Pronalaženje dokaza o djelotvornosti i sigurnosti antioksidansa u pacijenata s oboljelom jetrom

Čule, Paško

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:167:598154

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

Paško Čule

PRONALAŽENJE DOKAZA O DJELOTVORNOSTI I SIGURNOSTI ANTIOKSIDANSA U PACIJENATA S OBOLJELOM JETROM: „SUSTAVNI“ PREGLED LITERATURE

Diplomski rad

Akademska godina: 2015

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

Split, listopad 2015.

SVEUČILIŠTE U SPLITU

KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

I

MEDICINSKI FAKULTET

Paško Čule

PRONALAŽENJE DOKAZA O DJELOTVORNOSTI I SIGURNOSTI ANTIOKSIDANSA U PACIJENATA S OBOLJELOM JETROM: „SUSTAVNI“ PREGLED LITERATURE

Diplomski rad

Akademska godina: 2015

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

Split, listopad 2015.

SADRŽAJ

1. Uvod....1
1.1. Slobodni radikali i reaktivni oblici kisika....2
1.2. Antioksidansi i mehanizmi njihova djelovanja....3
1.3. Enzimski i nenzimski antioksidansi....6
1.4. Oksidacijski stres i bolesti jetre....10
2. Cilj istraživanja....16
3. Materijali i metode....18
3.1. Kriteriji odabira studija za Cochrane sustavni pregled....20
3.2. Metode pretraživanja za identifikaciju studija....21
3.3. Prikupljanje podataka....22
3.3. Analiza podataka....22
3.4. Procjena kvalitete sustavnih pregleda....25
4. Rezultati....33
4.1. Rezultati Cochrane sustavnog pregleda....34
4.1.1. Opis studija....34
4.1.2. Rizik od pristranosti u uključenim studijama....62
4.1.3. Učinci intervencije....63
4.2. Pretraživanje literature objavljene nakon Cochrane sustavnog pregleda....66
4.2.1. Pretraživanje baza MEDLINE (PubMed) i CENTRAL za randomizirane kontrolirane pokuse (RCT)....66
4.2.2. Pretraživanje baza DARE i MEDLINE (PubMed) za sustavne preglede....67
4.3. R-AMSTAR procjena sustavnih pregleda....68
5. Rasprava....70
6. Zaključak....74
7. Popis citirane literature....76
8. Sažetak....89
9. Summary....92
10. Životopis....95

1. Uvod

Prehrana i prehrambene navike su već odavno prepoznate kao važne sastavnice čovjekova zdravlja. Njihov utjecaj na pobol i smrtnost, te na produljenje očekivanog životnoga vijeka predmet su brojnih znanstvenih istraživanja (1). Zbog toga mnogi dodatci prehrani postaju sve popularniji među općom populacijom. Većina ljudi ih uzima zbog konvencionalnih uvjerenja da vitamini i minerali mogu pozitivno djelovati na zdravlje i kvalitetu života (2), ali i zbog tvrdnji samih proizvođača koje u većini slučajeva nemaju znanstveno uporište (pogotovo one koje se odnose na dobrobit za zdravlje) (3, 4). Stoga bi regulatorne agencije za lijekove trebale sagledati vitamine i antioksidanse kao medicinske proizvode, te striktno utvrditi njihovu efikasnost i sigurnost prije njihova puštanja u prodaju (5). Konkretno ovaj rad će se baviti analizom literature o djelotvornosti i sigurnosti primjene antioksidansa u pacijenata s oboljelom jetrom.

