotídeo fosfato oxidase (NADPH oxidase). Esta enzima é encontrada em uma variedade de células, incluindo adipócitos, células musculares lisas vasculares, células endoteliais, fibroblastos e monócitos (GRIENLIND; SORESCU; USHIO-FUKAI, 2000). A superprodução de  $O_2^-$  parece ser o primeiro evento chave na ativação de outras vias (por exemplo, sistemas imunológico e metabólico) envolvidas na patogênese da disfunção vascular (LAMB; GOLDESTEIN, 2008).

FIGURA 2 - RESUMO DO PAPEL DA HIPERGLICEMIA NO DESENVOLVIMENTO DE COMPLICAÇÕES DIABÉTICAS.



PKC: proteína quinase C; GAPDH: Gliceraldeído 3 fosfato desidrogenase; NADPH: nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida; AGEs: produtos finais de glicação avançada; ROS: espécies reativas de oxigênio; LDL: lipoproteínas de baixa densidade (BARTELLET e EPERJESI, 2008).

A formação dos produtos de glicação avançada (AGEs) resultado da reação não enzimática entre açúcares redutores e proteínas, fosfolipídios ou ácidos nucleicos, e uma das principais formas de condensação conhecida como reação de Maillard, é uma das teorias mais aceitas sobre como a hiperglicemia crônica conduz aos danos celulares e teciduais observados no diabetes (BROWNLEE, 2001).

Quando o processo da adição de açúcares a proteínas ou moléculas lipídicas é controlado no organismo é denominado glicosilação; no entanto, a glicação é um processo descontrolado que afeta negativamente o funcionamento de biomoléculas. A glicação que ocorre no interior do organismo é denominado glicação endógena e ocorre na corrente sanguínea com açúcares simples absorvidos, como glicose, frutose e galactose (BARTELLET; EPERJESI, 2008). Glóbulos vermelhos estão envolvidos na glicação e os níveis de hemoglobina glicada são utilizados na monitorização do açúcar no sangue em diabetes.

Após a glicação, ocorre uma série de reações, resultando no desenvolvimento irreversível dos AGEs (JOHN; LAMB, 1993; RAJ et al., 2000), alguns dos quais são envolvidos no desenvolvimento de condições relacionadas à idade, como DM2 . Essa reação em cadeia também pode resultar na produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) (HUEBSCHMANN et al., 2006).

A via do poliol no metabolismo da glicose torna-se ativa quando os níveis de glicose intracelular estão elevados (GABBAY, 1973). As implicações desta via resultam em retinopatia, nefropatia e neuropatias em pacientes diabéticos (BARTELLET; EPERJESI, 2008). A aldose redutase é a primeira enzima na via do poliol e catalisa a NADPH, que reduz a glicose para sorbitol (GABBAY, 1973; BROWNLEE, 2001). O sorbitol é um álcool, polihidroxilado e fortemente hidrofílico e, portanto, não se difunde facilmente em membranas celulares, acumulando-se intracelularmente com possíveis conseqüências osmóticas (LORENZI, 2007). Altas dosagens de glucose no sangue aumentam a produção de sorbitol (BARTELLET; EPERJESI, 2008).

A ativação desta via resulta na diminuição da produção de nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADP<sup>+</sup>) e dinucleotídeo de nicotinamida adenina oxidada (NAD<sup>+</sup>), cofatores de reações de oxiredução no organismo, o que pode aumentar a produção de AGEs (BARNETT et al., 1986; BROWNLEE, 2001; BARTELLET; EPERJESI, 2008). A redução da glucose para sorbitol, resulta na redução da regeneração do óxido nítrico, que está envolvido no relaxamento vascular e tem um papel importante na proteção dos vasos sanguíneos (WENNMALM, 1994).

A proteína quinase C (PKC) está envolvida em eventos de transdução de sinais, respondendo a estímulos específicos hormonais, neuronais e de fatores de crescimento. Sua ação é catalisando a transferência de um grupo fosfato do ATP (adenosina tri-fosfato) a várias proteínas substrato. Da mesma forma, a PKC também sofre fosforilações antes de ser ativada, o que ocorre durante sua translocação do citosol para a membrana da célula. Sua ativação e translocação do citosol à membrana plasmática ocorre em resposta a aumento transitório de diacilglicerol (DAG) ou exposição a agentes exógenos, (IDRIS; GRAY; DONNELLY, 2001).

A ativação da PKC regula uma série de funções vasculares, tais como permeabilidade vascular, contratilidade, proliferação celular, síntese de matriz extracelular e transdução de sinais para várias citocinas e hormônios (RASMUSSEN et al., 1984; KARIYA et al., 1987; HACHIYA et al., 1987; LYNCH et al., 1990; HUHTALA; CHOW; TRYGGVASON, 1990). Sugere-se que a ativação anormal de PKC está relacionada com a diminuição de óxido nítrico no DM, bem como nas células musculares lisas, induzidas por hiperglicemia (CRAVEN et al., 1994; GANZ; SEFTEL, 2000) e contribui para o aumento da acumulação de proteínas na matriz microvascular (CRAVEN et al., 1994).

A ativação da via da hexosamina através da hiperglicemia pode resultar em mudanças na expressão gênica e funções de proteínas, o que compromete as implicações do DM (BROWNLEE, 2001).

### 3.1.5 Diagnóstico

O diagnóstico de diabetes é normalmente realizado através da mensuração da glicemia (WHO 2016, ADA 2018, SBD 2018). De acordo com a Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD, 2018), as complicações que se apresentam no DM iniciam-se antes das alterações da glicemia, e desta forma foi então incluído o quadro da pré-diabetes. O paciente apresenta valores de glicemia superiores aos valores normais. Através de exames de glicemia em jejum ou tolerância oral a glicose e da hemoglobina glicada (HbA1c), pode-se medir a glicemia plasmática. No caso da HbA1c se quantifica a fração de hemoglobina que está ligada de forma irreversível a uma molécula de glicose, avaliando-se, assim, indiretamente a glicemia (WHO 2016, ADA 2018, SBD 2018). O QUADRO 1 resume os valores de corte para o diagnóstico de diabetes, assumindo o critério da Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD 2018)

## QUADRO 1 - VALORES RECOMENDADOS PARA O DIAGNÓSTICO DO DM.

Exame	Normal	Pré-diabetes	diabetes
Glicemia de Jejum (mg/dL)	<100	100 a 125	≥ 126
Glicemia 2 horas após TOTG com 75 g de glicose (mg/dL)	<140	140 a 199	≥ 200
Hemoglobina glicada (HbA1c) (%)	<5,7	5,7 a 6,4	≥ 6,5

TOTG – Tratamento Oral de Tolerância à Glicose

Fonte: (SBD, 2018).

### 3.1.6 Controle e tratamento da doença

Quando um paciente é diagnosticado com DM, recebe orientação de profissionais da saúde sobre medidas que visam modificações no seu estilo de vida, como educação e informação sobre diabetes, mudanças em hábitos alimentares e inclusão de atividade física (ADA, 2017; SBD, 2018).

É fundamental a análise global do paciente, com o diagnóstico do tipo de diabetes na classificação da síndrome, o nível educacional, as condições sociais, econômicas e emocionais, a idade, o tempo de evolução da doença, o nível glicêmico, a presença de complicações, entre outras, que deverão ser analisadas e consideradas de maneira criteriosa (OLIVEIRA; MILECH, 2006).

A terapêutica farmacológica inclui a insulina e agentes antidiabéticos orais, que o médico irá prescrever segundo alguns critérios: tipos de DM, Resistência à Insulina (RI), insuficiência progressiva das células  $\beta$ , presença de múltiplos processos metabólicos (dislipidemia, disglicemia e inflamação vascular) (ADA, 2017; SBD, 2018).

As recomendações propostas pela *American Diabetes Association* (ADA) e a Associação Européia para o Estudo do Diabetes (EASD) no manejo de pacientes com DM2 recomendam alterações no estilo de vida, como dieta saudável e prática de atividade física, em combinação com a metformina no momento do diagnóstico e adição de outros medicamentos em pacientes que não atingem o controle glicêmico desejado (ADA, 2009; NATHAN et al., 2009). As mesmas diretrizes são seguidas no Brasil, segundo a Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD, 2018). A redução da hemoglobina glicada (HbA1c) para menos

de 7% foi claramente demonstrada como um dos desfechos primários para reduzir as complicações microvasculares do DM e, possivelmente, da doença macrovascular (COBITZ; AMBERY, 2009).

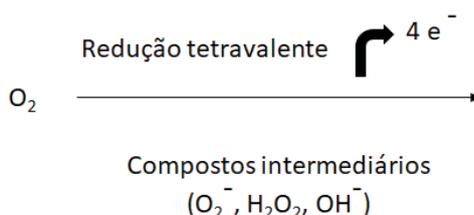
Estas diretrizes estabelecem especial atenção no controle da ingestão de macronutrientes – como carboidratos simples e complexos (KAUR e HENRY, 2014). Já foi demonstrado em vários estudos que a suplementação com micronutrientes (vitaminas e minerais) na dieta melhora a promoção de saúde, uma vez que estes participam como cofatores nas funções das células beta do pâncreas, no metabolismo da glicose e da insulina (Guyton and Hall 1998).

### 3.2 ESTRESSE OXIDATIVO

Ao contrário das espécies químicas que têm uma carga elétrica (íons), os quais são geralmente estáveis nos meios mais comuns, muitos radicais livres são instáveis, de maneira que tendem a reagir muito rapidamente com outras substâncias químicas (SELLÉS, 2011).

Estes radicais livres, cujo elétron desemparelhado se encontra centrado nos átomos de oxigênio ou nitrogênio, são denominados espécies reativas de oxigênio (ROS) e espécies reativas de nitrogênio (RNS), respectivamente (FIGURA 3) (VISIOLI; KEANEY; HALLIWELL, 2000).

FIGURA 3 - REDUÇÃO TETRAVALENTE DA MOLÉCULA DE O<sub>2</sub>.

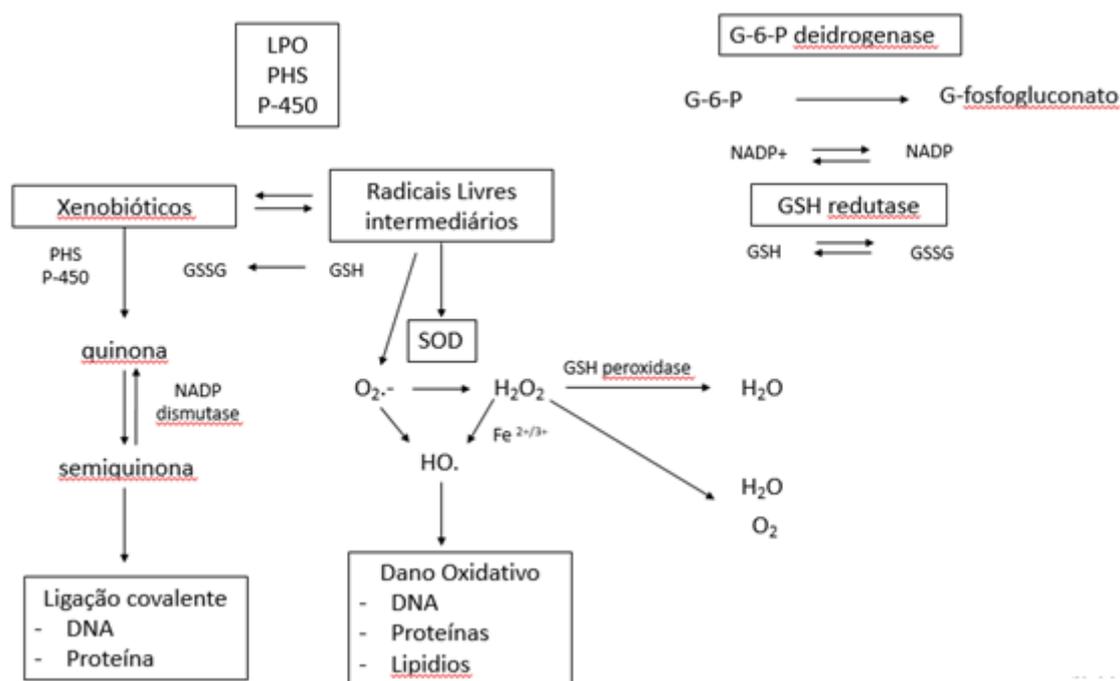


Formação de compostos intermediários, espécies reativas de oxigênios (ROS). O<sub>2</sub>: Molécula de oxigênio; e<sup>-</sup>: elétron; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: peróxido de hidrogênio, OH<sup>·</sup>: radical hidroxila (FRANÇA et al, 2013).

Um radical livre é uma espécie química, que possui em sua estrutura um ou mais elétrons desemparelhados, caracterizando-se por elevada reatividade e capacidade de formar outros radicais livres por reações químicas em cadeia (GUERRA, 2011).

A geração de radicais livres constitui um processo contínuo e fisiológico. Eles são necessários para que funções como a sinalização celular e a defesa contra micro-organismos ocorram de maneira adequada. Durante os processos metabólicos. Esses radicais atuam como mediadores para a transferência de elétrons nas várias reações bioquímicas, como se observa na FIGURA 4 (VASCONCELOS et al, 2007; SELLÉS, 2011). Porém, a produção excessiva pode conduzir a lesões oxidativas (BARBOSA et al., 2010; FRANÇA et al., 2013).

FIGURA 4 - ESQUEMA DO BALANCEAMENTO DE REDUÇÃO-OXIDAÇÃO (REDOX) DO ORGANISMO HUMANO.



FONTE: (adaptado de SELLÉS, 2011)

Podem-se apreciar na FIGURA 4, as vias de formação das diferentes Espécies Reativas de Oxigênio (ROS), as quais estão reguladas por vários processos enzimáticos que regulam os mecanismos endógenos de defesa

antioxidante. A quebra desse balanço redox a favor da superprodução de ROS é conhecida como estresse oxidativo. LPO: Lipoxigenase; PHS: Prostaglandina H sintetase; P-450: Citocromo P450; SOD: Superóxido dismutase; GSH: Glutathiona; GSSG: Glutathiona dissulfeto; NADP: Nicotinamida Adenina Dinucleotídio Fosfato; DNA: Ácido Desoxirribonucleico; G-6-P: Glicose 6 fosfato; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Peróxido de hidrogênio, O<sub>2</sub><sup>-</sup>: Superóxido; Fe<sup>2+/3+</sup> íon Ferro (SELLÉS, 2011).

O estresse oxidativo é uma condição na qual o aumento da formação de radicais livres sobrecarrega a capacidade antioxidante disponível (POWERS; NELSON; HUDSON, 2011). A peroxidação lipídica constitui uma reação em cadeia de ácidos graxos poli-insaturados das membranas celulares, gerando radicais livres que alteram a permeabilidade, fluidez e integridade das mesmas (MAHATTANATAWEE, 2006; LAMB; GOLDSTEIN, 2008; STAHL et al., 2001; FRANÇA et al., 2013)

Esses danos celulares, que se encontram aumentados nos indivíduos obesos, predispõem às comorbidades como hipertensão arterial sistêmica, dislipidemia, eventos tromboembólicos, diabetes mellitus, além de neoplasias (FERREIRA; OLIVEIRA; FRANCA, 2007; ALVES et al., 2011).

O balanço oxidativo do organismo humano é importante para regulação metabólica, produção de energia, ativação ou desativação de biomoléculas, na transdução de sinais, trocas celulares e controle do tônus vasculares. Entretanto se o balanço entre os sistemas oxidantes (geradores de ROS) e os antioxidantes (preventivo, sequestrador e reparador) desequilibra-se a favor da produção excessiva de ROS, seja pelo enfraquecimento dos sistemas antioxidantes ou ambas as causas, ocorre o estresse oxidativo (SIES, 1997; FINKEL; HOLBROOK, 2000; SCHAFFER; BUETTNER, 2001)

O excesso de ROS promove o ataque destes sobre compostos químicos que se encontram nas células (tais como lipídios, proteínas e DNA), dando lugar ao início de uma série de reações químicas que podem conduzir ao surgimento de graves desordens fisiológicos e agravamento da doença ou mesmo alterar o desempenho físico ou psíquico de uma pessoa saudável (WISEMAN, 1996; BARREIROS; JURANEK; BEZEK, 2005; DAVID; DAVID, 2006). Entretanto, alguns autores acreditam que este é exatamente o inverso; ou seja, o estresse oxidativo que seria o responsável pelo aparecimento da doença, sendo a causa

de alterações em sistemas biológicos observados posteriormente (HALLIWELL et al., 1995; PAGANO et al., 1998; JURANEK; BEZEK, 2005).

As ROS mais comuns e de maior importância biológica estão apresentados no QUADRO 2.

QUADRO 2 - CARACTERÍSTICAS DAS ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO (ROS).

Espécies reativas	Características
Ânion-radical superóxido $O_2^{\bullet -}$	Gerado continuamente por diversos processos celulares. Em solução aquosa, é um forte agente redutor. É permeável à membranas e fagócitos, como neutrófilos e macrófagos, sendo um dos microbicidas mais importantes.
Peróxido de hidrogênio $H_2O_2$	Intermediário formado pela reação de dismutação de $O_2$ --- catalizada pela enzima SOD (superóxido distumate), pela redução de $2 e^-$ na molécula de $O_2$ e pela ação de diversas enzimas oxidases in vivo, localizadas nos peroxissomas. É um fraco agente oxidante e um fraco agente redutor, mas produz danos celulares quando presente em excesso.
Radical hidroxila $\bullet OH$	É o mais reativo e mais lesivo radical conhecido e para o qual, uma vez formado, o organismo humano não dispõe de mecanismo de defesa. É capaz de reagir com uma série de endobióticos, modificar o DNA, inativar enzimas e causar danos a proteínas e gerar peroxidação lipídica. Possui, contudo, âmbito limitado de ação (poucos diâmetros moleculares).
Radicais peroxila ( $RO_2 \bullet$ ) e alcoxila ( $RO \bullet$ )	Formados durante a decomposição de peróxidos orgânicos e reações de carbono radicalar com oxigênio, como na peroxidação lipídica.
Oxigênio singlete $^1O_2$	Estado eletronicamente excitado do oxigênio, produzido por reações fotoquímicas ou por outras radiações que reagem com um grande número de moléculas biológicas, incluindo lipídios da membrana, iniciando processos de peroxidação.
Ozônio $O_3$	Produzido no ar atmosférico poluído e por fontes de luz intensa de algumas fotocopiadoras e outros equipamentos. É extremamente

	nocivo para o pulmão, oxidando rapidamente proteínas, DNA e lipídios.
Óxido nítrico ou monóxido de nitrogênio NO•	Sintetizado nos organismos vivos pela ação da enzima óxido nítrico sintase (NOS), que converte o aminoácido L-arginina a NO• + L-citrulina. É um radical abundante que age em vários processos biológicos, incluindo relaxamento muscular, neurotransmissão e regulação imune. Potente vasodilatador, envolvido na regulação da pressão arterial. Quando exposto ao ar, reage com oxigênio para formar NO <sub>2</sub> •
Dióxido de nitrogênio NO <sub>2</sub>	Potente iniciador da peroxidação lipídica em fluidos biológicos.
Peroxinitrito (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	Instável, tempo de vida curto, oxidante potente, propriedades semelhantes ao radical hidroxila, causa danos a muitas moléculas biológicas além de ser capaz de formar •OH.

FONTE: YILDRIM; MAVI; KARA, 2002; VASCONCELOS et al., 2007

Existem, atualmente, cerca de 100 patologias em que se relatam fortes evidências sobre a incidência do estresse oxidativo, o qual parece atuar desde o surgimento até o pleno desenvolvimento dessas doenças (GUTTERIDGE, 1993; HALLIWELL et al., 1995; PORTAL et al., 1995; PAGANO et al., 1998; ZWART et al., 1999; GUERRA, 2001; BRENNAN; PAGLIARINI, 2001; YILDRIM; MAVI; KARA, 2002; AGUDO et al., 2007). Podemos citar entre elas doenças cardiovasculares, neurológicas, endócrinas, respiratórias, doenças auto-imunes, distúrbios isquêmicos, alterações gástricas, carcinogênese e progressão de tumores, envelhecimento, transformação e morte celular, propagação da AIDS em pacientes soropositivos (HIV+), intoxicação por genobióticos, entre outras (QUADRO 3) (HALLIWELL et al., 1995; PORTAL et al., 1995; PAGANO et al., 1998; BRENNAN; PAGLIARINI, 2001; YILDRIM; MAVI; KARA, 2002; AGUDO et al., 2007).

QUADRO 3 - DOENÇAS RELACIONADAS AO ESTRESSE OXIDATIVO.

<b>DOENÇA</b>	<b>NATUREZA DO ENVOLVIMENTO COM ESTRESSE OXIDATIVO</b>
Aterosclerose, Síndrome de Bloom, Síndrome de Down, Kwashiorkor, Doença de Keshan	Falha ou consumo excessivo de defesas antioxidantes.
Doença de Parkinson, estados tóxicos causados por álcool, fumo, CCl <sub>4</sub> etc.	Uso de drogas e toxinas. Na doença de Parkinson as toxinas produzidas estariam envolvidas com a produção de radicais livres.
Doença de Alzheimer, Asma, Artrite reumatóide, asbestose, Síndrome de Insuficiência Respiratória do Adulto	Produção de O <sub>2</sub> •-, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> e HClO por células fagocíticas ativadas.
Esclerose múltipla	Perturbação estrutural da célula. As hemácias tornam-se mais susceptíveis à ação dos radicais livres.
Doença granulomatosa crônica	Defeito genético no sistema antioxidante.
Diabetes mellitus, anoxia, injúria da reperfusão, pré-eclâmpsia	Oxidação anormal de substratos ou mudanças na concentração de oxigênio.
Hipertensão arterial sistêmica	Produção de O <sub>2</sub> •- por NADPH/NADP oxidase
Hemocromatose idiopática, talassemia, anemia falciforme, doença de Wilson	Transferência de elétrons ao oxigênio por metais de transição.
Doença granulomatosa crônica, Deficiência de enzimas antioxidantes (Acatalassemia, por ex.)	Defeito genético no sistema antioxidante, especificamente o sistema NADPH oxidase.

FONTE: BRENNAN; PAGLIARINI, 2001; YILDRIM; MAVI; KARA, 2002; VASCONCELOS et al., 2007; PAVLATOU et al., 2009; CERIELLO; TESTA; GENOVESE, 2016.

Ainda, o estresse oxidativo parece ser um dos elos para o desenvolvimento da resistência periférica à ação da insulina. O aumento da insulina, de ácidos graxos livres e dos níveis de glicose pode resultar em aumento na produção de ROS e, conseqüentemente, em estresse oxidativo (URAKAWA et al., 2003; MENON et al., 2004; SIMAO et al., 2010). Evidências demonstram que o estresse oxidativo desempenha importante papel na patogênese de doenças crônicas como o DM (JOHANSEN et al., 2005; PITTAS et al., 2007; PAVLATOU et al., 2009; CERIELLO; TESTA; GENOVESE, 2016), podendo diminuir o sistema de defesa antioxidante do organismo, aumentando a carga oxidativa (RATNAM et al.,

2006; JAFARI; FALLAH; AZADBAKHT, 2013; MANNA; JAIN, 2015). A formação de radicais livres é aumentada no diabetes, como resultado da glicação das proteínas e da auto-oxidação da glicose (DOKUMACIOGLU et al., 2018)

Vários estudos demonstraram que indivíduos com baixa concentração de antioxidantes apresentam maior risco de complicações do diabetes (GEY et al., 1993; GEY et al., 1991; KATAJA-TUOMOLA et al., 2011; KOSITSAWAT; FREEMAN, 2011; SANKHLA et al., 2012) e que o DM2 está diretamente associado à disfunção endotelial (CALLES-ESCANDON; CIPOLLA, 2001; JOHANSEN et al., 2005; CERIELLO; TESTA; GENOVESE, 2016).

A disfunção endotelial é um desequilíbrio na produção de fatores vasodilatadores e quando este equilíbrio é rompido, predispõe na vasculatura efeitos pró trombóticos, pró-aterogênicos, retinopatia, nefropatia, amputações de membros inferiores, coronários e doenças cardiovasculares (HINK et al., 2003; DUCKWORTH et al., 2001; SASAKI INOBUCHI , 2012), que são as principais causas de morbimortalidade em todo o mundo (STAMLER et al, 1993; BECKMAN; CREAGER; LIBBY, 2002).

### 3.3 ANTIOXIDANTES

Um antioxidante é uma molécula capaz de inibir a oxidação de outras moléculas. No organismo, os antioxidantes interagem com radicais livres antes que estes possam reagir com as moléculas biológicas, evitando que ocorram as reações em cadeia ou prevenindo a ativação do oxigênio a produtos altamente reativos (RATNAM et al., 2006, LOBO et al., 2010).

Embora as reações de oxidação sejam fundamentais para a vida, podem também ser prejudiciais. As plantas e os animais sustentam sistemas complexos de vários tipos de antioxidantes, como glutatona, vitamina C e vitamina E, e ainda enzimas como a catalase, dismutase e várias peroxidases. Enzimas como a superóxido-dismutase (SOD), catalase e glutatona peroxidase promovem a desintoxicação de radicais superóxido, peróxido de hidrogênio e hidroperóxidos

lipídicos, respectivamente (PEREIRA et al., 2009). Baixos níveis de antioxidantes endógenos (seja por menor formação ou maior consumo), inibição das enzimas antioxidantes, aumento da geração de radicais livres, geram um estado pró-oxidante (HAIDA et al., 2011; BHARDWAJ; PANDEY, 2011) .

Segundo Ratnam et al. (2006), o sistema de defesa antioxidante humano não é completo sem os antioxidantes exógenos, o que confirma a importância da ingestão diária destes compostos. (RATMAN et al., 2006; NOGUEIRA et al., 2013). Enquanto antioxidantes como glutathione, ubiquinol e ácido úrico são produzidos durante o metabolismo em estado normal, outros antioxidantes são obtidos da dieta, como vitaminas e minerais (BHARDWAJ; PANDEY, 2011; LOBO et al., 2010).

A partir dos anos 80, houve aumento das pesquisas sobre antioxidantes naturais para o emprego em produtos alimentícios ou para uso farmacêutico, substituindo antioxidantes sintéticos, os quais têm sido restringidos devido ao seu potencial carcinogênico, bem como pela comprovação de diversos outros riscos como aumento do peso do fígado e significativa proliferação do retículo endoplasmático (YILDRIM; MAVI; KARA, 2002; ZHENG; WANG, 2001).

As propriedades antioxidantes de produtos naturais vêm sendo investigadas há alguns anos através de métodos químicos e biológicos (WHITE et al., 2014; SINGH et al., 2015). Entre os componentes antioxidantes biologicamente ativos encontrados nos alimentos destacam-se as vitaminas, compostos fenólicos (flavonoides e ácidos fenólicos) e carotenoides ( $\beta$ -caroteno e licopeno) (PEREIRA et al., 2009), enzimas (superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT)) e glutathione (HYSON, 2011; DUMBRAVĂ et al., 2011). Minerais, principalmente em sua ação como cofatores de enzimas antioxidantes (SOD-Cu / Zn, Mn-SOD e GSH-Pox) também têm sido investigados pelo potencial efeito antioxidante (VISIOLI et al., 2004).

É importante destacar que a ingestão adequada de grupos de alimentos, como vegetais, grãos e frutas, contendo compostos de flavonoides e polifenóis, foi relacionada à prevenção e controle da obesidade, DM2 e doenças cardíacas (VAN DAM et al., 2002; ESTRUCH et al., 2006). Além destas ações, esses compostos inibem a oxidação do LDL, a agregação plaquetária e melhoram a disfunção endotelial, reduzindo o risco de enfarte do miocárdio. Possuem também

efeitos anticancerígenos, na prevenção de doenças neurodegenerativas, proteção contra drogas neurotóxicas, tratamento para prevenir osteoporose, e inibem a absorção de ferro não-heme (MANACH et al., 2005; RUSSO et al., 2001; SCHACHINGER et al., 2000; CORDER et al., 2006; YANG et al., 2001; HALLIWELL, 2001; PAN et al., 2003; ZUNINO et al., 2007; ATMACA et al., 2008; HURRELL et al., 1999).

