Pronalaženje dokaza o djelotvornosti i sigurnosti antioksidansa u prevenciji karcinoma probavnog trakta

Matas, Kristina

Master's thesis / Diplomski rad

2015

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, Faculty of Chemistry and Technology / Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:167:546382

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of chemistry and technology - University of Split

zir.nsk.hr

UNIVERSITY OF SPLIT

dabar

DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U SPLITU

KEMIJSKO -TEHNOLOŠKI FAKULTET

I

MEDICINSKI FAKULTET

Kristina Matas

PRONALAŽENJE DOKAZA O DJELOTVORNOSTI I SIGURNOSTI ANTIOKSIDANSA U PREVENCIJI KARCINOMA PROBAVNOG TRAKTA: „SUSTAVNI“ PREGLED LITERATURE

Diplomski rad

Akademska godina: 2014/15.

Mentor: dr. sc. Darko Modun, izv.prof.

Split, listopad 2015.

SVEUČILIŠTE U SPLITU

KEMIJSKO -TEHNOLOŠKI FAKULTET

I

MEDICINSKI FAKULTET

Kristina Matas

PRONALAŽENJE DOKAZA O DJELOTVORNOSTI I SIGURNOSTI ANTIOKSIDANSA U PREVENCIJI KARCINOMA PROBAVNOG TRAKTA: „SUSTAVNI“ PREGLED LITERATURE

Diplomski rad

Akademska godina: 2014/15.

Mentor: dr. sc. Darko Modun, izv.prof.

Split, listopad 2015.

SADRŽAJ

1. UVOD 2

1.1. Oksidativni stres i ROS 3

1.2. Antioksidansi 4

1.3. Karcinomi gastrointestinalnog sustava 7

2. CILJ ISTRAŽIVANJA 12

3. MATERIJAL I METODE 14

3.1. Kriteriji korišteni za odabir studija za Cochrane sustavni pregled 16

3.2. Metode pretraživanja za identifikaciju studija 18

3.3. Prikupljanje i analiza podataka 20

3.4. Procjena kvalitete sustavnih pregleda 23

4. REZULTATI 31

4.1. Rezultati Cochrane sustavnog pregleda 32

4.2. Pretraživanje literature objavljene nakon Cochrane sustavnog pregleda 90

4.3. R-AMSTAR procjena sustavnih pregleda 101

5. RASPRAVA 103

6. ZAKLJUČCI 107

7. POPIS CITIRANE LITERATURE 109

8. SAŽETAK 127

9. SUMMARY 130

1. UVOD

1.1. Oksidativni stres i ROS

Kontinuirani oksidativni stres može dovesti do kroničnog upalnog stanja što posreduje nastanku kroničnih bolesti kao što je rak. Oksidativni stres se definira kao neravnoteža između stvaranja slobodnih radikala i reaktivnih metabolita, tzv oksidansa ili reaktivnih oblika kisika (eng. *reactive oxygen species,* ROS), i njihove eliminacije zaštitnim mehanizmima (1). ROS se obično smatraju nuspojavom aerobnog metabolizma te mitohondrijska respiracija, glavnim izvorom unutarstaničnog slučajnog ROS-a (2). Tijekom endogenih metaboličkih reakcija, aerobne stanice proizvode ROS kao što su superoksid anion (O2-), vodikov peroksid (H2O2), hidroksilni radikal (OH •) i organski peroksidi kao normalne produkte biološke redukcije molekularnog kisika (3). Prijenos elektrona do molekularnog kisika odvija se na razini respiratornog lanca i transportni lanci elektrona se nalaze u membranama mitohondrijima. U uvjetima hipoksije mitohondrijski respiratorni lanac proizvodi dušikov oksid (NO), koji može generirati druge reaktivne spojeve dušika (RNS) (1). Iako se često misli o ROS kao o štetnim molekulama, ROS djeluju kao bitne signalne molekule. Niske i umjerene količine ROS mogu imati korisne učinke na nekoliko fizioloških procesa, uključujući ubijanje patogena, zacjeljivanje rana i proces oporavka tkiva. Terapija raka kemoterapijskim agensima i radioterapijom uvelike ovisi o ROS-u koji uništava maligne stanice izazivanjem apoptoze (4).

Međutim, nerazmjerno generiranje ROS predstavlja ozbiljan problem za tjelesnu homeostazu i uzrokuje oksidativna oštećenja tkiva (4). U stanicama akumulacija ROS-a i nakon toga, RNS-a povećava vjerojatnost nastajanja oksidativnih promjena u proteinima, generiranje hidroperoksidnih derivata lipida te promjene u purinima i pirimidinima, uzrokujući DNK oštećenja. U konačnici, rast oksidativnih napada na biološke makromolekule dovodi do disfunkcije proteina, membrane, i nukleinskih kiselina (5).

Enzimi koji kataliziraju ROS stvarajuće kemijske reakcije su peroksidaze, NADPH oksidaza, izoforme NADPH oksidaze (NOX), ksantin oksidaza (XO), lipoksigenaze (LOX), glukoza oksidaze, mijeloperoksidaze (MPO), sintaze dušikovog oksida i ciklooksigenaze (COX) (6, 7). Transportni metali kao što su željezo (Fe) i bakar (Cu) također sudjeluju u stvaranju ROS-a. (8). H. pylori inducira proizvodnju leukotrijena preko 5-LOX što doprinosi gastričnoj karcinogenezi. (4). MPO je povećana u pojedinaca zaraženim H. pylori (9) i igra važnu ulogu u razvoju H. pylori-induciranog-atrofičnog gastritisa, potencijalnog prekursora karcinoma želuca (10, 11). COX-2 je povezana s prekancerogenim promjenama u GI sluznici

uključujući Barrettov jednjak, H. Pylori inducirani gastritis, te upalama sluznice crijeva (12) i uključena je u razvoj raka povezanog s tim bolestima (13).

ROS nastaju kao odgovor na ultraljubičasto zračenje, pušenje, alkohol, nesteroidne protuupalne lijekove, ishemijsko-reperfuzijske ozljede, kronične infekcije i upalne poremećaje. Unatoč zaštitnoj barijeri koju pruža sluznica, progutana hrana, lijekovi i patogeni mogu uzrokovati oksidativni stres i GI upalni odgovor koji uključuje epitel i imunološke / upalne stanice (4). Kemijski agensi kao kinoni (14); teški metali poput olova, arsena, žive, kroma, i kadmija; organska otapala; i pesticidi su česti egzogeni izvori ROS-a (15). Upotreba duhana povezana je s karcinomom jednjaka, ulaznog dijela želuca (16) i distalnog dijela crijeva (17) dok je upotreba alkohola vezana za učestalost raka orofarinksa, grkljana, jednjaka i jetre (18).

1.2. Antioksidansi

Antioksidansi su spojevi koji mogu zaštititi od oksidativnog stresa (19-21). Antioksidansi uklanjaju slobodne radikale i inhibiraju oksidaciju time što se oni sami oksidiraju. Djeluju enzimatskim i neenzimatskim mehanizmima. Endogeni antioksidansi nisu dovoljni za sprječavanje ukupnih oštećenja, zato su antioksidansi u prehrani bitni za održavanje zdravlja (22). Iako zdrava prehrana osigurava dovoljne količine antioksidansa, postoji veliki broj ljudi koji redovito uzimaju dodatke antioksidansa (23-27).

1.2.1. Endogeni enzimatski antioksidansi

SUPEROKSID DIZMUTAZA je enzim koji treba metalni ion kao kofaktor i katalizira dismutaciju superoksida u kisik i vodikov peroksid. Tri izoforme SOD-a postoje kod ljudi (28): citosolna koja sadrži bakar i cink, mitohondrijalna s manganom i ekstracelularna s bakrom i cinkom (29). Oštećenja gastrointestinalne sluznice mogu spriječiti SOD koje se nalaze u sluznici(30, 31). Smanjena SOD aktivnost izaziva rak želuca, a povećana aktivnost SOD je povezana s zarastanjem želučanih čireva (32). Ovo prikazuje štetne učinke ROS-a u oštećenju tkiva i važnost antioksidativnog djelovanja u promicanju zdravlja. Želučani adenokarcinom i karcinom pločastih stanica jednjaka pokazuju povišene ekspresije Mn-SOD u odnosu na normalnu sluznicu (33). Rak debelog crijeva je također povezan s povećanom Mn-SOD ekspresijom. Nasuprot tome, Cu-Zn-SOD je nešto niža u tkivu raka nego u

normalnim tkivima. Jesu li te promjene patogene ili jednostavno odražavaju promijenjenu homeostazu još nije utvrđeno (4).

GLUTATION PEROKSIDAZA (GPX) pretvara glutation u oksidirani glutation tokom čega reducira H2O2 u H2O i lipidne hidroperokside u odgovarajuće stabilne alkohole (34). Ljudi imaju 8 izotipova GPX, od kojih većina sadrži selenocisteinski ostatak na aktivnom mjestu (35). GPX2 je otkrivena u GI traktu (36) gdje štiti od apsorpcije hidroperoksida iz prehrane (37). Inducirana je u stanicama raka želuca (38).

KATALAZA je hemski enzim (39) koji prevodi vodikov peroksid u vodu i kisik te se uglavnom nalazi u peroksisomima (40). Smanjena aktivnost katalaze zabilježena je kod kolorektalnog karcinoma (41), adenokarcinoma želuca i H. pylori infekcije (42).

GLUTATION REDUKTAZA reducira oksidirani glutation disulfid (GSSG) u GSH (39) i njezina povišena aktivnost obično je povezana s otpornošću karcinoma na terapiju lijekovima uključujući rak debelog crijeva (43, 44).

HEM OKSIGENAZU(HO) katalizira degradaciju hema i generira CO, biliverdin i željezo (45). Postoje dvije izoforme HO (46) od kojih se za HO-1 i njezin produkt CO vjeruje da imaju zaštitni učinak na stanice kod karcinoma gastrointestinalnog sustava (46).

1.2.2. Endogeni ne-enzimatski antioksidansi

GLUTATION je jedan od ključnih ne-enzimatskih antioksidansa u tijelu. Većinom je prisutan u reduciranom obliku (GSH) (4). Zajedno s tri enzima, glutation reduktazom GPX i glutation S-transferazama (GST) (47) čini sustav glutationa. U crijevima GSH sustav služi kao antioksidativna barijera. Postoji vrlo visoka korelacija između visoke GST ekspresije I nastanka tumora probavnog sustava. Kod ljudi, niska aktivnost GST je povezana s visokom učestalošću tumora, i obratno (4). Aktivnost GST je smanjena kod raka debelog crijeva te visoki unos voća i povrća smanjuje rizik od raka stimulirajući GSH-ovisne enzime (48, 49).

TIOREDOKSIN je mali protein koji sudjeluje u redoks reakcijama kroz reverzibilnu oksidaciju svog aktivnog centra dihtiola u disulfid (50). Njegova razina je povišena kod karcinoma i nekoliko studija je pokazalo da pridonosi razvoju raka (51).

MELATONIN je hormon sintetiziran iz serotonina prvenstveno u epifizi sisavac, ali također je nađen u mrežnici, limfocitima, GI traktu, te koštanoj srži (52). Melatonin je

zanimljiv zbog svojih fizikalnih i kemijskih svojstava. To je hormon koji se prirodno nalazi u tijelu. Ambifilna je tvar što mu omogućava da uđe u sve organe i podstanične odjeljke (53). Još jedna svojstvena karakteristika melatonina je selektivnost za mitohondrijske membrane (54).

1.2.3. Egzogeni antioksidansi

Vitamin C ili askorbinska kiselina je primarni antioksidans u plazmi i stanicama (55). Sintetizira se iz glukoze u jetri većine sisavaca, ali ne i kod ljudi i stoga se mora unijeti u organizam kako bi se izbjegao skorbut, potencijalno smrtonosno stanje. Vitamin C donira elektrone drugim spojevima i sprječava njihovu oksidaciju (56). Mnogi bitni spojevi koji se reduciraju vitaminom C uključuju različite ROS, RNS, sumporne radikale, O_3, nitrozne spojeve i HOCl. Vitamin C reducira ione teških metala (Fe, Cu) koji mogu generirati slobodne radikale putem Fenton reakcije (reakcija stvaranja hidroksilnog radikala iz vodikovog peroksida i Fe^{2+} željezovog (II) kationa(57)), i na taj način može imati pro-oksidativna svojstva (58) iako je njegova glavna funkcija je kao antioksidans (4).

Vitamin E djeluje kao čistač slobodnih radikala kako bi se spriječile lipidne peroksidacije polinezasićenih masnih kiselina i formiranje nitrozamina (20, 59). α-tokoferol prekida aktivnost LPO čišćenjem lipidnih peroksilnih radikala ($LOO^{\cdot}$), ali se i sam pretvara u reaktivni radikal u ovoj reakciji (60). α-tokoferol također može reducirati Fe ili Cu, kao pro-oksidans (327). Sposobnost a-tokoferola da djeluje kao antioksidans ili pro-oksidans ovisi o količini a-tokoferola dostupnog za odstranjivanje ROS-a (61).

Vitamin A je neophodan za rast. S obzirom da rak uključuje poremećaje u normalnom rastu tkiva i diferencijaciji, to je bio jedan od prvih vitamina koji su procijenjeni s obzirom na karcinogenezu. Kasnija su istraživanja pokazala da su zaštitni učinci promatrani samo za vitamin A iz hrane biljnog porijekla (beta-karoten) (62, 63). Beta-karoten i drugi karotenoidi pokazuju antioksidativna svojstva, ovisno o in vitro eksperimentalnim sustavu. Antioksidativna svojstva bioloških karotenoida ovise o retinol-vežućim proteinima i drugim endogenim antioksidansima in vivo (64). Za beta-karoten se pokazalo da suprimira peroksidaciju lipida na mišjim modelima (65). Antioksidativna svojstva se mogu preokrenuti u pro-oksidativna, ovisno o količini O_2 ili koncentraciji karotenoida. Visoka koncentracija beta-karotena uzrokuje veću oksidaciju proteina u nazočnosti visokih količina O_2

prooksidativnim mehanizmom. Smjese beta-karotena, alfa-tokoferola, askorbinske kiseline pružaju bolju zaštitu od oksidacije proteina nego bilo koji pojedinačni spoj (66).

Cink (Zn), bakar (Cu), mangan (Mn), željezo (Fe) i selen (Se) su ključne komponente enzima s antioksidativnim funkcijama. Zn, Mn i Cu su kofaktori za superoksid dismutazu (Cu / Zn-SOD) (67). Fe je komponenta katalaze. Se je glavni antioksidans u obliku selenoproteina koji ublažava toksične učinke ROS-a (4). Postoji inverzni odnos između unosa selena i smrtnosti od raka (68). U SAD-u, stopa smrtnosti od raka je značajno viša u područjima s malo selena (69). Selen ulazi u hranidbeni lanac iz tla u obliku selenata (SeO42) ili selenita (SeO3-2) i pretvara u biljkama u organske oblike, uglavnom L-selenometionin i, u manjoj mjeri L-selenocistein. Koncentracije selena u hrani, dakle, može jako varirati s obzirom na sadržaj selena u tlu. Na primjer, Irska, Izrael i zapadni SAD imaju visok sadržaj selena u tlu, dok pojedina područja Kine imaju vrlo nizak sadržaj selena u tlu (70). Kad Se-GPX selen-glutation peroksidaza inhibira u fiziološkim uvjetima, kao što je tijekom nedostatak selena, to dovodi do toksičnosti kroz povećanje kisikovih i dušičnih radikala i lipidne peroksidacije (71).

Polifenoli obuhvaćaju flavonoide, fenole, fenolne kiseline, lignine i tanine. Izvori flavonoida su voće, povrće, orašasti plodovi, crveno vino, pivo, čaj, sjemenke, žitarice, začini i ljekovito bilje. Flavonoidi sprječavaju stvaranje aniona superoksida inhibiranjem XO (72). Osim toga, oni inhibiraju COX, LOX, GST, mikrosomalne monooksigenaze i NADH oksidaze (73). Mnogi flavonoidi keliraju slobodne ione Fe i Cu koji bi inače povećali nakupljanje ROS-a (74).

1.3. Karcinomi gastrointestinalnog sustava

1.3.1. Rak jednjaka

Rak jednjaka karakterizira niska vjerojatnost za uspješno liječenje s obzirom na kasnu dijagnozu i sklonost metastaziranju (4, 75). Prevencija je kompliciran činjenicom da se dva glavna histološka tipa, odnosno, karcinom pločastih stanica i adenokarcinom, značajno razlikuju (76). Smatra se rastućim zdravstvenim problemom za koji se očekuje povećanje incidencije. Karcinom pločastih stanica je najčešći histološki tip karcinoma jednjaka u svijetu, s većom incidencijom u zemljama u razvoju. Uz povećanu prevalenciju bolesti

gastroezofagealnog refluksa i pretilosti u razvijenim zemljama, incidencija adenokarcinoma jednjaka dramatično se povećala u posljednjih 40 godina. Glavni faktori rizika uključuju konzumiranje alkohola i duhana. Većina studija pokazuje je da alkohol primarni faktor rizika, ali pušenje u kombinaciji s konzumacijom alkohola može imati sinergistički učinak te povećati relativni rizik. Alkohol može oštetiti stanični DNK smanjenjem metaboličke aktivnosti unutar stanice i time smanjiti detoksikacijsku funkciju dok promiče oksidaciju (75). Adenokarcinom jednjaka javlja u distalnom dijelu jednjaku i ima mnogo poveznica s bolešću gastroezofagealnog refluksa (GERB). Neliječeni GERB može napredovati do Barrett-ovog jednjaka (77) koji je povezan s adenokarcinomom jednjaka (78). Dugotrajan kontakt s kiselinom i žuči od gastroezofagealnog refluksa šteti epitelu jednjaka i izaziva upalu (79). To ukazuje na to da razvoju adenokarcinoma jednjaka posreduju upala i oksidativni stres (80).

1.3.2. Rak želuca

Rak želuca je četvrti najčešći rak i drugi vodeći uzrok smrti od raka u svijetu (81). Unatoč napretku u dijagnostici, bolest se obično otkrije nakon invazije muscularis proprie, jer većina bolesnika doživi nejasne i nespecifične simptome u ranim fazama i klasična trijada anemija, gubitak težine i odbijanje mesa se vidi samo u naprednim stupnjevima. Rak želuca uključuje brojne genetske i epigenetske alteracije onkogena, tumor supresorskih gena, DNA popravljačkih gena, regulatora staničnog ciklusa i signalnih molekula. Infekcija H. pylori je veliki uzrok raka želuca. Pretpostavlja se da H. pylori aktivira kaskadu događaja koji promiču uzastopno napredovanje normalne želučanog epitela kroz atrofični gastritis, crijevne metaplazije i displazije do karcinoma (82). Značajno visoke razine ROS-a ili RNS-a javljaju se u sluznici želuca inficiranog s H. pylori, vaskularnom endotelu, kao i na neutrofilima akumuliranima u upaljenoj mukozi (83). Potrošnja velike količine slane ribe, umaka od soje, ukiseljenog povrća, suhog mesa i drugih slanih namirnica poboljšava H.pylori kolonizaciju i povećava rizik od raka želuca uzrokujući izravnu štetu na želučanoj sluznici što rezultira gastritisom. Populacije s visokim rizikom za rak želuca konzumiraju hranu bogatu škrobom i siromašne kvalitetnim proteinima, i nisu sklone jesti svježe voće i povrće. Alkohol djeluje nadražujuće pa je važan čimbenik rizika za rak želuca (82). Za pušenje je poznato da smanjuje razinu prostaglandina koji održavaju integritet želučane sluznice (84). Infekcija s H. pylori povezana je sa smanjenom količinom askorbinske kiseline u lumenu želuca i smanjenjem njezine količine u želučanom soku. Ovaj antioksidans narušava karcinogene efekte i može smanjiti mutagene tvari kao što su nitrozamin i ROS (4).

1.3.3. Rak debelog crijeva

Rak debelog crijeva je treći najčešći oblik raka u svijetu (81). Više od 90% slučajeva zahvaća populaciju od 50 godina i starije. Mnogo je faktora vezano za njegov nastanak. Oni na koje se ne može utjecati su dob i nasljedni faktori. Upalne bolesti crijeva je termin koji se koristi za opisivanje dvije bolesti, ulcerativnog kolitisa i Crohnove bolesti. Ulcerozni kolitis uzrokuje upalu sluznice debelog crijeva i rektuma. Crohnova bolest uzrokuje upalu pune debljine stijenke crijeva, a može zahvatiti bilo koji dio probavnog trakta od usta do anusa. Ovi uvjeti povećavaju pojedinčev ukupni rizik od razvoja raka debelog crijeva (85). Kronična upala rezultira stalnim oksidativnim stresom što doprinosi displaziji (86). Prehrana snažno utječe na rizik od raka debelog crijeva, a promjene u prehrambenim navikama mogu smanjiti i do 70% tereta ovog raka (87). Prehrana bogata mastima, posebno životinjskim, je veliki faktor rizika za kolorektalni karcinom zbog lipidne peroksidacije (88). Implikacija masti, kao mogućeg etiološkog čimbenika, povezana je s pojmom tipične zapadnjačke prehrane, koja pogoduje razvoju bakterijske flore sposobne razgraditi žučne soli u potencijalno kancerogene N-nitrozo spojeve (89). Slobodni radikali stvoreni pomoću bakterija kolona Enterococcus feacalis mogu izravno dovesti do mutacije u DNA kolona doprinoseći razvoju raka debelog crijeva (90). Visoka potrošnja mesa također je implicirana u razvoju kolorektalnog karcinoma. Potencijalni temeljni mehanizmi pozitivnog udruživanja potrošnje crvenog mesa s rakom debelog crijeva uključuju prisutnost hemskog željeza u crveno meso (91). Kao rizici se još spominju smanjena fizička aktivnost, pretilost i malo vlakana u prehrani (85). Razvija se u više koraka (92). Najviše kolorektalnih karcinoma proizlazi iz adenoma, kao rezultat niza molekularnih promjena koje pretvaraju normalne epitelne stanica kolona u kolorektalni karcinom (93). Prijelaz od normalne sluznice do karcinoma pruža mogućnosti za prevenciju. Za prehranu bogatu antioksidansima se tvrdi da može smanjiti rizik od raka debelog crijeva (94, 95). Antioksidansi su prva sredstva procijenjena u prevenciji raka debelog crijeva (96).

1.3.4. Rak gušterače

Rak gušterače ima lošu prognozu. Više od polovice slučajeva ima dijagnozu s udaljenim metastazama. Rak gušterače se rijetko javlja u osoba mlađih od 50 godina, a rizik se povećava s dobi (97). Mogući etiološki čimbenici za rak gušterače uključuju kronični pankreatitis, pušenje, dijabetes i druga medicinska stanja (98). Kronična upala, koja rezultira

kroničnom fagocitnom aktivnošću, jednim od glavnih izvora endogenih slobodnih radikala, povezana je s rakom više organa (99). Jedan od razloga agresivnosti ovog karcinoma i njegovog neodgovaranja na terapiju je otpornost na apoptozu koju potiskuju faktori rasta (100), a u nastanak ROS-a u gušterači uključena je NADPH-oksidaza aktivirana faktorima rasta (101). Tjelesna aktivnost, unos voća i povrća; i, eventualno, nesteroidni protuupalni lijekovi smanjuju rizik (97). Eksperimentalna i opservacijska istraživanja su pokazala da bi antioksidansi mogli biti učinkoviti u prevenciji raka gušterače (102).

1.3.5. Hepatocelularni karcinom

Učestalost hepatocelularnog karcinoma je porasla tijekom posljednjih desetljeća. Ciroza i aflatoksini su glavni čimbenici rizika za njegov razvoj (103). Poznato je da oksidativni stres ima ključnu ulogu u razvoju i progresiji hepatocelularnog karcinoma (104). Virusna ili kemijska oštećenja jetre rezultiraju oksidativnim oštećenjima koja mogu inhibirati apoptozu i potaknuti hepatokarcinogenezu (105, 106). Sposobnosti samoobnove i beskonačne proliferacije usko su povezani s razvojem hepatocelularnog karcinoma (107). Studije mehanizama oksidativnog stresa pokazale su da aktivira signalne kaskade (uključujući put MAP kinaze), koje mogu ozbiljno utjecati na regulaciju rasta stanica i procese transformacije (81). Oksidativni stres aktivira zvjezdaste stanice jetre koje predstavljaju glavne stanice vezivnog tkiva u jetri, uključene u tvorbu izvanstaničnog matriksa i potrebne su za normalan rast i diferencijaciju stanica pri oštećenju jetre. U tom slučaju, zvjezdaste stanice se dijele u odgovoru na različite citokine, čimbenike rasta, i kemokine proizvedene oštećenjem jetre. Kronična aktivacija zvjezdastih stanica u odgovoru na oksidativni stres izazvan virusnom replikacijom može doprinijeti fibrogenezi i povećanju proliferacije hepatocita kronično zaraženih s HBV i HCV što, zajedno s aktivacijom MAP kinaze, može izazvati hepatocelularni karcinom. Faktor transkripcije-kB (NF-kB) je glavni stresom-inducirani antiapoptotski transkripcijski faktor. NF-kB aktivacija je povezana s rakom, a utvrđeno je da se snažno aktivira u mnogim tipovima raka, uključujući hepatocelularni karcinom (104). Jetra je bogata antioksidativnim mehanizmima za borbu protiv oksidativnog stresa, uključujući mikronutrijente, kao vitamin E i vitamin C, te nekim enzima koji metaboliziraju reaktivne metabolite i reaktivne kisikove spojeve (108).

Karcinomi tankog crijeva su rijetki (109), i prevencija antioksidansima prema saznanjima, nije opsežno istražena. Uloga antioksidansa u sprječavanju raka bilijarnog trakta

nije dovoljno istražena. Postoji samo nekoliko eksperimentalnih studija koje se bave ovim pitanjem (110).

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Cilj ovog rada je pronaći najbolje dostupne dokaze o sigurnosti i učinkovitosti antioksidansa u prevenciji karcinoma probavnog trakta. Vodeći se načelima Farmakoterapije utemeljene na dokazima, cilj je pronaći sustavne preglede randomiziranih kontroliranih pokusa (razina dokaza 1a) i pojedinačne randomizirane kontrolirane pokuse (razina dokaza 1b), kao najpouzdanije izvore dokaza.

3. MATERIJAL I METODE

Početak pretrage literature koja se bavi pitanjem upotrebe dodataka antioksidansa u prevenciji karcinoma gastrointestinalnog trakta je bio na mrežnoj stranici Cocrane knjižnice gdje je pronađen sustavni pregled *„Antioxidant supplements for preventing gastrointestinal cancers (Review)“* (111). Na tom sustavnom pregledu temeljilo se daljnje pretraživanje literature. Nakon analize Cochrane sustavnog pregleda pretraženi su drugi izvori podataka kao što su stranice: DARE, CENTRAL I MEDLINE (PubMed). Cilj je bio pronaći sustavne preglede i klinička istraživanja objavljena nakon Cochrane pregleda (111), a prema istim ulaznim i izlaznim kriterijima.

Drugi korak pretrage bio je pretraga baze MEDLINE. Prilikom pretrage korištene su ključne riječi „Digestive-System-Neoplasms“, „prevent*“, „retinol or beta carotene or ascorbic acid or alpha tocopherol or selenium or vitamin* or antioxidant*“ i „random*“. Korištena je naredba „Add to builder“ u dijelu tražilice „PubMed Advanced Search Builder“. Za sužavanje rezultata pretrage korišten je filter „Clinical Trial“, „Humans“ te datum zadnjeg pretraživanja literature u Cochrane sustavnom pregledu (111) (11. 10. 2007.). Dobiveni rezultati su zatim analizirani tako da su publikacije koje po naslovu nisu odgovarale temi upotrebe dodataka antioksidansa u prevenciji raka odbačene (prevencije raka gastrointestinalnog sustava koje kao intervenciju koriste samo lijekove, adjuvantne terapije u pacijenata s rakom, studije koje proučavaju genetsku povezanost s rakom, upotreba dodataka u liječenju hand-foot sindroma vezanim za kolorektalni karcinom itd.) Potom su preostali rezultati analizirani s obzirom na sažetak. Eliminirane su publikacije koje su proučavale serumske razine biomarkera vezane za upotrebu antioksidansa, koje nisu bile randomizirani kontrolirani pokusi, koje u intervenciji nisu imale proučavane antioksidanse (vitamin A, C, E, beta-karoten i selen) itd. Preostale publikacije su pročitane u cjelovitom tekstu te su analizirane s obzirom na ulazne i izlazne kriterije Cochrane sustavnog pregleda (111). Pretražena je i baza MEDLINE za nove sustavne preglede koristeći filter „Systematic reviews“.

U tražilicu mrežne stranice Cochrane knjižnice upisane su ključne riječi „antioxidant“ i „cancer“. Korišten je filter „Publication Year“ (2008.). Oznaka „Trials“ daje rezultate iz baze CENTRAL, što je baza Cochrane knjižnice koja indeksira kliničke pokuse. Klikom na „Trials“ se može vidjeti koliko kliničkih pokusa na zadanu temu je tu indeksirano i kad su objavljeni. Oznaka „Other Reviews“ pokazuje koliko je drugih sustavnih pregleda i meta-analiza objavljeno na tu temu u bazi DARE (engl. *Database of Reviews of Effect*) – to je jedna

od baza Cochrane knjižnice koja indeksira druge sustavne preglede i pritom se daje procjena njihove kvalitete.

Poslije izvršene pretrage literature provedena je procjena kvalitete Cochrane sustavnog pregleda te ostalih pregleda koji su pronađeni, korištenjem R-AMSTAR obrasca za procjenu kvalitete (112).

3.1. Kriteriji korišteni za odabir studija za Cochrane sustavni pregled (111)

Vrste studija

Sve randomizirane studije, bez obzira na zasljepljivanje.

Vrste sudionika

Odrasli sudionici (dobi 18 godina ili više) koji su:

• sudionici iz opće populacije bez obzira na dob, spol ili etničko podrijetlo; ili

• sudionici s visokim rizikom od razvoja gastrointestinalnih karcinoma (s premalignim stanjima, ili žive u područjima s visokom incidencijom karcinoma probavnog sustava); ili

• sudionici koji dolaze iz drugih skupina bolesnika, prvenstveno s ne-gastrointestinalnim bolestima.

Vrste intervencija

Istraživanja koja uspoređuju dodatke antioksidansa (tj, beta-karoten, vitamin A, vitamin C, vitamin E, te selen) u bilo kojoj dozi, trajanju suplementacije i načinu primjene u odnosu na placebo ili nkakvu intervenciju.

Antioksidansi su se mogli primijeniti:

• pojedinačno; ili

• u bilo kojoj kombinaciji međusobno; ili

• u kombinaciji s drugim vitaminima; ili

• u kombinaciji s elementima u tragovima bez antioksidantivne funkcije.

Istodobne intervencija su se smatrale dopuštenima, ako su se podjednako koristile u oba interventna kraka istraživanja. Istraživanja koja se odnose na antioksidanse u prevenciji drugih organskih sustava (kardiovaskularnog, respiratornog, mokraćnog trakta, itd) su se uzela u obzir, ako su se mogli dobiti podaci o pojavi gastrointestinalnih karcinoma tijekom istraživanja.

Vrste mjera ishoda

Primarni ishodi:

(1) Broj pacijenata s razvojem raka gastrointestinalnog sustava. Utjecaj suplementacije antioksidansima, primijenjeno pojedinačno ili u kombinaciji na učestalost svakog od gastrointestinalnih karcinoma (jednjaka, želuca, tankog crijeva, kolorektalnog, raka gušterače, jetre, i žučnog trakta) i svih vrsta raka gastrointestinalnog sustava u kombinaciji.

(2) Ukupna smrtnost.

Sekundarni ishodi:

(1) Bilo koji štetni učinci prijavljeni u ispitivanjima. Učestalost i vrsta štetnih učinaka povezanih s aktivnom intervencijom.

(2) Mjere kvalitete života.

(3) Ekonomičnost.

3.2. Metode pretraživanja za identifikaciju studija (111)

Elektronsko pretraživanje

Pretraženi su The Cochrane Colorectal Cancer Group, The Cochrane Hepato-Biliary Group, The Cochrane Inflammatory Bowel Disease Group, and The Cochrane Upper Gastrointestinal and Pancreatic Diseases Group registri kontaktiranjem koordinatora za ptretraživanje ispitivanja i sljedećom strategijom pretraživanja:

- ’oesophageal cancer’ or ’gastric cancer’ or ’stomach cancer’ or ’bowel cancer’ or ’colorectal cancer’ or ’colon cancer’ or ’rectal cancer’ or ’pancreatic cancer’ or ’hepatocellular carcinoma’ or ’liver cancer’ or ’biliary tract cancer’ AND ’antioxidant*’ or ’vitamin* and supplement* and random*’

Pretražen je the Cochrane Central Register of Controlled Trials (CENTRAL) u Cochrane knjižnici (Izdanje 2, 2007) korištenjem sljedeće strategije:

- Digestive system neoplasms / explode all trees (MeSH), antioxidants / explode all trees (MeSH), (#1 and #2)

MEDLINE (od 1966. do listopada 2007.) je pretražen sljedećom strategijom:

- #1 explode “Digestive-System-Neoplasms”/ all subheadings
  #2 retinol or beta carotene or ascorbic acid or alpha tocopherol
  or selenium or vitamin* or antioxidant*
  #3 TG = ANIMAL
  #4 random*
  #5 ((#1 and #2) not #3) and random*

Pretražen je EMBASE (Excerpta Medica Database) (od 1985. to listopada 2007.) sljedećom strategijom:

- #1 explode “digestive-system-tumor”/ all subheadings
  #2 retinol or beta carotene or ascorbic acid or alpha tocopherol
  or selenium or vitamin* or antioxidant*
  #3 random*
  #4 #1 and #2 and #3

LILACS (1982. do listopada 2007.) je pretražen ključnim riječima:

- #1 antioxidantes and cancer

The Science Citation Index Expanded (SCI-EXPANDED) (1945. do listopada 2007.) je pretražen sljedećom strategijom:

- #1 - > [TS=(retinol or beta-carotene or ascorbic acid or alpha tocopherol or selenium or vitamin* or antioxidant*) DocType=All document types; Language=All languages; Database(s)=SCI-EXPANDED, SSCI, A&HCI; Timespan= 1945-2003] #2 - ((o)esophageal or gastric or small intestin* or colorectal or pancreatic or liver or biliary tract) and cancer* #3 - > TS=(random*) DocType=All document types; Language=All languages; Database(s)=SCI-EXPANDED; Timespan = 1945-2003 #4 - 62 #1 and #2 and #3

Pretražena je i the Chinese Biomedical Database (od 1978. do listopada 2007). strategijom:

- (retinol or beta-carotene or ascorbic acid or alpha tocopherol or selenium or vitamin* or antioxidant*) and #1 ((o)esophageal or gastric or small intestin* or colorectal or pancreatic or liver or biliary tract) and cancer*

Pregledane su liste referencija iz preglednih članaka dobivenih iz pretraga kako bi se utvrdila dodatna istraživanja.