1.1. Slobodni radikali i reaktivni oblici kisika

Slobodne radikale možemo definirati kao atome ili molekule koji u zadnjoj ljusci imaju jedan ili više nesparenih elektrona, što je uzrok njihove izrazite reaktivnosti (6). Dok termin reaktivni oblici kisika (engl. reactive oxygen species, ROS) obuhvaća sve slobodne radikale kisika koji nastaju kao produkt nepotpune redukcije kisika uglavnom u mitohondrijima. U reaktivne oblike kisika ubrajamo radikalne oblike: superoksidni anion (O_2^{0-}), hidroksilni radikal (^0OH); i neradikalne oblike: vodikov peroksid (H_2O_2), singletnikisik ($^1O_2$) (7, 8). Najpotentniji i najagresivniji oksidans prvenstveno odgovoran za oksidacijsko oštećenje DNA baza je hidroksilni radikal (^0OH), koji ima relativno kratko vrijeme poluživota. Najpoznatija reakcija nastajanja hidroksilnog radikala je Haber-Weissova reakcija u kojoj reagiraju molekula H_2O_2 i O_2^{0-}. Ova reakcija može biti ubrzana uvođenjem tranzicijskih metala bakara i željeza (Fentonova reakcija), gdje reducirani oblik željeza (Fe^{2+}) ili bakra daje elektron molekuli H_2O_2. Superoksidni anion je odgovoran za održavanje zaliha reduciranih metala (7, 9). Mehanizam nastanka hidroksilnog radikala je prikazana kemijskim formulama:

$$H_2O_2 + O_2^{0-} \rightarrow {}^0OH + OH^- + O_2 \qquad \text{(Haber-Weissova reakcija)}$$

$$Fe^{3+} + O_2^{0-} \rightarrow Fe^{2+} + O_2$$

$$H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow {}^0OH + OH^- + Fe^{3+} \qquad \text{(Fentonova reakcija)}$$

Povećane količine ROS-a mogu imati štetne učinke na mnoge molekule, uključujući proteine, lipide, RNK i DNK (10). Dotaknut ću se peroksidacije lipida reaktivnim oblicima kisika. Peroksidacija lipida može biti općenito opisana kao proces u kojem oksidansi, radikalni ili neradikalni oblici, napadaju lipide koji sadrže ugljik-ugljik dvostruku veze (tzv. alilne grupe), a posebno polinezasićene masne kiseline u membranama fosfolipida (PUFAs). Dolazi do prijenosa alilnog vodika, tj. vodika sa centralnog atoma ugljika u alilnoj grupi ($H_2C = CH - CH_2R$), na hidroksilni radikal i formiranja lipidnog radikala (L^0). L^0 brzo reagira s kisikom formirajući lipidperoksilni radikal (LOO^0) koji prima vodik s druge lipidne molekule formirajući novi L^0 i lipid hidroperoksid ($LOOH$). Na taj način dolazi do oštećenja funkcije staničnih organela i narušene permeabilnoti stanične membrane (5, 9). Najvažnije reakcije koje se događaju tijekom procesa lipdine peroksidacije shematski su prikazane formulama:

$LH + {}^0OH \rightarrow H_2O + L^0$ (nastajanje lipidnog radikala)

$L^0 + O_2 \rightarrow LOO^0$ (nastajanje lipidperoksilnog radikala)

$LOO^0 + LH \rightarrow LOOH + L^0$ (nastajanje lipid hidroperoksida i širenje reakcije)

$LOOH \xrightarrow{Fe} LO^0 + {}^0OH$ ($LOOH$ se razgrađuje na alkoksilni radikal i hidroksilini radikal što dovodi do daljnjeg širenja peroksidacije)

Kako vidimo nekontrolirana produkcija ROS-a može rezultirati velikom štetom po naš organizam, pa ni ne čudi što je organizam razvio vlastit sustav obrane od štetnih utjecaja koji katkad treba vanjsku potporu.

1.2. Antioksidansi i mehanizmi njihova djelovanja

Prije nego se definiraju antioksidansi i njihovi mehanizmi djelovanja, potrebno je razjasniti pojmove vezane za razumijevanje ove problematike: elektrofili, nukleofili, oksidansi, reducensi, pro-oksidanas i antioksidans. Elektrofili su molekule koje uzimaju elektrone od drugih molekula, koje nazivamo nukleofili. Oksidansi su elektrofili koji uzimaju elektrone od nukleofila, pri čemu se nukleofil oksidira, a on sam reducira, dok su reducensi nukleofili koji rado daju elektrone elektrofilima, pri čemu se elektrofil reducira, a on sam oksidira (9, 11).