Vários trabalhos na literatura relatam os efeitos benéficos de algumas vitaminas. A vitamina C, por exemplo, possui ação contra vários tipos de câncer, doenças cardíacas, alterações a nível de cartilagem, articulações e pele. Além disso, ela está relacionada a manutenção do sistema imunológico a partir da melhoria na produção de anticorpos. Com relação à capacidade antioxidante a nível intracelular, a vitamina C parece aumentar a proteção contra quebras de fita de DNA induzidas por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (BARRY, 2008; LIU et al., ET AL, 2002, WANG et al., 2007; WINTERGERST et al., 2006; WOO et al., 2010; THANKACHAN et al., 2008; RISO et al., 2010). Por sua vez, a vitamina E atua na prevenção da doença cardíaca coronária, na prevenção da formação de coágulos sanguíneos, diminui a incidência de câncer de mama e da próstata e atua também na proteção cerebral, com redução do risco de demência a longo prazo e doença de Parkinson (PRYOR, 2000; WEINSTEIN et al, 2007; TRABER et al., 2008; MULLER et al., 2010; DEVORE et al., 2010; MIYAKE et al., 2010). Na literatura, a vitamina D está relacionada ao controle da expressão gênica que pode desencadear uma resposta biológica ao estresse oxidativo, como a inibição da óxido nítrico sintase (iNOS) ou o aumento dos níveis de glutathione (PITTAS et al., 2007; BEVERIDGE et al., 2015).

Os minerais mais citados na literatura, com atividade antioxidante, são Zinco (FAURE et al., 1995; ANDERSON et al., 2001; DUMASIA et al., 2005; KADHIM et al., 2006; GUNASEKARA et al., 2011; MOMEN-HERAVI et al., 2017), Magnésio (BARBAGALLO et al., 2010; BAE et al., 2011; BAHMANI et al., 2016; RAZAGHI et al., 2018), Selênio (BAHMANI et al., 2016; EARLE et al., 2016; RAYGAN et al., 2018), Cromo (CHENG et al, 2004; LAI et al., 2008), Vanádio (DAI et al., 2016; NIU et al., 2016), Cobre (ORANJE et al., 2001) e Cobalto (DESHMUKH et al., 2012).

O zinco é um oligoelemento essencial para muitos processos metabólicos e é importante para o crescimento e desenvolvimento, imunidade, funções neurológicas e reprodução (PRASAD , 1984; KING et al., 2016). A ação do zinco na síntese, armazenamento e liberação de insulina já foi documentado para a Síndrome metabólica (HASHEMPOUR et al., 2009; WANG et al., 2018).

A formação e liberação de óxido nítrico (NO) podem ser modificadas se houver alguma alteração nos níveis de Magnésio extracelular (BARBAGALLO, 2010).

Selenio faz parte da formação das chamadas selenoproteínas, em especial podem-se citar as glutathionas peroxidases e tioredoxinas redutases, que participam nas reações oxidativas no organismo (OGAWA-WONG; SEALE, 2016). Cromo possui ação sobre os níveis de glucose plasmática (ANDERSON et al., 2001).

Alimentos com atividade antioxidante são também documentados em alguns ensaios, com consumo de frutas e vegetais (TANAKA et al., 2012, LUGO-RADILLO et al., 2015), consumo de chá verde (MA et al., 2015), pesquisas de flavanóides em hortifruti (KARADENIZ et al., 2005; SCALZO et al., 2008; KOH et al., 2009; CAO et al., 2010; ROKAYYA et al., 2013; AHMED et al., 2013). O quadro 4 mostra um resumo dos antioxidantes mais comuns localizados em vegetais. No Brasil, a legislação trata estes compostos como Suplementos alimentares.

QUADRO 4 - TIPOS E FONTES ANTIOXIDANTES DERIVADOS DE PLANTAS.

Antioxidante	Ação	Mecanismo	Fontes
Ácido Ascórbico	Eliminação de ROS	Interação sacrificial para limpar ROS através de mecanismos de substituição ou substratos recicláveis	Frutas e vegetais, particularmente morangos, cítricos, kiwi, couve de Bruxelas, couve-flor, alguns legumes verdes de origem chinesa.
Vitamina E	Extinguindo ROS e quebra de cadeia	Absorção de elétrons e / ou energia	Folhas verdes; frutos secos (nozes), óleos vegetais, em especial o de girassol.
Carotenóides	Quebra de cadeia	Quebra de cadeia a baixas pressões parciais de oxigênio	Laranjas, frutas vermelhas e vegetais, vegetais de folhas verdes, pimentas

continua

Flavonoides	Eliminação de ROS	Interação sacrificial	continuação Frutas (ex. morango, uva, maçã, cerejas), cebola, chás, vinho, ervas (ex. salsa, tomilho)
-------------	-------------------	-----------------------	--

Fonte: Adaptado de BENZIE; CHOI, 2014

### 3.4 SUPLEMENTOS ALIMENTARES

A promoção de uma vida saudável e prevenção de doenças têm sido o foco de sociedades ocidentais modernas na atualidade. A procura de uma saúde ideal tornou-se um projeto de vida, que levou a discussões constantes sobre uma alimentação saudável (NIVA; MAKELÃ, 2007; WATERHOUSE, 2011). Na década de 80, surgiu no Japão o termo “Alimento Funcional” (AMEYE; CHEE, 2006), visando cuidados de saúde de uma população em envelhecimento, buscando novas metodologias para incrementar a prospecção de saúde, através de um projeto nacional para explorar a ligação existente entre alimentação e as ciências médicas (BERRY, 2002; WATERHOUSE, 2011).

O termo alimento funcional apareceu pela primeira vez na revista Nature em 1993 com uma chamada que relacionava as ciências farmacêuticas e da nutrição com a utilização de alimentos como forma de prevenção de doenças (SWINBANKS; O'BRIEN, 1993; HENRY, 2010).

Através deste estudo realizado no Japão, deriva-se o conceito de que alimentos poderiam controlar funções metabólicas, minimizando o surgimento de doenças ou atuando na prevenção das mesmas (FERRARI, 2004). A partir disso, surge também o termo “nutracêutico”, proposto por DeFelice em 1989, definido originalmente como um alimento (ou parte de) que possui compostos medicinais com ações benéficas à saúde, incluindo a prevenção e tratamento de doenças (ZEISEL, 1999). Este conceito evolui após uma década, para denominar substâncias químicas que poderiam ser utilizadas de forma isolada na prevenção ou tratamento de doenças. Como exemplo destas citam-se os minerais e

vitaminas e substâncias extraídas de plantas (FERRARI, 2004; AMEYE; CHEE, 2006; PUSHANGADAN et al., 2014).

No Brasil, a legislação para estas substâncias encontram-se regulamentadas sob a Resolução nº 16, de 30 de abril de 1999, da ANVISA, que também define estas substâncias como “novos alimentos”:

*ALIMENTOS OU NOVOS INGREDIENTES: são os alimentos ou substâncias sem histórico de consumo no País, ou alimentos com substâncias já consumidas, e que entretanto venham a ser adicionadas ou utilizadas em níveis muito superiores aos atualmente observados nos alimentos utilizados na dieta regular (BRASIL, 1999a).*

A Resolução nº 18 (BRASIL, 1999b) estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. A Resolução nº 19 (BRASIL, 1999c) aprova o registro de alimentos com alegação de propriedades funcionais e a RDC 360 (BRASIL, 2003) regulamenta as Ingestas Diárias Recomendadas (IDR), para macro e micronutrientes.

### 3.5 REVISÃO SISTEMÁTICA

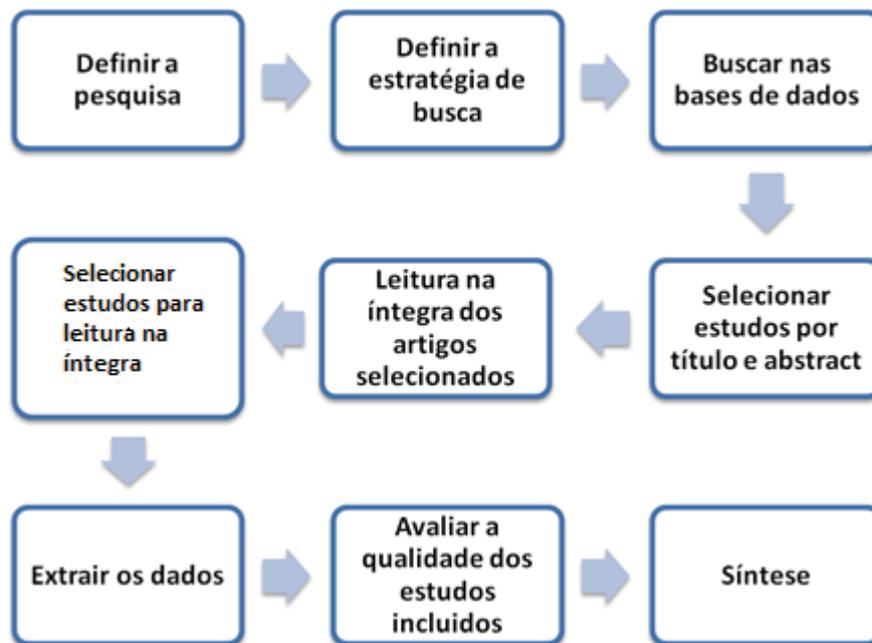
O fluxo contínuo de informações aos quais os profissionais de saúde são submetidos pode dificultar o processo de tomadas de decisões. A prática baseada em evidências teve origem no trabalho do epidemiologista britânico Archie Cochrane, e o seu desenvolvimento ocorreu paralelamente ao acesso à informação. O avanço tecnológico possibilitou intensificar o acesso aos resultados de pesquisas e o desenvolvimento de metodologia de pesquisa (ESTABROOKS, 1998; HAMER, 1999).

A revisão sistemática é uma síntese rigorosa de todas as pesquisas relacionadas com uma questão específica; a pergunta pode ser sobre causa, diagnóstico, prognóstico de um problema de saúde; mas, frequentemente, envolve a avaliação dos efeitos ou riscos e benefícios de uma intervenção em uma doença ou desordem clínica. A revisão sistemática difere da revisão tradicional, uma vez que busca superar possíveis vieses em todas as etapas, seguindo um

método rigoroso de busca e seleção de pesquisas; avaliação da relevância e validade das pesquisas encontradas; coleta, síntese e interpretação dos dados oriundos das pesquisas (CILISKA et al., 2001; GALVÃO et al., 2003).

Os processos de Revisão Sistemática são elaborados de tal forma que são metódicos, explícitos e passíveis de reprodução. Esse tipo de estudo serve para nortear o desenvolvimento de projetos, indicando novos rumos para futuras investigações e identificando quais métodos de pesquisa foram utilizados em uma área (SAMPAIO; MANCINI, 2007). A FIGURA 5 apresenta um esquema resumido das etapas do processo para realização da revisão sistemática

FIGURA 5 - O PROCESSO COMUM DE REVISÃO CONDUZIDO PARA REVISÃO SISTEMÁTICA DE ECRs E PARA OVERVIEW.



Fonte: a autora.

## 4 MÉTODOS

Para cumprir os objetivos propostos foram conduzidas revisões sistemáticas da literatura com meta-análise, seguindo as recomendações da Colaboração Cochrane e PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses) (HIGGINS; GREEN, 2011; MOHER et al., 2009). Todas as etapas das revisões sistemáticas foram realizadas por dois revisores independentes e as discrepâncias foram resolvidas durante reuniões de consenso. Quando necessário, um terceiro revisor foi consultado.

### 4.1 Revisão sistemática do potencial antioxidante de vitaminas em pacientes com DM2

A revisão sistemática foi realizada por meio de buscas sistemáticas nas bases de dados eletrônicas PubMed, Scopus e Web of Science (18 de dezembro de 2017). Além disso, realizou-se uma pesquisa manual das listas de referência dos artigos incluídos, em revisões da literatura e bancos de dados de registro de ensaio clínicos. Os seguintes termos e seus variantes foram utilizados para construção das estratégias de busca: "clinical trials"; "vitamin"; "diabetes mellitus"; "antioxidant"; combinados com os operadores booleanos AND / OR. As estratégias de pesquisa completas encontra-se como Apêndice 1.

Os estudos incluídos deveriam abranger os critérios estabelecidos por meio do acrônimo PICOS (população, intervenção, comparador (controle), desfechos (*outcomes*) e desenho do estudo – *study design*), descritos a seguir:

- População: indivíduos adultos (maiores de 18 anos) de qualquer sexo, diagnosticados com DM2 em qualquer fase da doença, com ou sem outras comorbidades.
- Intervenção: qualquer vitamina ou complexo vitamínico, administradas isoladamente ou em combinação com outras vitaminas, micronutrientes ou minerais, independentemente da forma, dosagem, duração ou via de administração.

- Controle: placebo ou nenhum tratamento, ou outras vitaminas (controle ativo).
- Desfechos: foram considerados como desfechos primários aqueles relacionados ao potencial antioxidante das vitaminas (efeito sobre enzimas, estresse oxidativo e endotelial). Outros desfechos como alterações de parâmetros fisiológicos (glicemia, colesterol total, LDL-c, HDL-c, triglicerídeos, pressão arterial, circunferência abdominal), eventos adversos e descontinuações do tratamento também foram considerados durante a coleta de dados.
- Tipo de estudo: ensaios clínicos randomizados controlados (ECR) e coorte.

Dois pesquisadores selecionaram de forma independente títulos e resumos para identificar registros irrelevantes. Numa segunda fase, foram avaliados artigos de texto completo para identificar qualquer um dos seguintes critérios de exclusão: outras intervenções que não vitaminas; populações diferentes (outros tipos de diabetes); e artigos publicados em caracteres não-Romanos.

#### 4.1.2 Extração de dados e avaliação da qualidade metodológica

Os estudos incluídos tiveram seus dados extraídos em planilhas pré-formatadas no Excel. Foram extraídas informações com relação ao autor/ano de publicação, país, características basais dos indivíduos avaliados, tipo e condições de administração das vitaminas, resultados dos efeitos das vitaminas sobre os parâmetros fisiológicos e potenciais eventos adversos.

A qualidade metodológica de cada estudo foi avaliada a fim de remeter ao grau de confiança do desenho, condução e análise do estudo que limitem a ocorrência de viés. Os ensaios clínicos randomizados foram avaliados pela escala de Jadad, que consiste em cinco perguntas que avaliam os domínios de randomização, cegamento e descrição de perdas e exclusão. As perguntas que devem ser respondidas para cada artigo selecionado para leitura na íntegra são:

- 1) O estudo foi descrito como randomizado?
- 2) O método de randomização é adequado?
- 3) O estudo foi descrito como duplo-cego?
- 4) O método de mascaramento foi usado adequadamente?
- 5) Foram descritas as perdas e desistências?

Para as perguntas 1, 3 e 5, cada resposta “sim” equivale a um ponto e cada resposta “não” equivale a zero. Já nas perguntas 2 e 4 cada resposta “sim” soma-se um ponto e cada resposta “não” deve ser subtraído um ponto. Nos casos em que o estudo não apresentou respostas ou não foi claro quanto às questões 2 ou 4, o valor atribuído a estas foi zero. Artigos com valores abaixo de 3 pontos têm qualidade fraca, com valor 3 são classificados como qualidade moderada e maior que 3 pontos qualidade elevada (JADAD, 1996). Nenhum estudo foi excluído por apresentar qualidade baixa.

Além desta escala, o risco de viés dos estudos foi avaliado também por meio da ferramenta da Cochrane disponibilizada no Cochrane – Handbook de revisões sistemáticas de intervenções em saúde (THE COCHRANE COLLABORATION, 2011). Com essa ferramenta realiza-se a análise do estudo em 6 domínios metodológicos, sendo considerados os seguintes vieses: viés de seleção, performance, detecção, atrito, publicação e outras fontes de vieses. Para cada domínio o estudo é classificado como risco de viés baixo, alto ou incerto (HIGGINS; GREEN, 2011).

## 4.2. Revisão sistemática do potencial antioxidante de minerais em pacientes com DM2

### 4.2.1 Estratégias de busca e critérios de elegibilidade

A revisão sistemática foi realizada por meio de buscas sistemáticas nas bases de dados eletrônicas PubMed, Scopus e Web of Science (10 de agosto de 2018). Esta pesquisa realizou-se pela necessidade de verificarmos a capacidade antioxidante da suplementação dos oligoelementos. Realizou-se também

pesquisa manual, similar à busca de vitaminas, de acordo com pesquisas dados da literatura. Os seguintes termos e seus variantes foram utilizados para construção das estratégias de busca: "Clinical trials"; "Zinc"; "Magnesium"; "Selenium"; "Chromo"; "diabetes mellitus"; "antioxidant"; combinado com os operadores booleanos AND / OR. As estratégias de pesquisa completas encontram-se como Apêndice 2.

Os estudos incluídos deveriam abranger os critérios estabelecidos por meio do acrônimo PICOS:

- População: indivíduos adultos (maiores de 18 anos) de qualquer sexo, diagnosticados com DM2 em qualquer fase da doença, com ou sem outras comorbidades.
- Intervenção: qualquer mineral ou complexo mineral, administradas isoladamente ou em combinação com outros minerais, micronutrientes ou vitaminas, independentemente da forma, dosagem, duração ou via de administração.
- Controle: placebo ou nenhum tratamento, ou outros minerais (controle ativo).
- Desfechos: foram considerados como desfechos primários aqueles relacionados ao potencial antioxidante de minerais (efeito sobre enzimas, estresse oxidativo e endotelial). Outros desfechos como alterações de parâmetros fisiológicos (glicemia, colesterol total, LDL-c, HDL-c, triglicerídeos, pressão arterial, circunferência abdominal), eventos adversos e descontinuações do tratamento também foram considerados durante a coleta de dados.
- Tipo de estudo: ensaios clínicos randomizados controlados (ECR) e coorte.

Dois pesquisadores selecionaram de forma independente títulos e resumos para identificar registros irrelevantes. Foram avaliados artigos de texto completo para identificar qualquer um dos seguintes critérios de exclusão: outras intervenções que não vitaminas; populações diferentes (outros tipos de diabetes); e artigos publicados em caracteres não-Romanos.

#### 4.2.2 Extração de dados e avaliação da qualidade metodológica

Os estudos incluídos tiveram seus dados extraídos em planilhas pré-formatadas no Excel. Foram extraídas informações com relação ao autor/ano de publicação, país, características basais dos indivíduos avaliados, tipo e condições de administração dos minerais, resultados dos efeitos dos minerais sobre os parâmetros fisiológicos e potenciais eventos adversos.

A qualidade metodológica de cada estudo foi avaliada pela escala de Jadad. O risco de viés dos estudos foi avaliado também por meio da ferramenta da Cochrane disponibilizada no Cochrane – Handbook de revisões sistemáticas de intervenções em saúde (THE COCHRANE COLLABORATION, 2011; HIGGINS; GREEN, 2011).

#### 4.3 TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS RESULTADOS

As análises estatísticas (meta-análises) dos estudos incluídos foram feitas com auxílio do software Review Manager (versão 5.3) para avaliação das medidas dos principais desfechos.

Para cada meta-análise, usou-se o modelo do efeitos randômicos e o método do inverso da variância (IV) para interpolar as diferenças médias (MD) ou diferenças médias padronizadas (SMD) de cada estudo.

Os resultados são relatados com intervalo de confiança de 95% (IC). Um valor de p inferior a 0,05 (bicaudal) foi considerado indicativo de diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

A heterogeneidade entre os ensaios foi avaliada usando o valor do índice de inconsistência ( $I^2$ ). Heterogeneidade alta e significativa é observada quando  $I^2 \geq 50\%$ , moderada quando  $25\% < I^2 < 50\%$ , e baixa quando observam-se valores de  $I^2 \leq 25\%$  (HIGGINS; GREEN, 2011).

Também realizaram-se análises de sensibilidade para testar a robustez dos resultados e avaliar o impacto de qualquer estudo na heterogeneidade e no resultado final das análises. A análise consistiu na hipotética remoção seqüencial de estudos da meta-análise. Quando possível, as análises de subgrupo também foram realizadas.

## 5 RESULTADOS

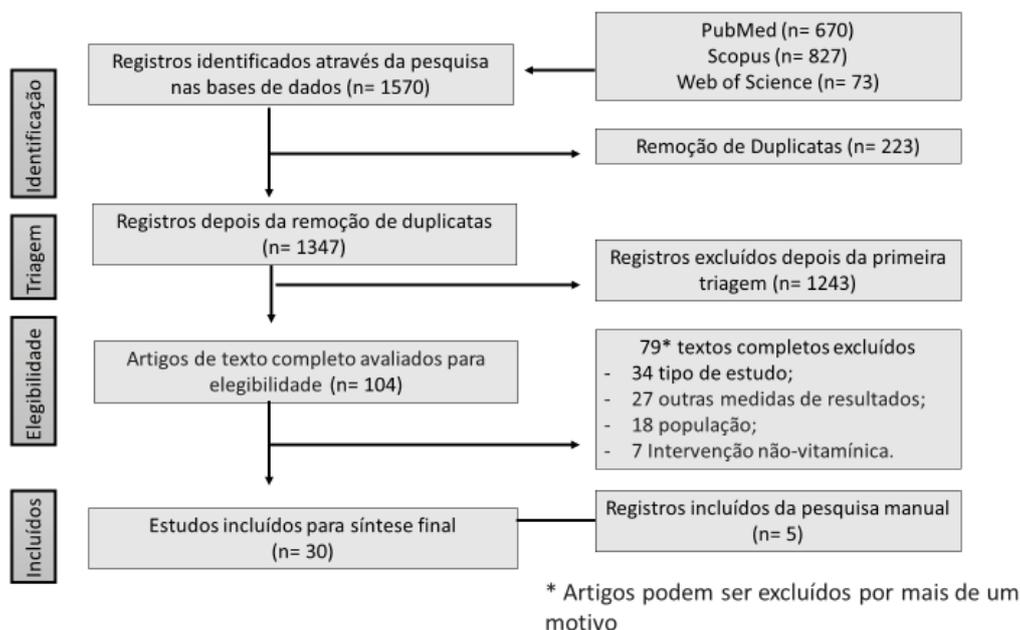
### 5.1 REVISÃO SISTEMÁTICA DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE VITAMINAS EM PACIENTES COM DM2

Após a busca sistemática realizada nas bases de dados, 1.570 registros foram recuperados, sendo 223 excluídos como duplicatas. Durante o processo de leitura de título e resumo dos registros (triagem), 1.243 estudos foram excluídos e 104 foram considerados para avaliação de texto completo (leitura na íntegra), dos quais 25 ECRs foram incluídos para análise. Cinco estudos foram adicionados por buscas manuais, finalmente abrangendo 30 ECRs (REAVEN et al., 1995; PAOLISSO et al., 2000; MANZELLA et al., 2001; MULLAN et al., 2002; PARK et al., 2002; ANTONIADES et al., 2004; BLE-CASTILLO et al., 2005; LU et al., 2005; CHEN et al., 2006; ANDERSON et al., 2006; WINTERBONE et al., 2007; WU et al., 2007; LAI, 2008; SUGDEN et al., 2008; JORDE, 2009; TESSIER et al., 2009; SHAB-BIDAR; WITHAM et al., 2010; AGHAMOHAMMADI et al., 2011; MAZLOOM et al., 2011; NIKOOYEH et al., 2011; GARIBALLA; AFANDI; YASSIN, 2013; YIU et al., 2013; HAGHIGHAT et al., 2014; NIKOOYEH et al., 2014; MAHMOUDABADI; RAHBAR, 2014; HEJAZI et al., 2015; JAMALAN et al., 2015; DJAZAYERY, 2015; VAFA et al., 2015; DALAN et al., 2016; MASON et al., 2016;) (FIGURA 6). As principais características dos estudos incluídos são fornecidas na TABELA 1.

Todos os estudos envolveram pacientes com diagnóstico de DM2 (n = 1.430) e foram realizados principalmente no Irã (n = 9 ECRs); seguido pelo Reino Unido (n = 4) e Estados Unidos da América (n = 3). As intervenções avaliadas foram: vitamina B (n = 1 estudo), vitamina C (n = 10); vitamina D (n = 7); vitamina E (n = 11) e mistura de vitaminas B, C e E (n = 1). Em quatro destes estudos (13,3%), as vitaminas foram administradas através da fortificação de alimentos (óleo ou iogurte) (HAGHIGHAT et al., 2014, NIKOOYEH et al., 2014; SHAB-BIDAR; DJAZAYERY, 2015; VAFA et al., 2015).

Placebo ou controle negativo foram os principais comparadores em 29 estudos (96,7%), enquanto oito ECR (26,7%) incluíram comparações diretas entre vitaminas (*head-to-head*). A duração dos ECRs variou de duas a 24 semanas e a idade dos pacientes variou de 46 a 72 anos.

FIGURA 6 - FLUXOGRAMA DO PROCESSO DE REVISÃO SISTEMÁTICA PARA VITAMINAS



No geral, a qualidade metodológica dos estudos incluídos foi baixa-moderada, com uma pontuação média de Jadad de 2,7 (intervalo de 1 a 5). Todos os estudos pontuaram na randomização, mas apenas 20,0% deles descreveram adequadamente esse método. Apenas metade dos estudos é duplo-cega. No entanto, desses, somente dois descrevem adequadamente o método de cegamento. Quase todos os estudos (90,0%) apresentaram as razões para perda ou desistência de pacientes do estudo.

A avaliação do risco de viés (GRÁFICOS 1 e 2) demonstrou que em torno de 75% dos ECRs foram considerados de baixo risco de viés para os domínios de randomização, reporte seletivo e ausência de dados incompletos. No entanto, a ocultação da alocação foi considerada incerta em 25 ECRs (86,2%). Em torno de 70,0% dos estudos foram financiados por indústrias farmacêuticas ou relataram a presença de conflitos de interesse (outros vieses).

TABELA 1 - CARACTERÍSTICAS DO ESTUDOS INCLUÍDOS PARA VITAMINAS.