Nije primijenjeno nikakvo ograničenje s obzirom na status objavljivanja, godinu objavljivanja, ili jezik.

3.3. Prikupljanje i analiza podataka (111)

Ekstrakcija podataka

Karakteristike sudionika, dijagnoza i intervencija

Zabilježeni su sljedeći podaci iz pojedinih randomiziranih studija: prvi autor; zemlja podrijetla; kategorija zemlje po prihodima (niska, srednja, visoka); broj sudionika; karakteristike sudionika: raspon dobi (srednja vrijednost ili medijan) i odnos spolova; stopa sudjelovanja; stopa odustanka; ustroj studije (paralelni ili faktorski; vrsta antioksidansa; doza; trajanje suplementacije; trajanje praćenja (tj trajanja intervencije plus postinterventno praćenje); ko-intervencija; i pojava gastrointestinalnih karcinoma (jednjaka, želuca, tankog crijeva, debelog crijeva, gušterače, jetre i karcinoma žučnih putova).

Karakteristike istraživanja

Zabilježeni su datum, mjesto, sponzor studije (poznat ili nepoznat i vrsta sponzora), kao i status objavljivanja.

Procjena metodološke kvalitete

Ispitana je metodološka kvaliteta definirana kao uvjerenje da ustroj i izvještaj ograničavaju pristranost u usporedbi intervencija na temelju randomizacije, zasljepljivanja, i praćenja. Sljedeće definicije su korištene:

<u>Generiranje nasumičnog slijeda brojeva za raspodjelu ispitanika</u>

• Adekvatno, ako je lista randomizacije generirana računalom ili tablicom slučajnih brojeva. Ždrijeb, bacanje novčića, miješanje karata, ili bacanje kocke može se smatrati odgovarajućim, ako osoba koja nije inače bila uključena u prijavljivanje sudionika obavlja postupak.

• Nejasno, ako je studija opisana kao randomizirana, ali metoda koja se koristi za generiranje nasumičnog slijeda brojeva za raspodjelu ispitanika nije bila opisana.

• Neadekvatno, ako je sustav koji uključuje datume, imena, odnosno ulazne brojeve bio korišten za raspodjelu pacijenata.

Prikrivanje razvrstavanja

• Adekvatno, ako razvrstavanje bolesnika uključuje središnju nezavisnu jedinicu, *on-site locked* računalo, numerirane bočice lijekova identičnog izgleda ili spremnike koje priprema nezavisni ljekarnik ili istraživač ili zapečaćene omotnice.

• Nejasno, ako je studija opisana kao randomizirana, ali metoda koja se koristi za prikrivanje razvrstavanja nije opisana.

• Neadekvatno, ako je lista pridruživanja bila poznata istraživačima koji su dodijeljeni sudionicima ili ako je studija kvazi-randomizirana.

Zasljepljivanje

• Adekvatno, ako je studija opisana kao dvostruka slijepa i metoda zasljepljivanja uključuje identičan placebo ili aktivne lijekove.

• Nejasno, ako je studija opisana kao dvostruko slijepom, ali postupak zasljepljivanja nije opisan.

• Nije provedeno, ako studija nije bila dvostruko slijepa.

Praćenje

• Adekvatno, ako su broj i razlozi prekida i povlačenja u svim interventnim skupinama opisani, ili ako je navedeno da nema prekida ili povlačenja.

• Nejasno, ako je izvješće dalo dojam da nije bilo prekida ili povlačenja, ali to nije bilo posebno navedeno.

• Neadekvatno, ako broj ili razlozi zbog prekida i povlačenja nisu opisani.

Studije s odgovarajuće generiranom listom pridruživanja, adekvatno prikrivenim razvrstavanjem, adekvatnim zasljepljivanjem i adekvatnim praćenjem su smatrane ispitivanjima s niskim rizikom pristranosti (visoka metodološka kvaliteta). Studije s jednom ili više nejasnih ili neadekvatnih komponenti kvalitete su klasificirani kao studije visokog rizika pristranosti (niska metodološka kvaliteta). Također je izviješteno o tome jesu li istražitelji izvršili izračun veličine uzorka i koristili analizu namjere liječenja. Korištena je klasifikacija kvalitete za analizu osjetljivosti, a ne kao kriterij isključenja.

Statističke analize

Izvršene su meta-analize u skladu s preporukama The Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions. Za statističke analize, korištene su RevMan Analize, STATA 8,2 (STATA Corp, College Station, Tex), Sigma stat 3.0 (SPSS Inc., Chicago, Ill), i Stats-Direct (StatsDirect doo, Altrincham, Engleska). Analizirani su podaci meta-analiza modela slučajnih i fiksnih učinaka. Predstavili bi se rezultati analize modela slučajnih učinaka, ako su se dva modela podudarala u pogledu statističke značajnosti ($P < 0,05$). Ako ne, predstavljale bi se obe analize. Rezultati su prikazani kao relativni rizik (RR) s 95%-tnim intervalom pouzdanosti (CI). Ispitivana je heterogenost s I^2 koji opisuje postotak ukupne varijacije kroz studije više zbog heterogenosti nego slučajnosti.

-Korištena je STATA metareg naredba za regresijske meta-analize modela slučajnih učinaka da bi se procijenile potencijalne kovarijable za predviđanje heterogenosti između studija, odnosno, kovarijable koje su statistički povezane s procijenjenim učincima intervencije. Uključene kovarijable su bile vrsta i doza dodatka prehrani, trajanje suplementacije, rizik pristranosti (nizak ili visok) i primarna ili sekundarna prevencija. Studije sa sudionicima koji dolaze iz opće populacije, područja s visokom učestalosti gastrointestinalnih karcinoma, i druge skupine pacijenata s negastrointestinalnim bolestima su smatrani studijama primarne prevencije. Studije sa sudionicima s premalignim stanjima gastrointestinalnog sustava su smatrane studijama sekundarne prevencije. Izvršene su jednovarijantne i multivarijantne analize uključujući sve kovarijable.

-Sve analize slijede načelo namjere liječenja (engl. *intention to treat*). Uzeti su u obzir svi sudionici za svaku studiju i provele su se analize bez obzira na to kako su izvorni istraživači analizirali podatke. Sudionici izgubljeni u praćenju smatrani su preživjelima. Za pokuse s faktorskim ustrojem, rezultati su temeljeni na *„at-margins“* analizi, uspoređujući sve skupine koje su primile dodatke antioksidansa sa skupinama koje nisu primile dodatke antioksidansa. Da bi se odredio učinak jednog antioksidansa napravljena je analiza “unutar tablice” u kojoj je uspoređen krak istraživanja s jednim antioksidansom s krakom placeba ili bez intervencije. U ispitivanjima s dizajnom paralelnih grupa s više od dva kraka i dodatnom terapijom, uspoređeni su samo krakovi istraživanja s antioksidansima i placebo krak. Usporedba učinaka intervencija provedena je testom interakcija. Izvršen je prilagođeni rang korelacije i regresijski test asimetrije za otkrivanje pristranosti. $P < 0,10$ se smatrao značajnim.

3.4. Procjena kvalitete sustavnih pregleda

Sustavni pregledi su od velike vrijednosti u sažimanju dokaza i pružanju informacija o njihovoj kvaliteti. Sustavni pregledi mogu poslužiti za uvođenje najboljih mogućih dokaza u praksu. S obzirom da se broj sustavnih pregleda povećava, nameće se pitanje njihove kvalitete (113).

Sustavni pregled nije jednak pregledu literature jer se temelji na objektivnom i transparentnom pristupu, koji se bazira na znanosti istraživačke sinteze sa specifičnom namjerom i ciljem minimalizacije pristranosti. Zbog toga, većina sustavnih pregleda se temelji na eksplicitnoj kvantitativnoj analizi mjerljivih podataka (primjerice prihvatljiva analiza uzorka, meta-analiza). Usprkos ovim ulaganjima, i dalje su prisutne određene prijetnje za pristranost (publikacijska pristranost). Također, znatan broj sustavnih pregleda je kvalitativne prirode i uz poštivanje prihvaćenih standarda za prikupljanje, procjenu i objavljivanje dokaza, ne dopušta kvantitativno ocjenjivanje (112).

Da bi se riješilo ovo pitanje brojni instrumenti za evaluaciju kvalitete su razvijeni i validirani te su na kraju doveli do AMSTAR obrasca koji procjenjuje 11 najvažnijih značajki sustavnog pregleda (114). Iako je AMSTAR prikladan i jednostavan za korištenje, ne daje kvantitativnu ocjenu kvalitete sustavnog pregleda stoga je AMSTAR revidiran. Rezultat je bio R-AMSTAR koji se koristi za kvantificiranje kvalitete sustavnih pregleda (112).

-Kvantitativna mjera R-AMSTARA su bodovi za svaku od individualnih 11 domena originalnog instrumenta. Broj bodova za svaku domenu može biti od 1-4 (maksimalno), te ukupan broj bodova može biti u rasponu od 11-44 boda (maksimalno). Ukupni rezultat od 11 bodova upućuje da nijedan od AMSTAR kriterija nije zadovoljen. Suprotno tome, ukupan zbroj bodova 44 upućuje da su svi kriteriji izvrsnosti sustavnog pregleda zadovoljeni (112).

REVIDIRANI AMSTAR (R-AMSTAR) (112)

1. **Jesu li autori definirali protokol prije („a priori“) početka provedbe istraživanja?**

Ako zadovoljava 3 kriterija →4

Ako zadovoljava 2 kriterija →3

Ako zadovoljava 1 kriterij →2

Ako zadovoljava 0 kriterija →1

Kriteriji:

(A) „a priori“ dizajn je spomenut
(B) Navedeni su kriteriji uključenja
(C) Istraživačko pitanje je navedeno prema PICO/PIPO modelu (engl. *population, intervention, comparison/prediction, outcome*)

2. **Jesu li dva autora neovisno birali studije i vadili podatake?**

Ako zadovoljava 3 kriterija →4

Ako zadovoljava 2 kriterija →3

Ako zadovoljava 1 kriterij →2

Ako zadovoljava 0 kriterija →1

Kriteriji:

(A) Trebalo bi u radu biti spomenuto, izravno ili posredno, da su najmanje dvije nezavisne osobe vadile podatke.
(B) U radu je opisano kako je postignut konsenzus (suglasje) ako se dva autora nisu slagala u procjeni.
(C) Neslaganje među autorima koji su birali studije ili vadili podatke je prikladno riješeno, izravno ili posredno

3. Je li provedena opsežna pretraga literature?

Ako zadovoljava 4 ili 5 kriterija →4

Ako zadovoljava 3 kriterija →3

Ako zadovoljava 2 kriterija →2

Ako zadovoljava 1 ili 0 kriterija →1

Kriteriji:

(A) Trebala bi biti pretražena barem dva elektronička izvora.
(B) U radu moraju biti navedene godine za koje je napravljeno pretraživanje i pretražene baze podataka (primjerice, CENTRAL, EMBASE i MEDLINE).
(C) Ključne riječi i/ili MeSH termini trebaju biti navedeni **i** gdje je moguće treba navesti strategiju pretraživanja tako da se može pratiti proces filtriranja uključenih članaka.
(D) Kao dodatak elektroničkim bazama podataka (PubMed, EMBASE, MEDLINE), svaka pretraga bi trebala biti nadopunjena konzultiranjem Current Contents, pregleda literature, knjiga, specijaliziranih registara ili eksperata u određenom području istraživanja, i pregledavanjem referencija u pronađenim studijama.
(E) Časopisi su ručno pretraženi (primjerice, definiranje značajnih časopisa u nekom području i provođenje ručne pretrage (stranica po stranica), pretraga njihova cjelokupnog sadržaja tražeći potencijalno prihvatljive studije).

4. Je li status publikacije (npr. „siva literatura“) korišten kao kriterij uključenja?

(„Siva literatura“ je literatura proizvedena na svim razinama uprave, akademske zajednice, poduzeća i industrije u tiskanom ili elektroničkom obliku, ali bez kontrole komercijalnih izdavača. Primjeri mogu biti, ali nisu ograničeni na disertacije i zbornike sa znanstvenih sastanaka.)

Ako zadovoljava 3 kriterija →4

Ako zadovoljava 2 kriterija →3

Ako zadovoljava 1 kriterij →2

Ako zadovoljava 0 kriterija →1

Kriteriji:

(A) Autori bi trebali navesti da su pretražili radove bez obzira na vrstu publikacije.
(B) Autori bi trebali navesti jesu li ili nisu isključili bilo kakva izvješća (iz sustavnog pregleda) temeljem njihova publikacijskog statusa, jezika i slično.
(C) Radovi koji nisu na engleskom jeziku su prevedeni ili su osobe koje su ih pročitale dovoljno obrazovane za taj strani jezik.
(D) Nisu navedena ograničenja u smislu jezika na kojem je rad objavljen ili priznavanja i članaka koji nisu na engleskom jeziku.

5. Je li naveden popis studija (uključenih i isključenih)?

Ako zadovoljava 4 kriterija →4

Ako zadovoljava 3 kriterija →3

Ako zadovoljava 2 kriterija →2

Ako zadovoljava 1 ili 0 kriterija →1

Kriteriji:

(A) U radu treba biti tablica/lista/ ili broj **uključenih** studija; samo popis referencija nije dovoljan.
(B) U redu je ako se tablica/lista/ili broj **isključenih** studija[1] nalazi bilo u članku bilo u dodatnom izvoru (primjerice, na mrežnim stranicama). (Isključene studije se odnose na one studije koje su ozbiljno razmatrane na temelju naslova i/ili sažetka, ali isključene nakon čitanja cijelog teksta).
(C) Autor je zadovoljavajuće/dovoljno obrazložio **razlog za isključenje** ozbiljno razmatranih studija.
(D) Osoba koja čita članke može **ući u trag** uključenim **i** isključenim studijama bilo gdje u bibliografiji članka, referencijama ili dodatnim izvorima.

[1] Vrijedno je imati kratak pregled isključenih studija jer one predstavljaju relevantne kliničke informacije

6. Jesu li navedena obilježja uključenih studija?

Ako zadovoljava 3 kriterija →4

Ako zadovoljava 2 kriterija →3

Ako zadovoljava 1 kriterij →2

Ako zadovoljava 0 kriterija →1

Kriteriji:

(A) U skupnom obliku kao što je tablica, trebali bi biti navedeni podatci iz izvornih studija o sudionicima, intervencijama **i** ishodima.
(B) Navesti raspone **relevantnih** obilježja iz analiziranih studija (primjerice, trebali bi biti navedeni dob, rasa, spol, važni socioekonomski podatci, status bolesti, trajanje, težina ili druge bolesti.)
(C) Navedene informacije izgledaju potpune i precizne (ovo se može smatrati subjektivnom procjenom. Tijekom čitanja rada, ima li što upitno vezano za obilježja uključenih studija? Ako da, navesti potrebne informacije i obrazloženje).

7. Je znanstvena kvaliteta uključenih studija procijenjena i dokumentirana?

Ako zadovoljava 4 kriterija →4

Ako zadovoljava 3 kriterija →3

Ako zadovoljava 2 kriterija →2

Ako zadovoljava 1 ili 0 kriterija →1

Kriteriji:

(A) Trebala bi biti navedena „a priori“ metoda procjene (primjerice, za studije o djelotvornosti, jesu li autori odlučili uključiti samo randomizirane, dvostruko-slijepe, placebom kontrolirane studije, ili one koje su opisale prikrivanje razvrstavanja ispitanika kao kriterij uključenja); za druge tipove studija

alternativne stavke će biti relevantne.
(B) Čini se da je znanstvena kvaliteta uključenih studija smislena.
(C) Rasprava/priznavanje/svijest o razini dokaza.
(D) Kvaliteta dokaza bi trebala biti rangirana temeljem definiranih instrumenata. (Definirani instrument je ljestvica koja rangira razinu dokaza, npr. GRADE [Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation.])

8. Je li znanstvena kvaliteta uključenih studija prikladno korištena pri formiranju zaključka?

Ako zadovoljava 4 kriterija →4

Ako zadovoljava 3 kriterija →3

Ako zadovoljava 2 kriterija →2

Ako zadovoljava 1 ili 0 kriterija →1

Kriteriji:

(A) Rezultati provjere metodološke strogosti i znanstvene kvalitete bi trebali biti razmotreni u analizi i zaključku sustavnog pregleda.
(B) Rezultati provjere metodološke strogosti i znanstvene kvalitete su **eksplicitno navedeni** u formuliranju preporuka.
(C) Postoje zaključci koji su integrirani/vode prema konsenzusnoj kliničkoj tvrdnji.
(D) Ova konsezusna klinička tvrdnja vodi prema reviziji ili potvrdi praktičnih kliničkih smjernica.

9. Jesu li metode korištene za kombiniranje rezultata studija prikladne?

Ako zadovoljava 4 kriterija →4

Ako zadovoljava 3 kriterija →3

Ako zadovoljava 2 kriterija →2

Ako zadovoljava 1 ili 0 kriterija →1

Kriteriji:

(A) Navođenje kriterija koji su korišteni za procjenu jesu li analizirane studije dovoljno slične da se skupno analiziraju (spoje u jednu analizu)?
(B) Za spojene rezultate, treba se napraviti test koji osigurava da su se studije mogle kombinirati, da se ocijeni njihova homogenost (hi-kvadrat test za homogenost, I^2).
(C) Postoji li informacija o heterogenosti studija ili ta informacija nedostaje?
(D) Ako postoji heterogenost, trebao bi se koristiti „random effects“ model meta-analize i/ili bi se trebao uzeti u obzir razlog (klinička prikladnost) zašto su studije kombinirane (je li razumno kombinirati te studije?), ili je to izričito navedeno.
(E) Ako postoji homogenost, treba navesti razlog ili statistički test.

10. Je li ocijenjena mogućnost pristranosti u objavljivanju (engl. publication bias), odnosno jesu li uključene studije dale pretežno pozitivne rezultate (tzv „file drawer“ učinak – znači da autori studija koje daju negativne rezultate „gurnu u ladicu“ i ne objave ih)?

Ako zadovoljava 3 kriterija →4

Ako zadovoljava 2 kriterija →3

Ako zadovoljava 1 kriterij →2

Ako zadovoljava 0 kriterija →1

Kriteriji:

(A) Autori spominju mogućnost pristranosti u objavljivanju ili učinka „ladice“.
(B) Procjena pristranosti u objavljivanju trebala bi uključivati grafički prikaz (npr. *funnel plot* i druge dostupne testove).
(C) Korišteni su odgovarajući statistički testovi za procjenu pristranosti u objavljivanju (npr. *Egger regression* test).

11. Je li naveden sukob interesa?

Ako zadovoljava 3 kriterija →4

Ako zadovoljava 2 kriterija →3

Ako zadovoljava 1 kriterij →2

Ako zadovoljava 0 kriterija →1

Kriteriji:

(A) Naveden je izvor potpore.
(B) Nema sukoba interesa. Ovo je subjektivno i može zahtijevati zaključivanje iz drugih informacija ili traženje odgovarajućih informacija.
(C) Ispitano je postoji sukob interesa u uključenim **primarnim** studijama.

4. REZULTATI

4.1. Rezultati Cochrane sustavnog pregleda (111)

Pronađeno je ukupno 1096 referencije kroz četiri Cochrane Grupe bolesti gastrointestinalnog sustava (n = 90), Cochrane Central Register of Controlled Trials (CENTRAL) u Cochrane knjižnici (n = 221), MEDLINE (n = 224), EMBASE (n = 269), LILACS (n = 75), Science Citation Index Expanded (SCI-Expanded) (n = 96), the Chinese Biomedical Database (n = 36), i čitanjem referencija (n = 85). Isključeno je 411 duplikata i 374 vidno nevažnih referencija kroz čitanje sažetaka. Prema tome, 311 referencija je vraćeno za daljnju procjenu. Od tih, isključeno je 58 referencija jer nisu ispunile kriterije za uključenje. Ukupno 253 referencije koje opisuju 24 randomizirane studije ispunile su kriterije. Među tim referencijama, 11 referencija je opisivalo 4 studije u tijeku. Preostale 242 referencije, koje opisuju 20 studija, ispunile su kriterije uključenja i pružile podatke za analize.

4.1.1. Opis studija (111)

Karakteristike studija koje su uključene u sustavni pregled

ATBC 2003 (115)

Metode	*„Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene Cancer Prevention Study (ATBC)“* Randomizirano, dvostruko slijepo, placebom kontrolirano ispitivanje s 2x2 faktorskim ustrojem. Generiranje randomizacijske liste: adekvatno, centralno pomoću računala. Randomizacija je izvođena u blokovima od osam, u svakom od područja studije Prikrivanje razvrstavanja: adekvatno, kodirani omoti kapsula, održavano centralno. Zaslijepljivanje: adekvatno, identične placebo kapsule. Praćenje: adekvatno, nema gubitaka iz praćenja. Analiza s namjerom liječenja: da. Izračun veličine uzorka: da.

Sudionici	Država: Finska. Broj randomiziranih sudionika: 29.133 muškaraca Kriteriji za uključenje: muški pušači (pet ili više cigareta dnevno), u dobi od 50 do 69 godine, prosječno 57,2 godina pri početku ispitivanja , koji su živjeli u jugozapadnom dijelu Finske. Kriteriji isključenja: muškarci s prethodnim rakom ili drugim ozbiljnim bolestima, ili tko koristi dodatke vitamina E, vitamina A, ili beta-karotena u količini većoj od unaprijed definiranih doza (> 20 mg,> 20000 IJ, ili> 6 mg, gore navedenim redoslijedom) ili antikoagulanse.
Intervencije	Sudionici su nasumično podijeljeni u četiri skupine: Skupina 1: alfa-tokoferol 50 mg (n = 7286); Skupina 2: beta-karoten 20 mg (n = 7282); Skupina 3: alfa-tokoferol i beta-karoten, (n = 7278); Skupina 4: placebo (n = 7287); svaki dan pet do osam godina (medijan 6,1 godina). Svi sudionici su uzimali jednu kapsulu dnevno. 4 intervencijske skupine ispitivanja su bile dobro uravnotežene u svim osnovnim značajkama koje su vrednovane. 2x2 faktorski ustroj dopuštao je procjenu dva intervencijska sredstva neovisno, pri čemu je jedna polovine sudionika primala alfa-tokoferol (n = 14564), a druga polovica nije (n = 14569); Slično tome, polovica sudionika je primala beta-karoten (n = 14560), a pola nije (n = 14573). Istraživanje je provedeno između 1985. i 1993. godine. Aktivna intervencija je nastavljena 30. travnja 1993, a postintervencijsko praćenje do 30. travnja 2001. Prosječno vrijeme praćenja je bilo 14,1 godina.
Ishodi	Primarna mjera ishoda: učestalost raka pluća. Sekundarne mjere ishoda: pojavnost ostalih značajnih karcinoma, ukupna i smrtnost prema uzroku i pojavnost drugih bolesti.
Bilješke	Suradljivost je ocijenjena brojanjem preostalih kapsula pri svakom posjetu, mjerenjem serumskih razina alfa-tokoferola i beta karotena nakon tri godine suplementacije, i mjerenjem slučajnih uzoraka seruma tijekom studije. Suradljivost je bila izvrsna kod četiri od pet aktivnih sudionika koji su uzimali više od 95% planiranih kapsula. Stopa ispada i suradljivost bili su

	slični između sve četiri skupine. Hoffmann-La Roche, Basel, Švicarska je bio opskrbljivač kapsulama. Dodatne informacije primljene su kroz osobnu komunikaciju s autorima.	
Opasnost od pristranosti		
Stavka	Prosuda autora	Opis
Prikrivanje razvrstavanja?	Da	A-Adequate

CARET 2004 (116)

Metode	*„The Beta-Carotene and Retinol Efficacy Trial (CARET)“* Randomizirana, dvostruko slijepa, placebom kontrolirana studija, 2x2 faktorskog ustroja u pilot fazi zatim 1x1. Generiranje randomizacijske liste: adekvatno, ustroj permutiranog bloka s nasumičnom veličinom bloka izabranom ravnomjerno između 8, 10, 12, 14 i 16 Prikrivanje razvrstavanja: adekvatno, zaključana središnja baza podataka s vezom između identifikatora studije i rasporedom intervencija; sve analize podataka provedene su centralno; analize koje su uključivale raspored intervencija su obavljali samo statističari koordinacijskog Centra koristeći kodirani raspored intervencija nepoznat statističarima; analize koje su uključivale kodirani raspored intervencija su vidjeli samo CARET's Data and Safety Monitoring Board, koordinacijski centar statističara, i jedan CARET istražitelj koji nije vidio nijednog sudionika. Zasljepljivanje: adekvatno, identične placebo kapsule od sponzora. Praćenje: adekvatno. Gubici iz praćenja su manje od 2% na kraju suplementacije Analiza s namjerom liječenja: da. Izračun veličine uzorka: da.
Sudionici	Država: Sjedinjene Američke Države. Broj randomiziranih sudionika: 18.314; 12025 muškaraca i 6289 žena.

	Kriteriji za uključenje: pušači, bivši pušači, i radnici izloženi azbestu s visokim rizikom od razvoja raka pluća. Ukupno je randomizirano 4.060 muških radnika, prosječne dobi 57 godina, izloženih azbestu i 14.254 teških pušača (od kojih 44% žena), prosječne dobi 58 godina. Sudionici su pristali da im se ograniči njihov dodatni unos vitamina A na manje od 5500 IU dnevno i da ne uzimaju dodatni beta-karoten.
Intervencije	CARET je temeljen na iskustvu dvije pilot studije provedene u Seattleu (1985-1988). Prva pilot studija je započela ispitivanje faze III o sigurnosti i učinkovitosti proučavanih vitamina u 816 sudionika izloženih azbestu randomiziranih u skupinu s dnevnom kombinacijom 15 mg 13-karotena i 25.000 IU retinola ili placebo skupinu. Podobna dob sudionika je bila do 74 godine i nisu trebali imati povijest pušenja cigareta. Inače, kriteriji prihvatljivosti su bili isti kao i za populaciju izloženu azbestu u CARET-u. Druga pilot studija bila je faza II usporednog ispitivanja sigurnosti proučavanih vitamina kod teških pušača. Kriteriji prihvatljivosti su identični onima za teške pušače u CARET-u. Ukupno 539 muškaraca i 490 žene je randomizirano u jednu od četiri intervencijske skupine: Skupina 1: dnevna kombinacija 30 mg 13-karotena i 25.000 IU retinola; Skupina 2: samo 30 mg 13-karotena; Skupina 3: samo 25.000 IU retinola; Skupina 4: placebo lijek. Svih 1845 sudionika iz dvije pilot studije nastavljaju se pratiti za ishode u CARET-u, zajedno s oko 16.000 dodatnih sudionika Sudionici CARET istraživanja su nasumično podijeljeni u skupine: Skupina 1: kombinacija 30 mg beta-karotena i 25.000 IU vitamina A (n = 9420); Skupina 2: placebo (n = 8894). Obje formulacije su date kao kapsule. Beta-karoten beadleti su kombinirani s retinil palmitatom u jednoj kapsuli i stavljeni u izvagane boce te j njihov je sadržaj provjeren. Ustrojem studije je projektirana aktivna intervencija do kraja 1997 godine.

	CARET aktivna intervencija je zaustavljena 21 mjesec ranije zbog jasnog dokaza o nikakvoj koristi i značajnim dokazima o mogućoj šteti. Prosječno trajanje praćenja je 10,0 godina.	
Ishodi	Primarna mjera ishoda: pojavnost raka pluća. Ostali ishodi su: smrtnost i pojava drugih carcinoma.	
Bilješke	Suradljivost je određena vaganjem vraćenih boca kako bi se procijenio broj preostalih kapsula (u 85% procjena), ili oslanjajući se na sudionikove vlastite procjene (u 15% procjena) Suradljivost u liječenju je bila izvrsna. Među aktivnim sudionicima, srednja stopa potrošnje kapsula bila je 93% kroz pet godina praćenja, bez značajne razlike između grupa ispitanika. Sudionici koji su prestali primati vitamine iz bilo kojeg drugog razloga osim smrti definirani su kao neaktivni sudionici i dalje su praćeni za ishode i broje se u analizi. 15. Prosinca 1995. utvrđivanje vitalnog statusa za više od 98% ispitanika je dovršeno. Aktivne supstance i placebo su osigurali Hoffmann-La Roche, a formulirala ih je Tischon Corporation. Podaci su izvađeni iz primarne publikacije, ali dodatne informacije su primljene kroz osobnu komunikaciju s autorima.	
Rizik od pristranosti		
Stavka	Prosuda autora	Opis
Prikrivanje razvrstavanja?	Da	A-Adequate

Correa 2000 (117)

Metode	Randomizirani, kontrolirani, djelomično dvostruko slijepi, kemoprevencijski pokus s 2x2x2 faktorskim ustrojem. Generiranje randomizacijske liste: adekvatno, računalno generirani popisi. Sudionici su nasumično podijeljeni u jednom koraku, korištenjem dizajna permutiranog bloka, u osam različitih režima liječenja. Prikrivanje razvrstavanja: adekvatno, kodirane kapsule.