Kako vidimo termini elektrofil, nukleofil, oksidanas i reducens su kemijski, dok termine antioksidans i pro-oksidans moramo promatrati u okviru biološkog sustava. Antiokisdans se može definirati kao tvar koja prisutna u vrlo maloj koncentraciji u usporedbi

sa supstratom podložnim oksidaciji, značajno odgađa ili sprječava oksidaciju tog supstrata iniciranu pro-okisidansom. Pro-oksidans je toksična tvar koja može prouzrokovati oksidacijsko oštećenje lipida, proteina i nukleinskih kiselina, rezultirajući raznim patološkim stanjima. Stoga, pojednostavljeno možemo reći da pro-oksidans izaziva oksidativno oštećenje, koje se u prisutnosti antioksidansa inhibira (12).

Mehanizme djelovanja antioksidansa možemo podijeliti u dvije grupe:

- Mehanizam razbijanja lančane reakcije. Nakon što je inicirajući radikal nastao, reagira s različitim susjednim molekulama tvoreći drugi radikal i tako inicirati štetnu lančanu reakciju. Antioksidansi blokiraju proces oksidacije neutralizacijom ili čišćenjem slobodnih radikala. Kao rezultat čišćenja slobodnih radikala, sam antioksidans se oksidirao. Stoga izvori antioksidansa u našem tijelu moraju bit stalno obnavljani.
  a) Inhibicija lančane reakcije slobodnih radikala kao rezultat čišćenja inicirajućih radikala
  b) Inhibicija lančane reakcije slobodnih radikala kao rezultat čišćenja peroksil radikala $[(ROO)^0]$
  c) Inhibicija lančane reakcije slobodnih radikala kao rezultat čišćenja alkil radikala (R^0)
- Preventivni mehanizam. Antioksidansi mogu spriječiti pojavu inicirajući radikal i na taj način spriječiti da se uopće pokrene lančana reakcija slobodnih radikala.
  a) Vezivanje (keliranje) prijelaznih metala
  b) Inhibicija enzimskih sustava odgovorih za nakupljanje slobodni radikala
  c) Redukcija vodikova peroksida i organskih hidroperoksida (13)

Inhibicija lančane reakcije slobodnih radikala kao rezultat čišćenja inicirajućih radikala se uglavnom temelji na superoksidu. Superoksid (O_2^{0-}) je utvrđen kao mogući inicijator lančanih reakcija. Superoksid dismutaza i askorbinska kiselina (vitamin C) su izrazito potentni inhibitori ovog mehanizma (13, 14) (vidi dalje u tekstu).

$$RH_3^- + O_2^{0-} + 2H^+ \rightarrow RH_3^0 + H_2O_2$$
$$RH_3^0 + O_2 \rightarrow RH_2 + O_2^{o-} + H^+$$
$$RH_2 + O_2^{0-} + H \rightarrow RH^0 + H_2O_2$$

Inhibicija lančane reakcije slobodnih radikala kao rezultat čišćenja peroksil radikala se temelji na vitaminu E i raznim flavonoidima kao antioksidanisma. Fenolni i polifenolni reaktanti (antioksidansi) kao donori vodika mogu reagirati s peroksil radikalom $[(ROO)^0]$

tvoreći hidroperksid, no bez prisutnosti antioksidansa $(ROO)^0$ potiče lanačanu oksidaciju slobodnim radikalima. Reakcije su prikazane shematski kemijskim formulama:

$$ROO^0 + PhOH \rightarrow ROOH + PhO^0$$

$$ROO^0 + RH \rightarrow ROOH + R^0$$

$$R^0 + O - O \rightarrow ROO^0$$

Nastali fenoksi radikali (PhO^0) su vrlo stabilni intermedijeri koji u normalnim uvjetima ne mogu biti uključeni u prikazanu lančanu oksidaciju slobodnim radikalima (13).

Inhibicija lančane reakcije slobodnih radikala kao rezultat čišćenja alkil radikala (R^0) se temelji na alkil radikalu koji nastaje kao nusprodukt gore prikazane lančane reakcije. Inače lipidni alkil radikal sudjeluje u lipidnoj peroksidaciji (13).

Vezivanje (keliranje) se temelji na reakciji vodikovog peroksida(H_2O_2) s ionima željeza (Fe^{2+}) ili bakrovim (Cu^{2+}) što može dovesti do nakupljanja hidroksil radikal (^0OH), a reakcija je još poznata kao Fentonova reakcija:

$$H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow {}^0OH + {}^-OH + Fe^{3+}$$

Flavonoidi su se pokazali kao izrazito potentni antioksidansi ovog mehanizma jer imaju mogućnost da reagiraju sa ionima željeza u krvi i tkivima (13).