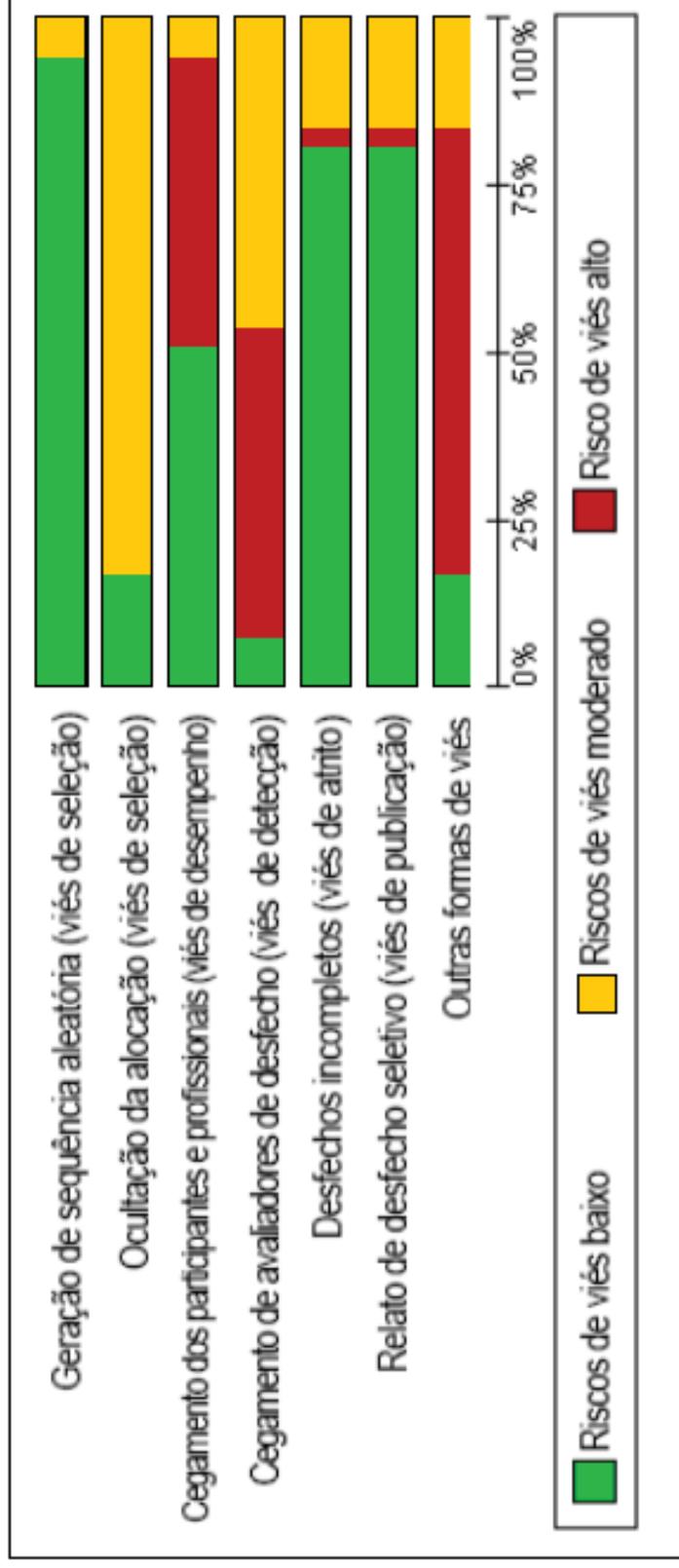
Autor, ano	País	Tratamentos via oral	N	Duração	Idade (Anos) Média e DP	Homens %	Jadad Score
<b>Aghamohammadi, 2011</b>	Ira	Vitamina B9 5 mg/dia Placebo	70	8 semanas	58.7 ± 7.2 55.6 ± 9.3	100	3
<b>Anderson, 2006</b>	Gales	Vitamina C 1,000 mg/dia Placebo	20	6 semanas	52.7 ± 6.9 53.6 ± 7.9	40.0	2
<b>Antoniades, 2004</b>	Grécia	Vitamina C 2,000 mg/dia Placebo	17	4 semanas	48.5 ± 6.6 52.6 ± 5.9	58.8	1
<b>Baliarsingh, 2005</b>	Índia	A randomized, double blind, placebo controlled, parallel, 2 groups design Vitamin E (2 capsules TRF 400 IU/dia) Placebo	19	12 meses	48.5 ± 6.6 52.6 ± 5.9	diabetes type 2	30; 9
<b>Ble-Castillo, 2005</b>	Estados Unidos	Vitamina E 800 IU/dia Placebo	33	6 semanas	51.3 ± 14.0 55.3 ± 11.6	0	2
<b>Chen, 2006</b>	Estados Unidos	Vitamina C 800 mg/dia Placebo	32	4 semanas	50.0 ± 1.0	40.6	3
<b>Dalan, 2016</b>	Singapura	Vitamina D 4,000 IU/dia Vitamina D 2,000 IU/dia Placebo	64	16 semanas	52.2 ± 8.2 54.8 ± 10.8	51.6	5
<b>Gariballa, 2013</b>	Emirado Arabes	Vitamin complex (B, C, E) Placebo	100	12 semanas	52 (44–56) 51 (42-60)	41.0	2
<b>Haghighat, 2014</b>	Ira	Vitamina E óleo de Canola enriquecido 15 ml/dia Placebo óleo	45	8 semanas	55.9 ± 5.9 55.2 ± 5.6	26.7	2
<b>Hejazi, 2015</b>	Ira	Vitamina E 400 IU/dia Placebo	27	6 semanas	48.0 ± 6.3 46.6 ± 7.6	26.0	3
<b>Jamalan, 2015</b>	Ira	Vitamina C 1,000 mg/dia	80	4 semanas	52.0 ± 8.0	100	2

Autor, ano	País	Tratamentos via oral	N	Duração	Idade (Anos) Média e DP	Homens %	Jadad Score
Vitamina E 300 mg/dia							
<b>Jorde, 2009</b>	Noruega	Vitamina D 40,000 IU/semana Placebo	32	24 semanas	57.7 ± 9.7 54.8 ± 5.9	56.2	2
<b>Lai, 2008</b>	Japão	Vitamina C 1000 µg Vitamina E 800 IU + cromo Placebo	30	24 semanas	53.2 ± 2.0 51.5 ± 1.7 50.5 ± 1.9	46.7	3
<b>Lu, 2005</b>	Suécia	Vitamina C 3,000 mg/dia Placebo	20	2 semanas	-	60.0	2
Acido Eicosapentaenoico 500mg/dia							
Vitamina C 200mg/dia							
Vitamin C + eicosapentaenoic acid							
Placebo							
<b>Mahmoudabadi, 2014</b>	Ira		81	8 semanas	54.0 ± 5.0 53.0 ± 5.0 52.0 ± 6.0 50.0 ± 8.0	100	2
<b>Manzella, 2001</b>	Itália	Vitamina E 600 mg/dia Placebo	50	16 semanas	64.3 ± 4.7 65.1 ± 3.9	-	3
<b>Mason, 2016</b>	Austrália	Vitamina C 1,000mg/dia Placebo	13	16 semanas	59.4 ± 3.5	92.3	3
<b>Mazloom, 2011</b>	Ira	Vitamina C 1,000mg/dia Placebo	27	6 semanas	47.0 ± 8.9 46.6 ± 7.6	42.1	2
<b>Mullan, 2002</b> (Mullan, Young et al. 2002)	Reino Unido	Vitamina C 500mg/dia Placebo	30	4 semanas	61.0 ± 6.5 57.9 ± 6.6	73.4	3
iogurte (150 mg calcium/250 mL)							
Vitamina D fortificada (150 mg calcium + 500 IU/250 mL)							
<b>Nikooyeh, 2011/2014</b>	Ira	Vitamina D fortificada (250 mg de cálcio + 500 IU/250 mL) *duas garrafas/dia = 500 mL/dia	90	12 semanas	50.8 ± 6.6 51.4 ± 5.4 49.9 ± 6.2	38.9	2

Autor, ano	País	Tratamentos via oral	N	Duração	Idade (Anos) Média e DP	Homens %	Jadad Score
<b>Paolisso, 2000</b>	Itália	Vitamina E 600 mg/dia Placebo	40	8 semanas	58.3 ± 6.4 56.7 ± 5.3	52.5	3
<b>Park, 2002</b>	Coreia	Vitamina E 200 mg/dia Placebo	98	8 semanas	49.4 ± 9.3 49.5 ± 10.1	59.2	2
<b>Reaven, 1995</b>	Estados Unidos	Vitamina E 1,600 IU/dia Placebo	21	10 semanas	60.8 ± 6.1 61.8 ± 8.4	100	2
<b>Shab-Bidar, 2015</b>	Ira	Vitamina D iogurte fortificado de 500 UI, 500ml/dia iogurte	100	12 semanas	52.6 ± 6.3 52.4 ± 8.4	43.0	3
<b>Sugden 2007</b>	Reino Unido	Vitamina D 100 000 IU/dia Placebo	34	8 semanas	64.9 ± 10.3 63.5 ± 9.5	52.9	5
<b>Tessier, 2009</b>	Canadá	Vitamina C 500 mg/dia Vitamina C 1000 mg/dia Placebo	36	12 semanas	72.0 ± 5.0 72.0 ± 4.0 71.0 ± 4.0	22.2	3
<b>Vafa, 2015</b>	Ira	Vitamina E óleo de canola enriquecido 15 ml/ dia Óleo de Canola	45	8 semanas	55.9 ± 5.9 55.2 ± 5.6	73.3	4
<b>Winterbone, 2007</b>	Reino Unido	Vitamina E 1,200 IU α-tocoferol/ dia Placebo	19	4 semanas	62.7 ± 1.8 61.9 ± 1.9	100	2
<b>Witham, 2010</b>	Reino Unido	Vitamina D3 100,000 IU/ dia Vitamina D3 200,000 IU/ dia Placebo	41	16 semanas	65.3 ± 11.1 63.3 ± 9.6 66.7 ± 9.7	67.2	3
<b>Wu, 2007</b>	Austrália	Vitamina E α-tocoferol 500 mg/ dia Vitamina E mistura de tocoferóis 500 mg/dia Placebo	55	6 semanas	64.0 ± 7.0 58.0 ± 4.0 62.0 ± 7.0	74.5	2

Autor, ano	País	Tratamentos via oral	N	Duração	Idade (Anos) Média e DP	Homens %	Jadad Score
Yiu, 2013	China	Vitamina D 500 IU/ dia Placebo	100	12 semanas	65.8 ± 7.3 64.9 ± 8.9	50.0	4

GRÁFICO 1 - AVALIAÇÃO GLOBAL DO RISCO DE VIÉS PELA FERRAMENTA COCHRANE DA SUPLEMENTAÇÃO VITAMÍNICA.



FONTE: a Autora



## 5.2 META-ANÁLISES DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE VITAMINAS EM PACIENTES COM DM2

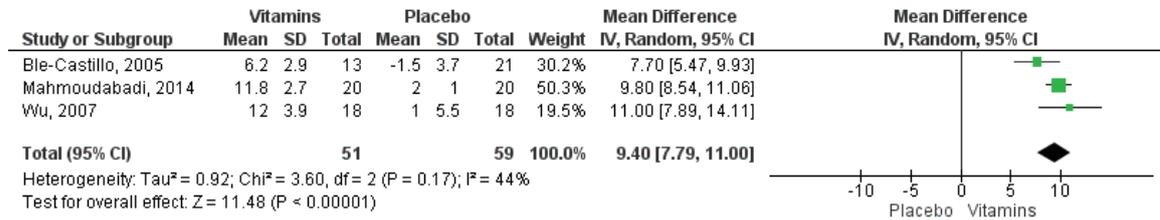
Considerando os desfechos de interesse relacionados ao potencial antioxidante das vitaminas, doze ECRs puderam ser incluídos nas meta-análises de intervenção (vitamina) versus placebo / controle negativo. Nem todos os estudos foram estatisticamente avaliados uma vez que os resultados nem sempre eram comparáveis (por exemplo, falta de dados brutos). Além disso, a coleta de evidências, especialmente sobre o potencial antioxidante, foi dificultada devido à falta de padronização dos resultados relatados nos ensaios clínicos (por exemplo, dados inconsistentes, diferentes medidas de desfecho, escalas e unidades reportadas).

Meta-análises foram obtidas para o aumento dos níveis de GPx (Unidades / grama de Hemoglobina - U / g Hb), reduções de MDA (nmol / L) e TBARS ( $\mu\text{mol} / \text{L}$ ) e mudanças favoráveis no TAC (mmol / L) e SOD (U / g Hb). Nestes casos, não foram realizadas análises de subgrupos devido ao número limite de estudos.

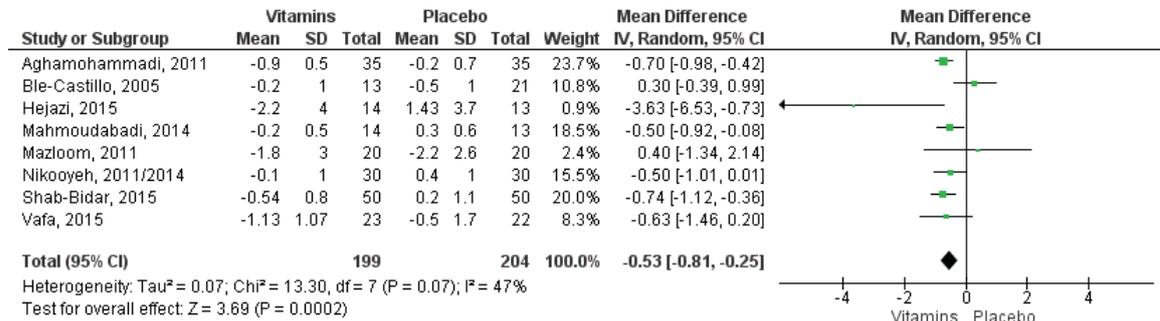
No geral, os resultados foram estatisticamente diferentes contra placebo e favoreceram o uso de vitaminas com valores de diferença entre médias - *mean difference* (MD) de 9,40 (intervalo de confiança (IC) de 95% [7,79; 11,00]) para GPx e MD de -0,53 (95% IC [-0,81; -0,25]) para redução de MDA, com valores de  $I^2$  de 44% e 47%, respectivamente. As vitaminas também foram superiores ao placebo na redução de TBARS com um efeito global *standard mean difference* (SMD) de -4.84 (95% IC [-6.01; -3.67]) ( $I^2 = 54\%$ ), e no aumento do TAC (SMD de 0.38; 95% IC [0.11; 0.65]). Estes resultados positivos vieram principalmente de estudos nos quais as intervenções foram vitamina E (n = 7 ensaios) (BLE-CASTILLO et al., 2005; HEJAZI et al., 2015; LAI, 2008; MANZELLA et al., 2001; PAOLISSO et al., 2000; VAFA et al., 2015; WU et al., 2007); vitamina C (n = 2) (MAHMOUDABADI et al., 2014; MAZLOOM et al., 2011) e vitamina D (n = 2) (Nikooyeh et al., 2014; SHAB-BIDAR et al., 2015) (GRÁFICO 3). Observaram-se diferenças estatísticas entre uso de vitaminas versus placebo nos níveis de SOD (SMD 0,64 [0,11; 1,17]).

GRÁFICO 3 - META-ANÁLISES DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE VITAMINAS COMPARADAS A PLACEBO.

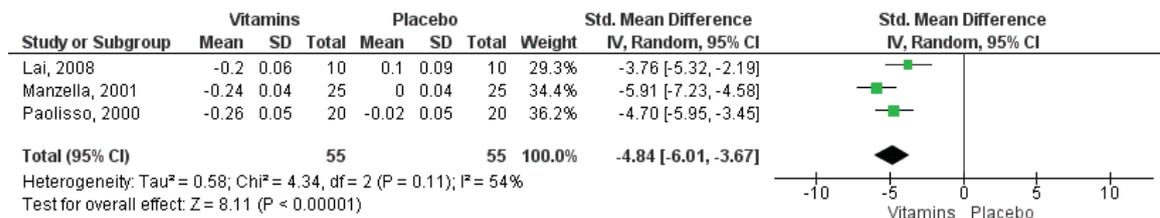
(A)



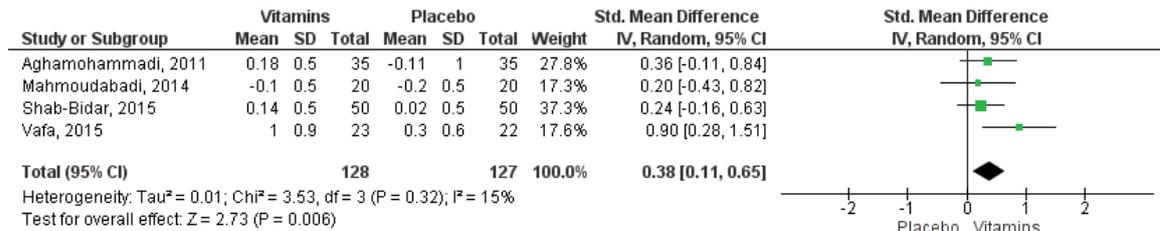
(B)



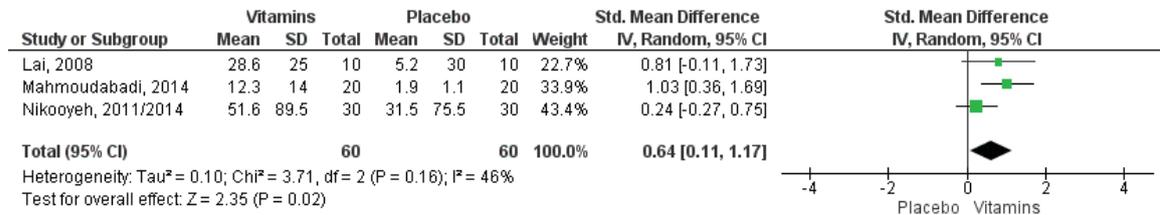
(C)



(D)



(E)



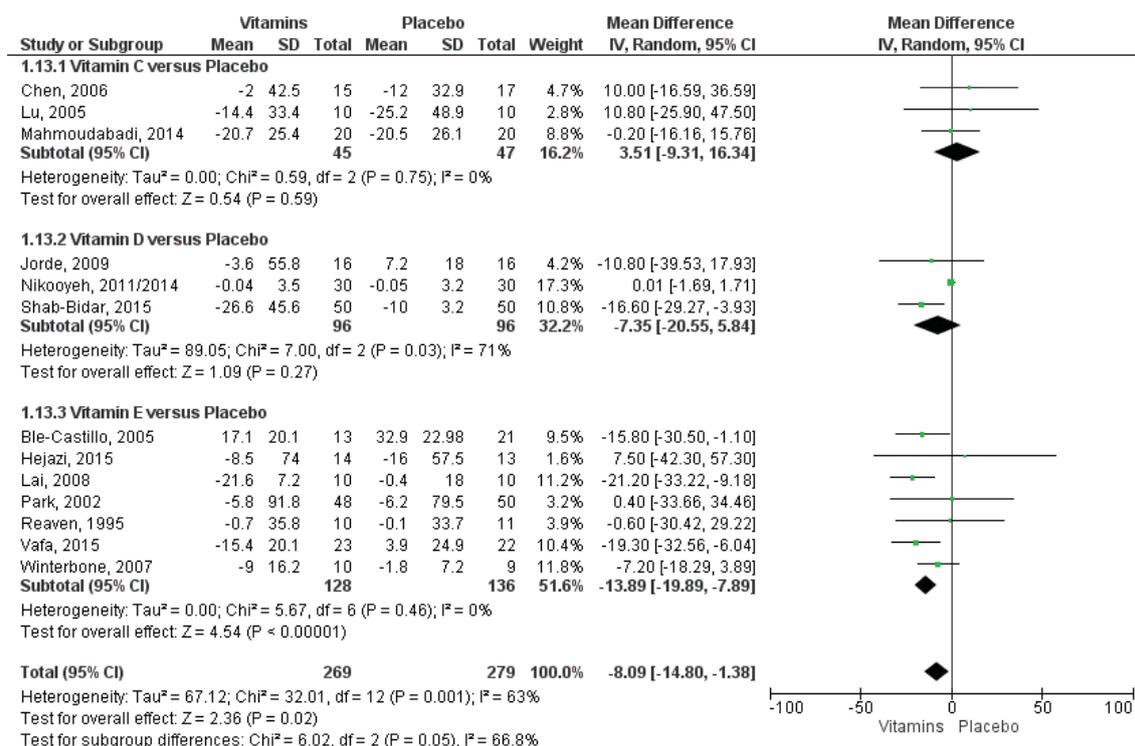
(A) aumento do nível de Glutaciona Peroxidase - GPx (U / g Hb); (B) redução de Malodialdeído - MDA (nmol / L); (C) redução de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico - TBARS (µmol / L); (D) alterações na Capacidade Antioxidante Total - TAC (mmol / L); (E) mudanças na Superóxido Dismutase

- SOD (U / g). Método estatístico: diferença entre médias (MD) e Diferença padrão entre médias (SMD) Modelo inverso da variância (IV), randômico, intervalo de confiança (CI) de 95%.

## 5.2.2 Meta-análises do efeito da suplementação vitamínica sobre a glicemia

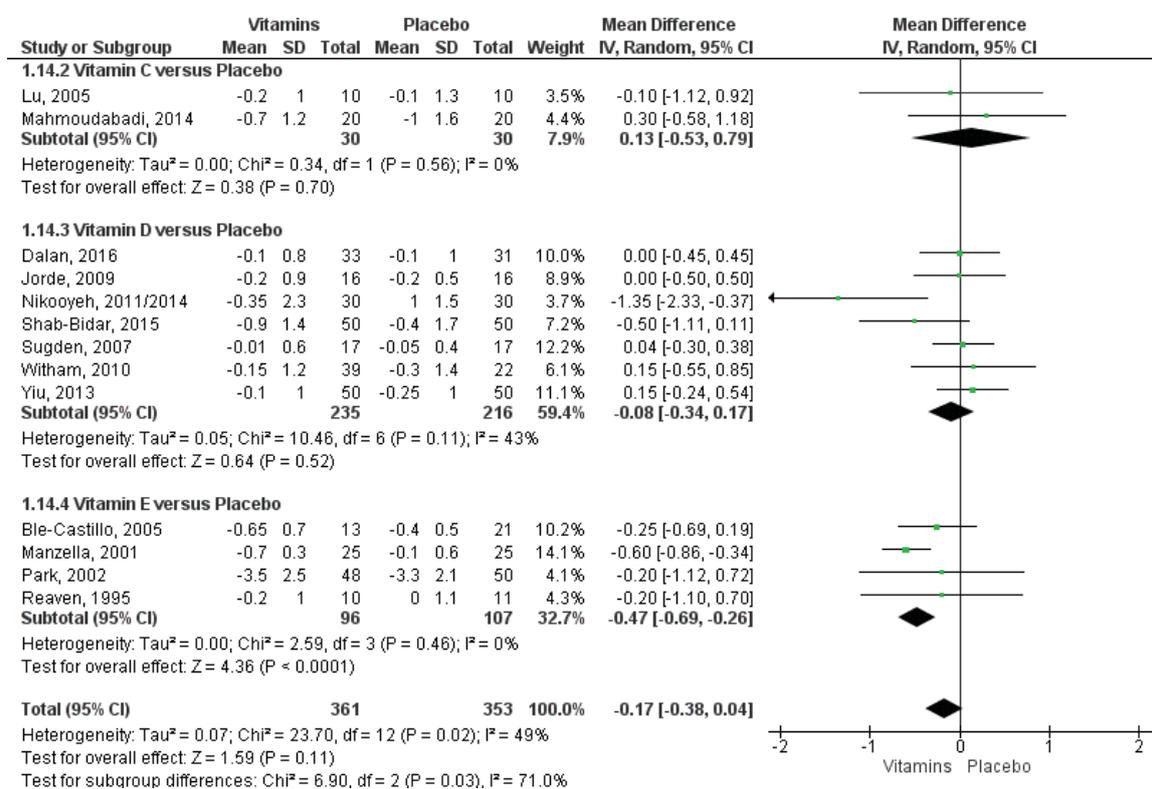
As meta-análises dos parâmetros de controle glicêmico incluíram 13 ECRs e são mostradas nos gráficos 4 e 5. Não foram observadas diferenças estatísticas nas análises de subgrupos comparando as vitaminas C ou D com o placebo. No entanto, para ambos os desfechos de mudança na glicemia (mg / dL) e redução de HbA1c (em porcentagem), os efeitos da vitamina E foram significativamente melhores quando comparados ao controle (valores de MD - 13,89 (IC 95% [ -19,89; -7,89]) e MD -0,47 (IC 95% [-0,69; -0,26]), respectivamente).

GRÁFICO 4 - META-ANÁLISE DO EFEITO DE VITAMINAS COMPARADAS A PLACEBO SOBRE A GLICEMIA EM JEJUM (mg/dL).



Método estatístico: diferença entre médias (MD). Modelo inverso da variância (IV), randômico, intervalo de confiança (CI) de 95%.

GRÁFICO 5 - META- ANÁLISE DO EFEITO DE VITAMINAS COMPARADAS A PLACEBO SOBRE HbA1C



Método estatístico: diferença entre médias (MD). Modelo inverso da variância (IV), randômico, intervalo de confiança (CI) de 95%.

A heterogeneidade moderada-alta foi observada em algumas meta-análises (I<sup>2</sup> variando de 15% a 71%). Análises de sensibilidade foram realizadas com todas as meta-análises e, apesar da remoção hipotética sequencial de estudos com redução na heterogeneidade, os resultados permaneceram inalterados. Diferenças nas características intrínsecas dos estudos incluídos, a condução e concepção de ensaios com baixa qualidade, tamanhos de amostra e condições do paciente com possíveis comorbidades e diferentes tratamentos farmacológicos, tipo de intervenção e diferenças nas medidas de resultados podem explicar essas discrepâncias.

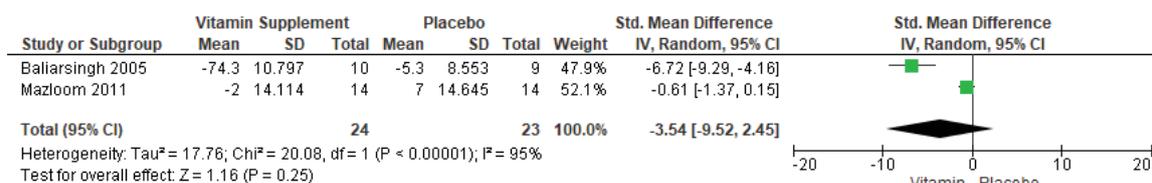
### 5.2.3 Meta-análises do efeito de vitaminas sobre efeito Hipolipemiante

Para a realização destas meta-análises foram incluídos dois estudos, nos quais as vitaminas C (MAZLOOM et al., 2011) e E (BALIARSINGH et al., 2005) foram avaliadas. Os resultados mostram os valores de diferença média dos níveis de Colesterol Total (mg/dL), HDL (mg/dL), LDL (mg/dL) e TG (mg/dL). Também não foram realizadas análises de subgrupos devido ao número de estudos.

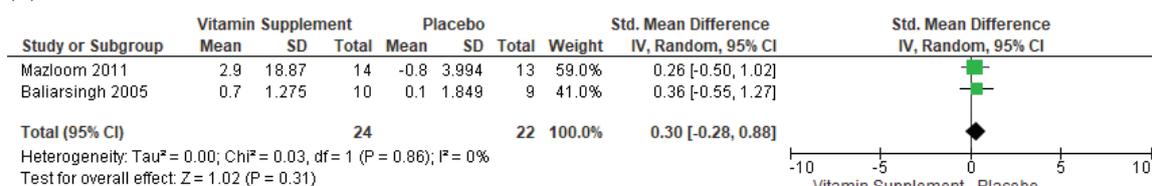
Os resultados médios dos estudos não tiveram diferenças estatisticamente significativas entre a suplementação e o placebo, com valores de diferença média (DM) de -3,54, intervalo de confiança (IC) de 95% [-9,52, -2,45] ( $I^2 = 95\%$ ) para Colesterol Total ; DM = 0,30 (95% IC [-0,28, 0,88]) ( $I^2 = 0\%$ ) para HDL; DM = -3,45 (95% IC [-9,89, 2,98]) ( $I^2 = 96\%$ ) para LDL e TG com DM = -0,17 (95% IC [-3,27, 2,94]) ( $I^2 = 95\%$ ).

GRÁFICO 6 - META-ANÁLISE DO EFEITO DE VITAMINAS COMPARADAS A PLACEBO SOBRE EFEITO HIPOLIPEMIANTE.

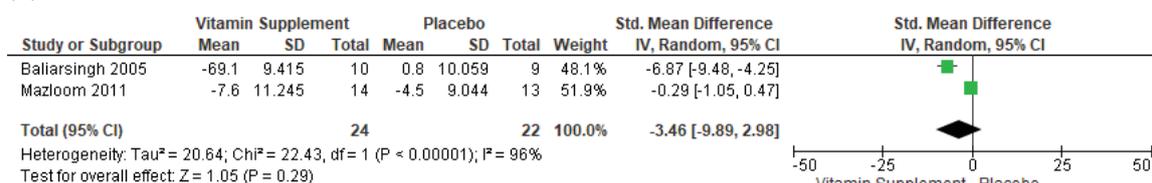
#### (A) COLESTEROL



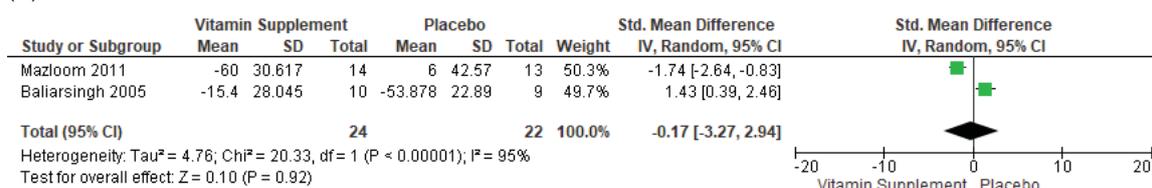
#### (B) HDL



#### (C) LDL



#### (D) TG



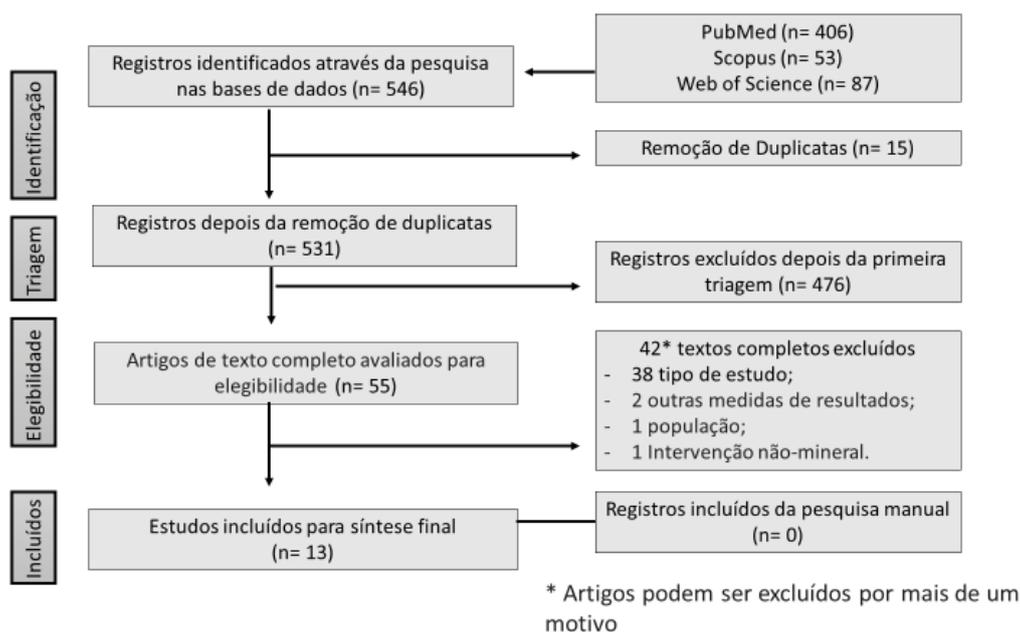
(A) Níveis de Colesterol Total (mg/dl); (B) Níveis de HDL (mg/dl); (C) Níveis de LDL (mg/dl); (D) Níveis de TG (mg/dl). Método estatístico: diferença entre médias (MD). Modelo inverso da variância (IV), randômico, intervalo de confiança (CI) de 95%.