	Zasljepljivanje: adekvatno, koristeći identične placebo kapsule. Praćenje: adekvatno, prosječna stopa gubitka bila je 4,3% godišnje u odnosu na šestogodišnje istraživanje. 221 sudionik se povukao iz istraživanja prije 72-o mjesečne evaluacije: 102 je prekinulo liječenje, 59 je izgubljeno iz praćenjenja, 34 je odustalo od studije zbog trudnoće i drugih medicinskih stanja, 18 umrlo od uzroka koji nisu vezani za rak želuca, a osam je razvilo neku vrstu raka, osim raka želuca. U jednog sudionika, uzorak s biopsije za 72 mjeseca nije bio zadovoljavajući za histološku procjenu i utvrđivanje ishoda. Ukupno 684 sudionika je došlo do biopsije za 36 mjeseci; od njih, 92% (631) došlo je do biopsije za 72 mjeseca. U posljednje 3 godine studije došlo je do stope ispada od 2,6% godišnje. Sveukupno, 24 sudionika iz placebo skupine, 25 iz anti-Helicobacter pylori (anti-HP), 34 iz skupine s beta-karotenom (BC), 23 iz skupine s askorbinskom kiselinom (AA), 20 iz anti-HP + BC, 23 iz anti-HP + AA, 17 iz BC + AA i 37 iz anti-HP + pr + AA su izgubljeni iz praćenja. Analiza s namjerom liječenja: ne. Izračun veličine uzorka: ne.
Sudionici	Država: Kolumbija. Broj randomiziranih sudionika: 976; 46% muškaraca, u dobi od 29 do 69 godina, prosječne dobi 51,1 godina. Kriteriji za uključenje: preliminarna histološka dijagnoza multifokalnog atrofičnog gastritisa s ili bez crijevne metaplazije i displazije, dobrog zdravlja. Kriteriji isključenja: normalna histologija, ne-atrofični gastritis, rak želuca Prije randomizacije, sudionici su svrstani u jedan od tri nivoa: atrofija (bez metaplazije), intestinalne metaplazije, ili displazije prema osnovnoj histološkoj dijagnozi.
Intervencije	Sudionicima je nasumično dodijeljen dodatak prehrani beta-karotena (30 mg jednom dnevno) i /ili askorbinske kiseline (1 g dvaput dnevno), ili njihovih odgovarajućih placeba, za razdoblje od šest godina. Prevalencija infekcije Helicobacter pylori među svim uzorcima želučane biopsije bila je 97%. Liječenje infekcije Helicobacter pylori koja se sastoji od amoksicilina (500

	mg tri puta na dan), metronidazola (375 mg tri puta po danu), i bizmut subsalicilata (262 mg tri puta dnevno) traje 14 dana primjenjivana je na pola sudionika istraživanja slučajnim odabirom. Pri ovom postupku nije korišteno zasljepljivanje niti je bio kontroliran placebom, jer nije bio dostupan prikladan placebo za bizmut subsalicilat. Sudionici su bili podijeljeni u osam tretmana liječenja u kojima su primali: Skupina 1: placebo (n = 117); Skupina 2: anti-Helicobacter pylori tretman, koji se sastojao od amoksicilina, metronidazola i bizmut subsalicilata (n = 120); Skupina 3: beta-karoten (n = 117); Skupina 4: askorbinsku kiselinu (n = 130); Skupina 5: anti-Helicobacter pylori tretman, koji se sastoji od amoksicilina, metronidazola i bizmut subsalicilata, i dodatnog beta-karotena (n = 126); Skupina 6: anti-Helicobacter pylori tretman koji se sastoji od amoksicilina, metronidazola i bizmut subsalicilata, i dodatne askorbinske kiseline (n = 111); Skupina 7: beta-karoten i askorbinsku kiselinu (n = 121); Skupina 8: anti-Helicobacter pylori tretman, koji se sastojao od amoksicilina i metronidazola, bizmut subsalicilata, i dodatnog beta-karoten i askorbinske kiseline (n = 134) Uzorci želučane biopsije uzeti na početku su se uspoređivali s onima napravljenim u 72.-om mjesecu.
Ishodi	Primarne mjere ishoda: napredovanje, bez promjene ili regresija želučanih prekanceroznih lezija (preliminarna histološka dijagnoza multifokalnog atrofičnog gastritisa s ili bez crijevne metaplazije i displazije). Za namjene pregleda izvađeni su podaci o pojavnosti karcinoma želuca. Također su izvađeni podaci o ukupnoj smrtnosti za sve antioksidanse kao i za beta-karoten i vitamin C.
Bilješke	Suradljivost je stalno poticao i pratio socijalni radnik koji je obavljao razgovore sa sudionicima i bilježio broj tableta svaka tri mjeseca. Osim toga, krvne razine beta-karotena i askorbinske kiseline su mjerene svaka tri mjeseca u 20%tnom slučajnom uzorku sudionika. Suradljivost među sudionicima koji su došli do kraja istraživanja bila je visoka za sve

	intervencijske modalitete (srednja suradljivost za askorbinsku kiselinu, 91,8%; za beta-karotena, 92,3%; i za anti-Helicobacter pylori liječenje, 99,1%). Aktivne supstance i placebo kao identične kodirane tablete je osigurao Hoffmann-La Roche Inc. (Nutley, NJ). Dodatne informacije primljene su kroz osobnu komunikaciju s autorima. Podaci su izvađeni iz članka: Correa, et al. Re: Chemoprevention of gastric dysplasia: Randomized trial of antioxidant supplements and anti Helicobacter pylori therapy. Journal of the National Cancer Institute 2001; 93: 559	
Rizik od pristranosti		
Stavka	Prosuda autora	Opis
Prikrivanje razvrstavanja?	Da	A-Adequate

HOPE TOO 2005 (118)

Metode	*„Heart Outcomes Prevention Evaluation Study (HOPE)“.* Randomizirana, dvostruko slijepa, placebom kontrolirana studija s 2x2 faktorskim dizajnom. Generiranje randomizacijske liste: adekvatno, na računalu. Prikrivanje razvrstavanja: odgovarajuće, randomizacija je rađena telefonskim pozivom središnjem uredu. Nakon primanja odgovarajućih osnovnih podataka preko telefona, pacijenti su bili randomizirani. Zasljepljivanje: odgovarajuće, identične placebo kapsule. Praćenje: adekvatno. Na kraju početne HOPE studij, utvrđen je vitalni status za 9535 (99,9%) od 9541 randomiziranih pacijenata. Na kraju studije HOPE-TOO, vitalni status je utvrđen za 4724 (99,8%) od 4732 pacijenata koji su sudjelovali u produžetku studije. Analiza s namjerom liječenja: da. Izračun veličine uzorka: da.
Sudionici	Država: Internacionalno, Sjeverna Amerika, Južna Amerika, Europa (19 zemalja) Broj randomiziranih sudionika: 9541; 6996 muškaraca I 2545 žena, od 55 godina ili stariji, srednje dobi 66 godina.

	Kriteriji za uključenje: 55 godina ili stariji, s poviješću KV bolesti (bolest koronarnih arterija, moždani udar ili periferna arterijska bolest) ili dijabetesa u nazočnosti najmanje jednog dodatnog KV faktora rizika (ukupni kolesterol> 5.2 mmol / L, HDL kolesterol 0,9 mmol / L, hipertenzija, definirana kao korištenje lijekova za liječenje visokog krvnog. tlak ili tlak u vrijeme prijavljivanja> 160 mmHg sistolički ili> 90 mmHg dijastolički, otprije poznata mikroalbuminurija ili trenutni pušač). Kriteriji za isključenje: pozitivna proteinurija mjerena test-trakicama, dijabetička nefropatija, kreatinin u serumu> 200 mmol /L, povijest kongestivnog zatajenja srca, ili poznata ejekcijska frakcija lijeve klijetke (<40%), hiperkalemija, nekontrolirana hipertenzija, infarkt miokarda, nestabilna angina ili moždani udar u toku prvog mjeseca prije prijavljivanja u istraživanje te korištenje ili intolerancija vitamina E ili inhibitora angiotenzin konvertirajućeg enzima (ACE-inhibitori).
Intervencije	Pacijenti su nasumično raspodijeljeni u skupine koje su primale: Skupina 1: 400 IU vitamina E (RRR-a-tokoferil acetat) svakodnevno iz prirodnih izvora (n = 4761); Skupina 2: placebo (n = 4780); Skupina 3: inhibitor angiotenzin-konvertirajućeg enzima (ramipril 10 mg) (n = 4645); Skupina 4: placebo (n = 4652), jednom dnevno u periodu od četiri do šest godina, prosječno 4,5 godina. The Heart Outcomes Prevention Evaluation [HOPE] istraživanje je provedeno između 21. prosinca 1993. godine, i 15. travnja 1999. The Heart Outcomes Prevention je produžena (HOPE-The Ongoing Outcomes [HOPE-TOO]) između 16. travnja 1999, i 26. svibnja 2003. Godine. Od početnih 267 HOPE centara koji su imali upisanih 9541 pacijenata, 174 centra je sudjelovalo u HOPE-TOO studiji. Od 7030 bolesnika upisanih u ove centre, 916 je umrlo prije početka produžetka studije, 1382 je odbilo sudjelovanje, 3994 je nastavilo s aktivnom intervencijom a 738 je pristalo na pasivno praćenje. Prosječno razdoblje praćenja je bilo sedam godina.
Ishodi	Primarne mjere ishoda : pojavnost raka, smrt od raka, značajni kardiovaskularni događaji (infarkt miokarda, moždani udar, i

	kardiovaskularna smrt). Sekundarne mjere ishoda: nestabilna angina, kongestivno zatajenje srca, revaskularizacije i amputacija, smrt zbog bilo kojeg uzroka, komplikacije dijabetesa i rak.
Bilješke	Suradljivost je provjerena mjerenjem plazmatske razine vitamina E u slučajno odabranih pacijenata. Stopa suradljivosti u vezi s dodijeljenim režimima bila je visoka kroz cijelo istraživanje. Postoci pacijenata koji su uzimali vitamin E u vitamin E i placebo skupinama, tim redoslijedom, bili su 94,2% i 1,0% u prvoj godini, 93,3% i 1,7% nakon 2 godine, 91,3% i 2,0% nakon 3 godine, 90,2% i 2,7% u četvrtoj godini i 89,2% i 3,4% kod posljednjeg pregleda. Nije bilo značajne interakcije između tretmana istraživanja (ramipril i vitamin E) za osnovne, sekundarne i druge ishode studije. Na kraju početnog HOPE istraživanja, utvrđen je vitalni status za 9535 (99,9%) od 9541 randomiziranih pacijenata. Financirano je od strane Medical Research Council of Canada, Natural Source Vitamin E Association, Negma, Hoechst-Marion Roussel, AstraZeneca, King Pharmaceuticals, and the Heart and Stroke Foundation of Ontario.

Rizik od pristranosti		
Stavka	Prosuda autora	Opis
Prikrivanje razvrstavanja?	Da	A-Adequate

HPS 2002 (119)

Metode	*„Heart Protection Study“* Randomizirana, dvostruko slijepa, placebom kontrolirana studija s 2x2 faktorskim dizajnom Generiranje randomizacijske liste: adekvatno, računalno generirani slučajni brojevi. Prikrivanje razvrstavanja: adekvatno, sustav randomizacije uz pomoć centralnog telefona. Zaslijepljivanje: odgovarajuće, identične placebo kapsule.

	Praćenje: adekvatno. 99,7% sudionika je bilo u potpunom praćenja u prosjeku 5 godina u skupini koja je primala vitamine i 99,6% u placebo skupini. Ukupno, 25 sudionika koji su raspodijeljeni u skupinu s vitaminima i 35 sudionika u placebo skupini su izgubljeni iz praćenja. Analiza s namjerom liječenja: da. Izračun veličine uzorka: da.
Sudionici	Država: Velika Britanija. Broj randomiziranih sudionika: 20.536; 15.454 muškaraca i 5.082 žena u dobi 40-80 godina. Kriteriji za uključenje: odrasli s koronarnom bolešću, druge okluzivne arterijske bolesti ili dijabetes te koncentracija ukupnog kolesterola nakon obroka u krvi bar 3,5 mmol / L. Kriteriji isključenja: druga po život opasna stanja, kao što su kronične bolesti jetre, teške bolesti bubrega, teško zatajenje srca, teška kronična bolest dišnih puteva ili dijagnosticiran rak (osim nemelanoznog raka kože). Osim toga, netko tko već uzima visoke doze dodataka vitamina E ili u koga se takvi dodaci smatraju indicirani, nije randomiziran.
Intervencije	Sudionici su nasumično podijeljeni u grupe koje su primale: Skupina 1: 600 mg vitamina E, 250 mg vitamina C, te 20 mg beta-karotena dnevno (n = 10269); ili Skupina 2: istovjetne placebo kapsule (n = 10267), svakodnevno po određenom rasporedu 5 godina.
Ishodi	Primarne mjere ishoda: značajni koronarni događaji (za ukupnu analizu) i smrtonosni ili nesmrtonosni vaskularni događaji (za potkategoriju analize), s pomoćnim procjenama raka i drugih većih komorbiditeta.
Bilješke	Suradljivost je procjenjivana pri svakom praćenju pregledom preostalih kalendarskih tableta i traženjem razloga zašto kod onih koju su ih prestali uzimati. Prosječno 83% sudionika u svakoj skupini je pokazalo suradljivost tijekom zakazanog petogodišnjeg razdoblja liječenja. Za procjenu učinaka raspodjele tretmana na koncentraciju proučavanih vitamina u krvi, testovi su rađeni na uzorcima krvi izvađenim nakon obroka, prikupljenim od oko 5% sudionika u početnom posjetu probira i nakon prosječno 3 godine praćenja (približna središnja točka studije).

	Vitamine je osigurao Roche. Podaci su izvađeni iz primarne publikacije, ali dodatne informacije su primljene kroz osobnu komunikaciju s autorima.	
Rizik od pristranosti		
Stavka	Prosuda autora	Opis
Prikrivanje razvrstavanja?	Da	A-Adekvatno

Li 2000 (120)

Metode	Randomizirano, placebom kontrolirano ispitivanje s dizajnom paralelnih grupa Generiranje randomizacijske liste: nejasno, nije opisano. Prikrivanje razvrstavanja: nejasno, nije opisano. Zasljepljivanje: adekvatno, istovjetni placebo. Praćenje: adekvatno, nema gubitaka iz praćenja. Analiza s namjerom liječenja: da. Izračun veličine uzorka: ne.	
Sudionici	Država: Kina. Broj randomiziranih sudionika: 2.065 muškaraca, u dobi od 20 do 65 godina. Kriteriji za uključenje: muškarci koji žive u Qidong, Jiangsu provinciji (područja visokog rizika za rak jetre), HBsAg pozitivni, AFP negativni s normalnom funkcijom jetre. Kriteriji isključenja: nijedan naveden.	
Intervencije	Sudionici su nasumično podijeljeni u skupine koje su primale: Skupina 1: natrijev selenit 0,5 mg (228 μg selena) (n = 1112); Skupina 2: placebo (n = 953); svaki dan, tri godine.	
Ishodi	Primarna mjera ishoda: pojavnost raka jetre.	
Bilješke	Suradljivost: dobra, između 81,5% u prvoj godini i 79,8% u trećoj godini. Podaci su iz primarne publikacije.	
Rizik od pristranosti		
Stavka	Prosuda autora	Opis

Prikrivanje razvrstavanja?	Nejasno	B-nejasno

Li 2004 (121)

Metode	Randomizirano dvostruko slijepo, placebom kontrolirano ispitivanje s dizajnom paralelnih grupa. Generiranje randomizacijske liste: nejasno, nije prijavljeno. Prikrivanje razvrstavanja: nejasno, nije prijavljeno. Cijeli proces je proveden dvostruko slijepom metodom. Zaslijepljivanje: adekvatno, identične placebo kapsule i placebo tablete Praćenje: neadekvatno. Analiza s namjerom liječenja: ne. Izračun veličine uzorka: da.
Sudionici	Država: Kina. Broj randomiziranih sudionika: 5033, u dobi od 34 do 74 godine, 3250 muškaraca i 1783 žene. Kriteriji za uključenje: 34 - 74 godine starosti, poremećaj želuca ili tumor u drugih članova obitelji ili pušenje i / ili konzumacija alkohola. Kriteriji isključenja: nijedan naveden.
Intervencije	Sudionici su nasumično raspodijeljeni u skupine koje su primale: Skupina 1: selen (natrijev selenit) 100 µg i sintetički alitrid 200 mg (n = 2526); Skupina 2: placebo (n = 2507); Svaki sudionik je uzimao oralno dvije meke kapsule koje se otapaju u crijevima sa sintetičkim alitridom svaki dan i jednu pločicu natrijevog selenita svaki drugi dan mjesec dana svake godine tijekom dvije godine, a istovremeno su svakom sudioniku u kontrolnoj skupini date 2 kapsule koje su sadržavale kukuruzno ulje i jedna škrobna pločica identična onoj u intervencijskoj skupini. Sudionici su bili liječeni od 1989-1991 te praćeni tijekom sljedećih pet godina (1192-1997), ukupno 7 godina. Alitrid je ekstrakt češnjaka.
Ishodi	Primarna mjera ishoda: pojavnost karcinoma želuca.

Bilješke	Suradljivost je provjeravana razgovorom licem u lice i mjerenjem koncentracije tiamina u urinu. Suradljivost je bila izvrsna. Prosječna procijenjena suradljivost pri uzimanju lijekova bila je 93%. Sintetički alitrid je izrađen u Dongfeng Pharmaceutical Factory, Lianyuguang u Kini, a mjesto proizvodnje mekih kapsula alitrida koje se otapaju u crijevima bilo je Weihai Branch Factory of Shangdong Xinhua Pharmaceutical Factory, Zibo, Kina. Pločice natrijevog selenita je osigurao Ured za endemske bolesti Shangdong, proizvedene su u Hezhe Pharmaceutical Factory, Hezhe, Kina Autori su izvijestili da su glavne nuspojave lijekova bile miris češnjaka i žgaravica, ali nisu dali brojčane vrijednosti.	
Rizik od pristranosti		
Stavka	Prosuda autora	Opis
Prikrivanje razvrstavanja?	Nejasno	B-nejasno

Munoz 1985 (122)

Metode	Randomizirano, dvostruko slijepo, placebom kontrolirano ispitivanje s dizajnom paralelnih grupa. Generiranje randomizacijske liste: nejasno, nije opisano. Prikrivanje razvrstavanja: adekvatno, kapsule su pakirane pojedinačno na dva i tri blistera. Na poleđini blistera bila je samoljepiva naljepnica s brojem sudionika. Sudionicima, "bosonogim liječnicima" ni terenskim nadzornicima nije bilo poznato raspoređivanje liječenja. Kod za raspored liječenja nije bio otvoren prije nego je histološka analiza dovršena. Zasljepljivanje: adekvatno, želatinske kapsule identičnog izgleda. Praćenje: adekvatno, 567 osoba (93%) je sudjelovalo u završnom endoskopskom ispitivanju. Analiza s namjerom liječenja: ne. Izračun veličine uzorka: ne.
Sudionici	Država: Kina, Huixian, provincija Henan.

	Broj randomiziranih sudionika : 610, 50% muškaraca, u dobi od 35 do 64 godine. Kriteriji za uključenje: Stanovnici Huixiana, provincije Henan u Kini s visokim rizikom od raka jednjaka. Kriteriji isključenja: nijedan naveden. U rujnu 1983. slučajni uzorak populacije je izvučen iz dvije proizvodne brigade (Meng Zhuang i Dong Feng Xia) u Huixianu, pokrajini Henan.	
Intervencije	Sudionici su nasumično podijeljeni u skupine koje su primale: Skupina 1: 15 mg (50,000 IU) retinola, 200 mg riboflavina, i 50 mg cinka (kao cink glukonat), (n = 305); Skupina 2: placebo (n = 305). jednom tjedno 13,5 mjeseci. Završno ispitivanje bilo je u listopadu/studenom 1984. 13,5 mjeseci nakon početka studije i uključivalo je endoskopiju. Dva uzorka s biopsije su uzeti nasumce iz srednje i donje trećine jednjaka i dodatni iz bilo koje makroskopske lezije. Od 567 osoba (93%) koje su prisustvovale završnom endoskopskom ispitivanju, histološki preparati su analizirani u 552 osobe (90,5%). U ostalih 15 dostupni materijal nije bio adekvatan.	
Ishodi	Primarne mjere ishoda: učestalost prekanceroznih lezija jednjaka, kao i pojavnost raka jednjaka.	
Bilješke	U ranim fazama istraživanja suradljivost je određena mjerenjem vitamina u krvi dva mjeseca nakon početka studije iz uzorka od 100 sudionika poredanih po dobi, spolu, proizvodnoj brigadi, i tretmanu. Obrasci za praćenje i preostale kapsule pregledavali su terenski nadzornici svaka dva mjeseca. Suradljivost je bila izvrsna. Završno ispitivanje na 567 (93%) ispitanika uključivalo je ezofagoskopiju i barem dvije biopsije. Sve vitamine i placebo preparate osigurao je Hoffmann-La Roche, Basel, Švicarska. Podaci su vađeni iz primarne publikacije. Tijekom istraživanja jedan pacijent je umro, ali autori nisu izvijestili iz kojeg kraka studije i nije bilo moguće pribaviti ovu informaciju.	
Rizik od pristranosti		
Stavka	Prosuda autora	Opis

Prikrivanje razvrstavanja?	Da	A-Adequate

NIT1 1993 (123)

Metode	*„Nutrition Intervention Trial (NIT)“*; The General Population Trial, u Linxianu, Kina. Randomizirano, placebom kontrolirano ispitivanje s „one-half replicate of a 2x2x2x2“ faktorskim dizajnom. Generiranje randomizacijske liste: adekvatno, slučajne brojeve je generirao nezavisni centar za upravljanje podacima u SAD-u. Slijed randomizacije bio je poznat samo centru za upravljanje podacima do završetka intervencije. Prikrivanje razvrstavanja: adekvatno, sekvencijalno numerirane kodirane boce. Spremnici tableta su označeni u SAD-u u distribucijskom centru tableta. Zasljepljivanje: adekvatno, identične placebo tablete. Praćenje: neadekvatno, gubici iz praćenja nisu prijavljeni. Analiza s namjerom liječenja: da. Izračun veličine uzorka: da.
Sudionici	Država: Kina, Henan provincija sjeverne središnje Kine, Linxian okrug. Broj randomiziranih sudionika : 29.584; 45% muškaraca, u dobi od 40-69 godina. Kriteriji za uključenje: stanovnici spremni sudjelovati u višegodišnjem, svakodnevnom režimu uzimanja tableta. Kriteriji isključenja: oslabljujuće bolesti ili prethodni rak jednjaka ili želuca.
Intervencije	Sudionici su nasumično podijeljeni u skupine koje su primale jednu od osam kombinacija vitamina / minerala u obliku pojedinačnih oralnih tableta. Osam interventnih skupina (svaka sa 3677-3709 sudionika) su izvedeni iz „one-half replicate of a 2x2x2x2“ faktorijalnog dizajna, što je omogućilo da se procijene četiri čimbenika (tj kombinacije nutrijenata) u jednom pokusu. Četiri čimbenika određena slovima A, B, C, D bila su: A- retinol (kao palmitat) 5000 IU, cink (kao cink oksid) 22.5 mg; B – riboflavin (vitamin B2) 3.2 mg i niacin (vitamin B3) 40 mg;

	C - askorbinska kiselina 120 mg i molibden (kao kompleks molibdena u kvascu) 30 µg; D - beta karoten 15 mg, selen (kao selen iz kvasca) 50 µg, i alfa-tokoferol 30 mg. Doze svakog nutrijenta varirala je između količine jednake ili 2 puta veće od US preporučene dnevne količine. Osam intervencijskih skupina je definirano slijedećim kombinacijama dodataka; AB, AC, AD, BC, BD, CD, ABCD, ili placebo koje su pakirane u kodirane boce s jednomjesečnom zalihom. Boce su mjesečno dijeljene s početkom u ožujku 1986. pa sve do svibnja 1991, u prosjeku 5,25 godina.
Ishodi	Primarne mjere ishoda: pojavnost raka, smrtnost od raka te ukupna smrtnost.
Bilješke	Suradljivost je procijenjena mjesečnim brojanjem tableta i biokemijskim mjerama. Suradljivost je bila izvrsna tijekom cijele studije. Ukupna stopa popijenih tableta je 93% za sve sudionike, bez razlike između skupina liječenja (raspon od 92% do 93%) s neznatnom promjenom tijekom studije. Sve dodatke vitamina / minerala i placebo su osigurali Hoffmann-La Roche, Basel, Švicarska i LEDERLE Laboratories, Inc. Podaci su iz primarne publikacije. Dodatne informacije su primljene kroz osobnu komunikaciju s autorima. Međutim, nisu se uspjeli dobili podaci o pojavnosti raka gastrointestinalnog sustava po skupini.

Rizik od pristranosti		
Stavka	Prosuda autora	Opis
Prikrivanje razvrstavanja?	Da	A-Adequate

NIT2 1993 (124)

Metode	*„The Dysplasia Trial“* Randomizirano, placebom kontrolirano ispitivanje s ustrojem paralelnih skupina. Generiranje randomizacijske liste: adekvatno, slučajne brojeve je generirao nezavisni centar za upravljanje podacima u SAD-u. Prikrivanje razvrstavanja: adekvatno, redom numerirane kodirane boce. Spremnici tableta su označeni u distribucijskom centru tableta u SAD-u.

	Zaslijepljivanje: odgovarajuće, identične placebo tablete. Praćenje: adekvatno, stopa praćenja pobola i smrtnosti bila je 99%. Analiza s namjerom liječenja: da. Izračun veličine uzorka: da.
Sudionici	Država: Kina, Henan provincija sjeverne središnje Kine, Linxian okrug. Broj randomiziranih sudionika: 3318; 1.461 muškarac i 1.857 žena u dobi od 40-69 godine, prosječne dobi od 54 godine. Kriteriji za uključenje: mjesto stanovanja u jednoj od tri sjeverne Linxian komune (Yaocun, Rencun ili DongGang), pristanak, dijagnoza displazije jednjaka utvrđena citološkim ispitivanjem balonom. Kriteriji isključenja: uzimanje vitamina bilo koje vrste redovito ili antitumorski B lijek (tradicionalni kineski lijek koji se sastoji od smjese šest ljekovitih biljaka), povijest malignih oboljenja ili drugih bolesti koje oslabljuju.
Intervencije	Sudionici su nasumično podijeljeni u skupine koje su primale: Skupina 1: 13 vitamina i 13 minerala (vitamin A (acetat) 10000 IU, vitamin E (dl-alfa tokoferol acetat) 60 IU vitamin C (askorbinska kiselina) 180 mg, vitamin B1 5 mg, vitamin B2 5,2 mg, vitamin B6 6 mg, vitamin B12 18 µg, vitamin D 800 IJ; beta-karoten 15 mg, folna kiselina 800 µg, niacinamid 40 mg, biotin 90 µg, pantotenska kiselina 20 mg, kalcij 324 mg, fosfor 250 mg, jod 300 µg, željezo 54 mg, magnezij 200 mg, bakar 6 mg, mangan 15 mg, kalij 15,4 mg, klorid 14 mg, krom 30 µg, molibden 30 µg, selen (natrijev selenat) 50 µg, i cink 45 mg (n =1657); Skupina 2: placebo (n = 1661); u trajanju od 6 godina. Doze su obično dva do tri puta veće od preporučene dnevne količine (RDA) u SAD-u, ali u rasponu od 0,26 do sedam puta veće od RDA ovisno o vitaminu ili mineralu. Svaki sudionik dobio je tri tablete dnevno što uključuje jednu tabletu beta-karotena ili placebo i dvije tablete dodatka vitamina / minerala, ili placebo.
Ishodi	Primarne mjere ishoda: pojavnost raka, smrt od raka te ukupna smrtnost.
Bilješke	Suradljivost je ocijenjena brojanjem neiskorištenih tableta za sve sudionike studije i procjenom krvnih razina nutrijenata iz uzoraka nasumično odabranih

	pojedinaca bez zamjene svaka tri mjeseca kroz istraživanje. Suradljivost je bila izvrsna. Ukupna stopa potrošnje tableta u obje skupine bila je 94% s blagim padom (od 96% u 1. godini na 92% u 6. godini u obje skupine) tijekom trajanja studije. Podaci su iz primarne publikacije. Aktivne lijekove i placebo osigurali su: Hoffmann-La Roche, Inc., Nutley, NY (beta-karoten kao Solatane), LEDERLE Laboratories, Inc., Pearl River, NY (dodatke vitamina / minerala kao Centrum). Dodatne informacije primljene su kroz osobnu komunikaciju s autorima.	
Rizik od pristranosti		
Stavka	Prosuda autora	Opis
Prikrivanje razvrstavanja?	Da	A-Adequate

NPCT 1996 (125)

Metode	*„Nutritional Prevention of Cancer Trial (NPCT)“* Randomizirano, dvostruko slijepo, placebom kontrolirano ispitivanje s ustrojem paralelnih grupa. Generiranje randomizacijske liste: adekvatno, računalno generirani slučajni brojevi. Prikrivanje razvrstavanja: odgovarajuće, tretman grupa je napravljen centralno. Koordinacijski centar čuvao je sve informacije o liječenju koristeći zasljepljivanje. Lijekovi su dijeljeni pomoću zapečaćenih bočica s tabletama. Zasljepljivanje: odgovarajuće, identične placebo tablete. Praćenje: adekvatno. Na kraju perioda liječenja u kojem je korišteno zasljepljivanje nijedan sudionik nije bio izgubljen iz vitalnog praćenja, a samo 7 ispitanika (3 u skupini selena i 4 u placebo skupini) je odbilo pružiti dodatne informacije o bolesti. Analiza s namjerom liječenja: da. Izračun veličine uzorka: da.
Sudionici	Država: Sjedinjene Američke Države.

	Broj randomiziranih sudionika: 1312; 75% muškaraca, u dobi od 18 do 80 godina, prosječne dobi od 63 godine. Kriteriji za uključenje: povijest dva ili više karcinoma bazalnih stanica kože (BCC basal sell skin cancer) ili jedan rak pločastih stanica kože (SCC squamos cell skin cancer), s jednim od ovih događaja u godini prije nasumičnog odabira, životni vijek od još najmanje pet godina i da nema unutarnjih malignih bolesti koje su liječene u prethodnih pet godina. Kriteriji isključenja: povijest značajnih poremećaja jetre ili bubrega. Odabiranje je počelo 15. rujna, 1983. i nastavljeno svake godine do 1991.	
Intervencije	Pacijenti su nasumično podijeljeni u skupine koje su primale: Skupina 1: 200 µg selena isporučeno u tabletama pekarskog kvasca od 0,5 g bogatim selenom (n = 653); Skupina 2: placebo (n = 659); Kraj razdoblja zasljepljivanja je 1. veljače 1996. Srednja duljina liječenja bila je 4,5 godina i praćenja 7,4 godine.	
Ishodi	Primarne mjere ishoda: učestalost karcinoma kože bazalnih i pločastih stanica. U 1990. su određene sekundarne mjere ishoda koje su uključivale: ukupnu smrtnost i smrtnost od raka, kao i učestalost karcinoma pluća, kolorektalnog i raka prostate.	
Bilješke	Suradljivost: odlična, 79,3% ispitanika (80,3% u placebo skupini i 78.4% u skupini selena) je propustilo uzeti tabletu manje od dva puta mjesečno. Lijekove su osiguravali Nutrition 21 (La Jolla, CA), do 1995. a nakon toga Cypress Systems (Fresno, CA). Podaci o pojavnosti raka probavnog vađeni su iz članka: Duffield-Lillico AJ, Reid ME, Turnbull BW, Combs GF Jr., Slate EH, Fischbach LA, Marshall JR, Clark LC. Osnovne karakteristike i učinak dodataka selena na učestalost raka u randomiziranom kliničkom ispitivanju: sažetak izvješća iz the Nutritional Prevention of Cancer Trial. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2002;11(7):630-9.	
Rizik od pristranosti		
Stavka	Prosuda autora	Opis
Prikrivanje razvrstavanja?	Da	A-Adequate

PHS 1996 (126)

Metode	*„Physicians Health Study (PHS)“* Randomizirano, dvostruko slijepo, placebom kontrolirano ispitivanje s 2x2 faktorskim ustrojem. Generiranje randomizacijske liste: adekvatno, na računalu u blokovima. Prikrivanje razvrstavanja: adekvatno, odjel za pošiljke slao je kalendarska pakiranja (identična bilo placebo ili aktivna tvar) svakom pojedinom sudioniku ovisno o kodu. Sva kalendarska pakiranja bila su u kodiranim kutijama, koje su dobivene od proizvođača lijeka, tako da pošiljaoci nisu znali što šalju. Zasljepljivanje: odgovarajuće, identične placebo kapsule. Praćenje: adekvatno. Do 31. prosinca 1995, planiranog kraja studije, manje od 1% sudionika je izgubljeno iz praćenja. Analiza s namjerom liječenja: da. Izračun veličine uzorka: da.
Sudionici	Država: Sjedinjene Američke Države. Broj randomiziranih sudionika: 22.071 američkih muških liječnika dobi 40-84 godina, srednje dobi 53 godine. Kriteriji za uključenje: američki muški liječnici spremni da sudjeluju u ovom istraživanju. Kriteriji isključenja: kronična bolest jetre ili dokaz abnormalne funkcije jetre, teška bolest bubrega ili dokaz poremećene funkcije bubrega, upalna mišićna bolest ili dokaza problema s mišićima (kreatin kinaza > 750 IU / L); konkomitantna terapija sa ciklosporinom, fibratima, ili visoke doze niacina; mogućnost začetka djeteta; teško zatajenje srca; neka po život opasna stanja, osim vaskularnih bolesti ili dijabetesa (npr, ozbiljna kronična bolest dišnih puteva, ili bilo koji drugi rak osim nemelanoznog raka kože); ili uvjeti koji bi mogli ograničiti dugoročnu suradljivost (npr ozbiljno onesposobljavajući moždani udar, demencija, ili psihijatrijski poremećaj).
Intervencije	Liječnici su nasumično podijeljeni u skupine koje su dobivale: Skupina 1: aktivni aspirin 325 mg svaki drugi dan plus placebo beta-

	karotena; Skupina 2: aktivni beta-karoten 50 mg svaki drugi dan plus aspirin placebo; Skupina 3: oba aktivna sredstva; ili Skupina 4: oba placeba. Dio studije s randomizacijom aspirina je prekinut ranije, 25. siječnja 1988. Dio s beta-karotenom nastavljen je bez prekida do predviđenog kraja u prosincu 1995. godine Ukupno 11.036 liječnika je odabrano nasumce za primanje beta-karotena i 11035 za primanje beta-karoten placebo. Vrijeme od randomizacije do kraja studije u prosjeku je 12 godina, i vrijeme praćenja 12,9 godina.	
Ishodi	Primarne mjere ishoda: ukupna i unutar podskupine, pojavnost malignih neoplazmi (osim nemelanoznog raka kože), učestalost kardiovaskularnih bolesti, i ukupna smrtnost.	
Bilješke	Suradljivost je provjerena nasumičnim serumskim procjenama dobivenim nenajavljenim posjetima sudionicima ispitivanja. Suradljivost je bila izvrsna, prosječni postotak uzetih tableta bio je 97% i u aktivnim i kontrolnim skupinama. Suradljivost za beta-karoten nakon 5 godina bila je 85% i 78% nakon 12 godina. Upotreba dodataka vitamina A prijavljena je kod samo 6% u placebo skupini čak i do kraja studije. Pakiranja aktivnih tvari i placebo osigurali su: aspirin (Bufferin) Bristol Meyers; beta-karoten (Lurotin), BASF korporacija. Dodatne informacije primljene su kroz osobnu komunikaciju s autorima. Podaci su izvađeni iz članka: Cook et al. Effects of beta-carotene supplementation on cancer incidence by baseline characteristics in the Physicians' Health Study (United States). Cancer Causes and Control 2000; 11: 617-26, with extended follow-up of 12.9 years.	
Rizik od pristranosti		
Stavka	Prosuda autora	Opis
Prikrivanje razvrstavanja?	Da	A-Adequate

Plummer 2007 (127)

Metode	Randomizirano, dvostruko slijepo, placebom kontrolirano ispitivanje primarne prevencije s ustrojem paralelnih grupa. Generiranje randomizacijske liste: primjereno, sekvencu za nasumičnu raspodjelu uz pomoć koje se određivala terapijska skupina generirao je Hoffmann-La Roche, pomoću nasumičnih permutiranih blokova veličine osam. Prikrivanje razvrstavanja: adekvatno, provedene su sve histološke dijagnoze i testovi na biološkim uzorcima izvršeni su sa zaslјepljivanjem. Tijekom studije, središnja baza podataka IARC (International Agency for Research on Cancer) nije sadržavala podatke o razvrstavanju liječenja. Podaci su dodani u bazu podataka nakon što je istraživanje završilo. Zaslјepljivanje: odgovarajuće, placebo je pripremljen u obliku kapsula identičnima onim koje sadrže vitamine. Praćenje: odgovarajuće, sveukupno 302 sudionika iz aktivne i 278 sudionika iz kontrolne skupine je napustilo studiju. Broj sudionika koji su napustili istraživanje bio je nešto veći u grupi vitamina nego u kontrolnoj grupi, ali ta razlika nije bila statistički značajna (p = 0.14 za razliku od dvije proporcije) Analiza s namjerom liječenja: ne. Izračun veličine uzorka: da.
Sudionici	Država: Venezuela Broj randomiziranih sudionika: 1980, u dobi od 35 do 69 godina, 52,7% žena Kriteriji za uključenje: stanovnici s visokim rizikom za rak želuca dobrog općeg zdravlja, i trajnim stanovanjem u Táchira državi. Kriteriji isključenja: ozbiljna bolest, uključujući bilo koju vrstu raka, osobe čije bi mentalno stanje utjecalo na dugoročno pridržavanje režima liječenja i trudnice.
Intervencije	Sudionici su nasumično podijeljeni u skupine koje su primale: Skupina 1: vitamin C (750 mg), vitamin E (600 mg), i beta-karoten (18 mg) (n = 990); Skupina 2: placebo (n = 990); svaki dan, 3 godine. Liječenje se sastojalo od tri kapsule dnevno, jednom sa svakim od tri glavna

	obroka. Svaka kapsula je sadržavala 250 mg vitamina C, 200 mg vitamina E, i 6 mg beta-karotena, za dnevnu dozu od 750 mg vitamina C (12,5 puta više od dnevne preporučene količine), 600 mg vitamina E (20 puta više od preporučene dnevne količine) i 18 mg beta-karotena (smatra se maksimalnom dozom ako se karotinoza treba izbjegavati).
Ishodi	Primarne mjere ishoda: napredak i regresija prekanceroznih lezija u želucu, što je određeno pomoću histoloških nalaza.
Bilješke	Suradljivost za intervencijsku skupinu potvrđena je brojanjem kapsula i mjerenjem biokemijskih biljega suplementacije. Na izvrsnu suradljivost je indicirala činjenica da su se sudionici vratili po svoje vitaminske kapsule: 91% svih spremnika je vraćeno s manje od 10% od kapsula. Postojalo je jasno povećanje razine beta-karotena i vitamina E u pokusnoj skupini iznad razina uočenih na početku. U kontrolnoj skupini, za razliku od prethodne, nisu uočene nikakve promjene. Sudionici koji se nisu vratili po svoju zalihu kapsula, prvo su kontaktirani telefonom, a zatim su ih kući posjetili socijalni radnici koji su se raspitivali o razlozima izostanaka, poticali nastavak sudjelovanja, i opskrbili ih zalihom kapsula za idući mjesec. Kapsule vitamina i placebo je osigurao Hoffman-La Roche.