Inhibicija enzimskih sustava odgovorih za nakupljanje slobodni radikala se temelji na inhibiciji oksidoreduktaza. To su prooksidativni enzimi koji mogu biti odgovorni za međustaničnog tkiva i hiperprodukciju slobodnih radikala u međustaničnom prostoru i tkivima. U njih ubrajamo ksantin oksidaze, NADPH-oksidaze, mijeloperoksidaze, NO-sintaze (13).

Redukcija vodikova peroksida i organskih hidroperoksida se temelji aktivnosti katalaze i glutation peroksidaze. Maksimalna aktivnost katalaze se postoji samo pri povišenoj razini H_2O_2, uglavnom u peroksisomima, dok u drugim subcelularnim prostorima glavni čistač H_2O_2 je glutation peroksidaza. Osim toga, glutation peroksidaza posjeduje širok spektar specifičnosti prema supstratima pa tako katalizira redukciju dva elektrona raznih peroksida, uključujući hidroperokside polinezasićenih masnih kiselina (PUFA) (13, 15).

$$ROOH + 2GSH \rightarrow GSSG + ROH + H_2O$$

1.3. Enzimski i nenzimski antioksidansi

Endogene antioksidanse koje nalazimo u stanicama još možemo podijeliti na enzimske i neenzimske (metaboličke i one iz hrane) (16).

Glavni enzimski antioksidansi uključeni u neutralizaciju ROS-a su: superoksid dismutaza (SOD), katalaza (CAT), glutation peroksidaza (GPx), glutation reduktaza (GR) . Superoksid dusmutaza (SOD), prva linija obrane od slobodnih radikala, katalizira dismutaciju superoksidnog radikala na molekulu kisika (oksidacija) i H_2O_2 (redukcija). Formirani oksidanas (H_2O_2) se pretvara u vodu i kisik pomoću katalaze (CAT) i glutation peroksidaze (GPx). GPx katalizira razgradnju H_2O_2 koristeći reduciranog glutationa (GSH) kao donor vodika, pri čemu on prelazi u okisidirani glutation (GSSG) (17). Navedeni mehanizmi su shematski prikazani kemijskim formulama:

$$O_2^{0-} + O_2^{0-} + 2H^+ \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2$$ (reakcija dismutacije superoksid radikala)

$$2H_2O_2 \xrightarrow{CAT} 2H_2O + O_2$$

$$H_2O_2 + 2GSH \xrightarrow{GPx} GSSG + 2H_2O$$

Superoksid dismutaza (SOD) je prisutan u tri izoforme koje se međusobno razlikuju po smještaju u stanici i vrsti metalnog iona kojeg sadrže u svom aktivnom centru. Izoenzim Cu/ZnSOD se uglavnom nalazi u citosolu, ali ga također ima i u nukleusu, lizosomima i peroksisomima (18). MnSOD se nalazi u matriksu mitohondrija (19), po građi je tetramer sa jednim Mn^{3+} po monomeru (20), a vrijeme poluživota u serumu je 5-6 sati, za razliku od Cu/ZnSOD-a kojemu je vrijeme poluživota 6-10 min (21). EcSOD (ekstracelularni) izoenzim se nalazi u izvanstaničnoj tekućini, sadrži ione Cu i Zn, po građi je homotetramer sastavljen od dva dimera povezana disulfidnim vezama (22). Ovakvom raspodjelom izoenzima unutar i van stanice omogućava se brzo uklanjanje superoksidnog radikala na mjestu njegova nastanka.

Katalaza (CAT) je primarno intracelularni enzim, a najveća mu je koncentracija u eritrocitima i jetri (23). Građom je tetramerni protein, gdje svaka podjedinica (monomer) u svom aktivnom centru ima hem skupinu i čvrsto vezanu molekulu NADPH (24). Glavna funkcija katalaze brzo prevođenje H_2O_2 u vodu i kisik. Pri dužem izlaganju katalaze H_2O_2, na katalazu vezani NADPH prelazi u oksidirani oblik $NADP^+$ i aktivnost CAT-a pada na 1/3 početne aktivnosti (25).