### 5.3 REVISÃO SISTEMÁTICA DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE MINERAIS EM PACIENTES COM DM2

A busca sistemática realizada nas bases de dados resultou em um total de 546 registros recuperados, dos quais, 15 foram excluídos como duplicatas. Durante a etapa de leitura do título e resumo (primeira triagem), 476 registros foram excluídos e 55 foram considerados para avaliação e leitura do texto completo, dos quais 13 ECRs foram adequados para análises finais. (ROUSSEL et al., 2003; CHENG et al., 2004; KADHIM et al., 2006; HUSSAIN et al., 2006; AFKHAMI-ARDEKANI et al., 2008; LAI et al., 2008; PARHAM et al.; 2008; BARNAGALLO et al., 2010; GUNESAKARA et al., 2011; BAHMANI et al., 2016; MOMEN-HERAVI et al, 2017; RAYGAN et al., 2018; RAZAGHI et al., 2018) (FIGURA 7). Não foram encontrados registros por buscas manuais. As características dos estudos incluídos encontram-se na TABELA 2.

Os estudos envolveram pacientes com diagnóstico de DM2 (n = 725), sendo em maior número realizados no Irã (n = 8 ensaios), Tailândia (n = 2), Tunísia (n = 1), Itália (n = 1) e Sri Lanka (n = 1). Os tratamentos avaliados foram: Suplementação com Zinco (n = 7 estudos), Magnésio (n = 2 estudos); Selênio (n = 2 estudos) e Cromo (n = 2 estudos). Em dois destes ensaios (15,38%), os minerais foram administrados em um grupo extra com complementos vitamínicos (CHENG et al., 2004; GUNESAKARA et al., 2011).

FIGURA 7 - FLUXOGRAMA DO PROCESSO DE REVISÃO SISTEMÁTICA DE MINERAIS.



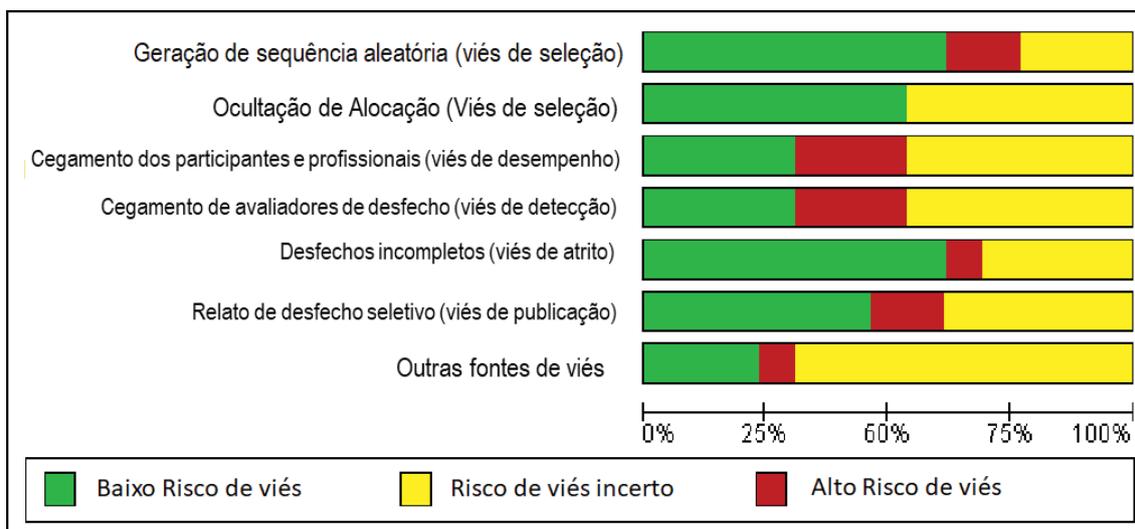
Placebo foi o principal comparador em nove estudos (69,23%), enquanto quatro ensaios (30,76%) incluíram comparações com controle negativo. A duração do tratamento variou de quatro a 24 semanas e a idade dos pacientes variou de 51 a 71 anos. Na avaliação da qualidade realizada nos estudos da suplementação por Minerais, observou-se uma qualidade metodológica de 2,2 segundo Escala de Jaddad. Dos 13 estudos incluídos, 11 pontuaram na randomização e desses, 45,5% descreveram o processo. Somente quatro estudos informaram sobre perdas ou desistências (30,8%), 84,6% foram duplo-cegos e um total de 36,4% não descreveram o método.

A avaliação do risco de viés (GRÁFICOS 7 e 8) demonstrou que 61,5% dos ECRs foram considerados de baixo risco de viés para os domínios de randomização e ausência de dados incompletos, 53,8% para reporte seletivo. No entanto, o cegamento dos avaliadores foi considerado incerto a risco elevado em nove ECRs (69,2%).

**TABELA 2 - CARACTERÍSTICAS DOS ESTUDOS INCLuíDOS NA REVISÃO SISTEMÁTICA DE MINERAIS.**

NOME	País	Tratamentos	N	Duração	Idade (anos)	Homens %	Jadad Score
AFKHAMI-ARDEKANI, 2008	Irã	ZnSO4 660 mg/dia	40	6 semanas	52.7 ± 8.6	40	1
BAHMANI, 2016	Irã	Levedura de Selênio (Se 200 µg/dia) e Placebo	60	12 semanas	ni	ni	4
BARBAGALLO, 2010	Itália	368 mg/dia ion magnésio	60	1 mês	Mg 71.0 ± 4.9	58.3	0
CHENG, 2004	Taiwan	3 grupos: (EU, HbA1C level of <6%), (MH, HbA1C level of 6.8-8.5%), (SH, HbA1C level >8.5%). Cada grupo foi dividido e recebeu 1000 levedura de cromo (III) ou placebo	68	6 meses	(EU) placebo 46.7 ± 1.6 Cr 47.9 ± 2.1 (MH) placebo 50.8 ± 2.3 Cr 52.5 ± 2.0 (SH) placebo 50.5 ± 1.9 Cr 53.1 ± 2.0	46	0
GUNESAKARA, 2011	Sri Lanka	2 Grupos: zinco 63 mg (contendo 22 mg do elemento Zn), vitamina A 5000.0 IU, vitamina D3 400.0 IU, vitamina E 151.0 IU, magnésio 30 mg, manganês 2.8 mg, cobre 2 mg, selênio 70 µg. Controle	96	4 meses	54.1 (6.0) 51.2 (6.0) 54.8 (8.0)	ni	2
HUSSAIN, 2006	Irã	Acetato de Zinco 50 mg/dia	46	5 meses	49.1 ± 6.0	54	1
KADHIM, 2006	Irã	10 mg de melatonina e 50 mg de acetato de zinco	46	3 meses	49.1 ± 6.0	54	1
LAI, 2008	Taiwan	3 GRUPOS (placebo, Cr or Cr + C + E) Grupo Cr, 1000 µg como levedura Cr; Grupo Cr + C + E 1000 µg como levedura Cr) com vitamina; e placebo	30	6 meses	Placebo 50.5 ± 1.9; Cr 53.2 ± 2.0; Cr + C + E 51.5 ± 1.7	47	1
MOMEN-HERAVI, 2017	Irã	50 mg Zn/dia e Placebo	60	12 semanas	60.0 ± 10.0	70	5
PARHAM, 2008	Irã	30 mg de Zn por dia	39	3 meses	Grupo I (n=21) 52.0 ± 9.3	62	5
RAYGAN, 2018	Irã	levedura de selênio, mais 8x10 <sup>9</sup> UFC/dia de probióticos ( Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus reuteri, Lactobacillus fermentum e Bifidobacterium bifidum 2x10 <sup>9</sup> UFC/g de cada) e Placebo	54	12 semanas	Placebo Group 62.4 ± 13.1 Selenium Group 64.8 ± 8.3 (40.7)	Placebo 10 (37.0) Se 11 (40.7)	5
RAZZAGHI, 2018	Irã	250 mg de óxido de magnésio/dia	70	12 semanas	60.1 ± 11.1	Placebo 24 (68.6); Mg 22 (62.9)	2
ROUSSEL, 2003	Tunisia	30 mg de gluconato de zinco/dia	56	6 meses	51.5 ± 1.62	ni	1

GRÁFICO 7 - AVALIAÇÃO GLOBAL DO RISCO DE VIÉS PELA FERRAMENTA COCHRANE DA SUPLEMENTAÇÃO MINERAL.



FONTE: a Autora

GRÁFICO 8 - AVALIAÇÃO COMPLETA DO RISCO DE VIÉS PELA FERRAMENTA COCHRANE APRESENTADA PARA CADA UM DOS ESTUDOS INCLUÍDOS NA REVISÃO SISTEMÁTICA DE MINERAIS.

Estudo	Geração de sequência aleatória (viés de seleção)	Ocultação de Alocação (Viés de seleção)	Cegamento dos participantes e profissionais (viés de desempenho)	Cegamento de avaliadores de desfecho (viés de detecção)	Desfechos incompletos (viés de atrito)	Relato de desfecho seletivo (viés de publicação)	Outras fontes de viés
Akhrami-Ardekani 2008	?	+	+	+	+	+	+
BAHMANI 2016	+	+	+	+	+	+	+
BARBAGALLO 2010	-	+	-	-	+	-	-
CHENG 2004	-	+	-	-	+	-	-
GUNESAKARA 2011	+	?	-	-	+	+	?
HUSSAIN 2006	?	?	?	?	+	?	?
KADHIM 2006	?	?	?	?	+	?	?
LAI 2008	?	?	?	?	-	+	?
MOMEN-HERAVI 2017	+	+	+	+	+	+	+
PARHAM 2008	+	+	+	+	+	+	+
RAYGAN 2018	+	+	+	+	+	+	+
RAZZAGHI 2018	+	+	+	+	+	+	+
ROUSSEL 2003	+	?	?	?	?	?	?

Nota: Para cada domínio desta ferramenta (linha) os estudos (colunas) obtiveram uma resposta positiva quando cumpriam o quesito do domínio (círculos em verde), negativa quando não cumpriam os quesitos (círculos em vermelho) ou não foram encontradas referências ou as mesmas não foram completamente claras no estudo para um determinado domínio (círculos em amarelo).

FONTE a Autora

#### 5.4 META-ANÁLISES DO EFEITO ANTIOXIDANTE DE MINERAIS EM PACIENTES COM DM2

Para avaliar o efeito antioxidante na suplementação mineral, seis estudos puderam ser utilizados. Os métodos estatísticos incluíram a diferença entre médias (MD) e Diferença padrão entre médias (SMD), modelo inverso da variância (IV), efeito randômico, intervalo de confiança (IC) de 95%.

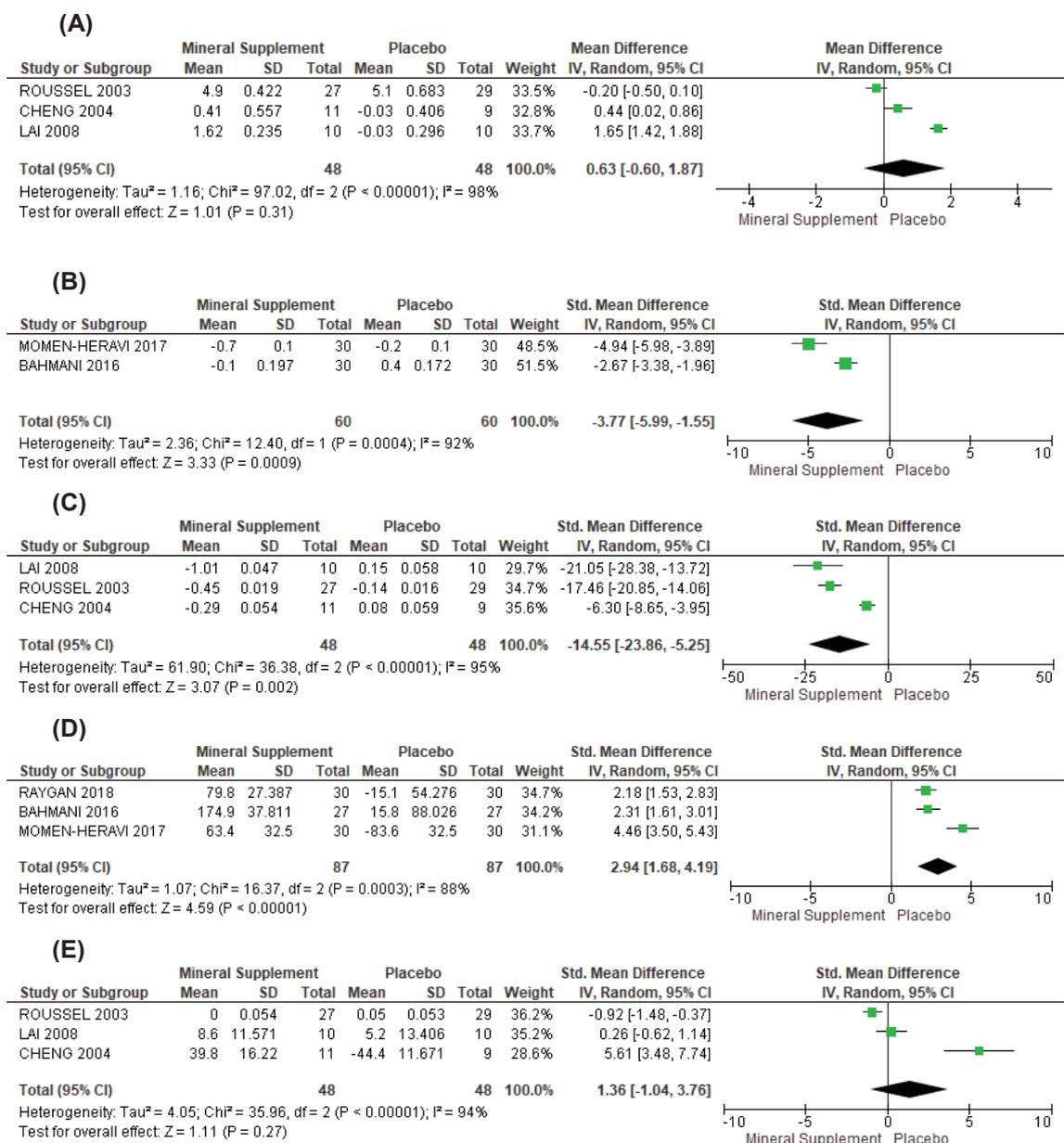
Os ECRs analisados incluíram os tratamentos de Zinco (10 mg de melatonina e 50 mg de acetato de zinco) (ROUSSEL et al., 2003) e Cromo (1000 µg de cromo na forma de cromo levedura em ambos os estudos) (CHENG et al., 2004; LAI et al., 2008, forneceram dados referentes ao aumento do nível de GPx (U / g Hb), redução de TBARS (µmol / L) e mudanças na SOD (U / g).

Para os resultados da redução de MDA (nmol / L) e alterações no TAC (mmol / L), foram utilizados os dados fornecidos com os tratamentos de Zinco (50 mg Zn/dia) (MOMEN-HERAVI et al., 2017) e Selênio (200 µg/dia na forma de Levedura de Selênio e levedura de selênio, mais  $8 \times 10^9$  UFC/dia de probióticos - *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus fermentum* and *Bifidobacterium bifidum*  $2 \times 10^9$ UFC/g de cada) (BAHMANI et al., 2016; RAYGAN et al., 2018).

Valores estatisticamente significativos são observados (gráfico 9) para a redução de MDA MD -2,58 (IC 95% [-5,3; -0,02]) e redução de TBARS MD-14,55 (IC 95% [-23,86; -5,25]), respectivamente. Não se observaram diferenças estatísticas nos tratamentos de GPx e SOD. Valores de alterações no TAC mostraram-se favoráveis no grupo controle (MD 2,94 (IC 95% [1,68; 4,19])).

O intervalo de predição (PI) foi calculado para todos os estudos incluídos na meta-análise com mais de dois estudos, devido à alta heterogeneidade dos estudos (> 50%). Os resultados mostraram valores para GPx (M 0,63 [-15,24; 16,50], confirmando não haver diferenças significativas; para TBARS (M -14,55 [-131,22; 102,22]; para TAC (M 2,94 [-12,50; 18,38]; para SOD (M 1,36 [-28,57; 31,29]). Os valores encontrados nos intervalos de predição mostraram então não haver diferenças estatisticamente significativas para a suplementação mineral comparada ao placebo.

GRÁFICO 9 - META-ANÁLISE DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE MINERAIS COMPARADAS A PLACEBO.



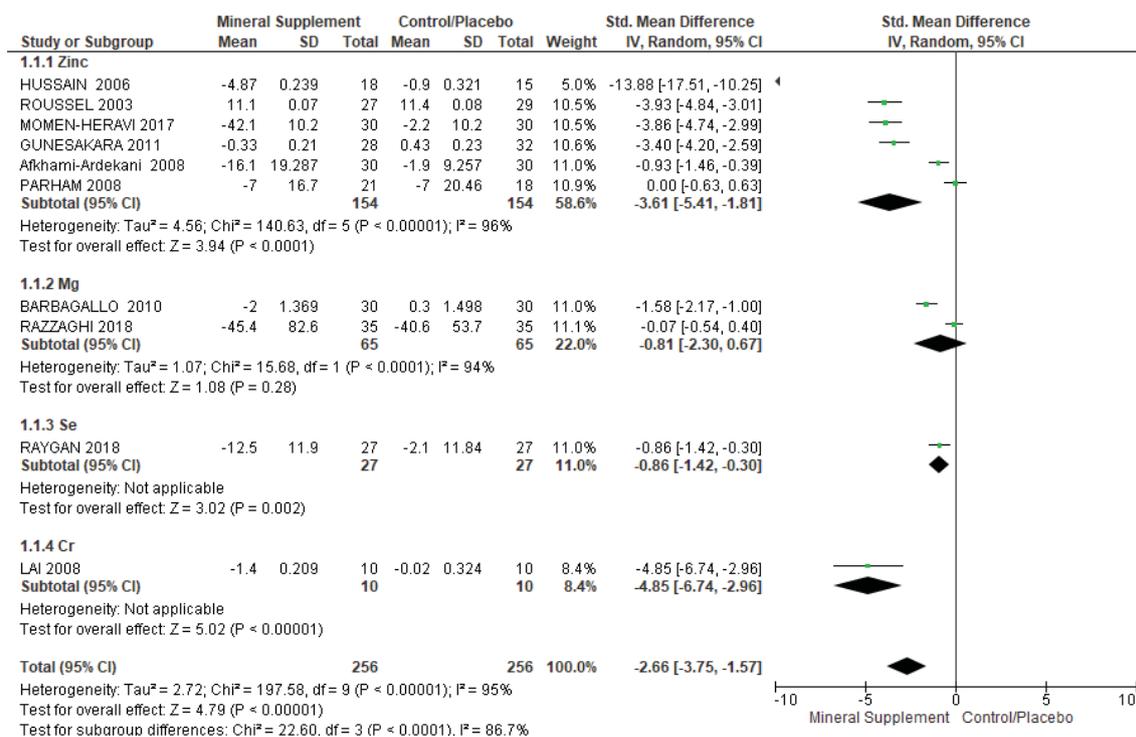
A) aumento do nível de GPx (U / g Hb); (B) redução de MDA (nmol / L); (C) redução de TBARS (µmol / L); (D) alterações no TAC (mmol / L); (E) mudanças na SOD (U / g). Método estatístico: diferença entre médias (MD) e Diferença padrão entre médias (SMD) Modelo inverso da variância (IV), randômico, intervalo de confiança (CI) de 95%.

## 5.4.2 Meta-análises do efeito da suplementação mineral sobre a glicemia

Observou-se efeito favorável nos tratamentos de suplementação mineral para a o efeito na glicemia de jejum (mg / dL) e sobre a HbA1c (em %), com MD -2,66 (IC 95% [-3,75; -1,57]) e I<sup>2</sup> de 95,0% por subgrupos e MD -2,55 (IC 95% [-3,64; -1,46]) e I<sup>2</sup> de 95%, respectivamente, como demonstrado nos gráficos 10 e 11.

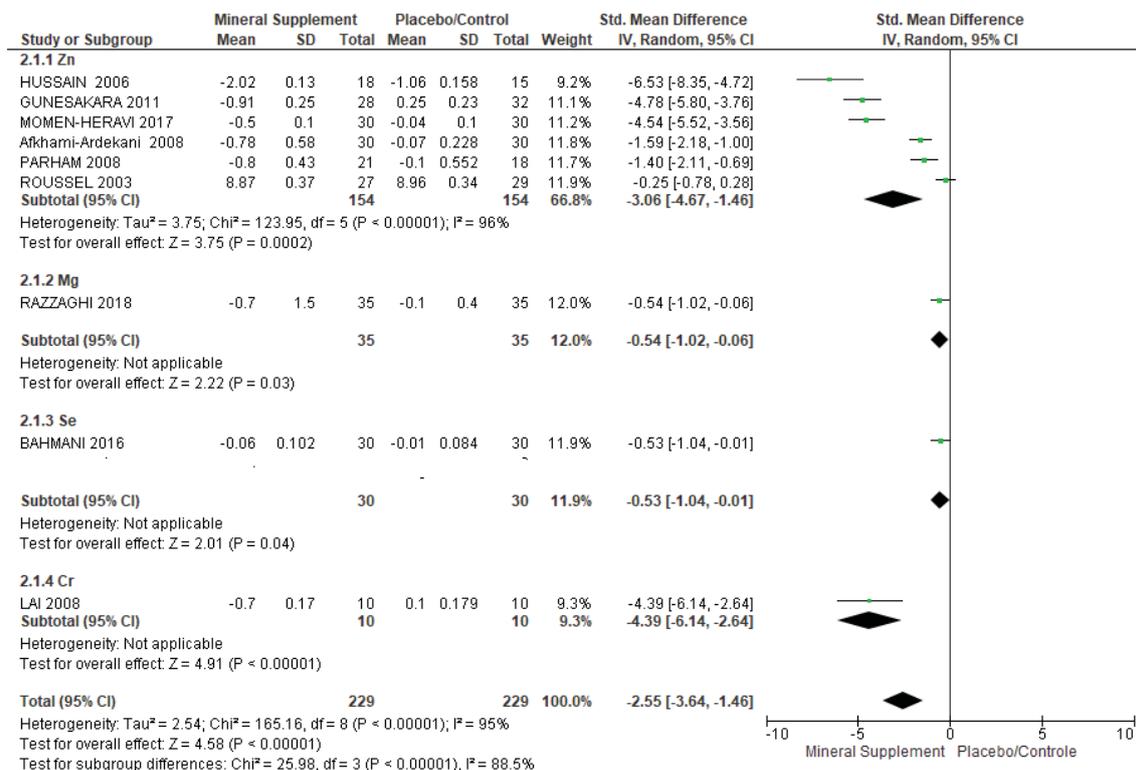
Para estas meta-análises, os estudos de suplementação foram com Zinco (ROUSSEL et al., 2003; HUSSAIN et al., 2006; AFKHAMI-ARDEKANI et al., 2008; PARHAM et al., 2008; GUNESAKARA et al., 2011; MOMEN-HERAVI et al., 2017), Magnésio (BARBAGALLO et al., 2010; RAZZAGHI et al., 2018), Selênio (BAHAMANI et al., 2016; RAYGAN et al., 2018) e Cromo (LAI et al., 2008). Os valores obtidos do intervalo de predição desta meta-análise foram M -2,96 [-6,67; 1,35], o que demonstra não haver diferenças estatisticamente significativas entre a suplementação mineral em comparação ao placebo. (gráfico 10).

GRÁFICO 10 - META-ANÁLISES DO EFEITO DE MINERAIS COMPARADAS A PLACEBO SOBRE A GLICEMIA (mg/dL).



Método estatístico: diferença entre médias (MD). Modelo inverso da variância (IV), randômico, intervalo de confiança (CI) de 95%.

GRÁFICO 11 - META-ANÁLISE DO EFEITO DE MINERAIS COMPARADAS A PLACEBO SOBRE A HbA1C



Método estatístico: diferença entre médias (MD). Modelo inverso da variância (IV), randômico, intervalo de confiança (CI) de 95%.

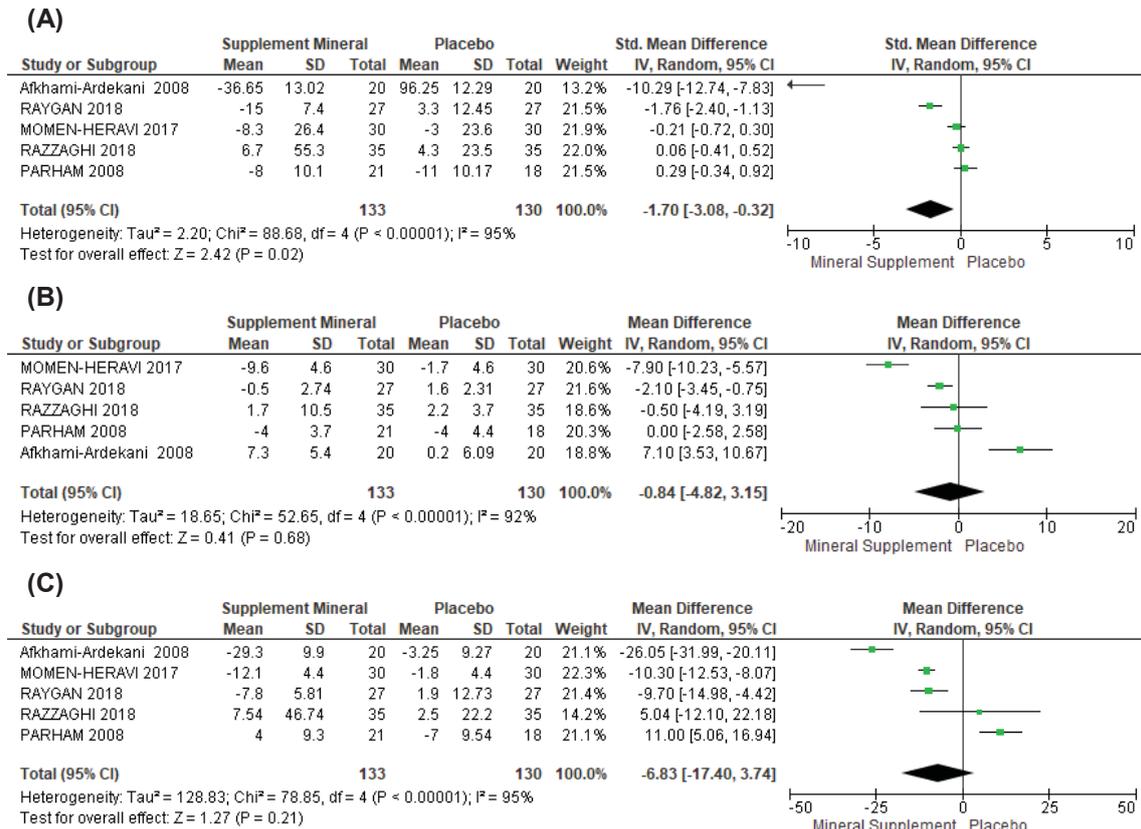
A heterogeneidade alta foi observada em algumas meta-análises ( $I^2 = 95\%$  para os testes de efeito geral e  $I^2 = 88.5\%$  nos testes para diferenças de subgrupos). Similar às meta-análises de vitaminas, foram realizadas análises de intervalo de predição. Os valores obtidos desta meta-análise foram M -2,55 [-6,44; 1,34], o que demonstra não haver diferenças estatisticamente significativas entre a suplementação mineral em comparação ao placebo. Diferenças nas características intrínsecas dos estudos incluídos, a condução e concepção de ensaios com baixa qualidade, tamanhos de amostra e condições do paciente com possíveis comorbidades e diferentes tratamentos farmacológicos, tipo de

intervenção e diferenças nas medidas de resultados podem explicar essas discrepâncias.