Rizik od pristranosti		
Stavka	Prosuda autora	Opis
Prikrivanje razvrstavanja?	Da	A-Adequate

SIT 2006 (128)

Metode	*„Shandong Intervention Trial“* Randomizirano, dvostruko slijepo, placebom kontrolirano, istraživanje primarne prevencije stratificiranog, faktorskog 2x2x2 prema 2x2 ustroja. Generiranje randomizacijske liste: adekvatno, randomizirani zadaci liječenja su generirani u Westat u SAD-u. Prikrivanje razvrstavanja: adekvatno, boce tableta s oznakama koje odgovaraju zadacima su distribuirane sudionicima studije.

	Zasljepljivanje: odgovarajuće, koristeći identične placebo kapsule. Praćenje: odgovarajuće, sveukupno 15 sudionika iz kontrolne i 19 sudionika iz aktivne skupine su izgubljeni iz praćenja. Analiza s namjerom liječenja: da. Izračun veličine uzorka: da.
Sudionici	Država: Kina (Linqu okrug, Shandong provincija). Broj randomiziranih sudionika: 3411, 1753 muškarca i 1658 žena u dobi od 35 do 64 godina. Kriteriji za uključenje: Sudionici u dobi od 35 do 64 godine koji žele sudjelovati u 42-mjesečnom istraživanju, osnovna gastroskopija s biopsijama, poznat status Helicobacter pylori. Kriteriji isključenja: bolest, poremećaji krvarenja, karcinomi (osim nemelanoznog raka kože), zatajenje srca, emfizem, bolesti bubrega ili jetre, druge po život opasne bolesti, alergija na penicilin ili srodne antibiotike.
Intervencije	Sudionici su najprije podijeljeni na temelju toga jesu li pokazali serološki dokaz infekcije s Helicobacter pylori na početku (2285) ili ne (1126). Sudionici sa serološkim dokazom Helicobacter pylori na početku su bili kvalificirani za primanje amoksicilina (1 g dvaput dnevno) i omeprazola (20 mg dva puta dnevno) u tri kapsule (dva amoksicilina od 500 mg i jedan omeprazol od 20 mg) dva puta na dan (prije doručka i večere) dva tjedna. Identične placebo kapsule koje su sadržavale laktozu i škrob za amoksicilin i saharozu i škrob za omeprazol su davane serološki pozitivnim kontrolama i svim serološki negativnim sudionicima. Otprilike 3 mjeseca nakon inicijalnog liječenja Helicobacter pylori, suplementacija sa 100 IU alfa-tokoferol, 250 mg vitamina C i 37,5 µg selena dva puta dnevno započela je svoj 39-mjesečni tok. Sudionici su primali ovu smjesu u jednoj kapsuli, dvaput na dan prije ili nakon doručka i večere. Od prosinca 1995. do svibnja 1996. ova smjesa je također sadržavala beta-karoten (7,5 mg dva puta na dan). Identične placebo kapsule su sadržavale celulozu, laktozu i magnezijev stearat. U skupini s češnjakom, sudionici su uzimali dvije kapsule dva puta na dan prije ili poslije doručka i večere. Svaka je kapsula sadržavala 200 mg Kyolic ekstrakt češnjaka i 1 mg ulja češnjaka dobivenog parnom destilacijom. Za pripremu

	ekstrakta, proizvođač je narezane režnjeve češnjaka ostavio u vodeno-etanolnoj otopini (oko 20%) više od 18 mjeseci na sobnoj temperaturi. Ekstrakt se zatim filtrirao, koncentrirao, te osušio. Placebo kapsule su sadržavale celulozu, granulirani šećer, karamel i magnezijev stearat. Spremnici s placebo kapsulama su sadržavali male količine ulja češnjaka, kako bi mirisali poput češnjaka. HP-seropozitivni na početku (2258) su ušli u 2x2x2 faktorsko istraživanje antibiotika, vitamina i češnjaka. HP-seronegativni na početku (1126) su ušli u 2x2 faktorsko istraživanje vitamina i češnjaka. Sudionici su nasumično podijeljeni u 12 skupina: Skupina 1: amoksicilin i omeprazol, češnjak, vitamin i selen (n = 286); Skupina 2: amoksicilin i omeprazol, češnjak, vitamin i selen placebo (n = 285); Skupina 3: amoksicilin i omeprazol, češnjak placebo, vitamin i selen (n = 286); Skupina 4: amoksicilin i omeprazol, češnjak placebo, vitamin i selen placebo (n = 285); Skupina 5: amoksicilin i omeprazol placebo, češnjak, vitamina i selen (n = 285); Skupina 6: amoksicilin i omeprazol placebo, češnjak, vitamin i selena placebo (n = 286); Skupina 7: amoksicilin i omeprazol placebo, češnjak placebo, vitamin i selen (n = 286); Skupina 8: amoksicilin i omeprazol placebo, češnjak placebo, vitamin i selen placebo (n = 286); Skupina 9: amoksicilin i omeprazol placebo, češnjak; vitamin i selen (n = 282); Skupina 10: amoksicilin i omeprazol placebo, češnjak, vitamin i selena placebo (n = 281); Skupina 11: amoksicilin i omeprazol placebo, češnjak placebo, vitamin i selen (n = 281); Skupina 12: amoksicilin i omeprazol placebo, češnjak placebo, vitamin i selena placebo (n = 282); svaki dan, 7,3 godine.

Ishodi	Primarne mjere ishoda: učestalost displazije ili raka želuca, prevalencija teškog kroničnog atrofičnog gastritisa, intestinalne metaplazije, displazije ili raka želuca, i prosječna ocjena težine. Sekundarne mjere ishoda: stopa promjene početnog do završnog histopatološkog stanja i učinci tretmana na stope promjene; dokazi o učinkovitosti amoksicilina i omeprazola u iskorjenjivanju Helicobacter pylori, koji se temelji na 13C-urea izdisajnom testu nakon 3 mjeseca tretmana, na godišnjoj serologiji i na završnom patološkom pregledu biopsije da bi se istražila prisutnost Helicobacter pylori; i krvni tlak u vrijeme zadnjeg ispitivanja.	
Bilješke	Suradljivost je provjeravana mjerenjem razine vitamina u plazmi u nasumično odabranih sudionika svaka 3 mjeseca i brojanjem tableta. Suradljivost je bila dobra. Prosječni mjesečni udio sudionika koji su uzimali sve tablete bio je 92,3%. Uzorci seruma dobiveni od nasumce odabranih sudionika pokazuju višu razinu vitamina C i E u sudionika koji su uzimali vitamine 2 i više razine S-alilcisteina u onih koji su uzimali preparate češnjaka. (Wakunaga of Americs, Co, Ltd, Mission Viejo, CA) su osigurali preparate češnjaka, Astra (East Asia Region) je osigurala amoksicilin i omeprazol; i Sino-American Shanghai-Squibb Pharmaceuticals, Ltd. je osigurao vitaminske i mineralne dodatke.	
Rizik od pristranosti		
Stavka	Prosuda autora	Opis
Prikrivanje razvrstavanja?	Da	A-Adequate

SUVIMAX 2004 (129)

Metode	*„The SUpplementation en VItamines et Mine´ raux AntioXydants (SU.VI.MAX) Study“* Randomizirano, dvostruko slijepo, placebo kontrolirano, istraživanje primarne prevencije s ustrojem paralelnih grupa. Generiranje randomizacijske liste: primjereno, nasumična raspodjela

	liječenja provedena je blok randomizacijom stratificiranom po spolu i dobnoj skupini pomoću računala. Prikrivanje razvrstavanja: primjereno, kutije s kapsulama označene su sudionikovim brojem, koristeći particijsku organizaciju kako bi se osigurala totalna sigurnost zasljepljivanju u studiji. Zasljepljivanje: primjereno, identične placebo kapsule. Praćenje: primjereno. Gubici iz praćenja; 5,4% u intervencijskoj skupini i 6,2% u kontrolnoj skupini. Sveukupno, 739 sudionika iz aktivne i 828 sudionika iz kontrolne skupine je izgubljeno iz praćenja. Analiza s namjerom liječenja: da. Izračun veličine uzorka: da.
Sudionici	Država: Francuska. Broj randomiziranih sudionika: 13.017 odraslih francuza, 5141 muškarac i 7876 žena u dobi od 35 do 60 godina, prosječne dobi 48,95 godina. Kriteriji za uključenje: odsutnost bolesti koja bi vjerojatno ometala aktivno sudjelovanje ili bila prijetnja 5-godišnjem preživljenju; prihvaćanje mogućnosti da se dobije placebo i prihvaćanje ograničenja sudjelovanja; prestanak prethodne redovite suplementacije s bilo kojim od vitamina i minerala u dodatku prehrani koji bi se primao i odsutnost ekstremnih uvjerenja ili ponašanja u vezi prehrane. Kriteriji isključenja: nijedan naveden.
Intervencije	Sudionici su nasumično podijeljeni u skupine koje su primale: Skupina 1: beta-karoten 6 mg; vitamin C 120 mg; vitamin E 30 mg; selen 100 μg; cink 20 mg (n = 6481); Skupina 2: placebo (n = 6536). Svi sudionici su jednom dnevno uzimali kapsule. Medijan praćenja je 7,5 godina
Ishodi	Primarne mjere ishoda: ozbiljni fatalni i nefatalni ishemijski kardiovaskularni događaji i rak bilo koje vrste, osim karcinom bazalnih stanica kože. Sekundarne mjere ishoda: svi uzroci smrtnosti.
Bilješke	Suradljivost za intervencijsku skupinu potvrđena je mjerenjem biokemijskih biljega suplementacije nakon 2 godine i nakon 7 godina za beta-karoten,

	vitamin C i selen. Na kraju praćenja, 74% ispitanika izjavilo je da su uzimali najmanje dvije trećine kapsula. Nije bilo razlike između skupina s obzirom na srednji postotak uzetih kapsula, odnosno 79% u svakoj skupini). Pokrovitelji studije: Fruit d'Or Recherche, Candia, Lipton, Kellogg's, Centre d'Information sur Canderel, Orangina, Este e Lauder, Cereal, Grands Moulins de Paris, CERIN, L'Ore al, Peugeot, Jet Service, RP Scherer, Sodexho, France Telecom, Santogen, Becton Dickinson, Fould Springer, Boehringer Diagnostic, Seppic Givaudan Lavirotte, Le Grand Canal.	
Rizik od pristranosti		
Stavka	Prosuda autora	Opis
Prikrivanje razvrstavanja?	Da	A-Adequate

WACS 2007 (130)

Metode	*„The Women's Antioxidant Cardiovascular Study"* Randomizirana, dvostruko slijepa, placebo kontrolirana studija sekundarne prevencije s 2x2x2 faktorskim ustrojem. Generiranje randomizacijske liste: adekvatno, centralnim računalom. Prikrivanje razvrstavanja: adekvatno, raspodjela randomizacije je kodirana. Odjel dostave šalje kalendarske pakete (koji su identični bilo aktivni ili placebo) pojedinim sudionicima ovisno o kodu. Svi kalendarski paketi su u šifriranim kutijama, dobiveni od proizvođača lijeka, tako da dostavljači ne znaju koji lijek prenose. Zasljepljivanje: adekvatno, identične placebo kapsule i tablete. Praćenje: adekvatno. Gubitak iz praćenja gotovo je jednak u intervencijskim krakovima (62-78 sudionika). Analiza s namjerom liječenja: da. Izračun veličine uzorka: da.
Sudionici	Država: Sjedinjene Američke Države.

	Broj randomiziranih sudionika: 8171, žene s visokim rizikom bilo s poviješću bolesti krvnih žila ili barem 3 kardiovaskularna čimbenika rizika. Kriteriji za uključenje: žene od 40 godina ili starije, u menopauzi, ili bez namjere da zatrudne, koje su same izjavile da imaju povijest kardiovaskularnih bolesti (KVB), ili su imale barem 3 srčana čimbenika rizika. Srčani čimbenici rizika koji određuju prihvatljivost su samo-izjavljena dijagnoza hipertenzije, visokog kolesterola ili dijabetes melitusa; roditeljska obiteljska povijest preranog infarkta miokarda (MI) (prije dobi od 60 godina); pretilost (indeks tjelesne mase [BMI]> 30 [izračunava se kao težina u kilogramima podijeljena s visinom u metrima na kvadrat]), trenutno pušenje cigareta; i nedosljedno izvješće prethodne KVB. Kriteriji isključenja: povijest raka o kojoj su pacijentice same izvijestile (isključujući nemelanozni rak kože) u zadnjih 10 godina, ozbiljna ne-KVB bolest ili trenutno korištenje varfarin natrija ili drugih antikoagulansa.
Intervencije	Žene su nasumično podijeljene u skladu s 2 x 2 x 2 faktorijalnim dizajnom tako da uzimaju askorbinsku kiselinu (500 mg / d) vitamin E (600 IU svaki drugi dan) i beta karoten (50 mg svaki drugi dan) dajući osam skupina liječenja. Četvrti krak je zatim dodan u testiranje kombinacije folne kiseline 2.5 mg, vitamina B6 (50 mg, i vitamina B12 1 mg. Preživjeli članovi izvorne skupine od 8171 žena su pozvani na sudjelovanje u ovom kraku (dalje u tekstu kao krak folne kiseline). Od 8026 preživjelih, ukupno 5.442 dodatno je randomizirano u skupinu folna kiselina / vitamin B6 / vitamin B12 ili njezin placebo 16. travnja 1998. godine, stvarajući ukupno 24 različite skupina tretmana (16 skupina u kraku folne kiseline, plus 8 skupina izvan tog kraka) Skupina 1: beta-karoten, vitamin C i vitamin E (n = 1020); Skupina 2: beta-karoten placebo, vitamin C i vitamin E (n = 1021); Skupina 3: beta-karoten, vitamin C, vitamin E placebo (n = 1023); Skupina 4: beta-karoten placebo, vitamin C, vitamin E placebo (n = 1023); Skupina 5: beta-karoten, vitamin C placebo, vitamin E (n = 1021); Skupina 6: beta-karoten placebo, vitamin C placebo, vitamin E (n = 1021); Skupina 7: beta-karoten, vitamin C placebo, vitamin E placebo (n = 1020); Skupina 8: beta-karoten placebo, vitamin C placebo, vitamin E placebo (n = 1022); s prosječnim trajanjem od 9,4 godine.

Ishodi	Primarna mjera ishoda: kombinirana mjera ishoda pobola od kardiovaskularnih bolesti i smrtnosti, uključujući incidenciju infarkta miokarda, moždani udar, koronarnu revaskularizaciju (presađivanje premosnice koronarne arterije ili perkutanu transluminalnu koronarnu angioplastiku), te kardiovaskularnu smrtnost. Pojedine komponente infarkta miokarda, moždanog udara, koronarne revaskularizacije i smrti od kardiovaskularnih bolesti su prespecifcirane kao sekundarne mjere ishoda. Informacije o prolaznim ishemijskim napadima i ukupnoj smrtnosti su također prikupljene i pregledane.	
Bilješke	Suradljivost se ocjenjivala kroz samo-procjenu i definirala kao uzimanje najmanje dvije trećine tableta. Prijavljena suradljivost je bila, u prosjeku, 76% u 4 godine i 68% u 8 godina praćenja za svaki antioksidans, bez značajne razlike između aktivnih i placebo skupina u ovim vremenima, osim askorbinske kiseline u 8 godina (70% u odnosu na 67% u placebo grupi aktivna vs P = .01). Srednja suradljivost tijekom praćenja bila je oko 73% za sve aktivne i placebo agense. Godine 1999., dobiveni su uzorci krvi od 30 mjesnih sudionica da bi se ocijenili biomarkeri za suradljivost. Nivo u krvi bio je povišen u svakoj aktivni skupini u odnosu na placebo. Vitamin C (askorbinska kiselina), dobiven je od BASF Corporation (Mount Olive, New Jersey), vitamin E (600 IU prirodnog vitamina E (d-alfa tokoferol acetat) od Cognis Corporation (La Grange, Illinois), i beta karoten (50 mg Lurotina od BASF Corporation).	
Rizik od pristranosti		
Stavka	Prosuda autora	Opis
Prikrivanje razvrstavanja?	Da	A-Adequate

WHS 2005 (131)

Metode	*„Women's Health Study (WHS)"* Randomizirano, dvostruko slijepo, placebom kontrolirano ispitivanje s 2x2x2 faktorijalnim dizajn u početku i kasnije 2x2. Generiranje randomizacijske liste: adekvatno, centralno uz pomoć računala u

	serijama blokova veličine 16. Prikrivanje razvrstavanja: adekvatno, raspodjela randomizacije je kodirana. Odjel dostava je slao kalendarske pakete (koji su identični bilo aktivni ili placebo) pojedinim sudionicima ovisno o kodu. Svi kalendarski paketi bili su u šifriranim kutijama, dobivenim od proizvođača lijeka, tako da dostavljači nisu znali koji lijek dostavljaju. Zasljepljivanje: odgovarajuće, identične placebo kapsule. Praćenje: adekvatno. Gubici iz praćenja; 0,01% u beta-karoten skupini i 0.005% u placebo skupini. Sveukupno, 132 sudionika u aktivnoj skupini i 102 sudionika u placebo skupini je imalo nepoznat vitalni status. Analiza s namjerom liječenja: da. Izračun veličine uzorka: da.
Sudionici	Država: Sjedinjene Američke Države. Broj randomiziranih sudionika: 39876 žena u dobi od 45 godina ili starije, srednje dobi 54,6 godina. Kriteriji za uključenje: žene zdravstveni stručnjaci spremne sudjelovati u istraživanju. Dob: 45 godina ili starije; bez povijesti koronarne bolesti srca, cerebrovaskularnih bolesti, raka (osim nemelanoznog raka kože raka), ili drugih velikih kroničnih bolesti; bez povijesti štetnih učinaka od aspirina; bez korištenje aspirina ili nesteroidnih protuupalnih lijekova (NSAR) više od jednom tjedno, ili spremnost da se odreknu njihovog korištenja; bez upotrebe antikoagulansa ili kortikosteroida; i bez upotrebe pojedinih dodataka vitamina A, E, ili beta-karotena više od jednom tjedno. Kriteriji za isključenje: povijest raka (osim ne-melanoznog raka kože), koronarne bolesti srca, ili cerebrovaskularne bolesti.
Intervencije	Sudionici su nasumce raspoređeni u jednu od osam tretiranih skupina. Aktivna sredstva su bila 100 mg aspirina, davan svaki drugi dan; 600 IU vitamina E, divan svaki drugi dan; i 50 mg beta-karotena, davan svaki drugi dan. Skupina 1: aspirin 100 mg, beta-karoten 50 mg, vitamin E 600 IJ; Skupina 2: 100 mg aspirina, beta-karoten 50 mg, vitamin E placebo; Skupina 3: aspirin 100 mg, beta-karoten 50 mg placebo, vitamin E 600 ij;

	Skupina 4: 100 mg aspirina, beta-karoten, placebo vitamina E placebo; Skupina 5: aspirin placebo, beta-karoten 50 mg, vitamin E 600 ij; Skupina 6: aspirin placebo, beta-karoten 50 mg, vitamin E placebo; Skupina 7: aspirin placebo, beta-karoten placebo, vitamin E 600 ij; Skupina 8: aspirin placebo, beta-karoten placebo, vitamin E placebo; Ukupno 19939 žena je dodijeljeno nasumce da primaju beta-karoten i 19937 da primaju placebo početkom travnja 1993. godine. Ukupno 19.937 žena je nasumce dodijeljeno da primaju vitamin E i 19939 placebo. Dio studije s beta-karotenom je prekinut rano, 18. siječnja 1996. Dijelovi s aspirinom i vitaminom E nastavili su se bez prekida. Vrijeme od randomizacije do kraja beta-karotena komponente studije bilo je u prosjeku 2,1 godinu. Autori su objavili rezultate beta-karoten komponente studije 6. veljače 1998. godine, nakon ukupnog praćenja od 4,1 godina u prosjeku (2,1 godina liječenja plus 2,0 godina praćenja). Od tog datuma studija je nastavljena s dva kraka (vitamin E i placebo). Praćenje i vrednovanje prijavljenih krajnjih točaka završeno je u veljači 2005. Prosječno trajanje praćenja od randomizacije do kraja studije bilo je 10,1 godina (u rasponu od 8,2 - 10,9 godina).	
Ishodi	Primarne mjere ishoda: pojavnost invazivnog raka (osim ne-melanoznog raka kože), infarkta miokarda i moždani udar. Sekundarne mjere ishoda: ne-fatalni infarkt miokarda, nefatalni moždani udar, smrt od kardiovaskularnih uzroka, i smrt od bilo kojeg uzroka.	
Bilješke	Suradljivost u liječenju provjerena je procjenom slučajnih uzoraka seruma. Suradljivost je bila izvrsna. U trenutku prestanka beta-karoten komponente, 87% aktivne skupine je uzelo najmanje dvije trećine kapsula, dok je 9,9% žena u placebo skupini uzelo dodatke beta-karotena ili vitamina A izvan studije. Aktivne tvari su dobivene slijedećim redoslijedom: aspirin Bayer AG, Leverkusen, Njemačka; vitamin E Natural Source Vitamin E Association, Washington DC; i beta-karoten Lurotin, BASF Corporation, Wiandotte, MI Podaci su izvađeni iz primarne publikacije, ali dodatne informacije su primljena kroz osobnu komunikaciju s autorima.	
Rizik od pristranosti		
Stavka	Prosuda autora	Opis

Prikrivanje razvrstavanja?	Da	A-Adequate

Yu 1991 (132)

Metode	Randomizirana, placebom kontrolirana, klinička studija s ustrojem paralelnih grupa. Generiranje randomizacijske liste: nejasno, nema izvještaja. Prikrivanje razvrstavanja: nejasno, nema izvještaja. Zasljepljivanje: odgovarajuće, identične placebo tablete. Praćenje: neadekvatno. Analiza s namjerom liječenja: ne. Izračun veličine uzorka: ne.	
Sudionici	Država: Kina. Broj randomiziranih sudionika: 2474, u dobi od 18 do 75 godina. Kriteriji za uključenje: Članovi obitelji s visokom incidencijom raka jetre. Kriteriji isključenja: nijedan naveden.	
Intervencije	Sudionici su nasumično podijeljeni u skupine koje su primale: Skupina 1: 200 μg selena u obliku tableta selena s kvascem (n = 1444); Skupina 2: identične placebo tablete kvasca (n = 1030); svaki dan, dvije godine.	
Ishodi	Primarna mjera ishoda: pojava raka jetre.	
Bilješke	Nema izvještaja o suradljivosti. Podaci su iz primarne publikacije.	
Rizik od pristranosti		
Stavka	Prosuda autora	Opis
Prikrivanje razvrstavanja?	Nejasno	B-nejasno

Yu 1997 (133)

Metode	Randomizirano, placebom kontrolirano, kliničko ispitivanje s ustrojem paralelnih grupa. Generiranje randomizacijske liste: nejasno, nema izvještaja. Prikrivanje razvrstavanja: nejasno, nema izvještaja. Zaslijepljivanje: odgovarajuće, identične placebo tablete. Praćenje: adekvatno, nema gubitaka iz praćenja. Analiza s namjerom liječenja: da. Izračun veličine uzorka: ne.	
Sudionici	Država: Kina. Broj randomiziranih sudionika: 226, u dobi od 21 do 63 godine. Kriteriji za uključenje: HBsAg nosioci s normalnom funkcijom jetre. Kriteriji isključenja: nijedan naveden.	
Intervencije	Sudionici su nasumično podijeljeni u skupine koje su primale: Skupina 1: 200 μg selena u obliku tableta selena s kvascem (n = 113); Skupina 2: identična placebo tablete kvasca (n = 113); svaki dan, četiri godine. Pacijenti su praćeni osam godina od 1987-1994.	
Ishodi	Primarna mjera ishoda: pojava raka jetre.	
Bilješke	Nema izvještaja o suradljivosti. Podaci su iz primarne publikacije.	
Rizik od pristranosti		
Stavka	Prosuda autora	Opis
Prikrivanje razvrstavanja?	Nejasno	B-nejasno

Zhu 2003 (134)

Metode	Randomizirano, dvostruko slijepo, placebom kontrolirano ispitivanje s dizajnom paralelnih grupa. Generiranje randomizacijske liste: nejasno, nema izvještaja. Prikrivanje razvrstavanja: nejasno, nema izvještaja. Zaslijepljivanje: adekvatno. Pacijenti su podijeljeni u četiri kraka

	(intervencije). Za tri kraka (skupina 2 do 4), korištena u ovom pregledu se čini da su bili adekvatno kontrolirani placebo. Praćenje: adekvatno, 3,7% bolesnika je izgubljeno iz praćenja, a gubici su bili slični između skupina. Analiza s namjerom liječenja: da. Izračun veličine uzorka: ne.
Sudionici	Država: Kina. Broj randomiziranih sudionika: 216; 137 muškaraca, 79 žena, u dobi od 28 do 77 godina, prosječne dobi 55,6 godina. Kriteriji za uključenje: bolesnici s atrofičnim gastritisom. Kriteriji isključenja: povijest malignog tumora, gastrointestinalna operacija, kronična bolest srca, pluća, jetre, i bubrežne bolesti, uzimanje vitamina u posljednja tri mjeseca.
Intervencije	Pacijenti su podijeljeni u četiri skupine koje su primale: Skupina 1: folna kiselina 20 mg dnevno plus vitamin B12, 1 mg intramuskularno, mjesečno jednu godinu, a zatim folnu kiselinu 20 mg dva puta tjedno plus vitamin B12 1 mg po tri mjeseca sljedeću godinu (n = 44); Skupina 2: prirodni beta-karoten, 30 mg dnevno u prvoj godini, a zatim 30 mg dva puta tjedno sljedeću godinu (n = 61); Skupina 3: sintetski beta-karoten primijenjen kao prirodni beta karoten (n = 57); Skupina 4: placebo (n = 54). Svi pacijenti su praćeni od 1994.-2001. ukupno sedam godina.
Ishodi	Primarne mjere ishoda: pojava gastrointestinalnih tumora i smrtnost.
Bilješke	Suradljivost je provjerena brojanjem preostalih tablete pri svakom posjetu, kao i mjerenjem koncentracije relevantnih vitamina u serumu nasumce, u 15 dana, 3, 6, 12, i 24 mjeseca. Suradljivost, ocjenjena kvartalnim brojanjem pilula i slučajnim uzorcima krvi, bila je odlična tijekom studije. Više od 90% svih pacijenata uzimalo je tablete prema protokolu. Nakon suplementacije, razine folne kiseline ili relativno karotenoida u serumu povećale su se

	nekoliko puta u tri aktivne skupine, ali ne i u placebo skupini. Folna kiselina i vitamin B12 dobiveni su od Shanghai Huanghe Pharmacy and Shanghai First Pharmacy, China; prirodni beta-karoten od Betatene Co. Australia and Henkel Co .; sintetski beta-karoten od Shanghai Sixth Pharmacy and Henkel Co. Podaci su iz primarne publikacije.	
Rizik od pristranosti		
Stavka	Prosuda autora	Opis
Prikrivanje razvrstavanja?	Nejasno	B-nejasno

Karakteristike isključenih studija

Studija	Razlog za isključenje
Bespalov 2004 (135)	Randomizirano, kliničko ispitivanje karinata lijeka provedeno je kod pacijenata s multifokalnim astrofičnim gastritisom. Karinat je sadržavao 2.5 mg beta-karotena, 5 mg alfa-tokoferola, 30 mg askorbinske kiseline i 150 mg češnjakovog praška, po tableti. Od 66 pacijenata njih 34 primilo je karinat i 33 placebo. Ovo je druga faza kliničkog ispitivanja. Na kraju istraživanja nitko od sudionika nije imao rak probavnog sustava.
Bostick 1993 (95)	Prospektivna, kohortna studija.
Bukin 1996 (136)	Randomizirana klinička studija koja je proučavala učinke beta-karotena, vitamina E i farmaceutski kompleks prirodnih antioksidansa na abnormalno visoku razinu aktivnosti ornitin dekarboksilaze u antralnoj sluznici želuca pacijenata s atrofičnim gastritisom popraćen s crijevnom metaplazijom.
Bussey 1982 (137)	Autori nisu uspjeli pribaviti podatke iz ovog istraživanja vezane za rak probavnog sustava.
Chuang 2002	Randomizirano kliničko ispitivanje s ciljem testiranja mogu li suplementi

(138)	s vitaminima C i E dodani trostrukoj terapiji poboljšati stopu iskorijenja Helicobacter pylori te želučane upale. Istraživanje je kratki period praćenja bez podataka o učestalosti raka probavnog sustava.
De Stefani 1999 (139)	Istraživanje parova u Urugvaju s pacijentima već zaraženim s rakom usne šupljine, ždrijela, grkljana i jednjaka. Pacijente se ispitivalo o njihovim prehrambenim navikama. Na temelju upitnika o učestalosti hrane, izračunat je unos određenih nutrijenata.
De stefani 1999a (140)	Istraživanje parova u Urugvaju s pacijentima već zaraženim s rakom usne šupljine, ždrijela, grkljana i jednjaka. Pacijente se ispitivalo o njihovim prehrambenim navikama. Na temelju upitnika o učestalosti hrane, izračunat je unos određenih nutrijenata.
De Stefani 2000 (141)	Istraživanje parova u Urugvaju. Unos antioksidansa i druge prehrambene navike prikupljene su metodom razgovora lice u lice s pacijentima koji već imaju rak jednjaka te kontrolne grupe pacijenata preko upitnika o prehrani.
DeCosse 1975 (142)	Askorbinska kiselina, 3 g dnevno, dana je petoro pacijenata kod koji se rektalni adenomatozni polip formirao dugo nakon ileorektalne anastomoze za obiteljsku polipozu. Nije riječ o randomiziranom kliničkom istraživanju.
DeCosse 1989 (143)	Autori nisu bili u mogućnosti pribaviti podatke za rak probavnog sustava u ovom istraživanju.
ECP-IM 1994 (144)	Autori nisu bili u mogućnosti pribaviti podatke za rak probavnog sustava u ovom istraživanju.
EUROSCAN 2000 (145)	Randomizirano kliničko ispitivanje pacijenata sa rakom glave i vrata ili s rakom pluća, od kojih su većina pušači. Pacijentima se davao vitamin A i N-acetilcistein.
Frank 1995 (146)	Opservacijska studija o demografskim i psihosocijalnim karakteristikama kao i o ponašanju, zdravstvenom status i savjetovanju liječnica.
Greenberg 1990 (147)	Randomizirano, klliničko ispitivanje beta-karotena u prevenciji karcinoma bazalnih i pločastih stanica kože. Ispitivanje nije poručilo podatke o učestalosti karcinoma probavnog sustava u pokusnoj niti u placebo grupi.
Ishikawa 1995	Randomizirano istraživanje o prevenciji kolorektalnog raka kolorektalnog