Glutation peroksidaza (GPx) je opći naziv za porodicu izoenzima koji kataliziraju redukciju H2O2 ili organski peroksida do vode ili odgovarajućeg alkohola koristeći reducirani (GSH) kao donor elektrona (H2O2 + 2GSH ---> GS-SG + 2H2O). GPx se ubraja u selenoenzime jer njihova aktivnost ovisi u prisutnosti selena u aktivnom centru. U tkivu sisavac postoje četiri glavne vrste seleno ovisnih izoenzima: GPx1 ili klasični (prvi otkriven), pronađen u eritrocitima, jetri, plućima i bubrezima; GPx2 ili gastrointestilani; GPx3 ili plazmatski, prisutan u raznim organima kao što su bubrezi, pluća, epididimis, placenta, srce i mišići; GPx4 ili fosfolipidni, široko rasprostranjen u raznim tkivima. GPx1, GPx2 i GPx3 su po građi homotetrameri, dok je GPx4 funkcionalni monomer (26, 27).

Glutation redukaza (GR) je flavoproteisnki, izoformni enzim. Građom je stabilni homodimer s vezivnim mjestom za FAD i NADPH. Funkcijski možemo reći da je GRx NADPH:GSSG oksidoreduktaza. Kao enzim ima tri suspstrata (NADPH, H+ i GSSG) i dva produkta (2GSH). NADPH služi kao izvor energije. Glavna zadaća ovog enzima je zadržati smanjenu koncentraciju unutarstaničnog miljea održavajući visoke GSH i niske GSSG razine (28).

$$NADPH + H^+ + GSSG \xrightarrow{GR} 2GSH + NADP^+$$

Neenzimski antioksidansi su podijeljeni u metaboličke antioksidanse i antioksidanse iz hrane. Metabolički antioksidansi, pripadaju endogenim antioksidansima, produkt su metaboličkih reakcija u tijelu, a oni su lipoična kiselina, glutation, koenzim Q10, mokraćna kiselina, bilirubin, melantonin, L-arginin (29)… Dok antioksidansi iz hrane, pripadaju egzogenim antioksidansima, su spojevi koji se ne mogu proizvesti u organizmu pa stoga moraju biti uneseni putem hrane ili dodataka prehrani, kao što su vitamin E, vitamin C, karotenoidi, metali u tragovima (selen, magneziji, cink), flavonoidi, itd (16). Antioksidansi iz hrane su se pokazali da su uključeni u detoksifikaciju organizma od reaktivnih oblika kiska (ROS) (30) i da su važni u pomaganju endogenim antioksidansima u neutralizaciji oksidativnog stresa (31).

Lipoična kiselina (LA) je amfifilna molekula, koja postoji u oksidiranom obliku (alfa-LA) i reduciranom obliku (DHLA). Organizam je može sam sintetizirati iz masnih kiselina i cisteina, ali u malim količinama, stoga je potrebno je unijeti egzogeno (32, 33). Zbog svoje amfiflinosti nalazimo je u citosolu, plazma membranama, serumu i lipoproteinima (vodene i lipidne sastavnice krvi) (34). Glavna uloga LA kao antioksidansa je „čišćenje“

slobodnih radikal, regeneracija endogenih antikosidanasa (glutation, vitamin E i C), te keliranje aktivnih metala (35, 36).

Glutation (GSH) je najobilniji unutar stanični tiol tripeptidne strukture. GSH pruža jednu od glavnih obrana organizma od unutarstaničnog oksidativnog stresa, tijekom koje neprekidno prelazi u okisdirano stanje (GSSG) te se ponovno obnavlja već spomenutim reakcijama. Njegova koncentracija u stanicama se mjeri u mM, za razliku od GSSG čija se koncentracija mjeri u μM. Omjer GSH/GSSG je dobar mjera oksidativnog stresa (37-39).

Koenzim Q10 član je obitelji ubikvinona, topljiv je u lipidima i predstavlja prvu liniju antioksidacijske obrane u lipoproteinima. Osim svog izravnog učinka, značajan je i zbog uloge u obnavljanju vitamina E u lipidnom mediju (40, 41).