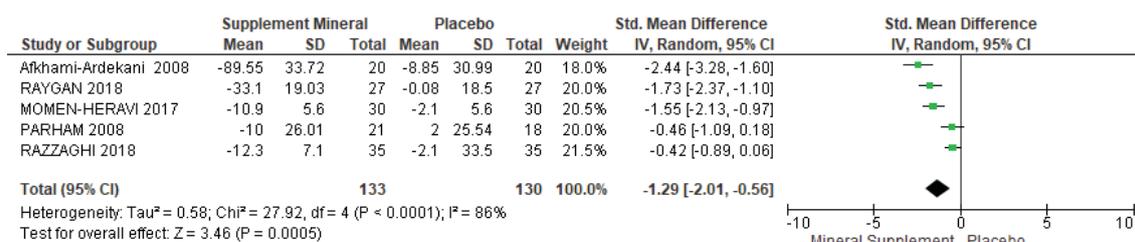
### 5.4.3 Meta-análises do efeito de minerais sobre efeito Hipolipemiante

O gráfico 12 mostra a ação dos minerais atuando no efeito hipolipemiante. Método estatístico: diferença entre médias (MD) e Diferença padrão entre médias (SMD), Modelo inverso da variância (IV), randômico, intervalo de confiança (CI) de 95%.

GRÁFICO 12 - META-ANÁLISES DO EFEITO DE MINERAIS COMPARADAS A PLACEBO SOBRE EFEITO HIPOLIPEMIANTE.



**(D)**



(A) Níveis de Colesterol Total (mg/dl); (B) Níveis de HDL (mg/dl); (C) Níveis de LDL (mg/dl); (D) Níveis de TG (mg/dl). Método estatístico: diferença entre médias (MD) e Diferença padrão entre médias (SMD), modelo inverso da variância (IV), randômico, intervalo de confiança (CI) de 95%.

Os resultados mostraram-se promissores para Minerais nas alterações dos níveis de Colesterol Total (mg/dl) com MD -1,70 (IC 95% [-3,08; -0,32]) e heterogeneidade alta I<sup>2</sup> de 95,0%, destacando-se em especial Selênio (RAYGAN et al., 2018). Os dados de Zinco trabalhados no ECRs (PARHAM et al., 2008; AFKHAMI-ARDEKANI et al., 2008; MOMEN-HERAVI et al., 2017), e Magnésio (RAZZAGHI et al., 2018) não demonstraram bons resultados para nenhum dos valores. Também resultados favoráveis na suplementação com Zinco, Magnésio e Selênio, podem ser observados para os dados de triglicérides (mg/dl) com MD -1,29 (IC 95% [-2,01; -0,56]).

Os valores obtidos nas análises do intervalo de predição mostraram valores para Colesterol Total (M -1,70 [-6,92; 3,52]; para os níveis de HDL (M -0,84 [-16,03; 14,35]; para LDL (M -6,83 [-46,82; 33,16]; para níveis de TG (M -1,29 [-3,98; 1,40], demonstrando então não haver diferenças estatisticamente significativa entre os resultados.

## 6 DISCUSSÃO

A revisão sistemática com meta-análise do efeito da suplementação vitamínica em pacientes com DM2 foi a primeira a incorporar evidências relacionada a diferentes parâmetros para avaliação do estresse oxidativo (aumento dos níveis de GPx, SOD e TAC e redução de MDA e TBARS). Estudos anteriores se concentraram em avaliar o controle glicêmico, resistência à insulina e alterações nas funções endoteliais de pacientes diabéticos em uso de vitaminas (SUKSOMBOON; POOLSUP; SINPRASERT, 2011; WITHAM, 2012; MONTERO et al., 2014; GEORGE; PEARSON; XU et al., 2014 ASHOR et al., 2015).

As vitaminas são micronutrientes essenciais adquiridos principalmente através de dieta (por exemplo, consumo de frutas, vegetais, óleos, nozes), mas também estão prontamente disponíveis como medicamentos sem receita ou suplementos alimentares. Como a ingestão natural destas vitaminas pode não ser suficiente diariamente - notadamente para pacientes com doenças crônicas - a suplementação pode representar um tratamento comum, acessível, complementar e fácil, especialmente para melhorar as funções antioxidantes e a defesa do corpo (ANDERSSON et al., 2002; RATNAM et al., 2006; TONIN et al., 2015).

Estudos prévios demonstram que vitaminas com potencial antioxidante como C e E são encontradas diminuídas em indivíduos diabéticos, possivelmente devido a uma maior necessidade de controlar o estresse oxidativo excessivo produzido por anormalidades no metabolismo da glicose e peroxidação lipídica (VALDES-RAMOS et al., 2015). Apesar das diretrizes e protocolos não recomendarem especificamente o uso de multivitamínicos para a população geral saudável, algumas doenças específicas podem se beneficiar dessa sua suplementação (GARIBALLA et al., 2013; VALDES-RAMOS et al., 2015). No entanto, poucas recomendações existem para o uso de suplementos vitamínicos em DM2.

Nossos resultados revelaram que a suplementação de certas vitaminas no DM2, especialmente a vitamina E, pode produzir um impacto significativo nos

parâmetros do estresse oxidativo e no controle glicêmico, o que pode beneficiar positivamente os pacientes. A vitamina C foi mais relacionada a mudanças no estado antioxidante, enquanto poucas evidências foram encontradas para as outras vitaminas ( D ou B).

Esses efeitos benéficos da vitamina E podem ser explicados pela redução dos efeitos nocivos dos radicais livres sobre os componentes estruturais e funcionais das células e paredes dos vasos (ASHOR et al., 2015). Acredita-se que o diabetes esteja associado ao aumento do estresse oxidativo, como aumento das concentrações séricas de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico e ao malonaldeído sérico, produtos finais da peroxidação lipídica (MAHREEN et al., 2010). Como conseqüências fisiológicas têm-se o extravazamento de membranas celulares com alteração da sua integridade estrutural, inativação de enzimas ligadas à membrana e receptores de superfície, e aumento da oxidação de LDL. Quando o estado antioxidante total é alto e suficiente para combater o estresse oxidativo, os níveis de MDA e TBARS estão nos limites normais e vice-versa. (FENERCIOGLU et al., 2010; SANKHLA et al., 2012; RANI; MYTHILI, 2014).

Antioxidantes podem diminuir o dano oxidativo diretamente por meio da reação com radicais livres ou indiretamente inibindo a atividade ou expressão de radicais livres (LAMB; GOLDSTEIN, 2008; MATOUGH et al. 2012). Os níveis de TAC no plasma representam a soma das atividades antioxidantes tanto exógenas quanto endógenas. Assim, a diminuição do TAC e o aumento dos níveis de MDA e TBARS poderiam ser considerados como um marcador precoce da patogênese das complicações no DM2 (RANI; MYTHILI, 2014).

Antioxidantes não enzimáticos como as vitaminas C e E e a enzima glutathiona interrompem as reações em cadeia dos radicais livres. A combinação dessas vitaminas parece ser promissora. Apesar de apenas um ECR avaliando um complexo vitamínico misto ter sido encontrado em nossa revisão sistemática (GARIBALLA et al., 2013), estudos anteriores relataram que combinações de antioxidantes podem ser uma fórmula apropriada para o controle do diabetes (MATOUGH et al., 2012; KHODAEIAN et al., 2015).

Um estudo com duração de três meses sobre a suplementação de vitaminas C e E mostrou que os pacientes diminuíram a glicose no sangue

enquanto aumentavam os níveis de SOD e glutathione (RAFIGHI et al., 2013; VALDES-RAMOS et al., 2015). Além disso, o uso prolongado de suplementos dietéticos, incluindo o complexo multivitamínico / mineral, mostrou melhores condições para proteína C-reativa, colesterol HDL, triacilglicerídeos, homocisteína sérica, pressão arterial e incidência de diabetes (CHURCH et al., 2003; VON HURST, STONEHOUSE; COAD, 2010). No entanto, sozinha, a vitamina C não apresentou um perfil tão benéfico quanto a vitamina E.

Há evidências em humanos e modelos animais sugerindo que a vitamina D pode desempenhar um papel importante na modificação do risco de diabetes (LINDSTROM et al., 2006; PITTAS et al., 2007). O baixo nível de vitamina D pode estar associado a futuros eventos cardiovasculares em pacientes com DM2. Essa associação resultante do efeito da vitamina D no sistema renina-angiotensina, na função endotelial, na pressão arterial ou mesmo na inflamação crônica (GEORGE; PEARSON; WITHAM, 2012; BEVERIDGE et al., 2015; KRUL-POEL et al., 2016). No entanto, na nossa revisão sistemática, os resultados foram escassos na definição do perfil antioxidante da vitamina D, uma vez que poucos ECR envolvendo esse micronutriente foram incluídos. Além disso, alguns ensaios (HAGHIGHAT et al., 2014; NIKOOYEH et al., 2014; SHAB-BIDAR; DJAZAYERY, 2015; VAFA et al., 2015) não empregaram diretamente uma suplementação vitamínica, mas incorporaram a vitamina em alimentos (por exemplo, óleo, iogurte), o que pode afetar os resultados finais.

Além disso, como a dosagem diária total da ingestão de vitaminas e a duração do tratamento foram variáveis entre os estudos, os efeitos sobre os perfis antioxidante e glicêmico podem estar subestimados. Regimes para vitamina C variaram de 500 a 3000 mg / dia; para a vitamina E variaram de 400 a 1600 UI / dia e as doses de vitamina D foram de 500 a 200.000 UI / dia. No entanto, em relação à segurança e tolerabilidade do uso dessas vitaminas, os estudos relataram poucas perdas de pacientes ou descontinuações da suplementação. Quase nenhum evento adverso foi relatado, sendo que aqueles que foram mencionados (dor de cabeça, diarreia, náusea) foram considerados leves. ECRs de períodos mais longos com dose diária razoavelmente baixa podem aumentar a concentração intracelular de vitaminas e resultar em um efeito suficiente que deve ser avaliado em futuras pesquisas.

Nas meta-análises realizadas para os minerais, os resultados mais eficazes mostraram ser com Zinco e Selênio, com e sem suplementação vitamínica, apesar dos valores de predição não demonstrarem diferenças estatisticamente significativas.

A avaliação dos desfechos relacionados ao estado antioxidante, para ambos os tratamentos, foi limitada pelo pequeno número de estudos que relataram adequadamente os dados. Além disso, os aspectos metodológicos dos estudos incluídos revelaram baixa qualidade moderada, especialmente no que diz respeito à descrição precisa da randomização e cegamento. Erros metodológicos (por exemplo, mau cegamento ou randomização) podem permitir que fatores como o efeito placebo ou viés de seleção afetem os resultados do estudo e, portanto, devem ser cuidadosamente analisados (COLDITZ; MILLER; MOSTELLER, 1989; HOLMAN et al., 2015).

A acentuada heterogeneidade no relato dos resultados do estresse oxidativo e da capacidade antioxidante pode ser devido à falta de padronização na seleção ou mensuração do desfecho em ensaios clínicos. Diferentes medidas e unidades (por exemplo, níveis de enzimas (catalase, superóxido dismutase), FRAP - capacidade de redução férrica de plasma, ORAC - capacidade de absorção de radicais livres de oxigênio, TAS - antioxidante total, entre outros) são usualmente empregados (HUANG; PRIOR, 2005; LIU, 2013;). Isso pode ser parcialmente justificado por causa da variedade de substâncias e componentes antioxidantes no organismo, juntamente com a dificuldade de medir tudo de uma vez. Além disso, variáveis inerentes como diferenças entre sujeitos e doenças e comorbidades devem ser levadas em conta (PRIOR, 2005; SANKHLA et al., 2012; HUANG).

A questão da falta de padronização de medidas de desfecho é comum a diferentes áreas (GARCIA-CARDENAS et al., 2015), mas tem sido associada a uma má prática de reporte e dificulta comparações entre intervenções (GARCIA-CARDENAS et al., 2015; JONES et al., 2015). Assim, o desenvolvimento de um conjunto de medidas de desfecho padronizadas (*core outcome set*) relacionados aos parâmetros antioxidantes em doenças crônicas, como a DM, é um componente importante do desenho dos estudos e pode vir a minimizar o viés e reduzir a inconsistência de evidências atuais. Sugerimos que

medidas como TAC, TBARS e MDA sejam empregadas como padrão na condução e reporte de estudos futuros.

Nossa revisão sistemática do uso de vitaminas e minerais possui algumas limitações. Foram incluídos ECRs com diferenças no desenho metodológico e nas características das populações (por exemplo, idade, sexo, estágio da doença e comorbidades, tratamentos para diabetes, duração do estudo) e nenhum deles foi suficientemente fortalecido devido ao número relativamente pequeno de participantes. Houve alguma dificuldade em encontrar e coletar dados de estudos abrangendo o mesmo complexo vitamínico ou mineral, o que também evitou que mais meta-análises de subgrupo fossem conduzidas. Foi possível analisar estatisticamente três vitaminas (C, D e E) e dois minerais (Zinco e Selênio), mas outros micronutrientes e combinações de vitaminas (especialmente as vitaminas C e E), bem como combinações entre minerais e minerais e vitaminas, devem ser melhor investigados.

## 7 CONCLUSÃO

Considerando que os pacientes com DM2 possuem alto risco de apresentarem complicações micro e macrovasculares, uma estratégia alternativa para o controle metabólico, além da combinação de dieta, exercício e medicação, seria pela potencial suplementação diária com vitaminas e minerais.

As revisões sistemáticas com meta-análises realizadas neste trabalho evidenciaram que o consumo de vitamina E (isoladamente ou em combinação), promovem benefícios à saúde, pois afeta a capacidade antioxidante plasmática, a concentração de enzimas e reduz significativamente os níveis de MDA e TBARS.

A atividade antioxidante do Zinco e de Selênio se mostraram-se tiguamente efetivas nos níveis de MDA e TBARS. A ação destes oligoelementos foram também favoráveis para a redução da glicemia e da HbA1c. Porém a alta heterogeneidade dos poucos estudos não foram estatisticamente significativas.

Os dados obtidos na revisão sistemática de minerais, mostraram poucos estudos o que dificulta em comprovar a eficácia dos elementos traços no tratamento da DM2.

Porém, novos estudos devem ser conduzidos para reforçar esta evidência, especialmente para definir doses e regime de oligoelementos, vitaminas e minerais, e apoiar o seu uso na prática diária.

Além disso, recomenda-se que novos ECRs bem planejados e em larga escala sejam realizados para demonstrar os efeitos de outras suplementações individuais ou multivitamínicas sobre o DM2.

## 8 REFERÊNCIAS

ADA AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care, 2009.

ADA American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes-2017. Diabetes care. 2017.

ADA American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes-2018. Diabetes care. 2018.

AFKHAMI-ARDEKANI, M., et al. Effect of zinc sulfate supplementation on lipid and glucose in type 2 diabetic patients. Pak J Nutr. 2008, 7: 550-553. 10.3923/pjn.550.553. 2008.

AGHAMOHAMMADI V, GARGARI BP, ALIASGHARZADEH A. Effect of folic acid supplementation on homocysteine, serum total antioxidant capacity, and malondialdehyde in patients with type 2 diabetes mellitus. Journal of the American College of Nutrition.30(3):210-5. 2017.

AGUDO, A. et al. Fruit and vegetable intakes, dietary antioxidant nutrients, and total mortality in Spanish adults: findings from the Spanish cohort of the European Prospective investigation into Cancer and Nutrition (EPIC-Spain). Am J Clin Nutr. 85:1634-42, 2007

ALVES, M.R.M. et al. Avaliação do estresse oxidativo em indivíduos obesos no pré-operatório de cirurgia bariátrica. Arq Bras Cir Dig.:24. Suppl 1:9, 2011.

AMEYE,L.G.; CHEE,W.S.S. Osteoarthritis and nutrition. From nutraceuticals to functional foods: a systematic review of the scientific evidence. Arthritis Research and Therapies, v. 8, n. R127 p. 1-22, 2006.

ANDERSON RA, EVANS LM, ELLIS GR, KHAN N, MORRIS K, JACKSON SK, ET AL. Prolonged deterioration of endothelial dysfunction in response to postprandial lipaemia is attenuated by vitamin C in Type 2 diabetes. *Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association*.23(3):258-64. 2006.

ANDERSSON A, JONASSON T, OHLIN H, LINDGREN A, HULTBERG B. Vitamin supplementation normalizes total plasma homocysteine concentration but not plasma homocysteine redox status in patients with acute coronary syndromes and hyperhomocysteinemia. *Clinical chemistry and laboratory medicine*.40(6):554-8.2002.

ANTONIADES C, TOUSOULIS D, TOUNTAS C, TENTOLOURIS C, TOUTOUZA M, VASILIADOU C, et al. Vascular endothelium and inflammatory process, in patients with combined Type 2 diabetes mellitus and coronary atherosclerosis: the effects of vitamin C. *Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association*. 21(6):552-8. 2004.

ASHOR AW, SIERVO M, LARA J, OGGIONI C, AFSHAR S, MATHERS JC. Effect of vitamin C and vitamin E supplementation on endothelial function: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *The British journal of nutrition*. 113(8):1182-94. 2015.

BALIARSINGH, S. et al. The therapeutic impacts of tocotrienols in type 2 diabetic patients with hyperlipidemia. *Atherosclerosis*. Oct;182(2):367-74. Epub Apr 20. 2005

BARBAGALLO, M., et al. Oral magnesium supplementation improves vascular function in elderly diabetic patients. *Magnes Res* 23(3): 131-137. 2010

BARBOSA, K.B. et al. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. *Rev Nutr*.;23, 2010.

BARBOSA, J. H. P.; OLIVEIRA, S.L.; SEARA, L. T. e. O papel dos produtos finais da glicação avançada (AGEs) no desencadeamento das complicações vasculares do diabetes. *Arq Bras Endocrinol Metab*, São Paulo , v. 52, n. 6, p. 940-950, Aug. 2008 .

BARNETT, P. A., GONZALEZ, R. G. CHYLACK JR., L. T. e CHENG, H.-M. "The effect of oxidation on sorbitol pathway kinetics," *Diabetes*, vol. 35, no. 4, pp. 426–432, 1986.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; *Quim. Nova* , 29, 113, 2006.

BARTLETT, H. E. e EPERJESI, F. Nutritional supplementation for type 2 diabetes: a systematic review. *Ophthalmic and Physiological Optics*, 28: 503-523. 2008.

BECKMAN JA, CREAGER MA, LIBBY P. Diabetes and atherosclerosis: epidemiology, pathophysiology, and management. *Jama*. 287(19):2570-81. 2002.

BERRY, C. Functional Foods. *Quarterly journal of medicine*, v. 95, p. 639-40, 2002.

BEVERIDGE LA, STRUTHERS AD, KHAN F, JORDE R, SCRAGG R, MACDONALD HM, et al. Effect of Vitamin D Supplementation on Blood Pressure: A Systematic Review and Meta-analysis Incorporating Individual Patient Data. *JAMA internal medicine*. 175(5):745-54. 2015.

BHARDWAJ, R.L.; PANDEY, S. Juice blends—A way of utilization of under-utilized fruits, vegetables, and spices: A review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr*. 51, 563–570. 2011.

BLE-CASTILLO JL, CARMONA-DIAZ E, MENDEZ JD, LARIOS-MEDINA FJ, MEDINA-SANTILLAN R, CLEVA-VILLANUEVA G, et al. Effect of alpha-tocopherol on the metabolic control and oxidative stress in female type 2 diabetics. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*. 59(6):290-5. 2005.

BRASIL, AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA. Aprova o regulamento técnico de procedimentos para registro de alimentos e ou novos ingredientes. Resolução nº 16, de 3 de dezembro de 1999a.

BRASIL, AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA Aprova o regulamento técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. Resolução nº 18, de 3 de dezembro de 1999b.

BRASIL, AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA. Aprova o regulamento técnico de procedimentos para registro de alimento com alegação de propriedades funcionais e ou de saúde em sua rotulagem. Resolução nº 19, de 10 de dezembro de 1999c.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Análise de Situação de Saúde. Plano de Ações Estratégicas para o Enfrentamento das Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT) no Brasil 2011-2022. Brasília: Ministério da Saúde; 2011.

BRASIL, Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Diretoria de Pesquisas. Coordenação de Trabalho e Rendimento. Pesquisa Nacional de Saúde 2013. Percepção do estado de saúde, estilos de vida e doenças crônicas. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), 181 p. 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Vigitel Brasil 2016 Saúde Suplementar : vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito

telefônico [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Agência Nacional de Saúde Suplementar. – Brasília : Ministério da Saúde, 2017.

BRENNA, O.V.; PAGLIARINI, E. Multivariate analyses of antioxidant power and polyphenolic composition in red wines. *J. Agric. Food Chemistry*. Chicago: v.49, p. 4841-4844, 2001.

BRIGELIUS-FLOHE, R. et al. The European perspective on vitamin E: current knowledge and future research. *Am. J. Clin. Nutr.* Oct;76(4):703-16. 2002

BROWNLEE, M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 414, 813–820. 2001.

CALLES-ESCANDON, J., CIPOLLA, M. Diabetes and endothelial dysfunction: a clinical perspective. *Endocrine reviews*. 22(1):36-52.2001.

CARVALHO, M. H. C. de; COLACO, A. L. e FORTES, Z. B. Citocinas, disfunção endotelial e resistência à insulina. *Arq Bras Endocrinol Metab* [online]. vol.50, n.2, pp. 304-312. ISSN 1677-9487, 2006.

CERIELLO, A., TESTA, R., GENOVESE, S. Clinical implications of oxidative stress and potential role of natural antioxidants in diabetic vascular complications. *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases : NMCD*. 26(4):285-92. 2016.

CHEN, H., KARNE, R.J., HALL, G., CAMPBELL, U., PANZA, J.A., CANNON, R.O. 3rd, et al. High-dose oral vitamin C partially replenishes vitamin C levels in patients with Type 2 diabetes and low vitamin C levels but does not improve endothelial dysfunction or insulin resistance. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 290(1):H137-45.2006.

CHENG, H. H., et al. Antioxidant effects of chromium supplementation with type 2 diabetes mellitus and euglycemic subjects. *J Agric Food Chem* 52(5): 1385-1389. 2004.

CHURCH, T.S., EARNEST, C.P., WOOD, K.A., KAMPERT, J.B. Reduction of C-reactive protein levels through use of a multivitamin. *The American journal of medicine*.115(9):702-7. 2003.

CILISKA, D., CULLUM, N., MARKS, S. Evaluation of systematic reviews of treatment or prevention interventions. *Evidence Based Nurs.* October; 4(4):100-4, 2001.

COBITZ, A.R., AMBERY, P. Medical management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy: a consensus statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. Response to Nathan et al. *Diabetes care*. 32(5):e58; author rely e9. 2009.

COLDITZ, G.A., MILLER, J.N., MOSTELLER, F. How study design affects outcomes in comparisons of therapy. I: Medical. *Statistics in medicine*. 8(4):441-54. 1989.

CRAVEN, P. A., STUDER, R. K. AND DERUBERTIS, F. R. Impaired nitric oxide-Dependent cyclic guanosine-monophosphate generation in glomeruli from diabetic rats – evidence for protein-kinase C-mediated suppression of the holinergic response. *J. Clin. Invest.* **93**, 311–320. 1994.

DALAN, R., LIEW, H., ASSAM, P.N., CHAN, E.S., SIDDIQUI, F.J., TAN, A.W., et al. A randomised controlled trial evaluating the impact of targeted vitamin D supplementation on endothelial function in type 2 diabetes mellitus: The DIMENSION trial. *Diabetes & vascular disease research*.13(3):192-200. 2016.

DeFRONZO, R. Pathogenesis of type 2 diabetes: metabolic and molecular implications for identifying diabetes genes. *Diabetes Rev*; 5:177-267, 1997.

DOKUMACIOGLU, E., ISKENDER, H., SEM, T.M., et al. The Effects of Hesperidin and Quercetin on Serum Tumor Necrosis Factor-Alpha and Interleukin-6 Levels in Streptozotocin-induced Diabetes Model. *Pharmacognosy Magazine*. 14(54):167-173. 2018.

DUCKWORTH, W.C. Hyperglycemia and cardiovascular disease. *Current atherosclerosis reports*. 3(5):383-91.2001.

DUMBRAVĂ, D.G.; HĂDĂRUGĂ, N.G.; MOLDOVAN, C.; RABA, D.M.; POPA, M.V.; RĂDOI, B. Antioxidant activity of some fresh vegetables and fruits juices. *J. Agroaliment. Process. Technol*. 17, 163–168.2011.

ESTABROOKS, C.A. Will evidence-based nursing practice make practice perfects? *Can J Nurs Res Spring*; 30(1):15-36, 1998.

ESTRUCH, R., MARTÍNEZ-GONZÁLEZ, M.A., CORELLA, D., SALAS-SALVADÓ, J., RUIZ-GUTIÉRREZ, V., COVAS, M.I., et al. Effects of a Mediterranean-style diet on cardiovascular risk factors: A randomized trial. *Ann Intern Med*. 145:1–11. 2006.

EVANS, J.L., MADDUX, B.A., GOLDFINE, I.D. The molecular basis for oxidative stress-induced insulin resistance. *Antioxidants & redox signaling*. 7(7-8):1040-52. 2005.

FENERCIOGLU, A.K., SALER, T., GENÇ, E., SABUNCU, H., ALTUNTAS, Y. The effects of polyphenol-containing antioxidants on oxidative stress and lipid peroxidation in Type 2 diabetes mellitus without complications. *Journal of endocrinological investigation*. 33(2):118-24. 2010.

FERRARI, C.K.B. Functional foods, herbs and nutraceuticals: towards biochemical mechanisms of health aging. *Bio gerontology*, v.5, p.275-289, 2004.

FERREIRA, A.P., OLIVEIRA, C.E.R. e FRANCA, N.M. Síndrome metabólica em crianças obesas e fatores de risco para doenças cardiovasculares de acordo com a resistência à insulina (HOMA-IR). *J Pediatr.*;83, 2007.

FINKEL, T.; HOLBROOK, N. J.; *Nature* (London, U. K.), 408, 239,2000.

FRANCA, B. K. et al. Peroxidação lipídica e obesidade: Métodos para aferição do estresse oxidativo em obesos. *J Port Gastrenterol.* [online]. vol.20, n.5, pp. 199-206. ISSN 0872-8178, 2013.

GABBAY, K. H. "The sorbitol pathway and the complications of diabetes," *The New England Journal of Medicine*, vol. 288, no. 16, pp. 831–836, 1973

GALVÃO, C.M., SAWADA, N.O., MENDES, I.A. A busca das melhores evidências. *Rev Esc Enferm USP.* dez; 37(4):43-50, 2003.

GARCIA-CARDENAS, V., ARMOUR, C., BENRIMOJ, S.I., MARTINEZ-MARTINEZ, F., ROTTA, I., FERNANDEZ-LLIMOS, F. Pharmacists' interventions on clinical asthma outcomes: a systematic review. *Eur Respir J.* 2015.

GARIBALLA, S., AFANDI, B., ABU HALTEM, M., YASSIN, J., ALESSA, A. Effect of antioxidants and B-group vitamins on risk of infections in patients with type 2 diabetes mellitus. *Nutrients.* ;5(3):711-24.2013.

GEORGE, P.S., PEARSON, E.R., WITHAM, M.D. Effect of vitamin D supplementation on glycaemic control and insulin resistance: a systematic review and meta-analysis. *Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association.* 29(8):e142-50. 2012.

GEY, K.F., MOSER, U.K., JORDAN, P., STAHELIN, H.B., EICHHOLZER, M., LUDIN, E. Increased risk of cardiovascular disease at suboptimal plasma concentrations of essential antioxidants: an epidemiological update with special attention to carotene and vitamin C. *The American journal of clinical nutrition*. 57(5 Suppl):787S-97S. 1993.

GEY, K.F., PUSKA, P., JORDAN, P., MOSER, U.K. Inverse correlation between plasma vitamin E and mortality from ischemic heart disease in cross-cultural epidemiology. *The American journal of clinical nutrition*. 53(1 Suppl):326S-34S. 1991.

GUERRA, E. J. I. Oxidative stress, diseases and antioxidant treatment. *Anales Medicina Interna*. 18, 326, 2001.