(148)	kod kojeg su pacijenti s više kolorektalnih tumora sudjelovali u dva režima. Jedan su bile smjernice u prehrani, a drugi su bile smjernice plus konzumacija žitnih kolačića s mekinjama.
Jacobs 2001 (149)	Velika, prospektivna, kohortna studija koja je proučavala vezu između smrtnosti od kolorektalnog raka i uporabe dodataka vitamina E i C u kohorti studije American's Cancer Society's Cancer Prevention Study II. Unos vitamina C i E izračunat je pomoću upitnika koje su pacijenti sami provodili.
Jansen 1999 (150)	Ekološka analiza podataka iz studije The Seven Countries koja se bavila pitanjem doprinosi li unos vlakana i biljki međukulturnim razlikama u 25-ogodišnjoj smrtnosti muškaraca uzrokovanoj kolorektalnim karcinomom.
Ji 1995 (151)	Studija istraživanja parova bazirana na općoj populaciji, koja je proučavala efekte prehrane na rak gušterače među stanovnicima Šangaja kojima je nedavno dijagnosticiran taj tip raka. Informacije o uobičajenim prehrambenim navikama prikupljene su putem intervjua, koristeći se upitnicima o učestalosti konzumiranja određene hrane. Uspoređuje se unos određenih grupa hrane s učestalošću raka gušterače.
Kirk 2006 (152)	Randomizirano, dvostruko slijepo, placebo kontrolirano istraživanje koje ocjenjuje učinkovitost kombiniranih preparata antioksidansa u liječenju kroničnog pankreatitisa. Pacijenti s potvrđenim kroničnim pankreatitisom (n=36) nasumično su 10 tjedana primali neke od antioksidanata (selen, beta karoten, L-metionin, vitamin C i E ili placebo). Svakoj grupi je nakon toga obrnut tretman za još 10 tjedana. Pokazatelje antioksidanata utvrđivalo se uz pomoć uzorka krvi a kvaliteta života i jačina boli utvrdila se SF-36 upitnikom. Devetnaest pacijenata sudjelovalo je svih 20 tjedana. Ovo istraživanje međutim nije ispunilo kriterije potrebne za uključivanje u pregled.
Krishnaswamy 1993 (153)	Studija parova koja je mjerila razinu selena u serumu kod pacijenata s rakom usta ili rakom jednjaka te je uspoređivana s kontrolnim uzorcima.
La Vecchia 2002 (154)	Studija parova u Italiji a istraživala je unos likopena kod pacijenata s histološki potvrđenim rakom više organa (među njima jednjaka i kolorektalnim). Unos antioksidansa izračunat je retrospektivno na temelju intervjua s pacijentima uz pomoć upitnika o učestalosti konzumiranja

	određene hrane.
Lacroix 1987 (155)	Opservacijska studija provedena da bi se utvrdila mogućnost povećanja plazmatske razine retinola kod pacijenata s rakom. Razina retinola mjerena je kod 46 pacijenata koji su tretirani kemoterapijom zbog raznih zloćudnih tumora i kod 43 kontrolnih sudionika i to prije i nakon korištenja suplemenata.
Lanza 1996 (156)	Članak koji opisuje prikupljanje dizajn i osnovne karakteristike sudionika istraživanja prevencije polipa (157), multicentrično, randomizirano, kontrolirano istraživanje koje proučava učinak prehrane sa smanjenim mastima, bogatoj vlaknima, voćem i povrćem na učestalost rekurentnih adenomatoznih kolorektalnih polipa.
Lanza 2001 (158)	Multicentrično, randomizirano, kliničko ispitivanje koje je dio istraživanja o prevenciji polipa (157), kojim su se proučavali rezultati prehrambenih promjena (primjenom četverogodišnje prehrane bogate vlaknima, voćem i povrćem i hranom s niskim udjelom masti) na učestalost rekurentnih adenomatoznih polipa u debelom crijevu.
Levi 2000 (159)	Veza između unosa raznih mikronutrijenata i rizika od kolorektalnog karcinoma analizirana je pomoću podataka iz studije parova koja je provođena između 1992. i 1997. godine u Švicarskom kantonu Vaud. Prehrambene navike utvrđene su validiranim upitnikom o učestalosti konzumiranja određene hrane.
Limburg 2005 (160)	Randomizirano, kliničko ispitivanje selenometioninom 200 mikrograma dnevno i/ili celekoksibom 200 mg dva puta dnevno na stanovnicima Linxiana, Narodna Republika Kina. Subjektima je histološki utvrđen blaga ili umjerena pločasta displazija jednjaka. Ezofagogastroduoenskopija provedena je prije i nakon desetomjesečne intervencije. Promjene po subjektu (regresija, stabiliziranje ili progresija) kod najgoreg stupnja displazije definirane su kao primarne završne točke. Rezultati su uspoređivani po grupi agenasa (selenometionin u odnosu na placebo; celekoksib u odnosu na placebo). 237 sudionika ispunilo je sve kriterije prihvatljivosti i 238 (89%) završilo je ispitivanje. Autori nisu navodili učestalost raka jednjaka.
Macrae 1999	Pregled u kojem se raspravlja o rezultatima nekoliko randomiziranih

(161)	kliničkih istraživanja o vlaknima mekinja i razvoju adenomatoznih polipa.
Marotta 2003 (162)	Cilj ovog istraživanja bio je testirati učinak antioksidansa na abnormalnosti enzima i produkte DNK modificiranom slobodnim radikalima koji su povezani s premalignim promjenama u HP negativnim kroničnim atrofičnim gastritisom. 60 pacijenata s crijevnom metaplazijom podvrgnuti su GI endoskopiji s uzorcima biopsije za histologiju i za; alfa-tokoferol, malonildialdehid, ksantin oksidazu, ornitin dekarboksilazu i 8-hidroksideoksigvanozin. Pacijente se nasumično rasporedilo u tri grupe i dobivali su suplemente s: vitaminom E 300 mg dnevno; multivitaminom dvije tablete dnevno i certificiranim fermentiranim preparatom papaje 6g (Immune-Age FPP, Osato Research Institute, Gifu, Japan.) Deset dispeptičnih pacijenata bez histoloških abnormalnosti poslužilo je kao kontrolni uzorak. Histološki i biokemijski parametri naslijepo su ponavljani kod trećeg i šestog mjeseca istraživanja. Nema rezultata o učestalosti raka želuca, radi se o kliničkom ispitivanju druge faze.
Marotta 2004 (163)	Randomizirano istraživanje učinka antioksidansa na abnormalnosti enzima i produkte DNK oštećenom slobodnim radikalima koji su povezani s premalignim promjenama u sluznici želuca starijih pacijenata s HP- negativnim atrofičnim gastritisom. 60 pacijenata s atrofičnim gastritisom i crijevnom metaplazijom podvrgnuti su prehrambenom ispitivanju i gastroskopiji s više uzoraka biopsije iz antruma i obrađivani su za histologiju i za testiranje; alfa-tokoferola, MDA, ksantin oksidaze, ornitin dekarboksilaze i 8-OHdG. Pacijenti su nasumično raspoređeni u tri grupe i suplementirani na 6 mjeseci s vitaminom E 300 mg dnevno, Multivitaminom dvije tablete tri puta dnevno i Immun-Age 6g/po danu nocte (ORI, Gifu, Japan) certificiranim, fermentiranim preparatom papaje s osnovnim validiranim antioksidativnim/imunomodulatorskim svojstvima. Deset dispeptičnih pacijenata poslužilo je kao kontrolni uzorak. Histološka i biokemijska ispitivanja su naslijepo ponavljana na trećem i šestom mjesecu istraživanja.
Mayne 2001 (164)	Studija parova kojom se proučavao unos nutrijenata kao faktor rizika od raka želuca i jednjaka.

Moriwaki 2002 (165)	Pregled o trenutnim perspektivama u prevenciji raka jetre.
Muto 1996 (166)	Randomizirano, kliničko istraživanje u kojem je 89 pacijenata bilo proučavano nakon resekcije primarnog hepatoma ili nakon perkutane injekcije etanola. Nasumično su raspoređeni da prime ili poliprenoičnu kiselinu (600 mg dnevno) ili placebo i to u trajanju od 12 mjeseci. Primarna mjera ishoda istraživanja bila je pojava histološki potvrđene ponovne pojave hepatoma. Razlog za isključivanje ovog istraživanja bio je pojava raka jetre u vrijeme randomizacije.
Newsome 2000 (167)	Opservacijska studija koja je istraživala serumske razine retinola kod pacijenata s bolestima jetre i hepatocelularnim karcinomom, procjenjujući njegovu važnost kao faktor rizika za razvoj hepatocelularnog karcinoma.
Nomura 1987a (168)	Studija parova koja uspoređuje plazmatsku razinu selena i rizik od specifičnih vrsta raka.
Pan 1993 (169)	Studija parova izvedena na pacijentima s nedavno dijagnosticiranim hepatocelularnim karcinomom i kontrolnim uzorcima bez tog karcinoma. Razine u plazmi vitamina A, vitamina E i beta-karotena uspoređivane su među dvjema grupama kao i razina obrazovanosti, potrošnja alkohola i konzumacija duhana.
Podmore 1998a (170)	Studija koja je uključivala zdrave dobrovoljce čija je dnevna prehrana na 6 mjeseci suplementirana sa 500 mg vitamina C. Procjenjivana je razina oksidacijskog oštećenja limfocita periferne krvi u terminima modificiranih DNK baza. Nije randomizirano istraživanje.
Qu 2007 (171)	Podstudija istraživanja Nutrition Prevention Trial koja je već uključena u analizu.
Rocchi 1997 (172)	Opservacijska studija koja uspoređuje plazmatske razine liposolubilnih vitamina sa količinom tokoferola kod zdravih i neoplastičnih tkiva jetre kod ljudi.
Russo 1997 (173)	Presječna, opservacijska studija među pacijentima s kolorektalnim adenomom, uspoređujući učestalost adenoma s plazmatskim razinama selena.
Sasazuki 2003 (174)	Randomizirano, kliničko istraživanje čiji je cilj bio povjeriti učinak suplementacije vitaminom C na serumsku razinu pepsinogena, HP

	infekciju i status gena A povezanog sa citotoksinom. Ispitanici dobi od 40-69 godina koji žive u selu u Akita prefekturi, području visokog rizika za rak želuca u Japanu, odabrani su kroz godišnje programe provjere zdravlja. Od 635 sudionika s dijagnozom kroničnog gastritisa na temelju serumske razine PG, nakon isključenja neprihvatljivih slučajeva, 439 ispitanika je prijavljeno u jednu od 4 grupe koristeći 2x2 faktorski ustroj (0 ili 15 mg/dan beta-karoten ili 50 ili 500 mg/dan vitamina C). Ipak, temeljeno na rezultatima dvaju beta-karoten istraživanja iz SAD-a, beta-karoten komponenta je obustavljena (vitamin C je nastavljena). Konačno, 120 sudionika u grupi s nižom količinom vitamina C (50 mg) i 124 sudionika iz grupe s visokom količinom vitamina C (500 mg) je završilo petogodišnju suplementaciju. Zbog modifikacije protokola, primarna mjera ishoda nije bila pojavnost raka želuca kao što je planirano.
Schatzkin 1996 (157)	Studija koja opisuje program prehrambene intervencije i karakteristike sudionika studije Polyp Prevention Trial (PPT), multicentričnog, randomiziranog istraživanja koje ispituje učinak niskomasne prehrane bogate vlaknima, voćem i povrćem na rekurentne kolorektalne adenomatozne polipe, prekursore većine kolorektalnih maligniteta.
Simone 2002 (175)	Opservacijska studija s ciljem utvrđivanja rezultira li kratkotrajna suplementacija beta-karotenom ili vitaminom E nakupljanjem u normalnoj sluznici debelog crijeva i adenomatoznim polipima i ometa li unos beta-karotena koncentraciju vitamina E u tim ciljnim tkivima
Siriwardena 2007 (176)	Randomizirano kliničko ispitivanje intravenozne terapije antioksidansima (n-acetilcistein, selen, vitamin C) u pacijenata s predviđenim teškim akutnim pankreatitisom. Studija nije zadovoljila kriterije za uključivanje.
Takashashi 2003 (177)	TheHiraka Dietary Intervention Study je randomizirano, presječno istraživanje bazirano na zajednici dizajnirano da bi se razvio učinkovit alat za modifikaciju prehrane i sustav u području s visokom stopom smrtnosti od raka želuca i moždanog udara. Sudionici su bili 550 zdravih dobrovoljaca te su randomizirani u dvije skupine s edukacijom o prehrani po mjeri da bi smanjili unos natrija i povećali unos vitamina C i karotena unos bilo u prvoj godini (aktivna skupina) ili u drugoj godini (kontrolna skupina). Prehrambene promjene

	su ocijenjeni pomoću validiranog samo-primjenjivog upitnika o povijesti prehrane, uzoraka krvi natašte, i 48-satnih uzoraka urina, koji su prikupljeni prije i nakon razdoblja od jedne godine
Terry 2000 (178)	Na nacionalnoj razini, bazirano na stanovništvu, istraživanje parova u Švedskoj. Uzimanje antioksidansa u nedavno dijagnosticiranih pacijenata s rakom jednjaka je izračunato posredno uz pomoć intervjua s pacijentima o njihovim prehrambenim navikama, koristeći upitnike o učestalosti korištenja različitih vrsta hrane, u razdoblju od 20 godina prije intervju
Weisburger 1991 (179)	Pregled uzroka glavnih vrsta raka u ljudi, s analiziranjem mehanizama zaštitnih učinaka voća i povrća.
Whelan 1999 (180)	Svrha ovog istraživanja parova je utvrditi utječe li regularno uzimanje dodataka vitamina ili kalcija na pojavu rekurentnih adenomatoznih polipa u bolesnika s prethodnim neoplazijama koji su prolazili kolonoskopsko praćenje.
Yang 2000 (181)	Pregled koji raspravlja o problemu vitaminima u prehrani i gastroezofagealnom raku.
Yu 1995 (182)	Opservacijska kohortna studija 8436 ljudi u Tajvanu regrutiranih između 1984. i 1986. Serumske razine retinola su uspoređivane između bolesnika s hepatocelularnim karcinomom i odgovarajućih kontrola.
Yu 1999 (183)	Opservacijska studija, koja ispituje povezanost između plazmatskih razina selena i rizika od hepatocelularnog karcinom među kroničnim nositeljima hepatitisa B i / ili C virusa u kohorti od 7342 ljudi u Tajvanu
Zheng 1995 (184)	Opservacijska prospektivna kohortna studija koja procjenjuje povezanost retinola i unosa antioksidativnih vitamina s rizikom od raka u gornjim dijelovima probavnog sustava u Iowa Women's Health Study

4.1.2. Ustroj studija (111)

U devet studija je korišten faktorski ustroj (jedna studija je koristila „one-half replicate of a 2x2x2x2", 4 studije 2x2x2 i 4 studije 2x2) i u 11 pokusa je korišten dizajn paralelnih skupina s dva ili više krakova. Jedna studija s faktorskim ustrojem 2x2x2 je nastavljena kao

studija s faktorskim ustrojem 2x2. Dvije studije s faktorskim ustrojem 2x2 su nastavljene kao studije s dva kraka.

4.1.3. Sudionici (111)

Ukupno 211.818 sudionika randomizirano je u 20 ispitivanja. Broj sudionika u svakom pokusu bio je u rasponu od 216 do 39876. Nije bilo moguće izdvojiti relevantne podatke o spolu sudionika iz dva pokusa. Postotak muškaraca je bio 58% u pokusima koji su izvijestili o spolu. Dob je varirala od 18-84 godina sa srednjom dobi od 56,5 godina. Pet studija je bilo s 122.411 sudionika iz opće populacije (115, 116, 126, 129, 131), četiri studije (121-123, 132) s 37.701 zdravih ispitanika koji žive u područjima s većim rizikom od razvoja raka gastrointestinalnog sustava i četiri studije (118, 119, 125, 129, 130) s 39560 sudionika s drugim bolestima; sve su smatrane studijama primarne prevencije. Bilo je sedam studija (117, 120, 124, 127, 128, 133, 134) s 12.102 sudionika s premalignim stanjima gastrointestinalnog trakta; one su smatrane studijama sekundarne prevencije.

4.1.4. Intervencije (111)

Put primjene dodataka antioksidansa je bio oralno za sve studije. Antioksidansi su se davali sami ili u kombinaciji s drugim antioksidansima, ili s ili bez drugih vitamina, minerala ili drugim intervencijama. Vrste, doze, režimi doziranja, i trajanje suplementacije s antioksidansima bili su slijedeći: beta-karoten 6 mg do 30 mg (12 pokusa), vitamin A 1500 µg do 15000 µg (4 pokusa), vitamin C 120-2.000 mg (8 pokusa), vitamin E 30 - 600 mg (10 pokusa), svakodnevno ili svaki drugi dan 1,1 do 12 godina; selen 50-228 µg (9 pokusa), svakodnevno dvije do četiri godine (tablica 1) (111). U jednom istraživanju antioksidansi (Vitamin A, riboflavin, i cink) su davani jednom tjedno (122). Jedno istraživanje je primjenjivalo beta-karoten 30 mg dnevno prvu i 30 mg dva puta tjedno drugu godinu (134). U jednoj studiji se primjenjivao selen 100 µg svaki drugi dan po jedan mjesec svake godine tijekom dvije godine (121).

Tablica 1. Preporučeni dnevni unos, eksperimentalne doze i režimi doziranja korišteni kod dodataka antioksidansa (111)

Dodaci antioksidansa	**RDA***		**TUIL****	**Eksperimentalne doze**	**Režim**
	Muškarci	**Žene**			
Beta-karoten	NO		NO	6 do 30 mg	Dnevno ili svaki drugi dan
Vitamin A	900 µg	700 µg	3000 µg	1500 do 15 000 µg	Dnevno
Vitamin C	90 mg	70 mg	2000 mg	120 do 2000 mg	Dnevno ili svaki drugi dan
Vitamin E	10 mg	15 mg	1000 mg †	30 do 600 mg	Dnevno
Selen	55 µg	55 µg	400 µg	50 do 228 µg	Dnevno

NO= nije određeno

RDA* (engl. *The Recommended Dietary Allowance*) je prosječna, preporučena, dnevna količina vitamina i minerala, dovoljna da zadovolji potrebe gotovo svih (97-98 %) zdravih osoba specifičnog životnog stadija i spola. RDA je namijenjen da se koristi kao cilj dnevnog unosa vitamina i minerala. RDA za vitamin A je iz publikacije (185), a RDA za druge antioksidanse iz publikacije (186).

TUIL** (engl. *Tolerable Upper Intake Level*) je najveća dnevna količina vitamina i minerala koja vjerojatno neće uzrokovati nuspojave u gotovo svih pojedinaca. TUIL za vitamin A je iz publikacije (185), a za ostale antioksidanse iz publikacije (186).

† The European Comission Scientific Committee on food objavila je svoje mišljenje o najvećoj tolerabilnoj količini vitamina E (187). Ustanovljena je količina od 270 mg, zaokružena na 300 mg.

Beta-karoten, vitamin C, vitamin E ili selen su primijenjeni samostalno. Beta-karoten, vitamin A, vitamin C, vitamin E i selen formirali su različite kombinacije antioksidansa ili su bili davani zajedno s drugim ne-antioksidativnim dodacima prehrani. Primijenjene kombinacije koje su se sastojale samo od antioksidansa su: beta-karoten i vitamin A; beta-karoten i vitamin C; beta-karoten i vitamin E; beta-karoten, vitamin C i vitamin E; vitamin C, vitamin E, i selen; beta-karoten, vitamin C i vitamin E i selen (U odjeljku uključene studije). U šest studija su dodani ne-antioksidativni vitamini, odnosno vitamin B12 i folna kiselina (134), vitamin B6, vitamin B12 i folna kiselina (130), odnosno ne-antioksidativni vitamini i minerali (122-124, 129) u eksperimentalne krakove istraživanja.

Kontrolne intervencije

Svi pokusi su koristili placebo kapsule ili tablete kao kontrolne intervencije.

Konkomitantne intervencije

Faktorski ustroj studija je dopustio ostale intervencije da se primjenjuju na nekim od sudionika u eksperimentalnim i kontrolnim krakovima istraživanja. Četiri studije prvenstveno povezane s pojavom karcinoma i kardiovaskularnim bolestima testirale su dodatne terapije: aspirin 100 mg do 325 mg, dnevno ili svaki drugi dan (126, 131); simvastatin (terapija snižavanja kolesterola) 40 mg (119); ili ramipril 10 mg (inhibitor angiotenzin konvertirajućeg enzima) (118). Dvije studije su procijenile intervencije protiv Helicobacter pylori (117, 128), dvije studije ekstrakt češnjaka 200 mg (121, 128), te jedna studija vitamin B6 50 mg, vitamin B12 1 mg, i folnu kiselinu 2,5 mg (130).

4.1.5. Mjere ishoda (111)

Svih 20 studija se bavilo proučavanjem raka gastrointestinalnog sustava. Bitni podaci o učestalosti raka gastrointestinalnog sustava su se mogli izvući iz 18 istraživanja. Iz jedne studije nije bilo moguće izdvojiti podatke o učestalosti gastrointestinalnih karcinoma za svaki krak odvojeno (123). Podaci iz WACS 2007 (130) još nisu bili dostupni. Samo je 14 studija (70%) moglo pružiti podatke o ukupnoj smrtnosti.

4.1.6. Pokroviteljstvo (111)

Farmaceutske tvrtke su bile opskrbljivač ili sponzor dodataka antioksidansa u 17 studija. Ova informacija nije bila dostupna u tri studije (120, 132, 133). Roche je bio sponzor ili opskrbljivač u 8 od 17 suđenja (47%).

4.1.7. Rizik od pristranosti uključenih studija (111)

Metodološka kvaliteta uključenih studija je prikazana u tablici 2.

Tablica 2. Metodološka kvaliteta uključenih studija (111)

Ispitivanje	Generiranje randomizacijske liste*	Prikrivanje razvrstavanja	Zasljepljivanje	Praćenje	Izračun veličine uzorka	Analiza s namjerom liječenja	Rizik pristranosti
Munoz 1985	Nema izvještaja	Adekvatno	Adekvatno	Adekvatno	Ne	Ne	Visok
Yu 1991	Nema izvještaja	Nema izvještaja	Adekvatno	Neadekvatno	Ne	Ne	Visok
NIT1 1993	Adekvatno	Adekvatno	Adekvatno	Neadekvatno	Da	Da	Visok
NIT2 1993	Adekvatno	Adekvatno	Adekvatno	Adekvatno	Da	Da	Nizak
NPCT 1996	Adekvatno	Adekvatno	Adekvatno	Adekvatno	Da	Ne	Nizak
PHS 1996	Adekvatno	Adekvatno	Adekvatno	Adekvatno	Da	Da	Nizak
Yu 1997	Nema izvještaja	Nema izvještaja	Adekvatno	Adekvatno	Ne	Ne	Visok
Correa 2000	Adekvatno	Adekvatno	Adekvatno	Adekvatno	Ne	Ne	Nizak
Li 2000	Nema izvještaja	Nema izvještaja	Adekvatno	Adekvatno	Da	Da	Visok
HPS 2002	Adekvatno	Adekvatno	Adekvatno	Adekvatno	Da	Da	Nizak
ATBC 2003	Adekvatno	Adekvatno	Adekvatno	Adekvatno	Ne	Da	Nizak
Zhu 2003	Nema izvještaja	Nema izvještaja	Adekvatno	Adekvatno	Da	Da	Visok
CARET 2004	Adekvatno	Adekvatno	Adekvatno	Adekvatno	Ne	Da	Nizak
Li 2004	Nema izvještaja	Nema izvještaja	Adekvatno	Neadekvatno	Da	Da	Visok
SUVIMAX 2004	Adekvatno	Adekvatno	Adekvatno	Adekvatno	Da	Da	Nizak
HOPE TOO 2005	Adekvatno	Adekvatno	Adekvatno	Adekvatno	Da	Da	Nizak
WHS 2005	Adekvatno	Adekvatno	Adekvatno	Adekvatno	Da	Da	Nizak
SIT 2006	Adekvatno	Adekvatno	Adekvatno	Adekvatno	Da	Da	Nizak
Plummer 2007	Adekvatno	Adekvatno	Adekvatno	Adekvatno	Da	Ne	Nizak
WACS 2007	Adekvatno	Adekvatno	Adekvatno	Adekvatno	Da	Da	Nizak

*Komponente kvalitete korištene za procjenu rizika pristranosti

Gastrointestinalni karcinomi

Dvanaest od 18 studija (66,7%) s podacima o gastrointestinalnim karcinomima imalo je odgovarajuće generiranje nasumičnog slijeda brojeva za raspodjelu ispitanika, 13 studija (72,3%), imalo je adekvatno prikrivanje razvrstavanja, 18 studija (100%) je koristilo placebo i time se pretpostavlja da su imale odgovarajuće zasljepljivanje i 16 studija (88,9%), je imalo adekvatno praćenje. Dvanaest ispitivanja (66,7%) imalo je o izračun veličine uzorka.

Dvanaest ispitivanja (66,7%) temeljilo je svoje analize na principu namjere liječenja. Bilo je 12 studija (66,7%) niskog rizika pristranosti (visoka metodološka kvaliteta) s odgovarajuće generiranom listom pridruživanja, prikrivanje razvrstavanja, zasljepljivanjem, kao i praćenjem.

Ukupna smrtnost

Među 14 istraživanja s podacima o smrtnosti, trinaest (92,9%) je bilo niskog rizika pristranosti (visoke metodološke kvalitete) uz odgovarajuće generiranje nasumičnog slijeda brojeva za raspodjelu ispitanika, prikrivanje razvrstavanja, zasljepljivanje, kao i praćenje. 14. studija je imala neadekvatno praćenje (123).

4.1.8. Učinci intervencija (111)

<u>Gastrointestinalni karcinomi</u>

Dodaci antioksidansa nisu imali značajan utjecaj na pojavu gastrointestinalnog raka (RR 0,94, 95% CI 0,83-1,06, I^2 =54,0%). Oko 2,2% sudionika u antioksidans grupi u usporedbi s 2,0% u skupini placeba je razvilo gastrointestinalni rak na kraju praćenja.

Asimetrija ljevkastog grafa

Analiziran je antioksidativni učinak na gastrointestinalne karcinome za asimetriju ljevkastog grafa. Iz grafa se moglo posumnjati na pristranost. Asimetrija je bila statistički značajna (P = 0,009) u Egger (p = 0,096) i Begg testu.

Regresijska meta-analiza

Univarijantna meta-regresijska analiza pokazala je da su sljedeće kovarijable statistički značajno povezane s procijenjenim učinkom intervencije na pojavu gastrointestinalnih

karcinoma: doza beta-karotena (RR 1,01, 95% CI 1,002 - 1,02; P = 0,012) i doza selena (RR 0,997, 95% CI 0,995-0,998, P <0,0001). Nijedna od ostalih kovarijabli (doza vitamina A, doza vitamina C; doza vitamina E; rizik pristranosti studija; trajanje suplementacije; i primarna ili sekundarna prevencija) nisu bile značajno povezane s procijenjenim učinkom intervencije na gastrointestinalne karcinome.

U multivarijatnoj regresijskoj meta-analizi koja uključuje sve kovarijable, doza selena je bila povezana sa značajno nižim procijenjenim učinkom intervencije na gastrointestinalne karcinome (RR 0,996, 95% CI ,994-0,999; P = 0,007). Nijedna od ostalih kovarijabli nije bila značajno povezana s procijenjenim učinkom intervencije na rak gastrointestinalnog sustava.

Metodološka kvaliteta i učinak antioksidansa na pojavu gastrointestinalnog raka

Pokusi s niskim rizikom od pristranosti (n = 12) nisu pokazali značajan učinak antioksidansa na rak gastrointestinalnog sustava (RR 1,04, 95% CI 0,96-1,13, I^2 = 19,6%). U ispitivanjima s visokim rizikom od pristranosti (n = 6) antioksidansi su znatno smanjili broj gastrointestinalnih karcinoma (RR 0,59, 95% CI 0,43 - 0,80, I^2 = 18,1%). Razlika između procjene dobivene ispitivanjima s adekvatnom i nejasnom ili neadekvatnom metodologijom je bila statistički značajna u testu interakcije (z = -3,53, P <0,0005).

<u>Generiranje nasumičnog slijeda brojeva za raspodjelu ispitanika</u>

U ispitivanjima s odgovarajućim generiranjem randomizacijske liste, antioksidansi nisu značajno utjecali na gastrointestinalne karcinome(RR 1,05, 95% CI 0,98-1,13, I^2 = 0%). U studijama s nejasnim ili neodgovarajućim generiranjem randomizacijske liste, antioksidansi su pokazali značajan koristan utjecaj na raka gastrointestinalnog sustava (RR 0,59, 95% CI ,43-0,80, I^2 = 18,1%). Razlika između procjena dobivenih iz pokusa s odgovarajućim i nejasnim ili neodgovarajućim generiranjem randomizacijske liste je bila statistički značajna u testu interakcije (Z = -3,55, p <0,0005).

<u>Prikrivanje razvrstavanja</u>

U ispitivanjima s adekvatnom prikrivanje razvrstavanja, antioksidansi nisu značajno utjecali na rak gastrointestinalnog sustava (RR 1,05, 95% CI 0,98-1,13, I^2 = 0%). U ispitivanjima s nejasnim ili neadekvatnim prikrivanjem razvrstavanja, antioksidansi su pokazali značajan blagotvoran učinak na gastrointestinalne karcinome (RR 0,57, 95% CI 0,41-0,78, I^2 = 19,6%). Razlika između procjena dobivenih ispitivanjima s adekvatnim i

nejasnim ili neadekvatnim prikrivanjem razvrstavanja bila je statistički značajna u testu interakcije (z = -3,64, p <0,0003).

Zasljepljivanje

Pretpostavlja se da je zasljepljivanje adekvatno u svih 18 studija zbog korištenja placeba.

Praćenje

U ispitivanjima s adekvatnim praćenjem, antioksidansi nisu bitno utjecali na rak gastrointestinalnog sustava (RR 0,98, 95% CI 0,87-1,10, I^2 = 49,8%). U ispitivanjima s nejasnim praćenjem, antioksidansi nisu pokazali značajan učinak na gastrointestinalne karcinome (RR 0,72, 95% CI 0,51-1,02, I^2 = 0%). Razlika između procjena dobivenih ispitivanjima s adekvatnim i nejasnim ili neodgovarajućim praćenjem nije bila statistički značajna u testu interakcije (z = -1,65, P = 0,0989).

Vrsta dodatka antioksidansa

Beta-karoten (RR 1,04, 95% CI 0,80-1,35) ili vitamin E (RR 1.11, 95% CI 0,93-1,34) primjenjivani pojedinačno, nisu bitno utjecali na rak gastrointestinalnog sustava. Različite kombinacije antioksidansa, odnosno, beta-karotena i vitamina A; beta-karotena i vitamina C; beta-karotena i vitamina E; vitamina A, riboflavina, i cinka; beta-karotena, vitamina C i vitamina E; vitamina C, vitamina E i selena; beta-karotena, vitamina C, vitamina E, i selena, ili kombinacija 26 vitamina / minerala nisu bitno utjecale na gastrointestinalne karcinome ((RR 1,10, 95% CI 0.91 do 1,32; RR 2,90, 95% CI 0,12-70,52; RR 1,18, 95% CI 0.98 do 1,41; RR 1,33, 95% CI 0,30-5,91; RR 0,96, 95% CI 0.80 1,16; RR 1,01, 95% CI 0,60-1,68; RR 0,83, 95% CI 0.53 do 1,32; RR 1,05, 95% CI 0,88-1,25; gore navedenim redoslijedom). Selen primijenjen pojedinačno je značajno smanjio broj karcinoma gastrointestinalnog sustava (RR0,59, 95% CI 0,46 do 0,75, I^2 = 0%). Selen u kombinaciji nije bitno utjecao na gastrointestinalne karcinome (RR 1,02, 95% CI 0,87-1,19, I^2 = 0%). Selen davan pojedinačno ili u kombinaciji je značajno smanjio broj karcinoma probavnog sustava (RR 0,86, 95% CI 0,75-0,98, I^2 = 60.8%). Pet od devet studija koje su procjenjivale selen su imale velik rizik od pristranosti. Učinak selena davan pojedinačno ili u kombinaciji u 4 studije niskog rizika pristranosti nije bio značajan (RR 0,89, 95% CI 0,68-1,18, I^2 = 45,0%). Učinci različitih antioksidansa na karcinome probavnog sustava nalaze se u tablici 3.

Pojava raka jednjaka

Antioksidansi nisu značajno utjecali na rak jednjaka (RR 1.06, 95% CI 0,89-1,28, I^2 = 0%). Otprilike 0,36% sudionika u antioksidans skupini u usporedbi s 0,38% sudionika u placebo skupini razvili su rak jednjaka na kraju praćenja. Antioksidansi primijenjeni pojedinačno, odnosno, beta-karoten (RR 0,75, 95% CI 0,25-2,30); vitamin E (RR 1,46, 95% CI 0,72-2,96); selen (RR 0,40, 95% CI 0,08 do 2,07), ili u određenim kombinacijama kao beta-karoten i vitamin A (RR 1,43, 95% CI 0,90-2,29); beta-karoten i vitamin E (RR 1,23, 95% CI 0,59-2,56); vitamin A, riboflavin, i cink (RR 1.33, 95% CI 0,30-5,91); beta-karoten, vitamin C, i vitamin E (RR 1,19, 95% CI 0,71-2,01); beta-karoten, vitamin C, vitamin E i selen (RR 1,01, 95% CI 0.14 do 7.16), ili kombinacija 26 vitamina / minerala (RR 0,96, 95% CI 0,76-1,22) u odnosu na placebo u trajanju od 1,1 do 10,1 godine, s praćenjem do 14,1 godina, nisu značajno utjecali na rak jednjaka.