Mokraćna kiselina je relativno vodotopljiv proizvod katabolizma purinskih baza. Prisutna je u ljudskoj plazmi (uralni monoanion) u visokim koncentracijama. To je posljedica nedostatka enzima urat oksidaze (urikaze), kojeg su ljudi izgubili tijekom evolucije. Mokraćna kisleina može vezati metalne ione, te reducirati slobodne radikale u redoks reakciji, pri čemu se sama oksidira a obnavlja pomoću vitamina C. Budući da sama ne sudjeluje u obnavljanju vitamina E, njezino trošenje vitamina C može imati potencijalno štetni učinak (40, 42, 43).

Bilirubin je proizvod metabolizma hema, nalazimo ga u plazmi vezanog za albumin. Zadaća mu je redukcija slobodnih radikala, ali osim toga sudjeluje u obnavljanju vitamina E. Pri toj reakciji se okisidira u biliverdin, a obnavlja pomoću biliverdin reduktaze i NAPDH (40, 44).

Vitamin C (askorbinska kiselina) je vodotopljivi antioksidans smješten u citosolu i izvanstaničnoj tekućini. Smatra se prvom linijom obrane od slobodnih radikala u ljudskoj plazmi. Njegov antioksidativni učinak se očituje u tom što posjeduje mogućnost zaštite od perokisdacije lipida kao „čistač“ ROS-a ili kao donor elektrona u obnovi reduciranog oblika vitamina E. Ljudi i drugi primati su izgubili mogućnost sinteze askorbinske kiseline, stoga su primorani taj deficit nadoknaditi izvorima iz hrane (42, 45, 46).

Melatonin je derivat serotonina kojeg proizvodi epifiza, ali i također u manjoj mjeri mrežnica, probavni trakt i koštana srž. Njegov antioksidacijski potencijal leži u tome što ima mogućnost napada i ROS i RNS. Kao čistač slobodnih radikala može vezati dva hidroksil radikala, pri čemu nastaje ciklički 3-hidroksimelantonin kao produkt koji se izlučuje urinom.

Nadalje, melatonin povećava razinu enzimskih antioksidansa povećanjem razine glasničke RNA i γ-gultamilcistein sintaze, čime se intenzivira stvaranje glutationa i glutation peroksidaze (47).

Vitamin E (alfa-tokoferol) je potentni antioksdans topljiv u lipidima, a djeluje kao „razbijač“ lanca. Smješten je u staničnoj membrani i lipoproteinima. Smatra se najvažnijim antioksidansom u obrani od lančane reakcije peroksidacije lipida jer sudjeluje u redukciji lipid peroksid radikala ($LOO^{\cdot}$). U toj reakciji se oksidira, a zatim tokoferilni radikal (vit E-O*) reagira s vitaminom C (ili drugim donorima vodika) te nastaje opet reducirani oblik vitamina E (45, 48).

Karotenoidi su prirodni pigmenti, polinezasićene strukture, s jednom od najjačih antioksidativnih funkcija. U njih ubrajamo likopen, lutein, astaksantin i beta-karoten. Esencijalni su za čovjeka, a jedini izvor za čovjeka je hrana. Kao izrazito lipofilne molekule nalaze se unutar stanice. Važni su prekursori retinola (vitamina A), te se kao njihova glavna uloga u nefotosintetskim organizmima smatra fotozaštita. Njihov antioksidativni učinak se očituje u „čišćenju“ samostalnog kisika, kao i drugih reaktivnih oblika kiska (49-51).

Metali u tragovima (selen, cink, bakar…) su minerali koji su potrebni za pravilan rast i razvoj organizma. Bakar možemo promatrati kao snažan katalizator enzima, važan sastojak citoslone SOD-e, ali kao i opasni reaktant koji potiče stvaranje hidroksil radikala. Selen je uključen u obranu organizma od oksidativnog stresa preko o selenu ovisnih glutation peroksidaza i drugih selenoproteina. Cink je ključan dio aktivnosti enzimskih antioksidansa (npr. superoksid dismutaza), njegov nedostatka vodi smanjenoj sintezi enzima i povećanju oksidacijskog stresa (52).