GUNASEKARA, P., et al. Effects of zinc and multimineral vitamin supplementation on glycemic and lipid control in adult diabetes. *Diabetes Metab Syndr Obes* 4: 53-60. 2011

GUTTERIDGE, J. M. C. Free radicals in diseases process: A compilation of cause and consequence. *Free Radical Res. Comm*, 19, 141,1993.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. *Fisiologia Humana e mecanismos das doenças*. 6° ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1998. 330/436/535p

HACHIYA HL, TAKAYAMA S, WHITE MF, KING GL. Regulation of insulin receptor internalization in vascular endothelial cells by insulin and phorbol esters. *J Biol Chem* 262:6417-24. 1987.

HAGHIGHAT NV, M.; EGHTESEADI, S.; HEIDARI, I.; HOSSEINI, A.; ROSTAMI, A. The Effects of Tocotrienols Added to Canola Oil on Microalbuminuria, Inflammation, and Nitrosative Stress in Patients with Type 2 Diabetes: A Randomized, Double-blind, Placebo-controlled Trial. *Int J Prev Med*. 5(5):617-23. 2014.

HAIDA, A.B. et al. Free radical sequestering activities and the determination of total phenolic contents of sage and eucalyptus. *Revista Saúde e Pesquisa*, 4, pp. 61–66, 2011.

HALLIWELL, B. et al. Free radicals and antioxidants in food and in vivo: what they do and how they work. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 35, 7, 1995.

HAMER, S. Evidence-based practice. In: Hamer S, Collinson G. *Achieving evidence-based practice: a handbook for practitioners*. London: Baillière Tindall. p.3-12. 1999.

HEJAZI N, DABBAGHMANESH M, MAZLOOM Z, DASHTABI A. Effects of Vitamin E on Fasting and Postprandial Oxidative Stress, Inflammatory Markers, Glucose Status, Insulin Resistance, Blood Pressure and Pulse Rate in Type-2 Diabetic Patients: A Randomized Clinical Trial. *GMJ*.4(3):67-74. 2015.

HENRY, C.J. Functional foods. *European Journal of Clinical Nutrition*, v.64, p. 657- 59, 2010.

HIGGINS, J.P.T.; GREEN, S. *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions Version 5.1.0: Cochrane* 2011.

HINK U, TSILIMINGAS N, WENDT M, MUNZEL T. Mechanisms underlying endothelial dysfunction in diabetes mellitus: therapeutic implications. *Treatments in endocrinology*. 2(5):293-304. 2003.

HOLLMAN, P.C. et al. Bioavailability of the dietary antioxidant flavonol quercetin in man. *Cancer Lett.* 114(1-2):139-40. 1997.

HOLMAN L, HEAD ML, LANFEAR R, JENNIONS MD. Evidence of Experimental Bias in the Life Sciences: Why We Need Blind Data Recording. *PLoS biology*. 13(7):e1002190. 2015.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R.L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2005;53(6):1841-56. 2005.

HUEBSCHMANN, A. G., REGENSTEINER, J. G., VLASSARA, H. e REUSCH, J. E. B. Diabetes and advanced glycoxidation end products. *Diabetes Care* 29, 1420–1432. 2006.

HUHTALA, P.; CHOW, L.T.; TRYGGVASON, K. Structure of the human type IV collagen gene. *J Biol Chem* 265:11077-82. 1990.

HUSSAIN, S.A., et al. Effects of melatonin and zinc on glycemic control in type 2 diabetic patients poorly controlled with metformin. *Saudi Med J*, 27: 1483-1488. 2006.

HYSON, D.A. A comprehensive review of apples and apple components and their relationship to human health. *Adv. Nutr.* 2011, 2, 408–420. 2011.

IDF Diabetes. 7th ed. Federation ID, editor. Brussels, Belgium. 2015.

IDRIS, I., GRAY, S.; DONNELLY, R. Protein kinase C activation: isozyme-specific effects on metabolism and cardiovascular complications in diabetes. *Diabetologia* 44:659-73. 2001.

JAFARI T, FALLAH AA, AZADBAKHT L. Role of dietary n-3 polyunsaturated fatty acids in type 2 diabetes: a review of epidemiological and clinical studies. *Maturitas*. 74(4):303-8. 2013.

JAMALAN M, REZAZADEH M, ZEINALI M, GHAFFARI MA. Effect of ascorbic acid and alpha-tocopherol supplementations on serum leptin, tumor necrosis

factor alpha, and serum amyloid A levels in individuals with type 2 diabetes mellitus. *Avicenna journal of phytomedicine*. 5(6):531-9.2015.

JOHANSEN JS, HARRIS AK, RYCHLY DJ, ERGUL A. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: linking basic science to clinical practice. *Cardiovascular diabetology*. 4:5. 2005.

JOHN, W. G.; LAMB, E. J. The Maillard or Browning reaction in diabetes. *Eye* 7, 230–237. 1993.

JONES, C.W.; KEIL, L.G.; HOLLAND, W.C.; CAUGHEY, M.C.; PLATTS-MILLS, T.F. Comparison of registered and published outcomes in randomized controlled trials: a systematic review. *BMC Med*. 13:282. 2015.

JORDE R, FIGENSCHAU Y. Supplementation with cholecalciferol does not improve glycaemic control in diabetic subjects with normal serum 25-hydroxyvitamin D levels. *European journal of nutrition*. 48(6):349-54.2009.

JURANEK, I.; BEZEK, S. Controversy of free radical hypothesis: reactive oxygen species-cause or consequence of tissue injury? *Gen Physiol Biophys*. 24:263-78, 2005.

KADHIM, H. M., et al. Effects of melatonin and zinc on lipid profile and renal function in type 2 diabetic patients poorly controlled with metformin. *J Pineal Res* 41(2): 189-193. 2006.

KAHN, B.B. Dietary regulation of glucose transporter gene expression: tissue specific effects in adipose cells and muscle. *J Nutr*, 124:1289-95, 1994.

KARIYA, K., et al. Possible involvement of protein kinase C in platelet-derived growth factor-stimulated DNA synthesis in vascular smooth muscle cells. *Atherosclerosis* 63:251-5. 1987.

KATAJA-TUOMOLA MK, KONTTO JP, MANNISTO S, ALBANES D, VIRTAMO J. Intake of antioxidants and risk of type 2 diabetes in a cohort of male smokers. *European journal of clinical nutrition*. 65(5):590-7. 2011.

KAUR, J.; HENRY, J. Micronutrient Status in Type 2 Diabetes: A Review. *Adv. Food Nutr*. 2014

KHODAEIAN, M., et al. Effect of vitamins C and E on insulin resistance in diabetes: a meta-analysis study. *European journal of clinical investigation*. 45(11):1161-74. 2015.

KOSITSAWAT J, FREEMAN VL. Vitamin C and A1c relationship in the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2003-2006. *Journal of the American College of Nutrition*. 30(6):477-83. 2011.

KRUL-POEL, Y.H., et al. MANAGEMENT OF ENDOCRINE DISEASE: The effect of vitamin D supplementation on glycaemic control in patients with Type 2 Diabetes Mellitus: a systematic review and meta-analysis. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies*. 2016.

LAI MH. Antioxidant effects and insulin resistance improvement of chromium combined with vitamin C and e supplementation for type 2 diabetes mellitus. *Journal of clinical biochemistry and nutrition*. 43(3):191-8. 2008.

LAMB RE, GOLDSTEIN BJ. Modulating an oxidative-inflammatory cascade: potential new treatment strategy for improving glucose metabolism, insulin resistance, and vascular function. *International journal of clinical practice*. 62(7):1087-95. 2008.

LAMB, R.E., GOLDSTEIN, B.J. Modulating an oxidative-inflammatory cascade: potential new treatment strategy for improving glucose metabolism, insulin resistance, and vascular function. *International Journal of Clinical Practice*. 62(7):1087–1095, 2008.

LINDSTROM, J., et al. Sustained reduction in the incidence of type 2 diabetes by lifestyle intervention: follow-up of the Finnish Diabetes Prevention Study. *Lancet*. 368(9548):1673-9. 2006.

LIU RH. Dietary bioactive compounds and their health implications. *Journal of food science*. 78 Suppl 1:A18-25. 2013.

LOBO, V.; PATIL, A.; PHATAK, A.; CHANDRA, N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn. Rev.* 4, 118–126. 2010.

LORENZI, Mara “The Polyol Pathway as a Mechanism for Diabetic Retinopathy: Attractive, Elusive, and Resilient,” *Experimental Diabetes Research*, vol. 2007, Article ID 61038, 10 pages, 2007.

LU, Q. et al. Effect of ascorbic acid on microcirculation in patients with Type II diabetes: a randomized placebo-controlled cross-over study. *Clinical science*.108(6):507-13.2005.

LYNCH, J.J. et al. Increased endothelial albumin permeability mediated by protein kinase C activation. *J Clin Invest* 85:1991-8. 1990.

MAHATTANATAWEE, K. et al. Total antioxidant activity and fiber content of select Floridagrown tropical fruits. *J Agric Food Chem.*;54:7355-63, 2006.

MAHMOUDABADI MM, RAHBAR AR. Effect of EPA and vitamin C on superoxide dismutase, glutathione peroxidase, total antioxidant capacity and malondialdehyde in type 2 diabetic patients. *Oman medical journal*. 29(1):39-45. 2014.

MAHREEN, R. et al. Significantly increased levels of serum malonaldehyde in type 2 diabetics with myocardial infarction. *International journal of diabetes in developing countries*. 30(1):49-51. 2010.

MANNA P, JAIN SK. Obesity, Oxidative Stress, Adipose Tissue Dysfunction, and the Associated Health Risks: Causes and Therapeutic Strategies. *Metabolic syndrome and related disorders*. 13(10):423-44. 2015.

MANZELLA, D. et al. Chronic administration of pharmacologic doses of vitamin E improves the cardiac autonomic nervous system in patients with type 2 diabetes. *The American journal of clinical nutrition*. 73(6):1052-7. 2001.

MASON, S.A. et al. Ascorbic acid supplementation improves skeletal muscle oxidative stress and insulin sensitivity in people with type 2 diabetes: Findings of a randomized controlled study. *Free radical biology & medicine*. 93:227-38. 2016.

MATOUGH, F.A. et al. The role of oxidative stress and antioxidants in diabetic complications. *Sultan Qaboos University medical journal*. 12(1):5-18. 2012.

MAYERS-DAVIS, E.J. et al. Incidence Trends of Type 1 and Type 2 Diabetes among Youths, 2002–2012. *N Engl J Med*. Apr 13; 376 (15) : 1419 -1429. 2017

MAZLOOM, Z.H. et al. Effect of vitamin C supplementation on postprandial oxidative stress and lipid profile in type 2 diabetic patients. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 14(19):900-4. 2011.

MENON V, RAM M, DORN J, ARMSTRONG D, MUTI P, FREUDENHEIM JL, et al. Oxidative stress and glucose levels in a population-based sample. *Diabetic Med*. 21:1346-52, 2004.

MOHER, D. et al. The PRISMA Group. Preferred reporting items for systematic reviews and metaanalyses: the PRISMA statement. *J Clin Epidemiol* 62:1006-12. 2009.

MOMEN-HERAVI, M., et al. The effects of zinc supplementation on wound healing and metabolic status in patients with diabetic foot ulcer: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial." *Wound Repair Regen* 25(3): 512-520. 2017.

MONTERO, D. et al. Effect of antioxidant vitamin supplementation on endothelial function in type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Obesity reviews : an official journal of the International Association for the Study of Obesity*.15(2):107-16. 2014.

MULLAN, B.A., et al. Ascorbic acid reduces blood pressure and arterial stiffness in type 2 diabetes. *Hypertension*. 40(6):804-9. 2002.

NATHAN, D.M. et al. Medical management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy: a consensus statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes Care*. Jan;32(1):193-203. 2009.

NIKOOYEH,B., et al. Daily consumption of vitamin D- or vitamin D + calcium-fortified yogurt drink improved glycemic control in patients with type 2 diabetes: a randomized clinical trial. *The American journal of clinical nutrition*. 93(4):764-71. 2011.

NIKOOYEH,B., et al. Daily intake of vitamin D- or calcium-vitamin D-fortified Persian yogurt drink (doogh) attenuates diabetes-induced oxidative stress: evidence for antioxidative properties of vitamin D. *Journal of human nutrition and dietetics : the official journal of the British Dietetic Association*. 27 Suppl 2:276-83. 2014.

NIVA, M.; MÄKELÄ, J. Finns and functional foods: socio-demographics, health efforts, notions of technology and the acceptability of health-promoting foods. *International Journal of Consumer Studies*, v. 31, p. 34-45, 2007.

NOGUEIRA, J.D. Antioxidant effects of nerolidol in mice hippocampus after open field test. *Neurochem Res*, 38,pp. 1861–1870, 2013.

OZOUGWU, J. C., OBIMBA, K. C. , BELONWU, C. D., AND UNAKALAMBA, C. B. The pathogenesis and pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Academic Journals*. Vol. 4(4), pp. 46-57, September, 2013

PAGANO, G. et al. *Medical Hypothesis* . 51, 253, 1998.

PAOLISSO, G. et al. Chronic vitamin E administration improves brachial reactivity and increases intracellular magnesium concentration in type II diabetic patients. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 85(1):109-15. 2000.

PARHAM, M. et al. Effect of zinc supplementation on microalbuminuria in patients with type 2 diabetes: A double blind, randomized, placebo-controlled, cross-over trial. *Review of Diabetic Studies*. 5: 102-109. 10.1900/RDS.2008.5.102. 2008

PARK S, CHOI SB. Effects of alpha-tocopherol supplementation and continuous subcutaneous insulin infusion on oxidative stress in Korean patients with type 2 diabetes. *The American journal of clinical nutrition*.75(4):728-33. 2002.

PAVLATOU, M.G. et al. FORT and FORD: two simple and rapid assays in the evaluation of oxidative stress in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism* 58: 1657–1662. 2009.

PEREIRA, A.L.F. et al, Antioxidantes alimentares: importância química e biológica. *Nutrire Ver Soc Bras Aliment Nutr*, 34, pp. 231–247, 2009.

PITTAS AG, LAU J, HU FB, DAWSON-HUGHES B. The role of vitamin D and calcium in type 2 diabetes. A systematic review and meta-analysis. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 92(6):2017-29. 2007.

PORTAL, B.C. et al. Altered antioxidante status and increased lipid peroxidation in children with cystic fibrosis. *Am J Clin Nutr*. 61:843-7, 1995.

POWERS SK, NELSON WB, HUDSON MB Exercise-induced oxidative stress in humans: Cause and consequences. *Free Radic Biol Med* 51: 942–950. 2011.

PUSHPANGADAN, P. et al... Functional foods and nutraceuticals with special focus on mother and child care. *Annals of Phytomedicine* . v.3, n.1, p. 4-24, 2014.

RAFIGHI, Z.S. et al. Association of dietary vitamin C and e intake and antioxidant enzymes in type 2 diabetes mellitus patients. *Glob J Health Sci*. 5(3):183-7. 2013.

RAJ, D. S. C., CHOUDHURY, D., WELBOURNE, T. C. e LEVI, M. Advanced glycation end products: a nephrologists perspective. *Am. J. Kidney Dis*. 35, 365–380. 2000.

RASMUSSEN H, FORDER J, KOJUMA I, SCRIBINE A. TPA induced contraction of isolated rabbit vascular smooth muscle. *Biochem Biophys Res Commun* 122:776-84. 1984.

RATNAM DV, ANKOLA DD, BHARDWAJ V, SAHANA DK, KUMAR MN. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective.

Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society. 113(3):189-207.2006.

RATNAM, D.; ANKOLA, D.; BHARDWAJ, V.; SAHANA, D.; KUMAR, M. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. J. Control Release., v. 113, n. 2, p. 189-207, 2006.

RAYGAN, F., et al. The effects of probiotic and selenium co-supplementation on mental health parameters and metabolic profiles in type 2 diabetic patients with coronary heart disease: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Clin Nutr. 2018.

RAZZAGHI, R. et al. Magnesium supplementation and the effects on wound healing and metabolic status in patients with diabetic foot ulcer: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Biol Trace Elem Res. 181:207–15. 2018

REAVEN, P.D. et al. Effects of Vitamin E on susceptibility of low-density lipoprotein and low-density lipoprotein subfractions to oxidation and on protein glycation in NIDDM. Diabetes care. 18(6):807-16.1995.

REAVEN, G.M. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. Diabetes. 37(12):1595-607, 1988.

ROUSSEL, A. M., et al. Antioxidant effects of zinc supplementation in Tunisians with type 2 diabetes mellitus. J Am Coll Nutr 22(4): 316-321. 2003.

SANKHLA M, SHARMA TK, MATHUR K, RATHOR JS, BUTOLIA V, GADHOK AK, et al. Relationship of oxidative stress with obesity and its role in obesity induced metabolic syndrome. Clinical laboratory. 58(5-6):385-92. 2012.

SASAKI S, INOBUCHI T. The role of oxidative stress in the pathogenesis of diabetic vascular complications. *Diabetes & metabolism journal*. 36(4):255-61. 2012.

SBD – SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2017-2018. São Paulo: Editora Clannad, 2017.

SCHAFER, F. Q.; BUETTNER, G. R.; *Free Radical Biol. Med.* 30, 1191. 2001.

SELLÉS, A.J.N. Terapia antioxidante, estrés oxidativo y productos antioxidantes: retos y oportunidades. *Revista Cubana de Salud Pública*;37(Supl):644-660, 2011.

SIES, H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exptl Physiol*. 82:291-5. 1997.

SIMAO, A. N. et al. Efeito dos ácidos graxos n-3 no perfil glicêmico e lipídico, no estresse oxidativo e na capacidade antioxidante total de pacientes com síndrome metabólica. *Arq Bras Endocrinol Metab* [online]. vol.54, n.5, pp. 463-469, 2010.

SINGH R, DEVI S, GOLLEN R. Role of free radical in atherosclerosis, diabetes and dyslipidaemia: larger-than-life. *Diabetes/metabolism research and reviews*. 31(2):113-26. 2015.

SINGH, G.M.; MICHA, R.; KHATIBZADEH, S.; SHI, P.; LIM, S.; ANDREWS, K.G.; ENGELL, R.E.; EZZATI, M.; MOZAFFARIAN, D. Global, regional, and national consumption of sugar-sweetened beverages, fruit juices, and milk: A systematic assessment of beverage intake in 187 countries. *PLoS ONE* 10. 2015.

STAHL, W. et al. Analysis of lipophilic antioxidants in human serum and tissues: Tocopherols and carotenoids. *J Chromatogr.*;936:83-93, 2001.

STAMLER J, VACCARO O, NEATON JD, WENTWORTH D. Diabetes, other risk factors, and 12-yr cardiovascular mortality for men screened in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Diabetes care*. 16(2):434-44.1993.

SUGDEN, J.A. et al. Vitamin D improves endothelial function in patients with Type 2 diabetes mellitus and low vitamin D levels. *Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association*. 25(3):320-5. 2008.

SUKSOMBOON, N.; POOLSUP, N.; SINPRASERT, S. Effects of vitamin E supplementation on glycaemic control in type 2 diabetes: systematic review of randomized controlled trials. *Journal of clinical pharmacy and therapeutics*. 36(1):53-63. 2011.

SWINBANKS, D., O'BRIEN, J. Japan explores the boundary between food and medicine. *Nature*. 364, 180,1993.

TESSIER, D.M. et al. Effects of vitamin C supplementation on antioxidants and lipid peroxidation markers in elderly subjects with type 2 diabetes. *Archives of gerontology and geriatrics*. 48(1):67-72. 2009.

THE EXPERT COMMITTEE ON THE DIAGNOSIS AND CLASSIFICATION OF DIABETES MELLITUS. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*; 26 (Suppl. 1): S5–20, 2003.

TONIN, F.S. et al. Impact of Natural Juice Consumption on Plasma Antioxidant Status: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Molecules*. 20(12):22146-56. 2015.

URAKAWA, H. et al. Oxidative stress is associated with adiposity and insulin resistance in men. *J Clin Endocrinol Metab*. 88:4673-6, 2003.

VAFÁ, M.H. et al. Effect of tocotrienols enriched canola oil on glycemic control and oxidative status in patients with type 2 diabetes mellitus: A randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Journal of Research in Medical Sciences*. 20(6):540-7. 2015.

VALDES-RAMOS, R. et al. Vitamins and type 2 diabetes mellitus. *Endocrine, metabolic & immune disorders drug targets*. 15(1):54-63. 2015.

VAN DAM RM, RIMM EB, WILLETT WC, STAMPFER MJ, HU FB Dietary patterns and risk for type 2 diabetes mellitus in U.S. men. *Ann Intern Med*. 136(3):201-9.2002.

VASCONCELOS, S.M.L., et al. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. *Quím Nova*:1323-1338, 2007.

VISIOLI, F., KEANEY, J.R. e HALLIWELL, B. *Cardiovascular Research*, 47. Boston: Evans Department of Medicine and Whitaker Cardiovascular Institute; p. 409, 2000.

VON HURS, P.R.; STONEHOUSE, W.; COAD, J. Vitamin D supplementation reduces insulin resistance in South Asian women living in New Zealand who are insulin resistant and vitamin D deficient - a randomised, placebo-controlled trial. *The British journal of nutrition*. 103(4):549-55. 2010.

WATERHOUSE, D.S. The development of fruit-based functional foods targeting the health and wellness market: a review. *International Journal of Food Science and Technology*, v. 46, p. 899-920, 2011

WENNMALM, A. Endothelial nitric oxide and cardiovascular disease. *J. Int. Med.*, 235: 317-27, 1994.

WHITE PA, OLIVEIRA RC, OLIVEIRA AP, SERAFINI MR, ARAUJO AA, GELAIN DP, et al. Antioxidant activity and mechanisms of action of natural

compounds isolated from lichens: a systematic review. *Molecules*. 19(9):14496-527. 2014.

WHO, World Health Organization: Noncommunicable Diseases (NCD) Country Profiles, 2014.

WINTERBONE, M.S. et al. Pro-oxidant effect of alpha-tocopherol in patients with type 2 diabetes after an oral glucose tolerance test--a randomised controlled trial. *Cardiovascular diabetology*. 6:8. 2007.

WISEMAN, H. Dietary influences on membrane function: Importance in protection against oxidative damage and disease. *J. Nutr. Biochem.* 7, 2, 1996.

WITHAM, M.D. et al. The effect of different doses of vitamin D(3) on markers of vascular health in patients with type 2 diabetes: a randomised controlled trial. *Diabetologia*. 53(10):2112-9. 2010.

WU, J.H. et al. Effects of alpha-tocopherol and mixed tocopherol supplementation on markers of oxidative stress and inflammation in type 2 diabetes. *Clinical chemistry*. 53(3):511-9.2007.

XU R, ZHANG S, TAO A, CHEN G, ZHANG M. Influence of vitamin E supplementation on glycaemic control: a meta-analysis of randomised controlled trials. *PloS one*. 9(4):e95008. 2014.

YIU YF, YIU KH, SIU CW, CHAN YH, LI SW, WONG LY, et al. Randomized controlled trial of vitamin D supplement on endothelial function in patients with type 2 diabetes. *Atherosclerosis*. 227(1):140-6. 2013.

ZEISEL, S.H. Regulation of "nutraceuticals". *Science* Sep 17;285(5435):1853-5, 1999.

ZHENG, W.; WANG, S.Y. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. J. Agric. Food Chemistry. Chicago: v.49, p. 5165-5170, 2001.

ZWART, L. et al. Biomarkers of free radical damage: Applications in experimental animals and in humans. Free Radical Biol. Med. 26, 202,1999.

APÊNDICE 1 – ESTRATÉGIAS DE BUSCA (REVISÃO SISTEMÁTICA  
VITAMINAS)

PubMed	<p>#1 (clinical[Title/Abstract] AND trial[Title/Abstract]) OR "clinical trials"[MeSH Terms] OR "clinical trial"[Publication Type] OR random*[Title/Abstract] OR "random allocation"[MeSH Terms] OR "therapeutic use"[MeSH Subheading]</p> <p>#2 "Diabetes Mellitus"[MeSH Terms] OR diabetes[Title/Abstract] OR diabetic*[Title/Abstract] OR "Diabetes Mellitus"[Title/Abstract]</p> <p>#3 antioxidant*[Title/Abstract] OR "oxidation inhibitor"[Title/Abstract] OR "oxidation prevention"[Title/Abstract] OR "endothelial function"[Title/Abstract] OR "antioxidizing agent"[Title/Abstract]</p> <p>#4 vitamin[Title/Abstract] OR vitamins[MeSH Terms]</p> <p>#1 AND #2 AND #3 AND #4</p>
Scopus	<p>( TITLE-ABS-KEY ( antioxidant )) AND ( TITLE-ABS-KEY ( diabetes )) AND ("clinical trial" AND random* ) AND ( TITLE-ABS-KEY ( vitamin ))</p>

Web of Science	(diabetes) AND Tópico: (antioxidant) AND Tópico: (vitamin) AND Tópico: ("clinical trial")
----------------	---

APÊNDICE 2 – ESTRATÉGIAS DE BUSCA (REVISÃO SISTEMÁTICA DE MINERAIS: ZINCO, MAGNÉSIO, SELÊNIO E CROMO)

1#((clinical[Title/Abstract] AND trial[Title/Abstract]) OR clinical trials as topic[MeSH Terms] OR clinical trial[Publication Type] OR random*[Title/Abstract] OR random allocation[MeSH Terms] OR therapeutic use[MeSH Subheading]);2# ("Diabetes Mellitus"[MeSH Terms] OR diabetes[Title/Abstract] OR diabetic*[Title/Abstract] OR "Diabetes Mellitus"[Title/Abstract]) 3# (antioxidant*[Title/Abstract] OR "oxidation inhibitor"[Title/Abstract] OR "oxidation prevention"[Title/Abstract] OR "endothelial function"[Title/Abstract] OR "antioxidizing agent"[Title/Abstract]) #1 AND #2 AND #3 AND #4	
1# ((clinical[Title/Abstract] AND trial[Title/Abstract]) OR clinical trials as topic[MeSH Terms] OR clinical trial[Publication Type] OR random*[Title/Abstract] OR random allocation[MeSH Terms] OR therapeutic use[MeSH Subheading]) 2# ("Diabetes Mellitus"[MeSH Terms] OR diabetes[Title/Abstract] OR diabetic*[Title/Abstract] OR "Diabetes Mellitus"[Title/Abstract]) 3# (antioxidant*[Title/Abstract] OR "oxidation inhibitor"[Title/Abstract] OR "oxidation prevention"[Title/Abstract] OR "endothelial function"[Title/Abstract] OR "antioxidizing agent"[Title/Abstract]) 4# ((Magnesium*[Title/Abstract]) OR Magnesium*[MeSH Terms]) #1 AND #2 AND #3 AND #4	
1# ((clinical[Title/Abstract] AND trial[Title/Abstract]) OR clinical trials as topic[MeSH Terms] OR clinical trial[Publication Type] OR random*[Title/Abstract] OR random allocation[MeSH Terms] OR therapeutic use[MeSH Subheading]) 2# ("Diabetes Mellitus"[MeSH Terms] OR diabetes[Title/Abstract] OR diabetic*[Title/Abstract] OR "Diabetes Mellitus"[Title/Abstract]) 3# (antioxidant*[Title/Abstract] OR "oxidation inhibitor"[Title/Abstract] OR "oxidation prevention"[Title/Abstract] OR "endothelial function"[Title/Abstract] OR "antioxidizing agent"[Title/Abstract]) 4# ((Selenium*[Title/Abstract]) OR Selenium*[MeSH Terms]) #1 AND #2 AND #3 AND #4	Pub Med
1# ((clinical[Title/Abstract] AND trial[Title/Abstract]) OR clinical trials as topic[MeSH Terms] OR clinical trial[Publication Type] OR random*[Title/Abstract] OR random allocation[MeSH Terms] OR therapeutic use[MeSH Subheading]) 2# ("Diabetes Mellitus"[MeSH Terms] OR diabetes[Title/Abstract] OR diabetic*[Title/Abstract] OR "Diabetes Mellitus"[Title/Abstract]) 3# (antioxidant*[Title/Abstract] OR "oxidation inhibitor"[Title/Abstract] OR "oxidation prevention"[Title/Abstract] OR "endothelial function"[Title/Abstract] OR "antioxidizing agent"[Title/Abstract]) 4# ((Chromium*[Title/Abstract]) OR Chromium*[MeSH Terms]) #1 AND #2 AND #3 AND #4	
(TITLE-ABS-KEY (antioxidant)) AND (TITLE-ABS-KEY (diabetes)) AND ("clinical trial" AND random* ) AND ( TITLE-ABS-KEY ( Zinc))	
( TITLE-ABS-KEY ( diabetes )) AND ("clinical trial" AND random* ) AND ( TITLE-ABS-KEY ( Magnesium))	
( TITLE-ABS-KEY ( diabetes )) AND ("clinical trial" AND random* ) AND ( TITLE-ABS-KEY ( Selenium))	Scopus
( TITLE-ABS-KEY ( diabetes )) AND ("clinical trial" AND random* ) AND ( TITLE-ABS-KEY ( Chromium	
(diabetes) AND AND Tópico: (zinc) AND Tópico: ("clinical trial")	
(diabetes) AND Tópico: (magnesium) AND Tópico: ("clinical trial")	
(diabetes) AND Tópico: (selenium) AND Tópico: ("clinical trial")	Web of Science

(diabetes) AND Tópico: (chromium) AND Tópico: ("clinical trial")	
--	--

## ANEXO 1 – ARTIGO PUBLICADO

RESEARCH

Open Access



# Antioxidant effects of vitamins in type 2 diabetes: a meta-analysis of randomized controlled trials

Maria E. Balbi<sup>1</sup> , Fernanda S. Tonin<sup>1</sup> , Antonio M. Mendes<sup>1</sup> , Helena H. Borba<sup>2</sup> , Astrid Wiens<sup>2</sup> , Fernando Fernandez-Llimos<sup>3</sup> and Roberto Pontarolo<sup>2\*</sup>

## Abstract

**Background:** Vitamins are essential micronutrients with antioxidant potential that may provide a complementary treatment for patients with chronic diseases. Our aim was to assess the effect of vitamin supplementation on the antioxidant status and glycemic index of type 2 diabetes mellitus patients.