Pojava karcinoma želuca

Antioksidansi nisu značajno utjecali na rak želuca (RR 1.14, 95% CI 0,97-1,33, I2 = 0%). Otprilike 0,51% sudionika u antioksidans skupini u odnosu na 0,38% sudionika u placebo skupini razvilo je rak želuca krajem praćenja. Antioksidansi primijenjeni pojedinačno, odnosno, beta-karoten (RR 1,12, 95% CI 0,79-1,59); vitamin E (RR 1,30, 95% CI 0,90 do 1,88); selen (RR 0,76, 95% CI 0,44-1,31), ili u određenim kombinacijama kao što su beta-karoten i vitamin A (RR 0.89, 95% CI 0,46-1,73); beta-karoten i vitamin C (RR 2,90, 95% CI 0,12-70,52); beta-karoten i vitamin E (RR 1,40, 95% CI 0,98-2,01); beta-karoten, vitamin C i vitamin E (RR 1,25, 95% CI 0,78-2,00); vitamin C, vitamin E, selen i (RR 1,01, 95% CI 0,60-1,68); beta-karoten, vitamin C, vitamin E, i selen (RR 1,01, 95% CI 0,14-7,16), ili kombinacije 26 vitamina i / ili minerala (RR 1,19, 95% CI 0,89-1,58), u usporedbi s placebom u razdoblju od 2,1 do 12 godina i praćenjem do 14.1 godinu nisu značajno utjecali na rak želuca.

Pojava raka tankog crijeva

Samo je jedna studija imala rezultate o raku tankog crijeva (131)(WHS 2005). Antioksidans dodaci nisu značajno utjecali na rak tankog crijeva (RR 4,00, 95% CI 0,45-35,79).

Pojava raka debelog crijeva

Antioksidansi nisu značajno utjecali na rak debelog crijeva (RR 0,97, 95% CI 0,86-1,09, I^2 = 19,7%). Otprilike 1,07% sudionika u antioksidans skupini u usporedbi s 1,09% sudionika u placebo skupini je razvilo rak debelog crijeva na kraju praćenja. Antioksidansi primijenjeni pojedinačno, tj beta-karoten (RR 1,09 95% CI 0,79-1,51); vitamin E (RR 1,10, 95% CI 0,87-1,39); selen (RR 0,48, 95% CI 0,22-1,05); ili u kombinacijama kao beta-karoten i vitamin A (RR 0,97, 95% CI 0,76-1,25); beta-karoten i vitamin E (RR 1,20, 95% CI 0,89-1,63); beta-karoten, vitamin C i vitamin E (RR 0,84, 95% CI 0,65-1,07); beta-karoten, vitamin C, vitamin E, i selen (RR 0.88 95% CI 0,49-1,58) u odnosu na placebo za razdoblje 2,1-12godina i praćenje do 14,1 godinu nisu značajno utjecali na rak debelog crijeva.

Pojava raka gušterače

Antioksidansi nisu značajno utjecali na rak gušterače (RR 1,16, 95% CI 0,90-1,50, I2 = 31,4%). Otprilike 0,37% sudionika u antioksidans skupini u usporedbi s 0,25% sudioniku placebo skupini razvilo je rak gušterače na kraju praćenja. Antioksidansi primijenjeni pojedinačno, odnosno, beta-karoten (RR 1,02, 95% CI 0,54-1,90); vitamin E (RR 0,97, 95% CI 0,67-1,39); ili u kombinacijama kao što su beta-karoten i vitamina A(RR 1.33, 95% CI 0,84-2,09); beta-karoten i vitamin E (RR 0,93, 95% CI 0,65-1,35); beta-karoten, vitamin C i vitamin E (RR 1.00, 95% CI 0,57-1,76); beta-karoten, vitamin C, vitamin E, selen i (RR 0,67, 95% CI 0.19 do 2,38) u odnosu na placebo u trajanju od 2,1 do 12 godina i praćenje do 14,1 godinu nisu značajno utjecali na rak gušterače.

Pojava hepatocelularnog karcinoma

Antioksidansi nisu značajno utjecali na hepatocelularni karcinom (RR 0.80, 95% CI 0,56-1,14, I^2 = 38,5%). Ovaj učinak bio je znatno koristan u modelu fiksnih učinaka (RR 0,76, 95% CI 0,60 - 0,96). Oko 0,20% sudionika u antioksidans skupini u usporedbi s 0,24% u placebo skupini razvilo je hepatocelularni karcinom na kraju praćenja. Beta-karoten primijenjen pojedinačno (RR 1.92 95% CI 0,96 do 3,85), i vitamin E primijenjen pojedinačno (RR 1.33, 95% CI 0,63 do 2,82) u odnosu na placebo u trajanju od 2-10,1 godinu i praćenje do 14,1 godinu, nisu bitno utjecali na hepatocelularni karcinom. Antioksidansi u kombinacijama kao beta-karoten i vitamina A (RR 1,35, 95% CI 0,51-3,54), beta-karoten i vitamin E (RR 1,25, 95% CI 0,59-2,67), beta-karoten, vitamin C, i vitamina E (RR 1,40, 95% CI 0,44-4,41) ili beta-karoten, vitamin C, vitamin E, selen i (RR 1,01, 95% CI 0.06 do 16.12)

nisu značajno utjecali na hepatocelularni karcinom. Selen primijenjen pojedinačno u odnosu na placebo za dvije do četiri godine značajno je smanjio broj hepatocelularnih karcinoma (RR 0,56, 95% CI 0,42-0,76, I^2 = 0%). Sve četiri studije koje su procjenjivale selen pojedinačno, imale su velik rizik od pristranosti.

Pojava raka žučnih kanala

Antioksidansi nisu značajno utjecali na karcinome žučnog sustava (RR 0,61, 95% CI 0,21-1,78, I^2 = 0%. Oko 0,019% sudionika u antioksidans skupini u usporedbi s 0,034% u placebo skupini razvilo je rak žučnog sustava na kraju praćenja. Antioksidansi primijenjeni u kombinaciji kao beta-karoten, vitamin C, vitamin E i selen nisu imali značajan utjecaj na raka žučnog sustava (RR 0.20, 95% CI 0,01-4,20).

Tablica 3. Učinci različitih antioksidansa na karcinome probavnog sustava (111).

Relativni rizik, interval pouzdanosti 95%					
Eksperimentalni dodaci antioksidansa	Rak jednjaka	Rak želuca	Kolorektalni karcinom	Rak gušterače	Hepatocelularni karcinom
Beta-karoten (PHS 1996; Correa 2000; ATBC 2003; Zhu 2003)	0.75, 0.25 do 2.30	1.12, 0.79 do 1.59	1.09, 0.79 do 1.51	1.02, 0.54 do 1.90	1.92, 0.96 do 3.85
Vitamin E (ATBC 2003; HOPE TOO 2005)	1.46, 0.72 do 2.96	1.30, 0.90 do 1.88	1.10, 0.87 do 1.39	0.97, 0.67 do 1.39	1.33, 0.63 do 2.82
Selen (Yu 1991; NPCT 1996; Yu 1997; Li 2000; Li 2004)	0.40, 0.08 do 2.07	0.76, 0.44 do 1.31	0.48, 0.22 do 1.05	NP	0.56, 0.42 do 0.76
Beta-karoten i vitamin A	1.43, 0.90 do 2.29	0.89, 0.46 do 1.73	0.97, 0.76 do 1.25	1.33, 0.84 do 2.09	1.35, 0.51 do 3.54

(CARET 2004)					
Beta-karoten i vitamin C (Correa 2000)	NP	2.90, 0.12 do 70.52	NP	NP	NP
Beta-karoten i vitamin E (ATBC 2003)	1.23, 0.59 do 2.56	1.40, 0.98 do 2.01	1.20, 0.89 do 1.63	0.93, 0.65 do 1.35	1.25, 0.59 do 2.67
Beta-karoten, vitamin C i vitamin E (HPS 2002; Plummer 2007)	1.19, 0.71 do 2.01	1.25, 0.78 do 2.00	0.84, 0.65 do 1.07	1.00, 0.57 do 1.76	1.40, 0.44 do 4.41
Vitamin A, riboflavin i cink (Munoz 1985)	1.33, 0.30 do 5.91	NP	NP	NP	NP
Vitamin C, vitamin E i selen (SIT 2006)	NP	1.01, 0.60 do 1.68	NP	NP	NP
Beta-karoten, vitamin C, vitamin E i selen (SUVIMAX 2004)	1.01, 0.14 do 7.16	1.01, 0.14 do 7.16	0.88, 0.49 do 1.58	0.67, 0.19 do 2.38	1.01, 0.06 do 16.12
26 vitamina/minerala (NIT2 1993)	0.96, 0.76 to 1.22	1.19, 0.89 to 1.58	NP	NP	NP
NP = nema podataka					

Ukupna smrtnost

Antioksidansi nisu imali značajan utjecaj na smrtnost u modelu meta-analize slučajnih učinaka (RR 1,02, 95% CI 0,97 1,07, I^2 = 54.9%). Antioksidansi su značajno povećali smrtnost u modelu meta-analize fiksnih učinaka (RR1.04, 95% CI 1,02 - 1,07). Ukupno 17.114 od 122.501 sudionika (14,0%), koji su bili randomizirani u skupinu s dodacima

antioksidansa i 8799 od 78.693 sudionika (11,2%) randomiziranih u placebo skupinu je umrlo. Da bi istražili razlog razlike između dvaju modela, isključili smo studije koje su primjenjivale selen. Nakon njihova isključenja, smrtnost je bila značajno viša u skupini antioksidansa u modelu meta-analize slučajnih (RR 1,06, 95% CI 1,01-1,10, I^2 = 43,3%) i fiksnih učinaka (RR 1,06, 95% CI 1,03-1,09).

Asimetrija ljevkastog grafa

Analiziran je antioksidativni učinak na smrtnost za asimetriju ljevkastog grafa. Asimetrija nije bila statistički značajna (P = 0,13) u Egger (p = 0,15) i Begg testu.

Meta-regresijska analiza

Jednovarijantne meta-regresijske analize pokazale su da su slijedeće kovarijable bile značajno povezane s procijenjenim učinkom intervencija na smrtnost: doza beta-karotena (RR 1,007, 95% CI 1,002-1,012; P = 0,003), doza vitamina A (RR 1,000006, 95% CI 1,000001-1,000011, P = 0,009), i doza selena (RR 0,998, 95% CI 0,997-0,999, P = 0,002). Nijedna od drugih kovarijabli, odnosno, doza vitamina C; doza vitamina E; rizik od pristranosti u studijama; trajanje suplementacije; i primarna ili sekundarna prevencija, nije bila značajno povezana s procijenjenim učinkom intervencija na smrtnost. U multivarijatnoj meta-regresijskoj analizi koja je uključivala sve kovarijable, doze selena je povezana s procijenjenim učinkom intervencije na smrtnost (RR0.998, 95% CI 0,997-1,000, P = 0,043). Nijedna od ostalih kovarijabli nije bila značajno povezana s procijenjenim učinkom intervencija na smrtnost.

Metodološka kvaliteta i učinak antioksidansa na ukupnu smrtnost

Učinak dodataka antioksidansa na smrtnost u ispitivanjima s niskim rizikom od pristranosti (visoka metodološka kvaliteta) nije bio statistički značajan u modelu meta-analize slučajnih učinaka (RR 1,03, 95% CI 0,98-1,08, I^2 = 53,5%). Antioksidansi su značajno povećali smrtnost u modelu meta-analize fiksnih učinaka (RR 1,05, 95% CI 1,02-1,07). U jednom pokusu s visokim rizikom pristranosti (123) antioksidansi nisu bitno utjecali na smrtnost (RR 0,94, 95% CI 0,84-1,06). Razlika između procijenjenog antioksidativnog učinka u ispitivanjima s niskim i visokim rizikom od pristranosti nije bila značajna u testu interakcije (Z = - 1,42, P = 0,156).

Vrste dodataka antioksidansa

Antioksidansi primijenjeni pojedinačno, odnosno, beta-karoten (RR 1,05, 95% CI 0,99-1,11), vitamin C (RR 0,97, 95% CI 0,77-1,23); vitamin E (RR 1,02, 95% CI 0,98-1,06); i selen (RR 0.84, 95% CI 0,67-1,07) nisu značajno utjecali na smrtnost. Beta-karoten primijenjen pojedinačno je značajno povećao smrtnost u modelu meta-analize fiksnih učinaka (RR 1.06, 95% CI 1,02-1,10) . Smrtnost u ispitanika koji su dobivali dodatke beta-karotena i vitamina A (RR 1,16, 95% CI 1,09-1,23), ili beta-karotena i vitamina E (RR 1.06, 95% CI 1,02-1,11) bila je znatno veća nego u placebo skupinama. Antioksidansi dani u određenim kombinacijama, na primjer, beta-karoten i vitamin C (RR 2.79, 95% CI 0,57 - 13,68); beta-karoten, vitamin C i vitamin E (RR 1,04, 95% CI 0,97 do 1,11); vitamin C, vitamin E i selen (RR 0,82, 95% CI 0,62-1,08); beta-karoten, vitamin C, vitamin E, selen i (RR 0,78, 95% CI 0,58-1,05), ili kombinacija 26 vitamina / minerala (RR 0,94, 95% CI 0,85-1,05) u odnosu na placebo nisu značajno utjecali na smrtnost.

Bezopasne nuspojave

Nekoliko nuspojava je zabilježeno u antioksidans skupini ispitanika. Uporno žutilo kože i podrigivanje su bili značajno povećani u ispitanika s dodatkom beta-karotena (RR 29.14, 95% CI 21,60-39,32; RR 2.22, 95% CI 1,80-2,74; respektivno). Na prolazno žutilo kože (RR 1,85, 95% CI 0,74-4,67) i gastrointestinalne poremećaje (RR 1,03, 95% CI 1,00 do 1.06) nije bilo značajnog utjecaja. Vitamin E nije značajno utjecao na nastanak moždanog udara (RR 1,01, 95% CI 0,82-1,23, I^2 = 0%). Nije bilo značajne razlike između gastrointestinalnih poremećaja u sudionika s dodatkom selena u odnosu na placebo (RR 1,51, 95% CI 0,78-2,95). Također, nije bilo razlike u povećanom žutilu urina te osjećaju vrućine i suhoće između antioksidans i placebo skupina ispitanika koji su uzimali kombinaciju 13 vitamina i 13 minerala.

Kvaliteta života i ekonomičnost

Nisu pronađeni nikakvi podaci o kvaliteti života u randomiziranim pokusima uključenima u pregled. Pronađena je analiza ekonomičnosti u jednoj studiji (126).

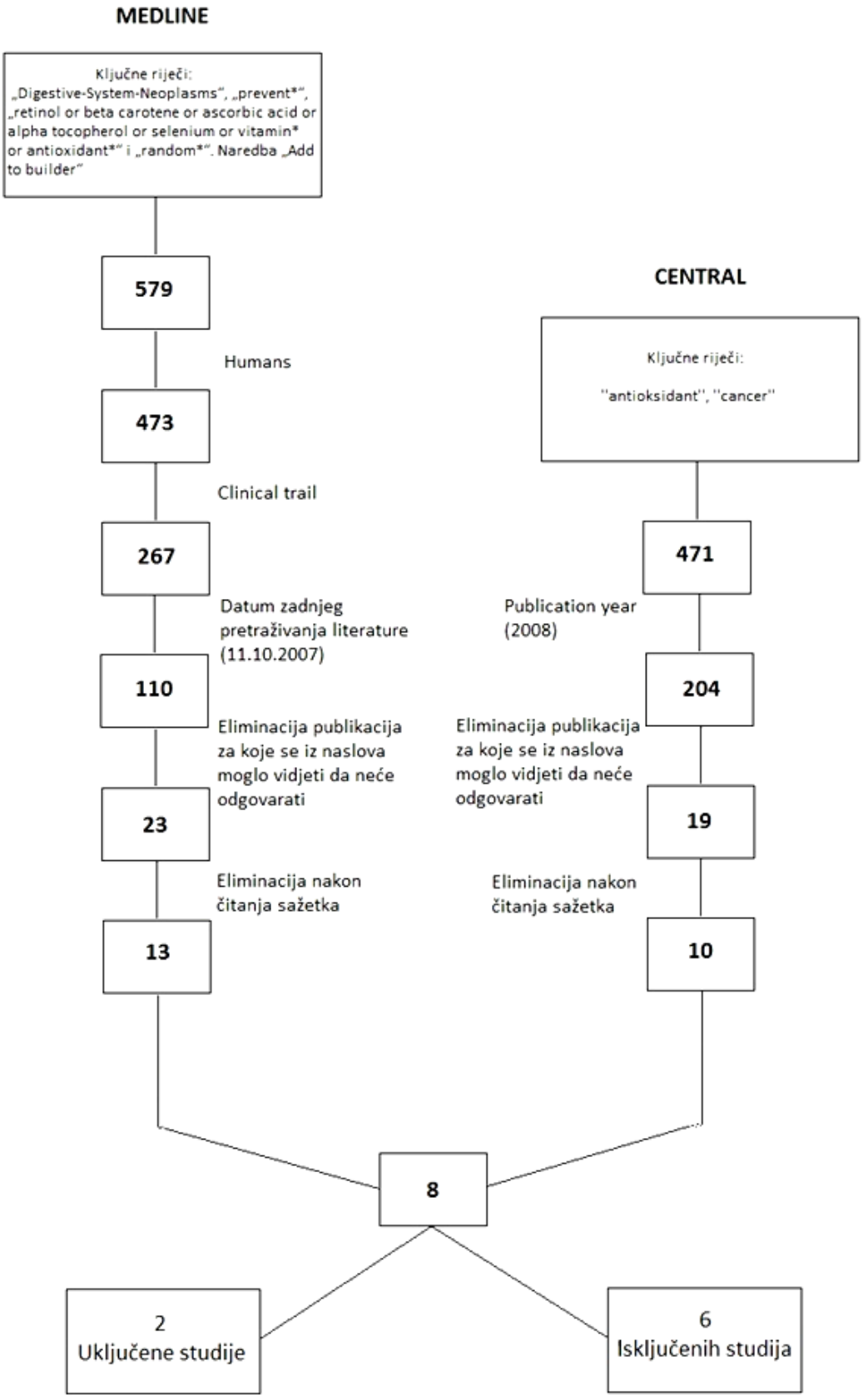
4.2. Pretraživanje literature objavljene nakon Cochrane sustavnog pregleda

4.2.1. Pretraživanje baza MEDLINE (PubMed) i CENTRAL za randomizirane kontrolirane pokuse (RCT)

Slika 1 prikazuje postupak pretraživanja literature u bazi MEDLINE i CENTRAL. Detalji o metodi pretrage su opisani u odjeljku Materijal i metode.

Pretragom MEDLINE baze podataka pronađene su 3 studije koje su isključene nakon detaljnije analize te 3 članka (188-190) o studijama već uključenim u Cochrane sustavni pregled s rezultatima završetka razdoblja praćenja koji su spomenuti u odjeljku Rasprava.

Pretragom CENTRAL baze podataka pronađeno je 5 studija nakon eliminacije duplikata iz MEDLINE pretrage. 3 pronađene studije su već spomenute u Cochrane sustavnom pregledu među studijama u tijeku, a radi se o PHS II, SELECT i HGPIN studiji (191-193). Od 5 studija 2 su uključene u rad, a 3 su isključene. Razlozi za isključenje se nalaze u odjeljku Karakteristike isključenih studija.



Slika 1. Shema pretraživanja baza MEDLINE i CENTRAL

Karakteristike studija objavljenih nakon Cochrane sustavnog pregleda (111) koje zadovoljavaju kriterije

PHS II 2012

„The Physicians' Health Study II (PHS II) Randomized Controlled Trial" (193)

Metode	Randomizirano, dvostruko slijepo, placebom kontrolirano istraživanje, 2x2x2x2 faktorskog ustroja. Generiranje randomizacijske liste: adekvatno, u 16 blokova stratificiranih po dobi (grupe po 5 godina), prijašnjem raku, prijašnjim kardiovaskularnim bolestima i za 7 641 ispitanika iz PHS I ispitivanja po njihovom prvom beta-karoten razvrstavanju. Prikrivanje razvrstavanja: sudionicima su mjesečno slani paketi koji su sadržavali multivitamin ili placebo. Zasljepljivanje: navodi se da je studija bila dvostruko slijepa. Praćenje: adekvatno. Do 1. lipnja 2011. 2991 osoba je izgubljena iz praćenja. 3757 osoba je umrlo dok je trajalo praćenje. Analiza s namjerom liječenja: da. Izračun veličine uzorka: ne.
Sudionici	Država: Sjedinjene Američke Države Broj randomiziranih sudionika: 14,641 američkih muških liječnika (7 641 iz PHS I), uključujući 1312 ljudi s poviješću raka pri randomizaciji, od 50 godina i stariji, srednje dobi 64.3 godine. Kriteriji za uključenje: američki muški liječnici spremni da sudjeluju u ovom istraživanju kao i sudionici iz PHS I. Kriteriji isključenja: povijest ciroze, aktivna bolest jetre, uzimanje antikoagulansa, ozbiljna bolest koja bi mogla spriječiti sudjelovanje, uzimanje suplemenata koji sadrže više od 100% RDA vitamina A,C,E i beta-karotena.
Intervencije	Sudionici su podijeljeni u 8 skupina koje su primale: Skupina 1: multivitamin (Centrum Silver) svaki dan Skupina 2: placebo multivitamina svaki dan Skupina 3: vitamin E (400 ij α-tokoferola) svaki drugi dan Skupina 4: placebo vitamina E svaki drugi dan Skupina 5: vitamin C (500 mg sintetske askorbinske kiseline) svaki dan

	Skupina 6: placebo vitamina C svaki dan Skupina 7: beta-karoten (50 mg Lurotina) svaki drugi dan Skupina 8: placebo beta-karotena svaki drugi dan Beta-karoten komponenta je ukinuta u ožujku 2003. Vitamin C i E komponente su završene 31. kolovoza 2007. Zasljepljivanje i praćenje je nastavljeno 1. lipnja 2011., zakazani kraj multivitaminske komponente PHS II sa srednjim vremenom praćenja od 11.2 godine.
Ishodi	Primarne mjere ishoda: incidencija raka prostate i sveukupnih karcinoma te značajni kardiovaskularni događaji. Sekundarne mjere ishoda: bolesti oka, infarkt miokarda, moždani udar, kolorektalni karcinom, rani gubitak pamćenja.
Bilješke	Suradljivost je procjenjivana slanjem upitnika s pitanjima o pridržavanju, nuspojavama, faktorima rizika. Suradljivost je bila 75%. Kapsule su osigurali BASF Corporation and Pfizer (formerly Wyeth, American Home Products, and Lederle) (New York, NY), dok su pakiranja osigurali DSM Nutritional Products, Inc. (formerly Roche Vitamins) (Parsippany, NJ).

SELECT 2009

„Selenium and Prostate Cancer Prevention (SELECT)" (70, 191)

Metode	Randomizirano, dvostruko slijepo, placebom kontrolirano istraživanje faktorskog ustroja 2x2. Generiranje randomizacijske liste: adekvatno, sudionici su randomizirani pomoću blok randomizacije gdje je blok predstavljao mjesto provođenja studije. Prikrivanje razvrstavanja: nisu pronađeni podaci. Zasljepljivanje: adekvatno, identične placebo kapsule. Praćenje: adekvatno, postotak ispitanika s kontaktom 7 mjeseci prije analize podataka bio je 88%, a 13 mjeseci prije 92%. Gubitak iz praćenja opisan kao zadnji kontakt prije 24 mjeseca zahvatio je 5.2% sudionika. Analiza s namjerom liječenja: da. Izračun veličine uzorka: da.

Sudionici	Država: Internacionalno istraživanje (SAD, Kanada, Puerto Rico). Broj randomiziranih sudionika: 32,400 muškaraca od 55 godina i stariji te afro-amerikanci od 50 godina i stariji. Kriteriji za uključenje: PSA ≤ 4.0 ng/mL, bez sumnje na rak prostate, bez povijesti raka prostate ili visokog stupnja intraepitelne neoplazije, normalan krvni tlak, bez upotrebe antikoagulansa, voljni da prestanu koristiti druge dodatke prehrani. Kriteriji za isključenje: nijedan naveden.
Intervencije	Sudionici su randomizirani u skupine koje su primale: Skupina 1: 400 mg vitamina E (α-tokoferol) i placebo selena (L-selenometionin), Skupina 2: 200 µg selena (L-selenometionin) i placebo vitamina E, Skupina 3: 400 mg vitamina E i 200 µg selena (L-selenometionin), Skupina 4: placebo vitamina E i placebo selena (L-selenometionin), svaki dan 7-12 godina. Studija je započela u srpnju 2001. a praćenje je završilo 23.listopada 2008. Srednje vrijeme praćenja bilo je 5.46 godina (između 4.17-7.33). Nakon prekida suplementacije i objavljivanja prvih rezultata SELECT studija je pretvorena u opservacijsku kohortnu studiju SELECT CFU. 58% ispitanika od 32.569 ispitanika iz SELECT studije koji su još bili živi i nisu odbijali kontaktiranje su nastavili u SELECT CFU studiji.
Ishodi	Primarne mjere ishoda: rak prostate. Sekundarne mjere ishoda: rak pluća, kolorektalni karcinom, ukupni karcinomi, kardiovaskularni događaji i smrtnost.
Bilješke	Suradljivost, definirana brojanjem kapsula bila je slična u svim krakovima studije, prosječno 83% u 1. godini i 65% u 5. Bioadherencija se mjerila u podskupu sudionika mjerenjem serumske razine selena i kolesterol prilagođene alfa i gama-tokoferola te se pokazalo dobro odvajanje u serumskim razinama aktivnog sredstva između krakova. Stopa pada suradljivosti procijenjena je izravnim pitanjem sudionicima o uzimanju bilo kojeg od dodataka. Uzorci tkiva prostate su slani središnjem patološkom laboratoriju za potvrdu u 86% slučajeva. Supstance i pakiranje su osigurani od strane Perrigo Company (Allegan, MI),

	Sabinsa Corporation (Piscataway, NJ), Tishcon Corporation (Westbury, NY) i DSM Nutritional Products, Inc (Parsipanny, NJ).

Učinci različitih antioksidansa na karcinome probavnog sustava nalaze se u tablici 4.

Tablica 4. Učinci različitih antioksidansa na karcinome probavnog sustava

Relativni rizik, interval pouzdanosti 95%					
Eksperimentalni dodaci antioksidansa	Rak jednjaka	Rak želuca	Kolorektalni karcinom	Rak gušterače	Hepatocelularni karcinom
Selen (PHS II 2012)	NP	NP	0.89, 0.68-1.17	0.99, 0.64-1.55	NP
Relativni rizik, interval pouzdanosti 99%					
Selen (SELECT 2009)	NP	NP	0.96, 0.63-1.46	NP	NP
Vitamin E (SELECT 2009)	NP	NP	1.09, 0.72-1.64	NP	NP
Vitamin E i selen (SELECT 2009)	NP	NP	1.21, 0.81-1.81	NP	NP
NP = nema podataka					

Karakteristike isključenih studija

HGPIN 2011 *„Progression from high-grade prostatic intraepithelial neoplasia to cancer: a randomized trial of combination vitamin-E, soy, and selenium"* (192)	Randomizirano kliničko ispitivanje upotrebe 200 µg/d selena u obliku L-selenometionina u prevenciji progresije prostatične intraepitelne neoplazije u rak prostate. Nije zadovoljila izlazne kriterije odnosno nisu se mogli izdvojiti podaci o pojavnosti gastrointestinalnih vrsta raka.
Wang 2012 *„Dietary intakes of retinol, carotenes, vitamin C, and vitamin E and colorectal cancer risk: the Fukuoka colorectal cancer study"* (194)	Istraživanje parova u mjestu Fukuoka, Japan. Cilj je bio procijeniti povezanost kolorektalnog karcinoma s unosom retinola, karotenoida, vitamina C i E iz prehrane. Nije randomizirano kliničko ispitivanje i intervencija nije odgovarajuća.
VAIN 2014 *„Effect of vitamin e and alpha lipoic acid (ALA) in non alcoholic fatty liver disease: A randomized placebo-controlled open-label prospective clinical trial - VAIN trial"* (195)	Randomizirano, placebom kontrolirano, prospektivno kliničko istraživanje otvorenog tipa s ciljem utvrđivanja učinkovitosti upotrebe vitamina E i alfa-lipoične kiseline u terapiji osoba s nealkoholnom bolešću masne jetre i nealkoholnim steatohepatitisom. Nisu odgovarajući izlazni kriteriji, nema podataka o pojavnosti raka gastrointestinalnog sustava.
Ravn-Haren 2008 *„A short-term intervention trial with selenate, selenium-enriched yeast and selenium-enriched milk: effects on oxidative defence regulation"* (196)	Kratkoročna upotreba selena (u obliku selenata, kvasca obogaćenog selenom i mlijeka obogaćenog selenom) i učinak na krvne lipidne biljege, ekspresiju i aktivnost enzima i transkripcijskih faktora uključenih u glutationom-posredovanu detoksikaciju i antioksidaciju. Nisu odgovarajući izlazni kriteriji, nema podataka o pojavnosti raka gastrointestinalnog sustava.
Lukić 2012 *"The impact of the vitamins A, C and E*	Opservacijska studija u kojoj je ispitivana povezanost unosa vitamina A, C i E i GI bolesti.

in the prevention of gastroesophageal reflux disease, Barrett's oesophagus and oesophageal adenocarcinoma" (197)	Provedena je kroz upitnike o prehrani i mjerenjem serumskih razina vitamina u 4 grupe ispitanika podijeljenim po bolestima (gastroezofagealni refluks, Barret'ov jednjak, ezofagealni adenokarcinom i placebo grupa). Nije randomizirano kliničko ispitivanje.
Thompson 2012 *"Design and baseline characteristics of participants in a phase III randomized trial of celecoxib and selenium for colorectal adenoma prevention"* (198)	Randomizirano istraživanje paralelnog ustroja koje ispituje učinak celekoksiba i selena na pojavnost rekurentnih kolorektalnih adenoma. Izlazni kriteriji nisu odgovarajući jer nema podataka o pojavnosti karcinoma probavnog sustava.

4.2.2. Pretraživanje baza DARE i MEDLINE (PubMed) za sustavne preglede

Pretragom u DARE bazi podataka pronađeno je 17 sustavnih pregleda korištenjem ključnih riječi „antioxidant“ i „cancer“ i filtera „Publication Year“. Traženi su sustavni pregledi noviji od Cochrane sustavnog pregleda *„Antioxidant supplements for preventing gastrointestinal cancers“* iz 2008. godine (111). Za rad su odabrani pregledi koji su odgovarali temom. U slučaju pregleda s istom temom odabran je onaj novijeg datuma. Ukupno su 2 sustavna pregleda uključena. Prvi je *„Efficacy of Vitamin and Antioxidant Supplements in Prevention of Esophageal Cancer: Meta-analysis of Randomized Controlled Trials“* iz 2013. godine (199), a drugi *„Do Antioxidants Prevent Colorectal Cancer? A Meta-Analysis“* također iz 2013. godine (200)

Pretražena je i MEDLINE baza za nove sustavne preglede koristeći iste ključne riječi kao i za RCT-ove „Digestive-System-Neoplasms“, „prevent*“, „retinol or beta carotene or ascorbic acid or alpha tocopherol or selenium or vitamin* or antioxidant*“ i „random*“. Korištena je naredba „Add to builder“ u dijelu tražilice „PubMed Advanced Search Builder“ te je označen filter „Systematic reviews“ i godina objavljivanja Cochrane sustavnog pregleda (2008.) (111). Dobiven je rezultat od 38 pregleda koji su eliminirani temeljem naslova. 2 sustavna pregleda koja su odgovarala su već pronađena u DARE bazi podataka.

Myung 2013

„Efficacy of Vitamin and Antioxidant Supplements in Prevention of Esophageal Cancer: Meta-analysis of Randomized Controlled Trials“ (199)

Ovaj sustavni pregled za cilj je imao istražiti učinkovitost vitamina i dodataka antioksidansa u prevenciji raka jednjaka koristeći rezultate randomiziranih kontroliranih pokusa. Uključeno je 10 randomiziranih kontroliranih pokusa u konačnu analizu. Model meta analize fiksnog učinka 10 istraživanja pokazao je da vitamini i dodaci antioksidansa nisu učinkoviti u prevenciji raka jednjaka. (relativni rizik /RR/, 1.04; 95% interval pouzdanosti/CL/ 0.86 – 1.25; I2= 0.0%). Podskupina meta analize također je pokazala da vitamini i dodaci antioksidansa nisu imali nikakvog učinka na prevenciju raka jednjaka u slučaju skupina visokog rizika (RR, 1.04; 95% CI, 0.85–1.28; n=4) i niskog rizika (RR, 1.01; 95% CI, 0.65–1.56; n=6) za rak jednjaka. Nadalje, pod skupina meta analize otkrila je da bez

obzira na vrstu metodološke kvalitete i tip vitamina i antioksidativnih suplemenata ne postoji nikakav učinak na prevenciju raka jednjaka. U sustavnom pregledu se navodi da ne postoji klinički dokaz koji podržava učinak vitamina i dodataka antioksidansa u prevenciji raka jednjaka (199).