Flavonoidi su grupa prirodnih spojeva pronađenih u biljkama, polifenolne strukture. Osnovna struktura flavonoida je aglikon, koji se sastoji od dva benzenska prstena međusobno povezana heterocikličkim piranskim prstenom. Imaju izrazito jaki antioksidacijski potencijal koji proizlazi iz njihove kemijske stukture. Broj OH skupina na B benzenskom prstenu je izrazito važan jer služi kao donator vodika i elektrona hidroksil, peroksil i peroksinitritnim radikalima. Isto tako flavonoidi koji imaju nezasićene C2-C3 veze konjugirane s 4-okso skupinom su puno potentniji antioksidansi od onih koji nemaju jednu ili obe skupine. Antioksidacijski učinak se temelji na potiskivanju ROS oblika inhibicijom enzima ili keliranjem metala „čišćenjem“ ROS-a (53).

1.4. Oksidacijski stres i bolesti jetre

Oksidacijski stres može se definirat kao poremećena ravnoteža između stvaranja reaktivnih oblika (slobodnih radikala) i sposobnosti tijela (stvaranje antioksidansa) da brzo ukloni reaktivne intermedijere ili popravi nastalu štetu (54). O važnosti oksidacijskog stresa najbolje govori njegova uloga u raznim ljudskim bolestima: upalna oboljenja (artritis, vaskulitis, glomerulonefritis, sistemski lupus), ishemijska oboljenja (ishemijska bolest srca, cerebrovaskularni inzult, crijevna ishemija) neurološka oboljenja (multipla skleroza, Parkinsonova bolest, Alzheimerova bolest), hipertenzija, AIDS, emfizem, alkoholizam, pušenje, itd. (9).

Upravo zbog svoje metaboličke funkcije, jetra predstavlja organ koji je posebno osjetljiv na oksidacijski stres. Jetra je stoga opremljena posebnim obrambenim mehanizmom za „čišćenje“ ROS-a, u kojem nuklearni faktor Nrf2 igra važnu ulogu. Nrf2 je transkripcijki faktor, a ponaša se kao senzor staničnog redoks statusa. Povećana razina ROS-a i elektrofila izaziva stabilizaciju Nrf2 i njegovu translokaciju u nukleus, gdje potiče transkripciju citoprotektivnih gena. Stoga, izlaganje oksidacijskom stresu inducira niz antioksidacijskih gena aktiviranjem ARE (antioxidant response element) kao zaštitnog mehanizma. Ovako koordinirana regulacija ARE-kontroliranih gena omogućava održavanje bazalnog nivoa citoprotektivnih enzima, ali i efikasno prilagođavanje stanice na povećanu koncentraciju ROS i elektrofilnih spojeva (55, 56).

Kronične jetrene bolesti gotovo su uvijek karakterizirane povećanjem oksidacijskog stresa, bez obzira na uzrok jetrenog poremećaja. Patogeneza oštećenja uključuje svaku vrstu stanica jetre (hepatocite i zvjezdaste stanice, endotelne i Kupfferove stanice) i doprinosi ishemiji, nekrozi i apoptozi tkiva (47). Stoga ću se dotaknuti nekoliko najčešćih kroničnih jetrenih bolesti i utjecaja oksidacijskog stresa na patofiziologiju njihova nastanka.

Alkoholna bolest jetre

Alkoholna bolest jetre (ALD) uključuje masnu jetru, hepatitis i cirozu, koji mogu dovesti do razvoja hepatoceluarnog karcinoma. Jetra izložena prekomjernoj količini alkohola prolazi brojne promjene kao posljedica dva velika, povezana fenomena: oksidacijskog stresa i upale (47). Objašnjenje oksidacijskog stresa može se tražiti u načinu jetrenog metabolizma alkohola. Metabolizam započinje alkoholna dehidrogenaza (ADH) koja iz alkohola formira acetaldehid. Acetaldehid se metabolizira do acetata uz acetaldehid degidrogenazu (ALDH). Oba enzima koriste NAD^+ kao kofaktor. Acetat je vrlo nestabilan i lako se razgrađuje na vodu