**Methods:** We performed a systematic review with meta-analyses. Electronic searches were conducted in PubMed, Scopus, and Web of Science (December 2017). Randomized controlled trials evaluating the effect of any vitamin or vitamin complex supplementation on antioxidant status as primary outcome were included. The outcomes considered were: reduction of malondialdehyde (MDA); augmentation of glutathione peroxidase (GPx); changes in total antioxidant capacity (TAC), enhance in superoxide dismutase enzyme—SOD, and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS). Outcomes of glycemic control were also evaluated. Pairwise meta-analyses were performed using software Review Manager 5.3.

**Results:** Thirty trials fulfilled the inclusion criteria, but only 12 could be included in the meta-analyses of antioxidant outcomes. The most commonly studied vitamins were B, C, D and E. Vitamin E was related to significant reduction of blood glucose as well as glycated hemoglobin compared to placebo, while both vitamins C and E were mainly associated with reducing MDA and TBARS and elevating GPx, SOD and TAC, compared to placebo. However, outcome reports in this field are still inconsistent (e.g. because of a lack of standard measures).

**Conclusions:** Supplementation of vitamin E may be a valuable strategy for controlling diabetes complications and enhancing antioxidant capacity. The effects of other micronutrients should be further investigated in larger and well-designed trials to properly place these complementary therapies in clinical practice.

**Keywords:** Diabetes mellitus, Antioxidant capacity, Systematic review, Vitamin

## Background

Diabetes mellitus (DM) is a chronic metabolic disorder characterized by an increase in blood glucose concentration (fasting blood glucose  $\geq 126$  mg/dL). There are currently 425 million people with diabetes worldwide, and this number is expected to reach 629 million by 2045,

with type 2 diabetes (T2DM) being the most expressive form of the disease [1, 2]. The American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD) consensus statement on the management of T2DM recommend life-style changes (healthy diet and physical activity) in combination with metformin at the time of diagnosis, and the addition of other medication in patients who do not achieve the desired glycemic control [1]. Lowering glycated hemoglobin (HbA1c) to below 7% has been shown to be one of the primary endpoints in reducing microvascular complications of DM and possibly macrovascular disease [3].

\*Correspondence: pontarolo@ufpr.br

<sup>2</sup> Department of Pharmacy, Pharmaceutical Sciences Postgraduate Program, Universidade Federal do Paraná, Av. Prof. Lothario Meissner 632, Curitiba 80210-170, Brazil

Full list of author information is available at the end of the article



© The Author(s) 2018. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.

**Efeitos antioxidantes da suplementação de vitaminas no diabetes tipo 2:  
uma revisão sistemática com meta-análises de ensaios clínicos  
randomizados**

**Antioxidant effects of vitamins supplementation in type 2 diabetes: a  
systematic review with meta-analyses of randomized controlled trials**

Maria E. Balbi, M.Sc. (Pharm), Pharmaceutical Sciences Postgraduate Programme, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brazil (bromatologia.ufpr@gmail.com)  
ORCID ID 0000-0001-8210-9250

Fernanda S. Tonin, M.Sc. (Pharm), Pharmaceutical Sciences Postgraduate Programme, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brazil (stumpf.tonin@ufpr.br)  
ORCID ID 0000-0003-4262-8608

Antonio E. M. Mendes M.Sc. (Pharm), Pharmaceutical Sciences Postgraduate Programme, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brazil (mmendesantonio@gmail.com)  
ORCID ID 0000-0002-5752-349X

Helena H. Borba, PhD. Department of Pharmacy, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brazil (helena.hlb@gmail.com)  
ORCID ID 0000-0001-9723-584X

Astrid Wiens, PhD. Department of Pharmacy, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brazil (astrid@ufpr.br)  
ORCID ID 0000-0003-4460-4044

Fernando Fernandez-Llimos, PhD. Research Institute for Medicines (iMed.U LISboa), Department of Social Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Universidade de Lisboa, Lisbon, Portugal (f-llimos@cipf-es.org)  
ORCID ID 0000-0002-8529-9595

Roberto Pontarolo\*, PhD. Department of Pharmacy, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brazil (pontarolo@ufpr.br)  
ORCID ID 0000-0002-7049-4363

**Correspondence:**

Pontarolo, Roberto  
+554133604098  
pontarolo@ufpr.br  
Federal University of Parana,  
Department of Pharmacy  
Pharmaceutical Sciences Postgraduate Program  
Av. Prof. Lothario Meissner 632, 80210-170 Curitiba, Brazil

**Divulgações:** sem interesses concorrentes

## **RESUMO**

**Objetivos:** As vitaminas são micronutrientes essenciais com potencial antioxidante que podem representar um tratamento complementar para pacientes com doenças crônicas. Nosso objetivo foi avaliar os efeitos da suplementação vitamínica sobre o estado antioxidante em pacientes com diabetes mellitus tipo 2.

**Métodos:** Foi realizada uma revisão sistemática com metanálise. Pesquisas eletrônicas foram realizadas no PubMed, Scopus, Web of Science (dezembro de 2017). Ensaios clínicos controlados randomizados avaliando qualquer suplementação de complexo vitamínico ou vitamínico no estado antioxidante como resultado primário (redução de malondialdeído - MDA; aumento da glutathiona peroxidase - GPx; alterações na capacidade antioxidante total - TAC, aumento na enzima superóxido dismutase - SOD e ácido tiobarbitúrico reativo substâncias - TBARS) foram incluídas. Outros resultados do controle glicêmico também foram avaliados. Meta-análises emparelhadas foram realizadas comparando vitaminas com placebo.

**Resultados:** Trinta ensaios preencheram os critérios de inclusão da revisão sistemática, mas apenas 12 puderam ser incluídos nas meta-análises de resultados antioxidantes. As principais vitaminas relatadas foram B, C, D e E. A vitamina E foi relacionada à redução significativa da glicose no sangue bem hemoglobina glicada, enquanto ambas as vitaminas C e E foram principalmente referidas na redução de MDA e TBARS e elevando GPx, SOD e TAC. No entanto, o relatório de resultados neste campo ainda é inconsistente (por exemplo, falta de medidas padrão).

**Conclusão:** A suplementação de vitamina E pode ser uma estratégia valiosa para controlar as complicações do diabetes e aumentar a capacidade antioxidante. Os efeitos de outros micronutrientes devem ser investigados em estudos maiores e bem delineados para posicionar adequadamente essas terapias complementares na prática clínica.

**Palavras-chaves:** diabetes mellitus; capacidade antioxidante; revisão sistemática

**Destaques:**

- Ainda existem divergências sobre o potencial terapêutico das vitaminas nos distúrbios metabólicos
- Vitamina E apresenta um perfil antioxidante promissor em pacientes diabéticos
- Os ensaios clínicos devem ser mais bem projetados e relatar adequadamente os dados dos resultados

## **INTRODUÇÃO**

Diabetes mellitus (DM) é um distúrbio metabólico crônico caracterizado por um aumento na concentração de glicose no sangue (glicemia em jejum  $\geq 126$  mg / dL). Atualmente, existem 382 milhões de pacientes com diabetes, e espera-se que esse número chegue a 592 milhões até 2035, sendo o diabetes tipo 2 (DM2) a forma mais expressiva da doença (1-3). A Declaração de Consenso da American Diabetes Association (ADA) e a Associação Européia para o Estudo do Diabetes (EASD) sobre o manejo do DM2 recomendam mudanças no estilo de vida (dieta saudável e atividade física) em combinação com a metformina no momento do diagnóstico e adição de outros medicamentos em pacientes que não atingem o controle glicêmico desejado (1). A redução da hemoglobina glicosilada (HbA1c) para menos de 7% foi claramente demonstrada como um dos desfechos primários para reduzir as complicações microvasculares do DM e, possivelmente, da doença macrovascular (4).

Evidências atuais demonstram ainda que o estresse oxidativo desempenha importante papel na patogênese de doenças crônicas como a DM

(5-7), podendo diminuir o sistema de defesa antioxidante do organismo, aumentando a carga oxidativa (3, 8, 9). Vários estudos demonstraram que indivíduos com baixa concentração de antioxidantes apresentam maior risco de complicações do diabetes (10-14) e que o DM2 está diretamente associado à disfunção endotelial (6, 7, 15). Essas condições podem desenvolver doenças macrovasculares e microvasculares, como retinopatia, nefropatia, amputações de membros inferiores, coronárias e doenças cardiovasculares (16-18), que são as principais causas de morbimortalidade em todo o mundo (19, 20).

Esses efeitos prejudiciais do estresse oxidativo são causados principalmente pela produção de radicais livres de oxigênio e espécies reativas de oxigênio (ROS), mas essas substâncias podem ser modificadas por antioxidantes enzimáticos ou não enzimáticos, como superóxido dismutase, vitaminas, minerais, polifenóis e algumas outras moléculas (6, 21, 22). Um estudo anterior descreveu que a suplementação com polivitamínicos em uma população com alta prevalência de deficiência de micronutrientes melhorou significativamente a mortalidade por doença cerebrovascular (23).

Outros grupos de pesquisa analisaram as propriedades antioxidantes de produtos naturais através de métodos químicos e / ou biológicos. Eles sugeriram que o consumo de alimentos ricos em antioxidantes pode retardar ou evitar a ocorrência de muitas doenças (24, 25).

No entanto, revisões sistemáticas anteriores e ensaios clínicos randomizados controlados (ECR) individuais que mediram o efeito da suplementação de vitaminas sobre o status antioxidante e controle glicêmico de pacientes diabéticos têm sido conflitantes, de forma que o benefício, ou não, dessa suplementação permanece ainda incerto (26 -33).

Assim, objetivamos realizar uma revisão sistemática e meta-análises pareadas para reunir evidências atuais sobre os efeitos de qualquer suplementação vitamínica sobre o estado antioxidante em pacientes com DM2, a fim de elucidar seus reais benefícios.

## **METODOLOGIA**

Conduzimos e relatamos esta revisão sistemática e meta-análises de acordo com as diretrizes da Cochrane Recommendations e PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses) (34, 35).

Todas as etapas foram realizadas por dois revisores independentes e as discrepâncias foram resolvidas durante o consenso por um terceiro autor.

#### Estratégias de pesquisa e critérios de inclusão

Procuramos por artigos relevantes nas bases de dados PubMed, Scopus e Web of Science, sem limite de tempo (atualizado em 18 de dezembro de 2017). Além disso, realizamos uma pesquisa manual nas listas de referência dos artigos recuperados, revisões e bases de dados de registro de ensaios para identificar registros perdidos pela busca eletrônica. Estratégias completas de busca são apresentadas em Material Suplementar.

Foram incluídos ensaios clínicos randomizados avaliando pacientes adultos (maiores de 18 anos) de qualquer gênero com qualquer estágio de diabetes tipo 2 que avaliaram parâmetros antioxidantes plasmáticos ou de estresse oxidativo. Os doentes receberam vitamina (complexo A e / ou B e / ou C e / ou D e / ou E ou variantes administrados isoladamente ou em combinação com outras vitaminas, micronutrientes ou minerais) independentemente da forma, dosagem, duração ou via de administração comparativamente com placebo ou nenhum tratamento ou outras vitaminas (controle ativo). Dois pesquisadores selecionaram, de forma independente, títulos e resumos dos artigos recuperados pela revisão sistemática para identificar registros irrelevantes.

Em uma segunda etapa, artigos em texto completo foram avaliados para identificar qualquer um dos seguintes critérios de exclusão: estudos controlados não randomizados (tipo de estudos); outras intervenções que não vitaminas; indivíduos com idade inferior a 18 anos; diferentes populações (diabetes tipo 2); resultados diferentes medem outros que não relacionados a antioxidantes; ensaios publicados em caracteres não romanos.

## Extração de dados e avaliação de qualidade

Os seguintes dados foram extraídos independentemente dos estudos incluídos por dois pesquisadores: características básicas (nomes dos autores, ano de publicação, desenho do estudo, país, tamanho da amostra, sexo, idade, condição do paciente, duração do estudo); aspectos metodológicos; e desfechos clínicos de interesse. Para estudos de desfecho primário deve relatar alterações nos parâmetros antioxidantes plasmáticos ou estresse oxidativo, tais como: níveis de vitaminas, níveis de enzimas antioxidantes (superóxido dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx) e catalase (CAT)), biomarcadores de estresse oxidativo MDA (malondialdehyde) e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)) e alterações na capacidade antioxidante total do plasma (TAC). Outras alterações nos parâmetros antropométricos e glicêmicos, como glicemia de jejum e redução da HbA1c, como desfecho central para o controle do diabetes, também foram coletadas, quando disponíveis.

Os estudos incluídos foram avaliados com dois instrumentos diferentes: a escala de Jadad e a ferramenta Cochrane Collaboration para avaliar o risco de viés (34), a fim de avaliar os aspectos metodológicos dos estudos, como randomização, cegamento, retirada e abandono do paciente e possível viés relacionado que pode afetar a interpretação dos dados.

## Análise Estatística

Quando possível, meta-análises pareadas dos ECRs incluídos usando placebo como comparador foram realizadas para as principais medidas de desfecho. Estas análises foram conduzidas usando o software Review Manager versão 5.3 (The Nordic Cochrane Center, The Cochrane Collaboration, Copenhagen, Dinamarca).

Para cada metanálise usamos o modelo de efeitos aleatórios e o método de inversão de variância (IV) para interpolar as diferenças médias (MD) ou as diferenças médias padronizadas (DP) de cada estudo da linha de base. Os resultados foram relatados com intervalo de confiança de 95% (IC). Um valor de  $p$  inferior a 0,05 (bicaudal) foi considerado indicativo de diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

A heterogeneidade entre os ensaios clínicos foi avaliada pelo valor do índice de inconsistência ( $I^2$ ) ( $I^2 > 50\%$  - heterogeneidade alta e significativa) (34). Também realizamos análises de sensibilidade para testar a robustez dos resultados para avaliar o impacto de qualquer estudo sobre a heterogeneidade dos dados. As análises consistiram na remoção seqüencial hipotética de estudos da metanálise. Quando possível, análises de subgrupos também foram realizadas.

## RESULTADOS

Após a busca sistemática realizada nas três bases de dados, 1.570 registros foram recuperados e 196 foram excluídos como duplicatas. Durante o estudo e leitura do título e resumo (triagem), 1.243 registros foram excluídos e 104 foram considerados para avaliação de texto completo, dos quais 25 ECRs foram adequados para análises finais. Cinco artigos foram adicionados por buscas manuais, finalmente abrangendo 30 ECRs (36-66) (Figura 1). As principais características dos estudos incluídos são fornecidas na Tabela 1.

Todos os estudos envolveram pacientes com diagnóstico de DM2 ( $n = 1.430$ ) e foram realizados principalmente no Irã ( $n = 9$  ensaios); seguido pelo Reino Unido ( $n = 4$ ) e Estados Unidos da América ( $n = 3$ ). Os tratamentos avaliados foram: vitamina B ( $n = 1$  estudo), vitamina C ( $n = 10$ ); vitamina D ( $n = 7$ ); vitamina E ( $n = 11$ ) e mistura de vitaminas B, C e E ( $n = 1$ ). Em quatro destes ensaios (13,3%), as vitaminas foram entregues por fortificação de alimentos (óleo ou iogurte) (43, 55, 59, 62). Placebo ou controle negativo foram os principais comparadores em 29 estudos (96,7%), enquanto oito ensaios (26,7%) incluíram comparações frente a frente. A duração do tratamento variou de duas a 24 semanas e a idade dos pacientes variou de 46 a 72 anos.

No geral, a qualidade metodológica dos estudos incluídos foi baixa-moderada, com uma pontuação média de Jadad de 2,7 (intervalo - 1 a 5). Todos os estudos pontuaram na randomização, mas apenas 20,0% deles descreveram adequadamente esses métodos. Quase todos os estudos (90,0%) foram responsáveis por retiradas ou desistências do paciente, e metade dos estudos foi duplo-cego. No entanto, apenas dois ensaios descreveram os métodos de ocultação.

Para o risco de viés ferramenta (ver material complementar), os ensaios foram considerados de baixo risco de viés (> 75%) nos domínios de randomização, dados de resultados incompletos e livre de relatórios seletivos. A ocultação de alocação foi considerada incerta em 25 estudos (86,2%), e para cegar os participantes ou os estudos de resultados, muitas vezes não conseguiu fornecer detalhes. No geral, 70,0% dos estudos foram financiados por indústrias ou relataram conflitos de interesse.

Considerando os desfechos primários de interesse relacionados ao estado antioxidante, doze estudos puderam ser incluídos nas metanálises de intervenção (vitamina) versus placebo / controle. Nem todos os estudos foram estatisticamente avaliados, uma vez que os resultados não eram comparáveis (por exemplo, falta de dados em bruto). Além disso, a coleta de evidências, especialmente sobre o potencial antioxidante foi dificultada devido à falta de padronização dos resultados relatados nos ensaios clínicos (por exemplo, relatório inconsistente, diferentes medidas, escalas e unidades).

Meta-análises foram obtidas para o aumento dos níveis de GPx (Unidades / grama de Hemoglobina - U / g Hb), reduções de MDA (nmol / L) e TBARS ( $\mu\text{mol} / \text{L}$ ) e mudanças favoráveis no TAC (mmol / L) e SOD (U / g Hb). Nestes casos, não foram realizadas análises de subgrupos devido ao número limite de estudos. No geral, os resultados foram estatisticamente diferentes contra placebo e favoreceram o uso de vitaminas com valores de MD 9,40 (95% CI [7,79; 11,00]) para GPx e MD -0,53 (95% IC [-0,81; -0,25]) para MDA, com valores de  $I^2$  de 44% e 47%, respectivamente. As vitaminas também foram superiores ao placebo na redução de TBARS com um efeito global do tamanho de SMD -4.84 (95% CI [-6.01; -3.67]) ( $I^2 = 54\%$ ) e no aumento do TAC (SMD 0.38 [0.11; 0.65]) Níveis de SOD (SMD 0,64 [0,11; 1,17]). Estes resultados

positivos vieram principalmente de estudos onde as intervenções foram vitamina E (n = 7 ensaios) (39, 44, 47, 50, 56, 62, 65); vitamina C (n = 2) (49, 52) e vitamina D (n = 2) (55, 59) (ver Figura 2).

As metanálises dos parâmetros de controle glicêmico (13 ensaios incluídos) são mostradas nas figuras 3 e 4. Não foram observadas diferenças estatísticas nas análises de subgrupos comparando as vitaminas C ou D com o placebo. No entanto, para ambos os desfechos de mudança média na glicemia (mg / dL) e redução de HbA1c (em porcentagem), os efeitos da vitamina E foram significativamente melhores quando comparados ao controle (valores de DM - 13,89 [95%] [ -19,89; -7,89]) e MD -0,47 (IC 95% [-0,69; -0,26]), respectivamente).

A heterogeneidade moderada-alta de algumas meta-análises (I<sup>2</sup> variando de 15% a 71%) foi causada por mais de um estudo e pode ser aceitável neste contexto. Análises de sensibilidade foram realizadas com todas as meta-análises (dados não mostrados) e, apesar da remoção hipotética sequencial de estudos com redução na heterogeneidade, os resultados permaneceram inalterados. Diferenças nas características intrínsecas dos estudos incluídos, a condução e concepção de ensaios com baixa qualidade, tamanhos de amostra e condições do paciente com possíveis comorbidades e diferentes tratamentos farmacológicos, tipo de intervenção e diferenças nas medidas de resultados podem explicar essas discrepâncias.

## DISCUSSÃO

Nosso estudo é a primeira revisão sistemática com meta-análise que incorpora a evidência disponível de suplementação vitamínica em pacientes com DM2 para a melhoria do status antioxidante de diferentes maneiras (aumento dos níveis de GPx, SOD e TAC e redução nos produtos MDA e TBARS). Estudos

anteriores se concentraram no controle glicêmico, resistência à insulina e alterações nas funções endoteliais (28, 30-33).

As vitaminas são micronutrientes essenciais adquiridos principalmente através de dieta (por exemplo, consumo de frutas, vegetais, óleos, nozes), mas também estão prontamente disponíveis como medicamentos sem receita. Como a ingestão natural destas vitaminas pode não ser suficiente diariamente - notadamente para pacientes com doenças crônicas - a suplementação pode representar um tratamento comum, acessível, complementar e fácil, especialmente para melhorar o status antioxidante e melhorar a defesa do corpo (8, 67, 68).

Potenciais vitaminas antioxidantes como C e E são encontradas diminuídas em indivíduos diabéticos, possivelmente devido a uma maior necessidade de controlar o estresse oxidativo excessivo produzido por anormalidades no metabolismo da glicose e peroxidação lipídica (69). Apesar das diretrizes e protocolos não recomendarem especificamente o uso de multivitamínicos para a população geral saudável, é indicado que algumas doenças específicas podem se beneficiar de sua suplementação (42, 69). No entanto, poucas recomendações existem para o DM2.

Nossos resultados atuais revelaram que a suplementação de certas vitaminas no DM2, especialmente a vitamina E, pode produzir um impacto significativo nos parâmetros do estresse oxidativo e no controle glicêmico, o que pode beneficiar positivamente os pacientes. A vitamina C foi mais relacionada a mudanças no estado antioxidante, enquanto poucas evidências foram encontradas para as outras vitaminas (por exemplo, D ou B).

Esses efeitos benéficos da vitamina E podem ser explicados pela redução dos efeitos nocivos dos radicais livres sobre os componentes estruturais e funcionais das células e paredes dos vasos (30). Acredita-se que o diabetes esteja associado ao aumento do estresse oxidativo, como aumento das concentrações séricas de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico e ao malonaldeído sérico, produtos finais da peroxidação lipídica (70).

Como conseqüências, efeitos fisiológicos adversos incluem vazamento das membranas celulares, alterando a integridade estrutural da membrana; inativação de enzimas ligadas à membrana e receptor de superfície e o

envolvimento de LDL oxidada. Quando o estado antioxidante total é alto e suficiente para combater o estresse oxidativo, os níveis de MDA e TBARS estão nos limites normais e vice-versa. (12, 26, 71).

Antioxidantes podem diminuir o dano oxidativo diretamente por meio da reação com radicais livres ou indiretamente inibindo a atividade ou expressão de radicais livres (21, 72). Os níveis de TAC no plasma representam a soma das atividades antioxidantes tanto exógenas quanto endógenas. Assim, a diminuição do TAC e o aumento dos níveis de MDA e TBARS poderiam ser considerados como um marcador precoce da patogênese das complicações no DM2 (26, 68, 71).

Antioxidantes não enzimáticos como as vitaminas C e E e a enzima glutathione interrompem as reações em cadeia dos radicais livres. A combinação dessas vitaminas parece ser promissora.

Apesar de apenas um ECR avaliar um complexo vitamínico misto foi encontrado em nossa revisão sistemática (42), estudos anteriores relataram que combinações antioxidantes podem ser uma fórmula apropriada para o controle do diabetes (72, 73).

Um estudo de três meses sobre a suplementação de vitaminas C e E mostrou que os pacientes diminuíram a glicose no sangue enquanto aumentavam os níveis de SOD e glutathione (69, 74). Além disso, o uso prolongado de suplementos dietéticos, incluindo o complexo multivitamínico / mineral, mostrou melhores condições para proteína C-reativa, colesterol HDL, triacilglicerídeos, homocisteína sérica, pressão arterial e incidência de diabetes (75, 76).

No entanto, sozinha, a vitamina C não apresentou um perfil maior que a vitamina E. Na literatura, a vitamina D está relacionada ao controle da expressão gênica que pode desencadear uma resposta biológica ao estresse oxidativo, como a inibição da óxido nítrico sintase (iNOS) ou o aumento dos níveis de glutathione (5, 77).

Há evidências em humanos e modelos animais sugerindo que a vitamina D pode desempenhar um papel importante na modificação do risco de diabetes (5, 78). O baixo nível de vitamina D está associado a futuros eventos cardiovasculares em pacientes com DM2.

Essa associação pode ser o resultado da ligação entre o status da vitamina D e o sistema renina-angiotensina, a função endotelial, a pressão arterial ou mesmo a inflamação crônica (31, 77, 79). No entanto, nossos resultados foram escassos na definição do perfil antioxidante da vitamina D, uma vez que poucos ECR envolvendo esse micronutriente foram incluídos. Além disso, alguns ensaios (43, 55, 59, 62) não empregaram diretamente uma suplementação medicamentosa, mas incorporaram a vitamina em alimentos (por exemplo, óleo, iogurte), o que pode afetar os resultados finais.

Além disso, como a dosagem diária total da ingestão de vitaminas e a duração do tratamento foram variáveis entre os estudos, os efeitos sobre os perfis antioxidante e glicêmico podem estar subestimados. Regimes para vitamina C varia de 500 a 3000 mg / dia; para a vitamina E varia de 400 a 1600 UI / dia e para doses de vitamina D foram de 500 a 200.000 UI / dia. No entanto, muito poucas retiradas do tratamento e desistências, bem como eventos adversos devido à suplementação foram relatados em todos os ensaios clínicos. Ensaios de períodos mais longos com dose diária razoavelmente baixa podem aumentar a concentração intracelular de vitaminas e resultar em um efeito suficiente que deve ser avaliado posteriormente.

Apesar desses resultados, a avaliação dos desfechos relacionados ao estado antioxidante foi limitada pelo pequeno número de estudos que relataram adequadamente os dados. Além disso, os aspectos metodológicos dos estudos incluídos revelaram baixa qualidade moderada, especialmente no que diz respeito à descrição precisa da randomização e cegamento. É digno de nota que os erros metodológicos (por exemplo, mau cegamento ou randomização) permitem que fatores como o efeito placebo ou viés de seleção afetem adversamente os resultados do estudo e, portanto, devem ser cuidadosamente analisados (80, 81).

A acentuada heterogeneidade no relato dos resultados do estresse oxidativo e da capacidade antioxidante pode ser devido à falta de padronização na seleção e / ou mensuração do desfecho em ensaios clínicos. Diferentes medidas e unidades (p.ex., níveis de enzimas (catalase, superóxido dismutase), FRAP - capacidade de redução férrica de plasma, ORAC - capacidade de

absorção de radicais livres de oxigênio, TAS - antioxidante total, entre outros) são usualmente empregados (82, 83) .

Isso pode ser parcialmente justificado por causa da variedade de substâncias e componentes antioxidantes no organismo, juntamente com a dificuldade de medir tudo de uma vez. Além disso, variáveis inerentes como diferenças entre sujeitos e doenças e comorbidades devem ser levadas em conta (12, 83).

A questão da falta de padronização de resultados é comum a diferentes áreas (84), mas tem sido associada a uma má prática de relato - troca de resultados e dificulta comparações entre intervenções (84, 85). Assim, o desenvolvimento de um conjunto de resultados centrais relacionados ao status antioxidante em doenças crônicas, como o DM, é um componente importante do desenho dos estudos e pode minimizar o viés e reduzir a inconsistência de evidências. Medidas como TAC, TBARS e MDA podem ser empregadas como padrão.