Pais 2013

„Do Antioxidants Prevent Colorectal Cancer? A Meta-Analysis“ (200)

Primarni ciljevi ovog sustavnog pregleda bili su procjena ukupnog učinka antioksidansa na učestalost kolorektalnog karcinoma, rekurentnost andetomoznih polipa, ukupnu smrtnost i smrtnost od raka. Sekundarni cilj bio je prociena ovih učinaka kroz određene spojeve antioksidansa, doziranje i trajanje antioksidativne suplementacije. Uključeno je 20 randomiziranih kontroliranih pokusa, u koja su bila uključena 268 590 sudionika : 12 istaživanja koja su se bavila učestalošću kolorektalnog karcinoma uključila su 250 676 sudionika i 8 istaživanja koja su analizirala rekurentnost kolorektalnog adenoma uključila su 17 914 sudionika. Dodaci antioksidansa nisu imali značajnog učinka na pojavu kolorektalnog karcinoma niti na rekurentnost kolorektalnog adenoma (RR = 0. 94, 95% CI, 0.84-1.06, p = 0.32) u meta analizi slučajnih učinaka. Dodaci antioksidansa nisu imali značajnog utjecaja na ukupnu smrtnost (RR = 1.03, 95% CI, 0.99-1.07, p = 0.12) niti na smrtnost uzrokovanu rakom (RR = 1.05, 95% CI, 0.94-1.16, p = 0.38) u meta analizi slučajnih učinaka. Suplementaciju selenom povezuje se s pozitivnim trendom u smanjenju učestalosti kolorektalnog karcinoma (RR = 0.88, 95% CI, 0.55-1.40, p = 0.59), rekurentnosti kolorektalnog adenoma (RR = 0.70, 95% CI, 0.43-1.14, p = 0.16) i ukupne smrtnosti (RR = 0.91, 95% CI, 0.82-1.02, p = 0.09). Beta-karoten povezuje se s blagim povećanjem učestalosti kolorektalnog karcinoma (RR = 1.09, 95% CI, 0.92-1.29, p = 0.34) i u kombinaciji s drugim antioksidansima povezuje ga se s povećanjem smrtnosti (RR = 1.05, 95% CI, 0.99-1.11, p = 0.10). U slučaju selena i beta-karotena učinak nije bio ststistički značajan. Kombinacija vitamina C i vitamina E blago je smanjila učestalost raka kolorektalnog sustava bez učinka na ukupnu smrtnost. Prema ovom sustavnom pregledu nisu se našli nikakvi dokazi koji govore u korist zaštitnog učinka proučavanih dodataka antioksidansa u prevenciji kolorektalnog karcinoma ili smrtnosti povezanoj s rakom. Samo suplementacija selenom možda ima antikancerogeni učinak no potrebna su daljnja istraživanja (200)

4.3. R-AMSTAR procjena sustavnih pregleda

„Antioxidant supplements for preventing gastrointestinal cancers (Review)“ (111)

1. Zadovoljava kriterije A, B, C → 4 BODA
2. Zadovoljava kriterije A, C → 3 BODA
3. Zadovoljava kriterije A, B, C, D → 4 BODA
4. Zadovoljava kriterije A, B, D → 4 BODA
5. Zadovoljava kriterije A. B, C, D → 4 BODA
6. Zadovoljava kriterije A, B, C → 4 BODA
7. Zadovoljava kriterije A, B, C → 3 BODA
8. Zadovoljava kriterije A, B, C, D → 4 BODA
9. Zadovoljava kriterije B, C, D → 3 BODA
10. Zadovoljava kriterije A, B, C → 4 BODA
11. Zadovoljava kriterije A, B → 3 BODA

UKUPNA OCJENA KVALITETE SUSTAVNOG PREGLEDA: **40 bodova.**

„Efficacy of Vitamin and Antioxidant Supplements in Prevention of Esophageal Cancer: Meta-analysis of Randomized Controlled Trials“ (199)

1. Zadovoljava kriterije B → 2 BODA
2. Zadovoljava kriterij A → 2 BODA
3. Zadovoljava kriterije A, B, C, E → 4 BODA
4. Zadovoljava kriterij D → 2 BODA
5. Zadovoljava kriterije A, B → 2 BODA
6. Zadovoljava kriterije A → 2 BODA
7. Zadovoljava kriterije A, B, C, D → 4 BODA
8. Zadovoljava kriterije A, C → 2 BODA
9. Zadovoljava kriterije B, C, D → 3 BODA
10. Zadovoljava kriterije A, B, C → 4 BODA
11. Zadovoljava kriterij B → 2 BODA

UKUPNA OCJENA KVALITETE SUSTAVNOG PREGLEDA: **29 bodova.**

„Do antioxidants prevent colorectal cancer? A meta analysis.“ (200)

1. Zadovoljava kriterij B → 2 BODA
2. Zadovoljava kriterij A → 2 BODA
3. Zadovoljava kriterije A, B → 2 BODA
4. Zadovoljava kriterij D → 2 BODA
5. Zadovoljava kriterije A, B, D → 3 BODA
6. Zadovoljava kriterij A → 2 BODA
7. Zadovoljava kriterije A, B, C → 3 BODA
8. Zadovoljava kriterije A, B → 2 BODA
9. Zadovoljava kriterije B, C, D → 3 BODA
10. Zadovoljava 0 kriterija →1 BOD
11. Zadovoljava kriterij A → 2 BODA

UKUPNA OCJENA KVALITETE SUSTAVNOG PREGLEDA: **24 boda.**

5. RASPRAVA

U potrazi za odgovorima na specifična pitanja, neke metode istraživanja pružaju bolje dokaze nego druge metode. Odnosno, valjanost rezultata istraživanja varira kao posljedica različitih metoda. Na primjer pri ocjenjivanju učinkovitosti intervencije, za randomizirane kontrolirane pokuse se smatra da mogu pružiti najpouzdaniji dokaz. Smatraju se najpouzdanijim dokazima, jer su procesi koji se koriste u provođenju RCT minimaliziraju rizik od zbunjujućih čimbenika koji utječu na rezultate. Kao rezultat toga, rezultati RCT-a će vjerojatnije biti bliže pravim učincima od nalaza dobivenih drugim istraživačkim metodama (201). Sustavni pregled je sveobuhvatan sažetak najboljih dostupnih dokaza koja se tiču određenog pitanja (202). Sustavni pregledi, obično uključuju detaljan i sveobuhvatan plan te strategiju pretraživanja koji su definirani a priori, s ciljem smanjenja pristranosti identificiranjem, ocjenjivanjem i sintezom svih relevantnih studija o određenoj temi. Sustavni pregledi, često uključuju meta-analizu koja pomoću statističkih tehnika sintetizira podatke iz nekoliko studija u jednu kvantitativnu procjenu ili sažetak veličine učinka (203). Iz tog razloga za ovaj rad su pregledani pojedinačni RCT-ovi i sustavni pregledi randomiziranih kontroliranih pokusa.

Pretraga dokaza je počela analiziranjem Cochrane sustavnog pregleda koji navodi da dodaci antioksidansa, odnosno, beta-karoten, vitamin A, vitamin C i vitamin E dani pojedinačno ili u kombinacijama, ne mogu spriječiti rak gastrointestinalnog sustava. Beta-karoten i vitamin A mogu povećati rizik od raka. Istraženi antioksidansi, osim selena, također utječu na povećanje ukupne smrtnosti. Kombinacija beta-karotena i vitamina A proučavana je u visoko kvalitetnom masovnom istraživanju s prevencijom raka pluća kao primarnim ishodom (116). Pojava raka gastrointestinalnog sustava te smrtnost bila je znatno povećana kod grupe koja je primala vitamin A. Istraživanja koja su uključivala primjenu vitamina C bilo samostalnog ili u različitim kombinacijama s beta-karotenom, vitaminom A, vitaminom E i selenom nisu rezultirala nikakvim značajnim utjecajem na rak probavnog sustava ili na ukupnu smrtnost. Vitamin E nije značajno utjecao na rak želuca, gušterače i kolorektalni karcinom ili ukupnu smrtnost. Uočena je beznačajna tendencija povećanja učestalosti raka probavnog sustava kod grupe koja je primala dodatke u istraživanjima niskog rizika pristranosti. Studije s niskim rizikom pristranosti su pokazala ili značajno štetne učinke ili nikakve na primarne mjere ishoda, dok su studije s visokim rizikom pristranosti našle nikakve ili značajno pozitivne učinke. Selen može potencijalno smanjiti smrtnost i rizik od raka probavnog sustava, ali kod ovih istraživanja postoji rizik od pristranosti zbog niske razine

kvalitete metoda primijenjenih kod većine tih istraživanja. Jedno istraživanje u kojem se selen davao kao samostalni antioksidans bilo je s niskim rizikom od pristranosti (111).

Većina istraživanja provedena su u zemljama srednjeg i višeg životnog standarda i to među populacijom koja ima dovoljno antioksidansa zastupljenih u prehrani, što može biti razlog nedostatka zaštitnog svojstva dodataka antioksidansa. Neka od istraživanja uključena u pregled uključivala su primjenu antioksidansa u znatno većim količinama u odnosu na one koje unosimo pravilnom prehranom. Od 20 istraživanja koja su obuhvaćena sustavnim pregledom samo ih je 14 (70%) prijavilo ukupnu smrtnost. Stoga je utvrđeno da je pristranost pri objavljivanju mogla utjecati na rezultate meta-analize (111).

Pretragom literature pronađeni su rezultati praćenja studija već uključenih u Cochrane sustavni pregled. 26-ogodišnje praćenje studije NIT2 donijelo je rezultate o slabom učinku suplementacije multivitaminom na smrtnost u populaciji s kvalitetnijom i siromašnijom prehranom (190). Suplementacija alfa-tokoferolom i beta-karotenom nije poručila nikakav učinak na rak jetre u 24-godišnjem praćenju u studiji ATBC (189). Dodaci češnjaka i vitamina u SIT studiji su imali beznačajan učinak na redukciju raka želuca i smrtnost (188).

Pretraga literature dovela je i do 2 nova randomizirana klinička pokusa. Oba su potvrdila rezultate Cochrane sustavnog pregleda. PHS II studija nije pokazala značajan učinak dodataka multivitamina na prevenciju kolorektalnog karcinoma niti raka gušterače. Ukupna smrtnost nije značajno smanjena. Ispitanici koji su uzimali aktivnu tvar u odnosu na placebo multivitamina bili su skloniji osipu na koži (193). Nije bilo značajnih razlika između pokusne i placebo grupe u SELECT studiji koja je testirala učinke učinke vitamina E, selena i njihove kombinacije na pojavnost kolorektalnog karcinoma kao druge mjere ishoda na heterogenoj skupini generalno zdravih ispitanika. Vitamin E nije povećao ukupnu smrtnost. Postoji zabrinutost oko potencijalne povezanosti selena i incidencije dijabetes melitusa tip 2. U SELECT studiji beznačajno povećanje rizika je uočeno u primjeni samo selena, ali ne i u kombinaciji. U sljedećem izvještaju ove studije taj učinak je umanjen. Dokazi upućuju da bi optimalna skupina za ispitivanje prevencije raka selenom bili ispitanici koji imaju deficit selena ili oni koji žive u područjima siromašnim selenom (191).

Pronađena su i dva sustavna pregleda koja se bave ovim pitanjem. Myung i sur. (199) analizirali su 10 RCT-ova, od kojih je 9 (115, 116, 119, 122, 124, 125, 129, 131, 134) već analizirano u Cochrane sustavnom pregledu (111) te jedna studija koja opisuje učinke antioksidansa na incidenciju sekundarnih primarnih karcinoma u ispitanika s tumorom glave

ili vrata, tretiranih radioterapijom (204). Model meta-analize fiksnih učinaka pokazao je da dodaci antioksidansa nemaju učinka u prevenciji raka jednjaka. U podskupini meta-analize po tipu dodatka, nijedan antioksidans (vitamin A, C, beta-karoten i selen) nije imao značajan preventivni učinak. Podskupina meta-analize po kvaliteti studije također nije pokazala učinkovitost kod istraživanja visoke i niske kvalitete. Za beta-karoten, studije su pokazale da može djelovati kao prooksidant u prisutnosti kroničnog oksidativnog stresa kao što je pušenje ; moguće je da inducira oksidaciju beta-karotena i oksidacijska oštećenja DNK što konačno dovodi do raka pluća (199).

Dodaci antioksidansa nisu imali značajan učinak na pojavnost kolorektalnog karcinoma niti na ukupnu i smrtnost vezanu za rak u pregledu koji su proveli Pais i sur. (200). Ovaj pregled je obuhvaćao 20 studija od kojih je 12 analiziralo učestalost kolorektalnog karcinoma. 2 su pronađene pretragom literature (191, 193), ostale su uvrštene u Cochrane sustavni pregled (115, 116, 118, 119, 125, 126, 129-131). 8 studija je proučavalo rekurentnost kolorektalnog adenoma. Heterogenost studija je bila visoka i predstavljala je ozbiljno ograničenje u interpretaciji rezultata. Beta-karoten davan sam, je povezan s blagim povećanjem pojavnosti kolorektalnog karcinoma, dok je u kombinaciji s drugim antioksidansima povezan s blagim povećanjem smrtnosti ali nema učinka na kolorektalni karcinom. Vitamin C u kombinaciji je pokazao trend smanjenja smrtnosti koji nije podržan primjenom samog vitamina. Univarijantna meta-analiza pokazala je da doza selena nije povezana s učinkom na pojavnost kolorektalnog karcinoma. U analizi podskupina samo je selen povezan sa smanjenjem ukupne smrtnosti. Zanimljivo je da su sva istraživanja sa selenom u ovom pregledu bila niskog rizika pristranosti. Moguće je da je ovaj učinak ograničen samo na pacijente s deficitom selena, stoga su potrebna daljnja istraživanja (200).

R-AMSTAR ocjena kvalitete sustavnih pregleda provedena je na sva tri pregleda. Cochrane sustavni pregled (111) je ocijenjen s najviše bodova (40) od maksimalno 44. Druga dva sustavna pregleda su dobila 29 (199) i 24 (200). Svi sustavni pregledi daju jednake zaključke iako se razlikuju u kvaliteti.

Rezultati se ne bi smjeli prenijeti i na učinke voća i povrća, koje ne sadrže samo antioksidanse već i mnogobrojne druge tvari (111).

6. ZAKLJUČCI

1. Nijedna studija nije dala uvjerljive dokaze da proučavani dodaci antioksidansa imaju povoljan učinak na pojavu gastrointestinalnih karcinoma ili na ukupnu smrtnost.
2. Čini se beta-karoten, vitamin A, vitamin C, i / ili vitamin E povećavaju ukupnu smrtnost. Stoga se ne mogu preporučiti ti dodaci antioksidansa kao preventivna mjera.
3. Za beta-karoten studije su pokazale da može djelovati kao prooksidant u prisutnosti kroničnog oksidativnog stresa kao što je pušenje ; moguće je da inducira oksidaciju beta-karotena i oksidacijska oštećenja DNK što konačno dovodi do raka pluća.
4. Zabrinutost oko povećanog rizika od dijabetes mellitusa tip 2 uzrokovanog dodacima selena također treba biti razjašnjena s više studija s obzirom da postoje različiti podaci koji se ne podudaraju.
5. Dodaci selena bi mogli potencijalno smanjiti rizik od karcinoma gastrointestinalnog trakta i smrti, ali je upitno u kojoj vrsti populacije s obzirom da su pozitivni rezultati dobiveni najčešće u populacijama s deficitom selena. Također je potrebno više kvalitetnih studija niskog rizika od pristranosti koje bi ispitale povezanost selena i pojavnosti raka gastrointestinalnog sustava.

7. POPIS CITIRANE LITERATURE

1. Kanzok SM, Fechner A, Bauer H, Ulschmid JK, Muller HM, Botella-Munoz J, et al. Substitution of the thioredoxin system for glutathione reductase in Drosophila melanogaster. Science. 2001;291(5504):643-6.

2. Chance B, Sies H, Boveris A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. Physiol Rev. 1979;59(3):527-605.

3. Berger SJ, Gosky D, Zborowska E, Willson JK, Berger NA. Sensitive enzymatic cycling assay for glutathione: measurements of glutathione content and its modulation by buthionine sulfoximine in vivo and in vitro in human colon cancer. Cancer Res. 1994;54(15):4077-83.

4. Bhattacharyya A, Chattopadhyay R, Mitra S, Crowe SE. Oxidative stress: an essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases. Physiol Rev. 2014;94(2):329-54.

5. Giorgio M. Oxidative stress and the unfulfilled promises of antioxidant agents. Ecancermedicalscience. 2015;9:556.

6. Kulkarni AC, Kuppusamy P, Parinandi N. Oxygen, the lead actor in the pathophysiologic drama: enactment of the trinity of normoxia, hypoxia, and hyperoxia in disease and therapy. Antioxid Redox Signal. 2007;9(10):1717-30.

7. Swindle EJ, Metcalfe DD. The role of reactive oxygen species and nitric oxide in mast cell-dependent inflammatory processes. Immunol Rev. 2007;217:186-205.

8. Bucher JR, Tien M, Aust SD. The requirement for ferric in the initiation of lipid peroxidation by chelated ferrous iron. Biochem Biophys Res Commun. 1983;111(3):777-84.

9. Sasayama Y, Kawano S, Tsuji S, Fusamoto H, Kamada T, Fukui H, et al. Relationship between interleukin-8 levels and myeloperoxidase activity in human gastric mucosa. J Gastroenterol Hepatol. 1997;12(2):104-8.

10. Roe I, Nam S, Kim J, Shin J, Bang W, Yang M. Association of the myeloperoxidase -463G-->A polymorphism with development of atrophy in Helicobacter pylori-infected gastritis. Am J Gastroenterol. 2002;97(7):1629-34.

11. Zhu H, Yang L, Zhou B, Yu R, Tang N, Wang B. Myeloperoxidase G-463A polymorphism and the risk of gastric cancer: a case-control study. Carcinogenesis. 2006;27(12):2491-6..

12. Konturek PC, Kania J, Burnat G, Hahn EG, Konturek SJ. Prostaglandins as mediators of COX-2 derived carcinogenesis in gastrointestinal tract. J Physiol Pharmacol. 2005;56 Suppl 5:57-73.
13. O'Connor PM, Lapointe TK, Beck PL, Buret AG. Mechanisms by which inflammation may increase intestinal cancer risk in inflammatory bowel disease. Inflamm Bowel Dis. 2010;16(8):1411-20.
14. Bolton JL, Trush MA, Penning TM, Dryhurst G, Monks TJ. Role of quinones in toxicology. Chem Res Toxicol. 2000;13(3):135-60.
15. Yildirim A, Mavi A, Oktay M, Kara AA, Algur OF, Bilaloglu V. Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of tilia (Tilia argentea Desf ex DC), sage (Salvia triloba l.), and black tea (Camellia sinensis) extracts. J Agric Food Chem. 2000;48(10):5030-4.
16. Vial M, Grande L, Pera M. Epidemiology of adenocarcinoma of the esophagus, gastric cardia, and upper gastric third. Recent Results Cancer Res. 2010;182:1-17.
17. Anderson JC, Latreille M, Messina C, Alpern Z, Grimson R, Martin C, et al. Smokers as a high-risk group: data from a screening population. J Clin Gastroenterol. 2009;43(8):747-52.
18. Pelucchi C, Gallus S, Garavello W, Bosetti C, La Vecchia C. Alcohol and tobacco use, and cancer risk for upper aerodigestive tract and liver. Eur J Cancer Prev. 2008;17(4):340-4.
19. Tamimi RM, Lagiou P, Adami HO, Trichopoulos D. Prospects for chemoprevention of cancer. J Intern Med. 2002;251(4):286-300.
20. van Poppel G, van den Berg H. Vitamins and cancer. Cancer Lett. 1997;114(1-2):195-202.
21. Willcox JK, Ash SL, Catignani GL. Antioxidants and prevention of chronic disease. Crit Rev Food Sci Nutr. 2004;44(4):275-95.
22. Halliwell B. Antioxidants in human health and disease. Annu Rev Nutr. 1996;16:33-50.
23. Balluz LS, Kieszak SM, Philen RM, Mulinare J. Vitamin and mineral supplement use in the United States. Results from the third National Health and Nutrition Examination Survey. Arch Fam Med. 2000;9(3):258-62.
24. Lichtenstein AH, Russell RM. Essential nutrients: food or supplements? Where should the emphasis be? Jama. 2005;294(3):351-8.

25. Millen AE, Dodd KW, Subar AF. Use of vitamin, mineral, nonvitamin, and nonmineral supplements in the United States: The 1987, 1992, and 2000 National Health Interview Survey results. J Am Diet Assoc. 2004;104(6):942-50.

26. Nichter M, Thompson JJ. For my wellness, not just my illness: North Americans' use of dietary supplements. Cult Med Psychiatry. 2006;30(2):175-222.

27. Radimer K, Bindewald B, Hughes J, Ervin B, Swanson C, Picciano MF. Dietary supplement use by US adults: data from the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999-2000. Am J Epidemiol. 2004;160(4):339-49.

28. Fattman CL, Schaefer LM, Oury TD. Extracellular superoxide dismutase in biology and medicine. Free Radic Biol Med. 2003;35(3):236-56.

29. Van Camp W, Inze D, Van Montagu M. The regulation and function of tobacco superoxide dismutases. Free Radic Biol Med. 1997;23(3):515-20.

30. Kohut A, Mojzis J. Effect of allopurinol and superoxide dismutase on indomethacin-induced gastric lesions in the rat. Physiol Res. 1993;42(4):273-6.

31. Klinowski E, Broide E, Varsano R, Eshchar J, Scapa E. Superoxide dismutase activity in duodenal ulcer patients. Eur J Gastroenterol Hepatol. 1996;8(12):1151-5.

32. Naito Y, Yoshikawa T, Ando T, Kishi A, Ueda S, Oyamada H, et al. Changes in superoxide dismutase activity in the gastric mucosa of peptic ulcer patients. J Clin Gastroenterol. 1992;14 Suppl 1:S131-4.

33. Janssen AM, Bosman CB, van Duijn W, Oostendorp-van de Ruit MM, Kubben FJ, Griffioen G, et al. Superoxide dismutases in gastric and esophageal cancer and the prognostic impact in gastric cancer. Clin Cancer Res. 2000;6(8):3183-92.

34. Bompart GJ, Prevot DS, Bascands JL. Rapid automated analysis of glutathione reductase, peroxidase, and S-transferase activity: application to cisplatin-induced toxicity. Clin Biochem. 1990;23(6):501-4.

35. Dayer R, Fischer BB, Eggen RIL, Lemaire SD. The Peroxiredoxin and Glutathione Peroxidase Families in Chlamydomonas reinhardtii. Genetics. 2008;179(1):41-57.

36. Chu FF, Doroshow JH, Esworthy RS. Expression, characterization, and tissue distribution of a new cellular selenium-dependent glutathione peroxidase, GSHPx-GI. J Biol Chem. 1993;268(4):2571-6.

37. Wingler K, Muller C, Schmehl K, Florian S, Brigelius-Flohe R. Gastrointestinal glutathione peroxidase prevents transport of lipid hydroperoxides in CaCo-2 cells. Gastroenterology. 2000;119(2):420-30.

38. Komatsu H, Okayasu I, Mitomi H, Imai H, Nakagawa Y, Obata F. Immunohistochemical detection of human gastrointestinal glutathione peroxidase in normal tissues and cultured cells with novel mouse monoclonal antibodies. J Histochem Cytochem. 2001;49(6):759-66.

39. Zamocky M, Koller F. Understanding the structure and function of catalases: clues from molecular evolution and in vitro mutagenesis. Prog Biophys Mol Biol. 1999;72(1):19-66.

40. Bedard K, Krause KH. The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. Physiol Rev. 2007;87(1):245-313.

41. Reuter S, Gupta SC, Chaturvedi MM, Aggarwal BB. Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? Free Radic Biol Med. 2010;49(11):1603-16.

42. Fridovich I. The biology of oxygen radicals. Science. 1978;201(4359):875-80.

43. Chang D, Hu ZL, Zhang L, Zhao YS, Meng QH, Guan QB, et al. Association of catalase genotype with oxidative stress in the predication of colorectal cancer: modification by epidemiological factors. Biomed Environ Sci : BES : BES. 2012;25(2):156-62.

44. Monari M, Foschi J, Calabrese C, Liguori G, Di Febo G, Rizzello F, et al. Implications of antioxidant enzymes in human gastric neoplasms. Int J Mol Med. 2009;24(5):693-700.

45. Redmond SM, Joncourt F, Buser K, Ziemiecki A, Altermatt HJ, Fey M, et al. Assessment of P-glycoprotein, glutathione-based detoxifying enzymes and O6-alkylguanine-DNA alkyltransferase as potential indicators of constitutive drug resistance in human colorectal tumors. Cancer Res. 1991;51(8):2092-7.

46. Tenhunen R, Marver HS, Schmid R. The enzymatic conversion of heme to bilirubin by microsomal heme oxygenase. Proc Natl Acad Sci U S A. 1968;61(2):748-55. 1968/10/01.

47. Meister A, Anderson ME. Glutathione. Annu Rev Biochem. 1983;52:711-60.

48. Hoensch H, Morgenstern I, Petereit G, Siepmann M, Peters WH, Roelofs HM, et al. Influence of clinical factors, diet, and drugs on the human upper gastrointestinal glutathione system. Gut. 2002;50(2):235-40.

49. Grubben MJ, Nagengast FM, Katan MB, Peters WH. The glutathione biotransformation system and colorectal cancer risk in humans. Scand J Gastroenterol Suppl. 2001(234):68-76.

50. Scharf C, Riethdorf S, Ernst H, Engelmann S, Volker U, Hecker M. Thioredoxin is an essential protein induced by multiple stresses in Bacillus subtilis. J Bacteriol. 1998;180(7):1869-77.

51. Klein EA. Clinical models for testing chemopreventative agents in prostate cancer and overview of SELECT: the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial. Recent Results Cancer Res. 2003;163:212-25; discussion 64-6.
52. Terry PD, Villinger F, Bubenik GA, Sitaraman SV. Melatonin and ulcerative colitis: evidence, biological mechanisms, and future research. Inflamm Bowel Dis. 2009;15(1):134-40.
53. Sanchez A, Calpena AC, Clares B. Evaluating the Oxidative Stress in Inflammation: Role of Melatonin. Int J Mol Sci. 2015;16(8):16981-7004.
54. Dragicevic N, Copes N, O'Neal-Moffitt G, Jin J, Buzzeo R, Mamcarz M, et al. Melatonin treatment restores mitochondrial function in Alzheimer's mice: a mitochondrial protective role of melatonin membrane receptor signaling. J Pineal Res. 2011;51(1):75-86.
55. May JM. Is ascorbic acid an antioxidant for the plasma membrane? FASEB J. 1999;13(9):995-1006.
56. Padayatty SJ, Katz A, Wang Y, Eck P, Kwon O, Lee JH, et al. Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. J Am Coll Nutr. 2003;22(1):18-35.
57. Lloyd RV, Hanna PM, Mason RP. The origin of the hydroxyl radical oxygen in the Fenton reaction. Free Radic Biol Med. 1997;22(5):885-8.
58. Stohs SJ, Bagchi D. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. Free Radic Biol Med. 1995;18(2):321-36.
59. Ohshima H, Bereziat JC, Bartsch H. Monitoring N-nitrosamino acids excreted in the urine and feces of rats as an index for endogenous nitrosation. Carcinogenesis. 1982;3(1):115-20.
60. van Acker SA, Koymans LM, Bast A. Molecular pharmacology of vitamin E: structural aspects of antioxidant activity. Free Radic Biol Med. 1993;15(3):311-28.
61. Yamamoto K, Niki E. Interaction of alpha-tocopherol with iron: antioxidant and prooxidant effects of alpha-tocopherol in the oxidation of lipids in aqueous dispersions in the presence of iron. Biochim Biophys Acta. 1988;958(1):19-23.
62. Peto R, Doll R, Buckley JD, Sporn MB. Can dietary beta-carotene materially reduce human cancer rates? Nature. 1981;290(5803):201-8.
63. Ziegler RG. A review of epidemiologic evidence that carotenoids reduce the risk of cancer. J Nutr. 1989;119(1):116-22.
64. Rao AV, Rao LG. Carotenoids and human health. Pharmacol Res. 2007;55(3):207-16.
65. Iyama T, Takasuga A, Azuma M. beta-Carotene accumulation in mouse tissues and a protective role against lipid peroxidation. Int J Vitam Nutr Res. 1996;66(4):301-5.

66. Zhang P, Omaye ST. Beta-carotene and protein oxidation: effects of ascorbic acid and alpha-tocopherol. Toxicology. 2000;146(1):37-47.
67. Harris ED. Regulation of antioxidant enzymes. J Nutr. 1992;122(3 Suppl):625-6.
68. Schrauzer GN, White DA, Schneider CJ. Cancer mortality correlation studies--III: statistical associations with dietary selenium intakes. Bioinorg Chem. 1977;7(1):23-31.
69. Clark LC, Cantor KP, Allaway WH. Selenium in forage crops and cancer mortality in U.S. counties. Arch Environ Health. 1991;46(1):37-42.
70. Nicastro HL, Dunn BK. Selenium and prostate cancer prevention: insights from the selenium and vitamin E cancer prevention trial (SELECT). Nutrients. 2013;5(4):1122-48.
71. Michiels C, Raes M, Toussaint O, Remacle J. Importance of Se-glutathione peroxidase, catalase, and Cu/Zn-SOD for cell survival against oxidative stress. Free Radic Biol Med. 1994;17(3):235-48.
72. Hanasaki Y, Ogawa S, Fukui S. The correlation between active oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids. Free Radic Biol Med. 1994;16(6):845-50.
73. Brown JE, Khodr H, Hider RC, Rice-Evans CA. Structural dependence of flavonoid interactions with Cu2+ ions: implications for their antioxidant properties. Biochem J. 1998;330(Pt 3):1173-8.
74. Buettner GR. The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation, alpha-tocopherol, and ascorbate. Arch Biochem Biophys. 1993;300(2):535-43.
75. Enzinger PC, Mayer RJ. Esophageal Cancer. N Engl J Med. 2003;349(23):2241-52.
76. Fitzgerald RC. Molecular basis of Barrett's oesophagus and oesophageal adenocarcinoma. Gut. 2006;55(12):1810-8.
77. Napier KJ, Scheerer M, Misra S. Esophageal cancer: A Review of epidemiology, pathogenesis, staging workup and treatment modalities. World J Gastrointest Oncol. 2014;6(5):112-20.
78. Reid BJ, Li X, Galipeau PC, Vaughan TL. Barrett's oesophagus and oesophageal adenocarcinoma: time for a new synthesis. Nat Rev Cancer. 2010;10(2):87-101.
79. Nehra D, Howell P, Williams CP, Pye JK, Beynon J. Toxic bile acids in gastro-oesophageal reflux disease: influence of gastric acidity. Gut. 1999;44(5):598-602.
80. Wetscher GJ, Perdikis G, Kretchmar DH, Stinson RG, Bagchi D, Redmond EJ, et al. Esophagitis in Sprague-Dawley rats is mediated by free radicals. Dig Dis Sci. 1995;40(6):1297-305.

81. J. F, F. B, P. P, M. PD. GLOBOCAN 2002: Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide. IARC CancerBase No 5, version 2.0. IARC Press, Lyon, France, 2004.

82. Nagini S. Carcinoma of the stomach: A review of epidemiology, pathogenesis, molecular genetics and chemoprevention. World J Gastrointest Oncol. 2012;4(7):156-69.

83. Naito Y, Yoshikawa T. Molecular and cellular mechanisms involved in Helicobacter pylori-induced inflammation and oxidative stress. Free Radic Biol Med. 2002;33(3):323-36.

84. McCready DR, Clark L, Cohen MM. Cigarette smoking reduces human gastric luminal prostaglandin E2. Gut. 1985;26(11):1192-6.

85. Haggar FA, Boushey RP. Colorectal cancer epidemiology: incidence, mortality, survival, and risk factors. Clin Colon Rectal Surg. 2009;22(4):191-7.

86. Roessner A, Kuester D, Malfertheiner P, Schneider-Stock R. Oxidative stress in ulcerative colitis-associated carcinogenesis. Pathol Res Pract. 2008;204(7):511-24.

87. Willett WC. Diet and cancer: an evolving picture. Jama. 2005;293(2):233-4.

88. Bartsch H, Nair J, Owen RW. Dietary polyunsaturated fatty acids and cancers of the breast and colorectum: emerging evidence for their role as risk modifiers. Carcinogenesis. 1999;20(12):2209-18.

89. Larsson SC, Wolk A. Meat consumption and risk of colorectal cancer: a meta-analysis of prospective studies. Int J Cancer. 2006;119(11):2657-64.

90. Balish E, Warner T. Enterococcus faecalis induces inflammatory bowel disease in interleukin-10 knockout mice. Am J Pathol. 2002;160(6):2253-7.

91. Santarelli RL, Pierre F, Corpet DE. Processed meat and colorectal cancer: a review of epidemiologic and experimental evidence. Nutr Cancer. 2008;60(2):131-44.