Nosso estudo tem algumas limitações. Incluímos nas análises ECRs com diferenças no desenho metodológico e nas características das populações (por exemplo, idade, sexo, estágio da doença e comorbidades, tratamentos para diabetes, duração do estudo) e nenhum deles foi suficientemente fortalecido devido ao número relativamente pequeno de participantes.

Houve alguma dificuldade em encontrar e coletar ensaios do mesmo complexo vitamínico ou vitamínico avaliando resultados similares. Pudemos analisar estatisticamente três vitaminas (C, D e E), mas outros micronutrientes e combinações de vitaminas (especialmente as vitaminas C e E) devem ser melhor investigados. Metanálises de subgrupos foram mal obtidas.

É altamente recomendável que estudos controlados e meta-análises bem planejados e em larga escala sejam realizados para demonstrar os efeitos das suplementações individuais ou multivitamínicas sobre o DM2, uma vez que os resultados anteriores são promissores.

## CONCLUSÃO

O consumo de vitamina E (isoladamente ou em combinação) promove benefícios à saúde, pois afeta a capacidade antioxidante plasmática, a concentração de enzimas e reduz os níveis de MDA e TBARS.

Considerando que os pacientes com DM2 apresentam alto risco de apresentarem complicações micro e macrovasculares, uma estratégia alternativa para o controle metabólico, além da combinação de dieta, exercício e medicação, seria pela potencial suplementação diária com vitaminas.

Assim, essas substâncias podem representar um passo à frente no manejo da doença e prevenir a ocorrência dessas complicações.

Novos estudos devem ser conduzidos para reforçar esta evidência, especialmente para definir doses e regime de vitamina E e apoiar o seu uso na prática diária.

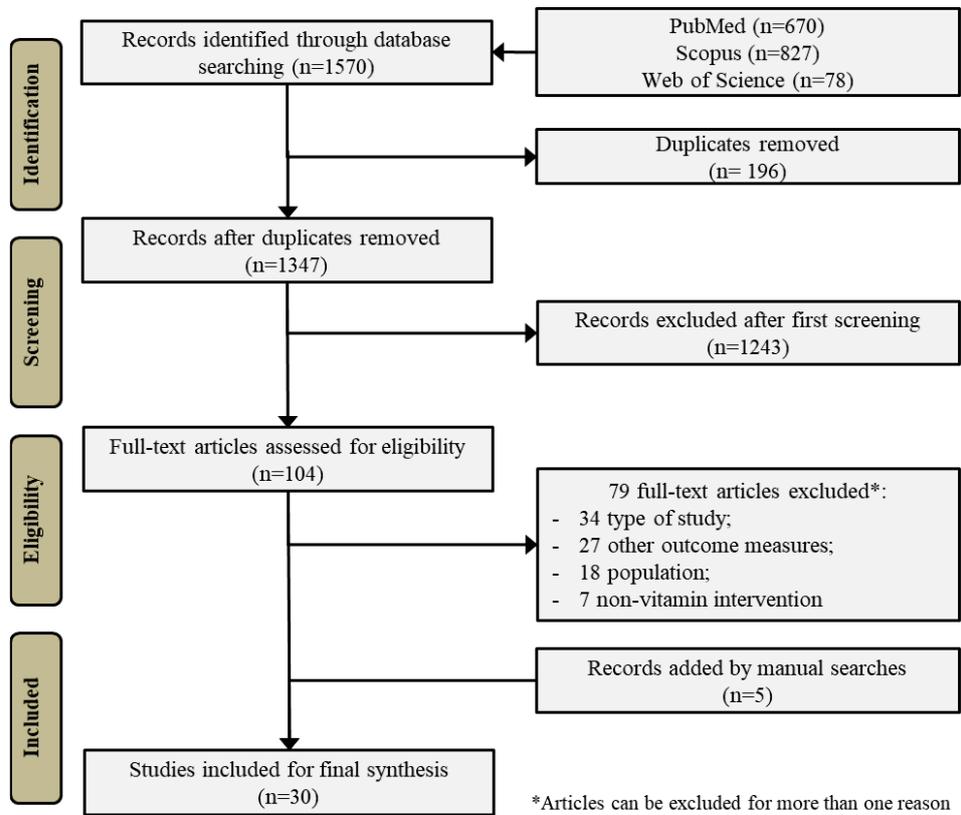
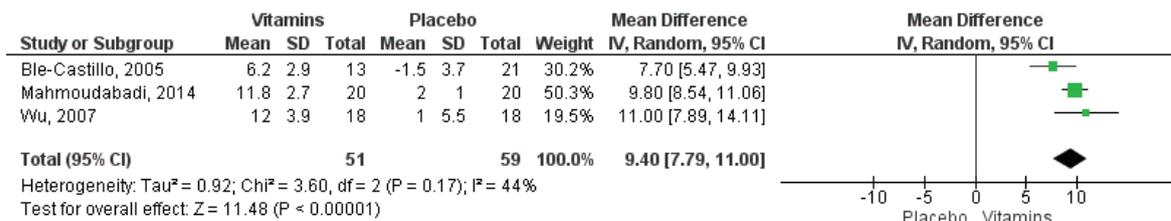
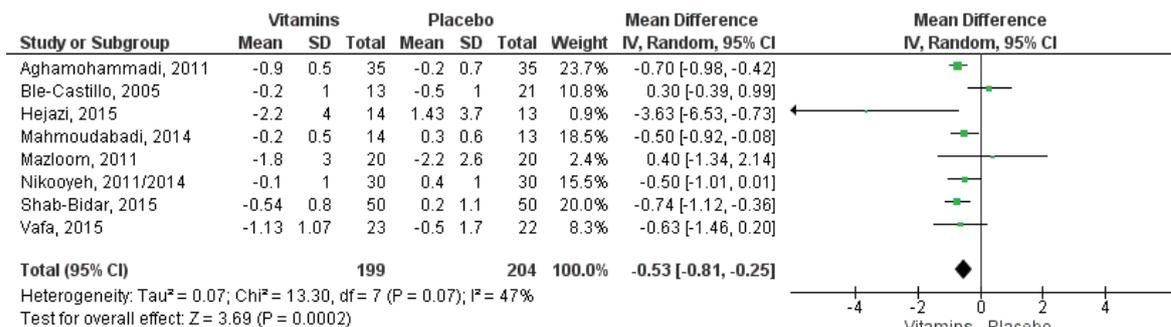


Figura 1. Fluxograma do processo de revisão sistemática

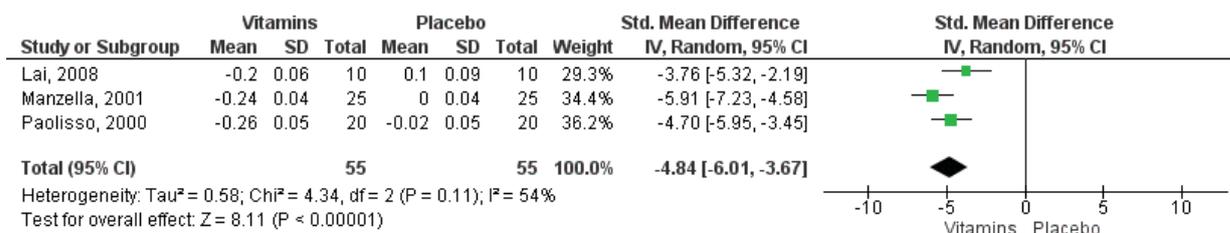
(A)



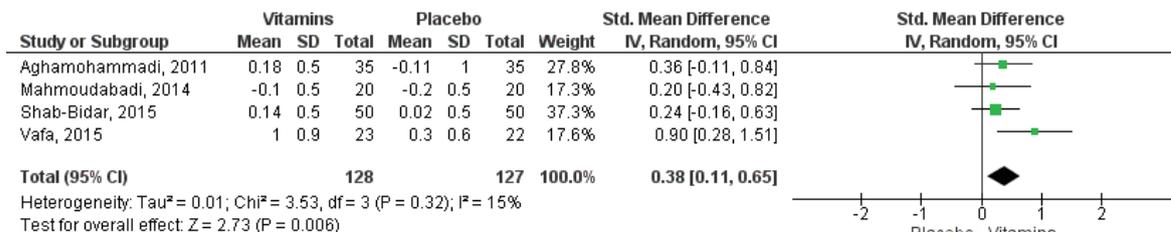
**(B)**



**(C)**



**(D)**



**(E)**

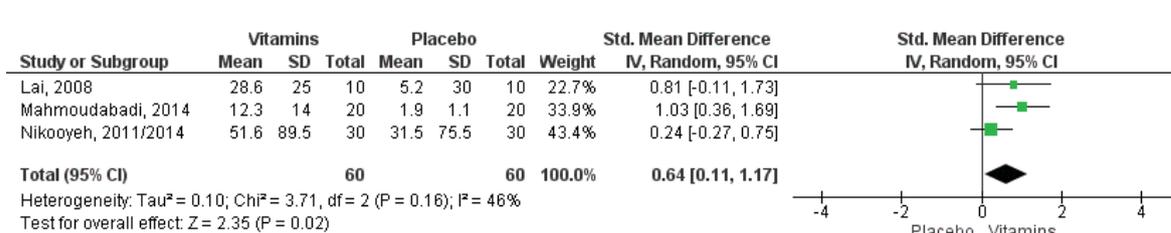


Figura 2. Parcelas florestais para os resultados: (A) aumento do nível de GPx (U / g Hb); (B) redução de MDA (nmol / L); (C) redução de TBARS (µmol / L); (D) alterações no TAC (mmol / L); (E) mudanças na SOD (U / g). Método estatístico:

diferença média (MD) e Std. Diferença Média (SMD), IV, Aleatório, intervalo de confiança de 95%.

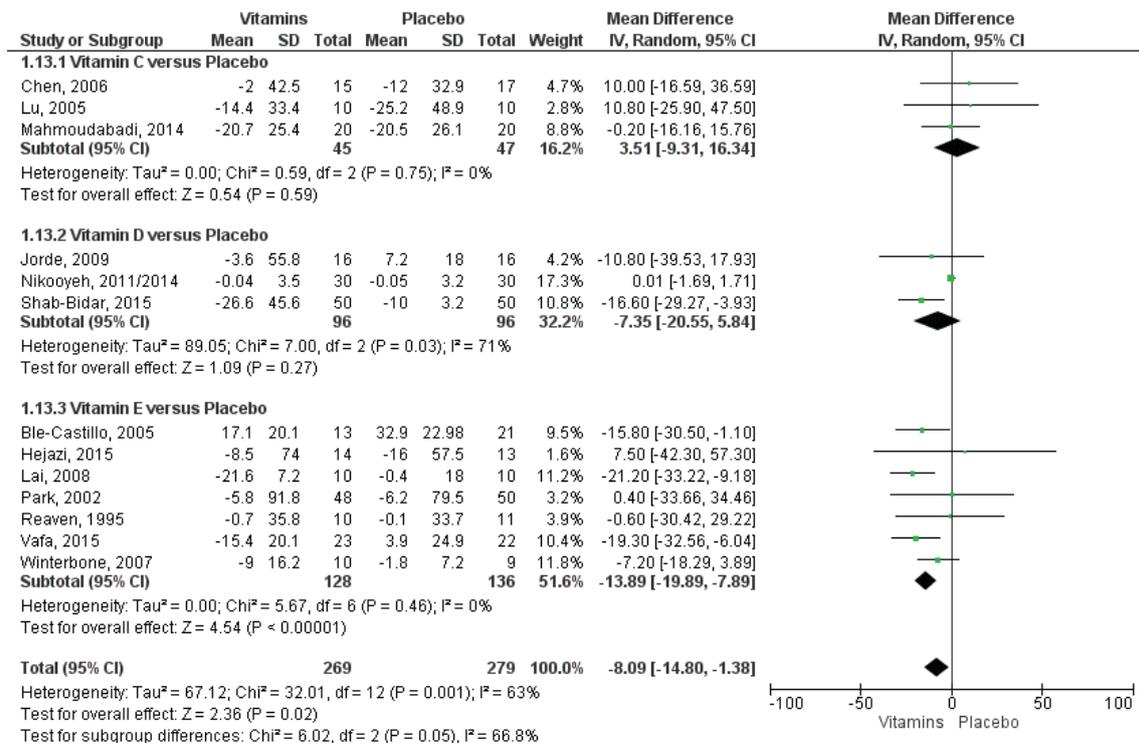


Figura 3. Gráfico de floresta para a medida do resultado da mudança média da glicemia a partir da linha de base (mg / dL). Método estatístico: diferença média (MD), IV, aleatório, intervalo de confiança de 95%.

**Tabela 1. Características dos estudos incluídos**

Author, year	Country	Treatments	N	Duration	Age (years)	Male %	Jadad Score
<b>Aghamohammadi, 2011</b> (Aghamohammadi, Gargari et al. 2011)	Iran	Vitamin B9 5 mg/day Placebo	70	8 weeks	58.7 ± 7.2 55.6 ± 9.3	100	3
<b>Anderson, 2006</b> (Anderson, Evans et al. 2006)	Wales	Vitamin C 1,000 mg/day Placebo	20	6 weeks	52.7 ± 6.9 53.6 ± 7.9	40.0	2
<b>Antoniades, 2004</b> (Antoniades, Tousoulis et al. 2004)	Greece	Vitamin C 2,000 mg/day Placebo	17	4 weeks	48.5 ± 6.6 52.6 ± 5.9	58.8	1
<b>Ble-Castillo, 2005</b> (Ble-Castillo, Carmona-Diaz et al. 2005)	United States	Vitamin E 800 IU/day Placebo	33	6 weeks	51.3 ± 14.0 55.3 ± 11.6	0	2
<b>Chen, 2006</b> (Chen, Karne et al. 2006)	United States	Vitamin C 800 mg/day Placebo	32	4 weeks	50.0 ± 1.0	40.6	3
<b>Dalan, 2016</b> (Dalan, Liew et al. 2016)	Singapore	Vitamin D 4,000 IU/day Vitamin D 2,000 IU/day Placebo	64	16 weeks	52.2 ± 8.2 54.8 ± 10.8	51.6	5
<b>Gariballa, 2013</b> (Gariballa, Afandi et al. 2013)	Arab Emirates	Vitamin complex (B, C, E) Placebo	100	12 weeks	52 (44–56) 51 (42–60)	41.0	2
<b>Haghighat, 2014</b> (Haghighat 2014)	Iran	Vitamin E enriched canola oil 15 ml/day Placebo oil	45	8 weeks	55.9 ± 5.9 55.2 ± 5.6	26.7	2
<b>Hejazi, 2015</b> (Hejazi, Dabbagmanesh et al. 2015)	Iran	Vitamin E 400 IU/day Placebo	27	6 weeks	48.0 ± 6.3 46.6 ± 7.6	26.0	3
<b>Jamalan, 2015</b>	Iran	Vitamin C 1,000 mg/day	80	4 weeks	52.0 ± 8.0	100	2

**Tabela 1. Características dos estudos incluídos**

Author, year	Country	Treatments	N	Duration	Age (years)	Male %	Jadad Score
(Jamalan, Rezazadeh et al. 2015)		Vitamin E 300 mg/day					
<b>Jorde, 2009</b> (Jorde and Figsenschau 2009)	Norway	Vitamin D 40,000 IU/week Placebo	32	24 weeks	57.7 ± 9.7 54.8 ± 5.9	56.2	2
<b>Lai, 2008</b> (Lai 2008)	Japan	Chromium 1000 µg Vitamin E 800 IU + chromium Placebo	30	24 weeks	53.2 ± 2.0 51.5 ± 1.7 50.5 ± 1.9	46.7	3
<b>Lu, 2005</b> (Lu, Bjorkhem et al. 2005)	Sweden	Vitamin C 3,000 mg/day Placebo	20	2 weeks	-	60.0	2
<b>Mahmoudabadi, 2014</b> (Mahmoudabadi and Rahbar 2014)	Iran	Eicosanpentaenoic acid 500mg/day Vitamin C 200mg/day Vitamin C + eicosanpentaenoic acid Placebo	81	8 weeks	54.0 ± 5.0 53.0 ± 5.0 52.0 ± 6.0 50.0 ± 8.0	100	2
<b>Manzella, 2001</b> (Manzella, Barbieri et al. 2001)	Italy	Vitamin E 600 mg/day Placebo	50	16 weeks	64.3 ± 4.7 65.1 ± 3.9	-	3
<b>Mason, 2016</b> (Mason, Della Gatta et al. 2016)	Australia	Vitamin C 1,000mg/day Placebo	13	16 weeks	59.4 ± 3.5	92.3	3
<b>Mazloom, 2011</b> (Mazloom 2011)	Iran	Vitamin C 1,000mg/day Placebo	27	6 weeks	47.0 ± 8.9 46.6 ± 7.6	42.1	2
<b>Mullan, 2002</b> (Mullan, Young et al. 2002)	United Kingdom	Vitamin C 500mg/day Placebo	30	4 weeks	61.0 ± 6.5 57.9 ± 6.6	73.4	3

**Tabela 1. Características dos estudos incluídos**

Author, year	Country	Treatments	N	Duration	Age (years)	Male %	Jadad Score
<b>Nikooyeh, 2011/2014</b> (Nikooyeh, Neyestani et al. 2011, Nikooyeh, Neyestani et al. 2014)	Iran	Yogurt (150 mg calcium/250 mL) Vitamin D fortified (150 mg calcium + 500 IU/250 mL) Vitamin D fortified (250 mg of calcium + 500 IU/250 mL) *Two bottles/day = 500 mL/day	90	12 weeks	50.8 ± 6.6 51.4 ± 5.4 49.9 ± 6.2	38.9	2
<b>Paolisso, 2000</b> (Paolisso, Tagliamonte et al. 2000)	Italy	Vitamin E 600 mg/day Placebo	40	8 weeks	58.3 ± 6.4 56.7 ± 5.3	52.5	3
<b>Park, 2002</b> (Park and Choi 2002)	Korea	Vitamin E 200 mg/day Placebo	98	8 weeks	49.4 ± 9.3 49.5 ± 10.1	59.2	2
<b>Reaven, 1995</b> (Reaven, Herold et al. 1995)	United States	Vitamin E 1,600 IU/day Placebo	21	10 weeks	60.8 ± 6.1 61.8 ± 8.4	100	2
<b>Shab-Bidar, 2015</b> (Shab-Bidar 2015)	Iran	Vitamin D fortified Yogurt 500 UI, 500ml/day Yogurt	100	12 weeks	52.6 ± 6.3 52.4 ± 8.4	43.0	3
<b>Sugden 2007</b> (Sugden, Davies et al. 2008)	United Kingdom	Vitamin D 100 000 UI/day Placebo	34	8 weeks	64.9 ± 10.3 63.5 ± 9.5	52.9	5
<b>Tessier, 2009</b> (Tessier, Khalil et al. 2009)	Canada	Vitamin C 500 mg/day Vitamin C 1000 mg/day Placebo	36	12 weeks	72.0 ± 5.0 72.0 ± 4.0 71.0 ± 4.0	22.2	3
<b>Vafa, 2015</b> (Vafa 2015)	Iran	Vitamin E enriched canola oil 15 ml/day Canola oil	45	8 weeks	55.9 ± 5.9 55.2 ± 5.6	73.3	4
<b>Winterbone, 2007</b>	United Kingdom	Vitamin E 1,200 IU α-tocopherol/day Placebo	19	4 weeks	62.7 ± 1.8 61.9 ± 1.9	100	2

**Tabela 1. Características dos estudos incluídos**

Author, year	Country	Treatments	N	Duration	Age (years)	Male %	Jadad Score
(Winterbone, Sampson et al. 2007)							
<b>Witham, 2010</b> (Witham, Dove et al. 2010)	United Kingdom	Vitamin D3 100,000 IU/day Vitamin D3 200,000 IU/day Placebo	41	16 weeks	65.3 ± 11.1 63.3 ± 9.6 66.7 ± 9.7	67.2	3
<b>Wu, 2007</b> (Wu, Ward et al. 2007)	Australia	Vitamin E α-tocopherol 500 mg/day Vitamin E mixed tocopherols 500 mg/day Placebo	55	6 weeks	64.0 ± 7.0 58.0 ± 4.0 62.0 ± 7.0	74.5	2
<b>Yiu, 2013</b> (Yiu, Yiu et al. 2013)	China	Vitamin D 500 IU/day Placebo	100	12 weeks	65.8 ± 7.3 64.9 ± 8.9	50.0	4

## REFERÊNCIAS

- ADA (2018). "American Diabetes Association - Standards in Medical Care in Diabetes - 2018." Diabetes Care **41**(1).
- Aghamohammadi, V., et al. (2011). "Effect of folic acid supplementation on homocysteine, serum total antioxidant capacity, and malondialdehyde in patients with type 2 diabetes mellitus." J Am Coll Nutr **30**(3): 210-215.
- Anderson, R. A., et al. (2006). "Prolonged deterioration of endothelial dysfunction in response to postprandial lipaemia is attenuated by vitamin C in Type 2 diabetes." Diabet Med **23**(3): 258-264.
- Antoniades, C., et al. (2004). "Vascular endothelium and inflammatory process, in patients with combined Type 2 diabetes mellitus and coronary atherosclerosis: the effects of vitamin C." Diabet Med **21**(6): 552-558.
- Barbosa, J. H. P., et al. (2008). "O Papel dos Produtos Finais da Glicação Avançada (AGEs) no Desencadeamento das Complicações Vasculares do Diabetes." Arquivo Brasileiro de Endocrinologia Metabólica **52**(6): 940-950.
- Barone, B., et al. (2007). "Cetoacidose Diabética em Adultos – Atualização de uma Complicação Antiga." Arquivo Brasileiro de Endocrinologia Metabólica **51**(9): 1434-1447.
- Ble-Castillo, J. L., et al. (2005). "Effect of alpha-tocopherol on the metabolic control and oxidative stress in female type 2 diabetics." Biomed Pharmacother **59**(6): 290-295.
- Chen, H., et al. (2006). "High-dose oral vitamin C partially replenishes vitamin C levels in patients with Type 2 diabetes and low vitamin C levels but does not improve endothelial dysfunction or insulin resistance." Am J Physiol Heart Circ Physiol **290**(1): H137-145.
- Dalan, R., et al. (2016). "A randomised controlled trial evaluating the impact of targeted vitamin D supplementation on endothelial function in type 2 diabetes mellitus: The DIMENSION trial." Diab Vasc Dis Res **13**(3): 192-200.
- Gariballa, S., et al. (2013). "Effect of antioxidants and B-group vitamins on risk of infections in patients with type 2 diabetes mellitus." Nutrients **5**(3): 711-724.
- Guyton, A. C. and J. E. Hall (1998). Fisiologia Humana e Mecanismo das Doenças. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan.
- Haghighat, N. V., M.; Eghtesadi, S.; Heidari, I.; Hosseini, A.; Rostami, A. (2014). "The Effects of Tocotrienols Added to Canola Oil on Microalbuminuria, Inflammation, and Nitrosative Stress in Patients with Type 2 Diabetes: A

Randomized, Double-blind, Placebo-controlled Trial." Int J Prev Med **5**(5): 617-623.

Hejazi, N., et al. (2015). "Effects of Vitamin E on Fasting and Postprandial Oxidative Stress, Inflammatory Markers, Glucose Status, Insulin Resistance, Blood Pressure and Pulse Rate in Type-2 Diabetic Patients: A Randomized Clinical Trial." GMJ **4**(3): 67-74.

Jamalan, M., et al. (2015). "Effect of ascorbic acid and alpha-tocopherol supplementations on serum leptin, tumor necrosis factor alpha, and serum amyloid A levels in individuals with type 2 diabetes mellitus." Avicenna J Phytomed **5**(6): 531-539.

Jorde, R. and Y. Figenschau (2009). "Supplementation with cholecalciferol does not improve glycaemic control in diabetic subjects with normal serum 25-hydroxyvitamin D levels." Eur J Nutr **48**(6): 349-354.

Lai, M. H. (2008). "Antioxidant effects and insulin resistance improvement of chromium combined with vitamin C and e supplementation for type 2 diabetes mellitus." J Clin Biochem Nutr **43**(3): 191-198.

Lu, Q., et al. (2005). "Effect of ascorbic acid on microcirculation in patients with Type II diabetes: a randomized placebo-controlled cross-over study." Clin Sci (Lond) **108**(6): 507-513.

Mahmoudabadi, M. M. and A. R. Rahbar (2014). "Effect of EPA and vitamin C on superoxide dismutase, glutathione peroxidase, total antioxidant capacity and malondialdehyde in type 2 diabetic patients." Oman Med J **29**(1): 39-45.

Manzella, D., et al. (2001). "Chronic administration of pharmacologic doses of vitamin E improves the cardiac autonomic nervous system in patients with type 2 diabetes." Am J Clin Nutr **73**(6): 1052-1057.

Mason, S. A., et al. (2016). "Ascorbic acid supplementation improves skeletal muscle oxidative stress and insulin sensitivity in people with type 2 diabetes: Findings of a randomized controlled study." Free Radic Biol Med **93**: 227-238.

Mazloom, Z. H., N.; Dabbaghmanesh, M. H.; Tabatabaei, H. R.; Ahmadi, A.; Ansar, H. (2011). "Effect of vitamin C supplementation on postprandial oxidative stress and lipid profile in type 2 diabetic patients." Pakistan Journal of Biological Sciences **14**(19): 900-904.

Mullan, B. A., et al. (2002). "Ascorbic acid reduces blood pressure and arterial stiffness in type 2 diabetes." Hypertension **40**(6): 804-809.

Nikooyeh, B., et al. (2011). "Daily consumption of vitamin D- or vitamin D + calcium-fortified yogurt drink improved glycemic control in patients with type 2 diabetes: a randomized clinical trial." Am J Clin Nutr **93**(4): 764-771.

Nikooyeh, B., et al. (2014). "Daily intake of vitamin D- or calcium-vitamin D-fortified Persian yogurt drink (doogh) attenuates diabetes-induced oxidative stress: evidence for antioxidative properties of vitamin D." J Hum Nutr Diet **27 Suppl 2**: 276-283.

Paolisso, G., et al. (2000). "Chronic vitamin E administration improves brachial reactivity and increases intracellular magnesium concentration in type II diabetic patients." J Clin Endocrinol Metab **85**(1): 109-115.

Park, S. and S. B. Choi (2002). "Effects of alpha-tocopherol supplementation and continuous subcutaneous insulin infusion on oxidative stress in Korean patients with type 2 diabetes." Am J Clin Nutr **75**(4): 728-733.

Reaven, P. D., et al. (1995). "Effects of Vitamin E on susceptibility of low-density lipoprotein and low-density lipoprotein subfractions to oxidation and on protein glycation in NIDDM." Diabetes Care **18**(6): 807-816.

SBD (2017). Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2017-2018. São Paulo, Clannad.

Shab-Bidar, S. N., T. R.; Djazayeri, A. (2015). "The interactive effect of improvement of vitamin D status and VDR FokI variants on oxidative stress in type 2 diabetic subjects: a randomized controlled trial." Eur J Clin Nutr **69**(2): 216-222.

Sugden, J. A., et al. (2008). "Vitamin D improves endothelial function in patients with Type 2 diabetes mellitus and low vitamin D levels." Diabet Med **25**(3): 320-325.

Tessier, D. M., et al. (2009). "Effects of vitamin C supplementation on antioxidants and lipid peroxidation markers in elderly subjects with type 2 diabetes." Arch Gerontol Geriatr **48**(1): 67-72.

Vafa, M. H., N.; Moslehi, N.; Eghtesadi, S.; Heydari, I. (2015). "Effect of tocotrienols enriched canola oil on glycemic control and oxidative status in patients with type 2 diabetes mellitus: A randomized double-blind placebo-controlled clinical trial." Journal of Research in Medical Sciences **20**(6): 540-547.

WHO (2016) Global reports on diabetes. .

Winterbone, M. S., et al. (2007). "Pro-oxidant effect of alpha-tocopherol in patients with type 2 diabetes after an oral glucose tolerance test--a randomised controlled trial." Cardiovasc Diabetol **6**: 8.

Witham, M. D., et al. (2010). "The effect of different doses of vitamin D(3) on markers of vascular health in patients with type 2 diabetes: a randomised controlled trial." Diabetologia **53**(10): 2112-2119.

Wu, J. H., et al. (2007). "Effects of alpha-tocopherol and mixed tocopherol supplementation on markers of oxidative stress and inflammation in type 2 diabetes." Clin Chem **53**(3): 511-519.

Yiu, Y. F., et al. (2013). "Randomized controlled trial of vitamin D supplement on endothelial function in patients with type 2 diabetes." Atherosclerosis **227**(1): 140-146.