92. Potter JD. Colorectal cancer: molecules and populations. J Natl Cancer Inst. 1999;91(11):916-32.

93. Janne PA, Mayer RJ. Chemoprevention of colorectal cancer. N Engl J Med. 2000;342(26):1960-8.

94. Boyle P, Zaridze DG, Smans M. Descriptive epidemiology of colorectal cancer. Int J Cancer. 1985;36(1):9-18.

95. Bostick RM, Potter JD, McKenzie DR, Sellers TA, Kushi LH, Steinmetz KA, et al. Reduced risk of colon cancer with high intake of vitamin E: the Iowa Women's Health Study. Cancer Res. 1993;53(18):4230-7.

96. Grau MV, Rees JR, Baron JA. Chemoprevention in gastrointestinal cancers: current status. Basic Clin Pharmacol Toxicol. 2006;98(3):281-7.

97. Freelove R, Walling AD. Pancreatic cancer: diagnosis and management. Am Fam Physician. 2006;73(3):485-92.

98. Lowenfels AB, Maisonneuve P. Epidemiology and risk factors for pancreatic cancer. Best Pract Res Clin Gastroenterol. 2006;20(2):197-209.

99. Shimoda R, Nagashima M, Sakamoto M, Yamaguchi N, Hirohashi S, Yokota J, et al. Increased formation of oxidative DNA damage, 8-hydroxydeoxyguanosine, in human livers with chronic hepatitis. Cancer Res. 1994;54(12):3171-2.

100. Edderkaoui M, Nitsche C, Zheng L, Pandol SJ, Gukovsky I, Gukovskaya AS. NADPH oxidase activation in pancreatic cancer cells is mediated through Akt-dependent up-regulation of p22phox. J Biol Chem. 2011;286(10):7779-87.

101. Yu JH, Kim H. Oxidative stress and cytokines in the pathogenesis of pancreatic cancer. J Cancer Prev. 2014;19(2):97-102.

102. Doucas H, Garcea G, Neal CP, Manson MM, Berry DP. Chemoprevention of pancreatic cancer: a review of the molecular pathways involved, and evidence for the potential for chemoprevention. Pancreatology. 2006;6(5):429-39.

103. Yates MS, Kensler TW. Keap1 eye on the target: chemoprevention of liver cancer. Acta Pharmacol Sin. 2007;28(9):1331-42.

104. Marra M, Sordelli IM, Lombardi A, Lamberti M, Tarantino L, Giudice A, et al. Molecular targets and oxidative stress biomarkers in hepatocellular carcinoma: an overview. J Transl Med. 2011;9:171.

105. Patel T, Roberts LR, Jones BA, Gores GJ. Dysregulation of apoptosis as a mechanism of liver disease: an overview. Semin Liver Dis. 1998;18(2):105-14.

106. Sasaki Y. Does oxidative stress participate in the development of hepatocellular carcinoma? J Gastroenterol. 2006;41(12):1135-48.

107. Meguro M, Mizuguchi T, Kawamoto M, Hirata K. The molecular pathogenesis and clinical implications of hepatocellular carcinoma. Int J Hepatol. 2011;2011:818672.

108. Kaplowitz N. Cell death at the millennium. Implications for liver diseases. Clin Liver Dis. 2000;4(1):1-23.

109. Neugut AI, Jacobson JS, Suh S, Mukherjee R, Arber N. The epidemiology of cancer of the small bowel. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 1998;7(3):243-51.

110. Takada M, Ku Y, Habara K, Ajiki T, Suzuki Y, Kuroda Y. Inhibitory effect of epigallocatechin-3-gallate on growth and invasion in human biliary tract carcinoma cells. World J Surg. 2002;26(6):683-6.

111. Bjelakovic G, Nikolova D, Simonetti RG, Gluud C. Antioxidant supplements for preventing gastrointestinal cancers. Cochrane Database Syst Rev. 2008(3):CD004183.
112. Kung J, Chiappelli F, Cajulis OO, Avezova R, Kossan G, Chew L, et al. From Systematic Reviews to Clinical Recommendations for Evidence-Based Health Care: Validation of Revised Assessment of Multiple Systematic Reviews (R-AMSTAR) for Grading of Clinical Relevance. Open Dent J. 2010;4:84-91.
113. Sharif MO, Janjua-Sharif FN, Ali H, Ahmed F. Systematic reviews explained: AMSTAR-how to tell the good from the bad and the ugly. Oral Health Dent Manag. 2013;12(1):9-16.
114. Shea BJ, Grimshaw JM, Wells GA, Boers M, Andersson N, Hamel C, et al. Development of AMSTAR: a measurement tool to assess the methodological quality of systematic reviews. BMC Med Res Methodol. 2007;7:10.
115. Virtamo J, Pietinen P, Huttunen JK, Korhonen P, Malila N, Virtanen MJ, et al. Incidence of cancer and mortality following alpha-tocopherol and beta-carotene supplementation: a postintervention follow-up. Jama. 2003;290(4):476-85.
116. Goodman GE, Thornquist MD, Balmes J, Cullen MR, Meyskens FL, Jr., Omenn GS, et al. The Beta-Carotene and Retinol Efficacy Trial: incidence of lung cancer and cardiovascular disease mortality during 6-year follow-up after stopping beta-carotene and retinol supplements. J Natl Cancer Inst. 2004;96(23):1743-50.
117. Gail MH, Brown LM, You WC. Re: Chemoprevention of gastric dysplasia: randomized trial of antioxidant supplements and anti-helicobacter pylori therapy. J Natl Cancer Inst. 2001;93(7):559-60.
118. Lonn E, Bosch J, Yusuf S, Sheridan P, Pogue J, Arnold JM, et al. Effects of long-term vitamin E supplementation on cardiovascular events and cancer: a randomized controlled trial. Jama. 2005;293(11):1338-47.
119. MRC/BHF Heart Protection Study of antioxidant vitamin supplementation in 20,536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. Lancet. 2002;360(9326):23-33.
120. Li W, Zhu Y, Yan X, Zhang Q, Li X, Ni Z, et al. [The prevention of primary liver cancer by selenium in high risk populations]. Zhonghua yu fang yi xue za zhi [Chinese journal of preventive medicine]. 2000;34(6):336-8.
121. Li H, Li HQ, Wang Y, Xu HX, Fan WT, Wang ML, et al. An intervention study to prevent gastric cancer by micro-selenium and large dose of allitridum. Chin Med J. 2004;117(8):1155-60.

122. Munoz N, Wahrendorf J, Bang LJ, Crespi M, Thurnham DI, Day NE, et al. No effect of riboflavine, retinol, and zinc on prevalence of precancerous lesions of oesophagus. Randomised double-blind intervention study in high-risk population of China. Lancet. 1985;2(8447):111-4.
123. Blot WJ, Li JY, Taylor PR, Guo W, Dawsey S, Wang GQ, et al. Nutrition intervention trials in Linxian, China: supplementation with specific vitamin/mineral combinations, cancer incidence, and disease-specific mortality in the general population. J Natl Cancer Inst. 1993;85(18):1483-92.
124. Li JY, Taylor PR, Li B, Dawsey S, Wang GQ, Ershow AG, et al. Nutrition intervention trials in Linxian, China: multiple vitamin/mineral supplementation, cancer incidence, and disease-specific mortality among adults with esophageal dysplasia. J Natl Cancer Inst. 1993;85(18):1492-8.
125. Clark LC, Combs GF, Jr., Turnbull BW, Slate EH, Chalker DK, Chow J, et al. Effects of selenium supplementation for cancer prevention in patients with carcinoma of the skin. A randomized controlled trial. Nutritional Prevention of Cancer Study Group. Jama. 1996;276(24):1957-63.
126. Hennekens CH, Buring JE, Manson JE, Stampfer M, Rosner B, Cook NR, et al. Lack of effect of long-term supplementation with beta carotene on the incidence of malignant neoplasms and cardiovascular disease. N Engl J Med. 1996;334(18):1145-9.
127. Plummer M, Vivas J, Lopez G, Bravo JC, Peraza S, Carillo E, et al. Chemoprevention of precancerous gastric lesions with antioxidant vitamin supplementation: a randomized trial in a high-risk population. J Natl Cancer Inst. 2007;99(2):137-46.
128. You WC, Brown LM, Zhang L, Li JY, Jin ML, Chang YS, et al. Randomized double-blind factorial trial of three treatments to reduce the prevalence of precancerous gastric lesions. J Natl Cancer Inst. 2006;98(14):974-83.
129. Hercberg S, Galan P, Preziosi P, Bertrais S, Mennen L, Malvy D, et al. The SU.VI.MAX Study: a randomized, placebo-controlled trial of the health effects of antioxidant vitamins and minerals. Arch Intern Med. 2004;164(21):2335-42.
130. Cook NR, Albert CM, Gaziano JM, Zaharris E, MacFadyen J, Danielson E, et al. A randomized factorial trial of vitamins C and E and beta carotene in the secondary prevention of cardiovascular events in women: results from the Women's Antioxidant Cardiovascular Study. Arch Intern Med. 2007;167(15):1610-8.

131. Lee IM, Cook NR, Gaziano JM, Gordon D, Ridker PM, Manson JE, et al. Vitamin E in the primary prevention of cardiovascular disease and cancer: the Women's Health Study: a randomized controlled trial. Jama. 2005;294(1):56-65.
132. Yu SY, Zhu YJ, Li WG, Huang QS, Huang CZ, Zhang QN, et al. A preliminary report on the intervention trials of primary liver cancer in high-risk populations with nutritional supplementation of selenium in China. Biol Trace Elem Res. 1991;29(3):289-94.
133. Yu SY, Zhu YJ, Li WG. Protective role of selenium against hepatitis B virus and primary liver cancer in Qidong. Biol Trace Elem Res. 1997;56(1):117-24.
134. Zhu S, Mason J, Shi Y, Hu Y, Li R, Wahg M, et al. The effect of folic acid on the development of stomach and other gastrointestinal cancers. Chin Med J. 2003;116(1):15-9.
135. Berspalov VG, Shcherbakov AM, Kalinovskii VP, Novik VI, Chepik OF, Aleksandrov VA, et al. [Study of the antioxidant drug "Karinat" in patients with chronic atrophic gastritis]. Voprosy onkologii. 2004;50(1):81-5.
136. YV. B, BK. P, YP. K, VA. D-K, MA. S. The effects of certain vitamins and natural anti-oxidants on ornithine decarboxylase activity and on atrophic and premalignant changes in the human gastric mucosa. Dig Endosc. 1996;8(3):184-91.
137. Bussey HJ, DeCosse JJ, Deschner EE, Eyers AA, Lesser ML, Morson BC, et al. A randomized trial of ascorbic acid in polyposis coli. Cancer. 1982;50(7):1434-9.
138. Chuang CH, Sheu BS, Huang AH, Yang HB, Wu JJ. Vitamin C and E supplements to lansoprazole-amoxicillin-metronidazole triple therapy may reduce the eradication rate of metronidazole-susceptible Helicobacter pylori infection. Helicobacter. 2002;7(5):310-6.
139. De Stefani E, Ronco A, Mendilaharsu M, Deneo-Pellegrini H. Diet and risk of cancer of the upper aerodigestive tract--II. Nutrients. Oral Oncol. 1999;35(1):22-6.
140. De Stefani E, Deneo-Pellegrini H, Mendilaharsu M, Ronco A. Diet and risk of cancer of the upper aerodigestive tract--I. Foods. Oral Oncol. 1999;35(1):17-21.
141. De Stefani E, Brennan P, Boffetta P, Ronco AL, Mendilaharsu M, Deneo-Pellegrini H. Vegetables, fruits, related dietary antioxidants, and risk of squamous cell carcinoma of the esophagus: a case-control study in Uruguay. Nutr Cancer. 2000;38(1):23-9.
142. DeCosse JJ, Adams MB, Kuzma JF, LoGerfo P, Condon RE. Effect of ascorbic acid on rectal polyps of patients with familial polyposis. Surgery. 1975;78(5):608-12.
143. DeCosse JJ, Miller HH, Lesser ML. Effect of wheat fiber and vitamins C and E on rectal polyps in patients with familial adenomatous polyposis. J Natl Cancer Inst. 1989;81(17):1290-7.
144. Reed PI. The ECP-IM intervention study. Eur J Cancer Prev. 1994;3 Suppl 2:99-104.

145. van Zandwijk N, Dalesio O, Pastorino U, de Vries N, van Tinteren H. EUROSCAN, a randomized trial of vitamin A and N-acetylcysteine in patients with head and neck cancer or lung cancer. For the EUropean Organization for Research and Treatment of Cancer Head and Neck and Lung Cancer Cooperative Groups. J Natl Cancer Inst. 2000;92(12):977-86.
146. Frank E. The Women Physicians' Health Study: background, objectives, and methods. J Am Med Womens Assoc. 1995;50(2):64-6.
147. Greenberg ER, Baron JA, Stukel TA, Stevens MM, Mandel JS, Spencer SK, et al. A clinical trial of beta carotene to prevent basal-cell and squamous-cell cancers of the skin. The Skin Cancer Prevention Study Group. N Engl J Med. 1990;323(12):789-95.
148. Ishikawa H, Akedo I, Suzuki T, Otani T, Sobue T. Interventional trial for colorectal cancer prevention in Osaka: an introduction to the protocol. Jpn J Cancer Res. 1995;86(8):707-10.
149. Jacobs EJ, Connell CJ, Patel AV, Chao A, Rodriguez C, Seymour J, et al. Vitamin C and vitamin E supplement use and colorectal cancer mortality in a large American Cancer Society cohort. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2001;10(1):17-23.
150. Jansen MC, Bueno-de-Mesquita HB, Buzina R, Fidanza F, Menotti A, Blackburn H, et al. Dietary fiber and plant foods in relation to colorectal cancer mortality: the Seven Countries Study. Int J Cancer. 1999;81(2):174-9.
151. Ji BT, Chow WH, Gridley G, McLaughlin JK, Dai Q, Wacholder S, et al. Dietary factors and the risk of pancreatic cancer: a case-control study in Shanghai China. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 1995;4(8):885-93.
152. Kirk GR, White JS, McKie L, Stevenson M, Young I, Clements WD, et al. Combined antioxidant therapy reduces pain and improves quality of life in chronic pancreatitis. J Gastrointest Surg. 2006;10(4):499-503.
153. Krishnaswamy K, Prasad MP, Krishna TP, Pasricha S. A case control study of selenium in cancer. Indian J Med Res. 1993;98:124-8.
154. La Vecchia C. Tomatoes, lycopene intake, and digestive tract and female hormone-related neoplasms. Exp Biol Med (Maywood). 2002;227(10):860-3.
155. Lacroix A, Bhat PV, Karabatsos A, Couture P, Latreille J, Beaulieu R, et al. Plasma Levels of Retinol in Cancer Patients Supplemented with Retinol. Oncology. 1987;44(2):108-14.
156. Lanza E, Schatzkin A, Ballard-Barbash R, Corle D, Clifford C, Paskett E, et al. The polyp prevention trial II: dietary intervention program and participant baseline dietary characteristics. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 1996;5(5):385-92.

157. Schatzkin A, Lanza E, Freedman LS, Tangrea J, Cooper MR, Marshall JR, et al. The polyp prevention trial I: rationale, design, recruitment, and baseline participant characteristics. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 1996;5(5):375-83.

158. Lanza E, Schatzkin A, Daston C, Corle D, Freedman L, Ballard-Barbash R, et al. Implementation of a 4-y, high-fiber, high-fruit-and-vegetable, low-fat dietary intervention: results of dietary changes in the Polyp Prevention Trial. Am J Clin Nutr. 2001;74(3):387-401.

159. Levi F, Pasche C, Lucchini F, La Vecchia C. Selected micronutrients and colorectal cancer. a case-control study from the canton of Vaud, Switzerland. Eur J Cancer. 2000;36(16):2115-9.

160. Limburg PJ, Wei W, Ahnen DJ, Qiao Y, Hawk ET, Wang G, et al. Randomized, placebo-controlled, esophageal squamous cell cancer chemoprevention trial of selenomethionine and celecoxib. Gastroenterology. 2005;129(3):863-73.

161. Macrae F. Wheat bran fiber and development of adenomatous polyps: evidence from randomized, controlled clinical trials. Am J Med. 1999;106(1A):38S-42S.

162. Marotta F, Barretto R, Tajiri H, Bertuccelli J, Safran P, Bobadilla J, et al. Atrophic/metaplastic changes of gastric mucosa: a preliminary interventional trial comparing different antioxidant supplements. International Congress Series. 2003;1255:291-4.

163. Marotta F, Barreto R, Tajiri H, Bertuccelli J, Safran P, Yoshida C, et al. The aging/precancerous gastric mucosa: a pilot nutraceutical trial. Ann N Y Acad Sci. 2004;1019:195-9.

164. Mayne ST, Risch HA, Dubrow R, Chow WH, Gammon MD, Vaughan TL, et al. Nutrient intake and risk of subtypes of esophageal and gastric cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2001;10(10):1055-62.

165. Moriwaki H. Prevention of liver cancer: current strategies and future perspectives. Int J Clin Oncol. 2002;7(1):27-31.

166. Muto Y, Moriwaki H, Ninomiya M, Adachi S, Saito A, Takasaki KT, et al. Prevention of second primary tumors by an acyclic retinoid, polyprenoic acid, in patients with hepatocellular carcinoma. Hepatoma Prevention Study Group. N Engl J Med. 1996;334(24):1561-7.

167. Newsome PN, Beldon I, Moussa Y, Delahooke TE, Poulopoulos G, Hayes PC, et al. Low serum retinol levels are associated with hepatocellular carcinoma in patients with chronic liver disease. Aliment Pharmacol Ther. 2000;14(10):1295-301.

168. Nomura A, Heilbrun LK, Morris JS, Stemmermann GN. Serum selenium and the risk of cancer, by specific sites: case-control analysis of prospective data. J Natl Cancer Inst. 1987;79(1):103-8.

169. Pan WH, Wang CY, Huang SM, Yeh SY, Lin WG, Lin DI, et al. Vitamin A, Vitamin E or beta-carotene status and hepatitis B-related hepatocellular carcinoma. Ann Epidemiol. 1993;3(3):217-24.

170. Podmore ID, Griffiths HR, Herbert KE, Mistry N, Mistry P, Lunec J. Vitamin C exhibits pro-oxidant properties. Nature. 1998;392(6676):559.

171. Qu CX, Kamangar F, Fan JH, Yu B, Sun XD, Taylor PR, et al. Chemoprevention of primary liver cancer: a randomized, double-blind trial in Linxian, China. J Natl Cancer Inst. 2007;99(16):1240-7.

172. Rocchi E, Seium Y, Camellini L, Casalgrandi G, Borghi A, D'Alimonte P, et al. Hepatic tocopherol content in primary hepatocellular carcinoma and liver metastases. Hepatology. 1997;26(1):67-72.

173. Russo MW, Murray SC, Wurzelmann JI, Woosley JT, Sandler RS. Plasma selenium levels and the risk of colorectal adenomas. Nutr Cancer. 1997;28(2):125-9.

174. Sasazuki S, Sasaki S, Tsubono Y, Okubo S, Hayashi M, Kakizoe T, et al. The effect of 5-year vitamin C supplementation on serum pepsinogen level and Helicobacter pylori infection. Cancer science. 2003;94(4):378-82.

175. Simone F, Pappalardo G, Maiani G, Guadalaxara A, Bugianesi R, Conte AM, et al. Accumulation and interactions of beta-carotene and alpha-tocopherol in patients with adenomatous polyps. Eur J Clin Nutr. 2002;56(6):546-50.

176. Siriwardena AK, Mason JM, Balachandra S, Bagul A, Galloway S, Formela L, et al. Randomised, double blind, placebo controlled trial of intravenous antioxidant (n-acetylcysteine, selenium, vitamin C) therapy in severe acute pancreatitis. Gut. 2007;56(10):1439-44.

177. Takashashi Y, Sasaki S, Takahashi M, Okubo S, Hayashi M, Tsugane S. A population-based dietary intervention trial in a high-risk area for stomach cancer and stroke: changes in intakes and related biomarkers. Preventive medicine. 2003;37(5):432-41.

178. Terry P, Lagergren J, Ye W, Nyren O, Wolk A. Antioxidants and cancers of the esophagus and gastric cardia. Int J Cancer. 2000;87(5):750-4.

179. Weisburger JH. Nutritional approach to cancer prevention with emphasis on vitamins, antioxidants, and carotenoids. Am J Clin Nutr. 1991;53(1):226S-37S.

180. Whelan RL, Horvath KD, Gleason NR, Forde KA, Treat MD, Teitelbaum SL, et al. Vitamin and calcium supplement use is associated with decreased adenoma recurrence in patients with a previous history of neoplasia. Dis Colon Rectum. 1999;42(2):212-7.
181. Yang CS. Vitamin nutrition and gastroesophageal cancer. J Nutr. 2000;130(2S Suppl):338S-9S.
182. Yu MW, Hsieh HH, Pan WH, Yang CS, CJ CH. Vegetable consumption, serum retinol level, and risk of hepatocellular carcinoma. Cancer Res. 1995;55(6):1301-5.
183. Yu MW, Horng IS, Hsu KH, Chiang YC, Liaw YF, Chen CJ. Plasma selenium levels and risk of hepatocellular carcinoma among men with chronic hepatitis virus infection. Am J Epidemiol. 1999;150(4):367-74.
184. Zheng W, Sellers TA, Doyle TJ, Kushi LH, Potter JD, Folsom AR. Retinol, antioxidant vitamins, and cancers of the upper digestive tract in a prospective cohort study of postmenopausal women. Am J Epidemiol. 1995;142(9):955-60.
185. Panel on Micronutrients, Subcommittees on Upper Reference Levels of Nutrients and of Interpretation and Use of Dietary Reference Intakes, and the Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes. Institute of Medicine, Food and Nutrition Board. Dietary reference intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. National Academy Press, Washington DC 2000:1–800.
186. Panel on Dietary Antioxidants and Related Compounds, Subcommittees on Upper Reference Levels of Nutrients and Interpretation and Uses of DRIs, Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes, Food and Nutrition Board. Institute of Medicine. Dietary reference intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids. National Academy Press, Washington, DC 2000:1–529.
187. European Commission Scientific Committee on Food. Opinion of the Scientific Committee on Food on the Tolerable Upper Intake Level of Vitamin E. 2003.
188. Ma JL, Zhang L, Brown LM, Li JY, Shen L, Pan KF, et al. Fifteen-year effects of Helicobacter pylori, garlic, and vitamin treatments on gastric cancer incidence and mortality. J Natl Cancer Inst. 2012;104(6):488-92.
189. Lai GY, Weinstein SJ, Taylor PR, McGlynn KA, Virtamo J, Gail MH, et al. Effects of alpha-tocopherol and beta-carotene supplementation on liver cancer incidence and chronic liver disease mortality in the ATBC study. Br J Cancer. 2014;111(12):2220-3.

190. Wang J-B, Abnet CC, Fan J-H, Qiao Y-L, Taylor PR. 26 Year Follow-up of the Randomized Linxian Dysplasia Nutrition Intervention Trial: No Effect of Multivitamin Supplementation on Mortality. JAMA Intern Med. 2013;173(13):1259-61.
191. Lippman SM, Klein EA, Goodman PJ, Lucia MS, Thompson IM, Ford LG, et al. Effect of selenium and vitamin E on risk of prostate cancer and other cancers: the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial (SELECT). Jama. 2009;301(1):39-51.
192. Fleshner NE, Kapusta L, Donnelly B, Tanguay S, Chin J, Hersey K, et al. Progression from high-grade prostatic intraepithelial neoplasia to cancer: a randomized trial of combination vitamin-E, soy, and selenium. J Clin Oncol. 2011;29(17):2386-90.
193. Gaziano JM, Sesso HD, Christen WG, Bubes V, Smith JP, MacFadyen J, et al. Multivitamins in the prevention of cancer in men: the Physicians' Health Study II randomized controlled trial. Jama. 2012;308(18):1871-80.
194. Wang Z, Joshi AM, Ohnaka K, Morita M, Toyomura K, Kono S, et al. Dietary intakes of retinol, carotenes, vitamin C, and vitamin E and colorectal cancer risk: the Fukuoka colorectal cancer study. Nutr Cancer. 2012;64(6):798-805.
195. Basu PP, Shah NJ, Aloysius MM, Brown Jr RS. Effect of Vitamin E and Alpha Lipoic Acid in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Randomized, Placebo-Controlled, Open-Label, Prospective Clinical Trial (VAIN Trial). Open Journal of Gastroenterology. 2014;2014.
196. Ravn-Haren G, Bugel S, Krath BN, Hoac T, Stagsted J, Jorgensen K, et al. A short-term intervention trial with selenate, selenium-enriched yeast and selenium-enriched milk: effects on oxidative defence regulation. Br J Nutr. 2008;99(4):883-92.
197. Lukic M, Segec A, Segec I, Pinotic L, Pinotic K, Atalic B, et al. The impact of the vitamins A, C and E in the prevention of gastroesophageal reflux disease, Barrett's oesophagus and oesophageal adenocarcinoma. Coll Antropol. 2012;36(3):867-72.
198. Thompson P, Roe DJ, Fales L, Buckmeier J, Wang F, Hamilton SR, et al. Design and baseline characteristics of participants in a phase III randomized trial of celecoxib and selenium for colorectal adenoma prevention. Cancer Prev Res (Phila). 2012;5(12):1381-93.
199. Myung SK, Yang HJ. Efficacy of Vitamin and Antioxidant Supplements in Prevention of Esophageal Cancer: Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. J Cancer Prev. 2013;18(2):135-43.
200. Pais R, Dumitrascu DL. Do antioxidants prevent colorectal cancer? A meta-analysis. Rom J Intern Med. 2013;51(3-4):152-63.
201. Evans D. Hierarchy of evidence: a framework for ranking evidence evaluating healthcare interventions. J Clin Nurs. 2003;12(1):77-84.

202. Loewen P. Evidence - Based Pharmacotherapy. A practical Guide for pharmacists 2003. American Pharmacists Association. 2007.

203. Uman LS. Systematic Reviews and Meta-Analyses. J Can Acad Child Adolesc Psychiatry. 2011;20(1):57-9.

204. Bairati I, Meyer F, Gelinas M, Fortin A, Nabid A, Brochet F, et al. A randomized trial of antioxidant vitamins to prevent second primary cancers in head and neck cancer patients. J Natl Cancer Inst. 2005;97(7):481-8.

8. SAŽETAK

Cilj istraživanja: Pronaći najbolje dostupne dokaze o djelotvornosti i sigurnosti antioksidansa u prevenciji karcinoma probavnog trakta.

Materijal i metode: Na stranici Cochrane knjižnice pronađen je sustavni pregled *„Antioxidant supplements for preventing gastrointestinal cancers“* na kojem se temeljilo daljnje istraživanje. Potom su pretražene baze podataka MEDLINE (PubMed), DARE i CENTRAL s ciljem pronalaska novih randomiziranih kontroliranih pokusa i sustavnih pregleda, a prema ulaznim i izlaznim kriterijima navedenima u Cochrane sustavnom pregledu. Nakon pretraživanja literature Cochrane sustavni pregled i novi pronađeni sustavni pregledi su ocijenjeni koristeći R-AMSTAR obrazac.

Rezultati: Prema Cochrane sustavnom pregledu, antioksidansi nisu imali značajne učinke na smrtnost u modelu meta-analize slučajnih učinaka (RR 1,02, 95% CI 0,97-1,07, I2 = 53,5%), ali su znatno povećali smrtnost u modelu meta-analize fiksnih učinaka (RR 1,04, 95% CI 1,02-1,07). Beta-karoten u kombinaciji s vitaminom A(RR 1,16, 95% CI 1,09-1,23) i vitaminom E (RR 1.06, 95% CI 1,02-1,11) znatno povećava smrtnost. Povećano žutilo kože i podrigivanje su bezopasne nuspojave beta-karotena. U pet studija (četiri s visokim rizikom od pristranosti), selen je pokazao značajan blagotvoran učinak na pojavu gastrointestinalnog raka (RR 0,59, 95% CI 0,46-0,75, I2 = 0%). Pronašli smo još dva RCT. U jednoj studiji nije bilo statistički značajne redukcije raka debelog crijeva (HR, 0.89; 95% CI 0.68-1.17, p = 0,39) niti raka gušterače (HR, 1,19; 95% CI, 0.76- 1,85; P = 0,45). Ukupna smrtnost nije značajno smanjena (HR, 0,94; 95% CI, 0,88-1,02; P = 0,13). Ispitanici koji su uzimali aktivnu tvar u odnosu na placebo multivitamina bili su skloniji osipu na koži (2,111 i 1,973 muškaraca u odgovarajućim aktivnim i placebo skupinama; HR, 1,08; 95% CI, 1.01-1.15, p = 0,016). U drugoj studiji je izvješteno o povećanom riziku od dijabetesa tipa 2 u kraku sa selenom, koji nije bio značajan (P = 0,16; 1,07; RR = 99% CI, 0,94-1,22) te je umanjen u drugom izvještaju od ove studije (HR: 1.04; 99% CI: 0.93–1.17). Nije bilo značajne razlike među skupinama tretmana za rak debelog crijeva za selen, vitamina E ili njihovu kombinaciju. Cochrane sustavni pregled je prema R-AMSTAR procjeni ocijenjen s 40 bodova. Pronađena su još dva sustavna pregleda, koja su ocijenjena s 29 i 24 boda. Ova dva sustavna pregleda su dala iste zaključke kao i Cochrane sustavni pregled iako su se razlikovali u kvaliteti. Sustavni pregled ocijenjen s 29 bodova pokazao je da dodaci antioksidansa nemaju učinka u prevenciji raka jednjaka. Sustavni pregled ocijenjen s 24 boda pokazao je da dodaci antioksidansa nisu imali značajan učinak na pojavnost kolorektalnog karcinoma niti na ukupnu smrtnost.

Zaključak: Na temelju pregledanih sustavnih pregleda i randomiziranih kontroliranih pokusa nisu se uspjeli naći uvjerljivi dokazi o upotrebi dodataka antioksidansa u prevenciji karcinoma gastrointestinalnog trakta. Upravo suprotno, čini se da dodaci antioksidansa povećavaju ukupnu smrtnost. Potencijalni preventivni učinak selena bi se trebao podrobnije ispitati na odgovarajućoj populaciji i u odgovarajuće provedenim randomiziranim pokusima.

9. SUMMARY

Diploma Thesis Title: Finding evidence of efficacy and safety of antioxidant supplements for preventing gastrointestinal cancers: systematic review approach

Objectives: Finding the best available evidence of efficacy and safety of antioxidant supplements for preventing gastrointestinal cancers.

Material and Methods: „Antioxidant supplements for preventing gastrointestinal cancers" systematic review was found by searching the Cochrane Library website. Further, we searched MEDLINE (PubMed), DARE and CENTRAL databases in order to find new randomised controlled trials and systematic reviews, following the same criteria that were used in Cochrane systematic review. After the search for studies was done, we made quality assessment of all systematic reviews using R-AMSTAR tool.

Results: According to Cochrane systematic review, antioxidant supplements were without significant effects on gastrointestinal cancers (RR 0.94, 95% CI 0.83 to 1.06). However, there was significant heterogeneity (I(2) = 54.0%, P = 0.003). The heterogeneity may have been explained by bias risk (low-bias risk trials RR 1.04, 95% CI 0.96 to 1.13 compared to high-bias risk trials RR 0.59, 95% CI 0.43 to 0.80; test of interaction P < 0.0005), and type of antioxidant supplement (beta-carotene potentially increasing and selenium potentially decreasing cancer risk). The antioxidant supplements had no significant effects on mortality in a random-effects model meta-analysis (RR 1.02, 95% CI 0.97 to 1.07, I(2) = 53.5%), but significantly increased mortality in a fixed-effect model meta-analysis (RR 1.04, 95% CI 1.02 to 1.07). Beta-carotene in combination with vitamin A (RR 1.16, 95% CI 1.09 to 1.23) and vitamin E (RR 1.06, 95% CI 1.02 to 1.11) significantly increased mortality. Increased yellowing of the skin and belching were non-serious adverse effects of beta-carotene. In five trials (four with high risk of bias), selenium seemed to show significant beneficial effect on gastrointestinal cancer occurrence (RR 0.59, 95% CI 0.46 to 0.75, I(2) = 0%). We found two more RCTs. In one study there were statistically non-significant reductions in colorectal (HR, 0.89; 95% CI, 0.68–1.17; P=0.39) and pancreatic cancer (HR, 1,19; 95% CI, 0.76-1.85; P=0.45). Total mortality was not significantly reduced (HR, 0.94; 95% CI, 0.88–1.02; P=0.13). Those taking the active versus placebo multivitamin use were more likely to have skin rashes (2,111 and 1,973 men in corresponding active and placebo multivitamin groups; HR, 1.08; 95% CI, 1.01–1.15; P=0.016). In the other study, there were nonsignificant increased risks of Type 2 diabetes mellitus in the selenium arm (p=0.16; RR=1.07; 99% CI, 0.94–1.22). However, this slight increase was diminished in the second report (HR: 1.04; 99%

CI: 0.93–1.17) There were no significant differences among treatment groups for colorectal cancer for selenium, vitamin E or their combination. Total R-AMSTAR score for Cochrane systematic review was 40. Two more systematic reviews were found. R-AMSTAR total score for them was 29 and 24. These two systematic reviews give the same conclusions as the Cochrane systematic review, although they differ in quality. A systematic review evaluated with 29 points showed that antioxidant supplements had no effect in the prevention of esophageal cancer. A systematic review evaluated with 24 points showed that antioxidant supplements had no significant effect on the incidence of colorectal cancer or in total mortality.

Conclusion: Based on the reviewed systematic reviews and randomised controlled trials, convincing evidence that antioxidant supplements prevent gastrointestinal cancers could not be found. On the contrary, antioxidant supplements seem to increase overall mortality. The potential cancer preventive effect of selenium should be tested in adequately conducted randomised trials on appropriate type of population.