i ugljikov dioksid. Acetaldehid i njegov derivat malondialdehid (MDA) su destruktivni za stanice jetre jer se izravno vežu za proteine i formiraju produkte koje prepoznaju receptori čistaći u stanicama jetre (npr. Kupfferove stanice, endotelne i zvijezdaste stanice) (57). Ti receptori potiču pojačano stvaranje citokina i izazivaju upalnu reakciju tijekom ALD. Drugi mehanizam metabolizma putem mikrosomalnih enzima citokrom P450 i to izoforme CYP2E1 je prvenstveno odgovoran za razgradnju alkohola tijekom njegove kronične konzumacije. Aktivni CYP2E1 uzrokuje otpuštanje i nakupljanje ROS koji mogu uzrokovati perokisidaciju mitohondrijskih i peroksisomalnih enzima koji su uključeni u beta-oksidaciju, uzrokujući na taj način taloženje masnih kiselina. Nadalje, nagomilavanje acetata nastalog enzimskim reakcijama razgradnje alkohola povećava NADH/NAD^+ omjer u mitohondrijima i citoplazmi. Povećanje NADH izaziva inhibiciju beta-okisdacije u mitohondrijima i nakupljanje intracelularnih lipida. To sve vodi ka potencijalnom razvoju masne jetre (58). Isto tako, mikrosomske i lizosomske membrane su posebno osjetljive na štetne učinke ROS. Povećanjem peroksidacije lipida, razine glutationa i glutation-S-transferaze unutar mikrosomskih i lizosomkih membranama jetre značajno su smanjenje. Ova promjena ukazuje na oštećenjem funkcije lizosoma. Pod odgovarajućim uvjetima, pojedine oštećene stanične komponente mogu biti uništeni u sklopu lizosoma autofagijom. ALD i oksidativni stres mijenjaju taj proces i izazivaju nakupljanje oštećenih hepatocita. Na kraju, oksidativni stres dovodi do smrti stanice i u konačnici razvoja ciroze (59).

Nealkoholna masna bolest jetre

Nealkoholna masna bolest jetre (NAFLD) je danas najčešća kronična bolest jetre. Predispozicijski čimbenici NAFLD su pretilost, dijabetes, dislipidemija, lijekovi i prehrana. Također i oksidacijski stres predstavlja važnu sastavnicu NAFLD. Posebno štetno djeluje na mitohondrije, nanoseći štetu koja rezultira oštećenjem gena, promjenama u sintezi proteina, smanjenjem mitohondrijskog sadržaja i slabljenjem mitohondrijske beta-oksidacije. Osim toga, u tijeku NAFLD, mitohondrijska CYP2E1 ekspresije povećava i uzrokuje redoks stanje. Ipak, možemo reći da je patogeneza bolesti i dalje nepoznata, ali je prihvaćena teorija od dva udara. Prvi udar obuhvaća promjene u metabolizmu, kao npr. inzulinska rezistencija, hiperglikemija i hiperlipidemija s akumulacijom triglicerida u hepatocitima (poremećena beta-oksidacija), što vodi do steatoze. Drugi udara aktivira progresiju ozbiljnijim patološkim stanjima, kao što su steatohepatitis, fibroza i ciroza jetre. Izgleda da genetske predispozicije i stil života (smanjena tjelesna aktivnost, pušenje, način prehrane) otvaraju put drugom udaru (47, 60).

Nealkoholni steatohepatitis

Nealkoholni steatohepatitis (NASH) je teži oblik nealkoholne masne bolesti jetre (NAFLD) koja je definirana prisutnošću steatoze s upalom i progresivne fibroze, te u konačnici potencijalnog razvoja ciroze koja može dovesti do portalne hipertenzije, dekompenzacije jetre i hepatocelularnog karcinoma. Patofiziologija nastanka NASH se objašnjava terijom dva udara. Prvi udar predstavlja razvoj masne jetre akumulacijom triglicerida u hepatocitima, a drugi udar uključuje niz staničnih naprezanja, kao što je oksidacijski stres, apoptoza i crijevne endotoksini (61, 62).

Fibroza jetre

Fibroza jetre je prisutan kod brojnih bolesti jetre, a karakterizira je zacjeljivanje rana u obliku ožiljaka kao odgovor na razna kronična oštećenja hepatocita.. Prekomjerna proizvodnja kolagena I ima izravnu uzročnu ulogu u fibrogenezi jetre. Konzumacija alkohola, hepatitis B ili C virus, kolestaza i preopterećenje željezom su uglavnom uključeni u mehanizmima fibrogeneze, svi dovode do transformacije jetrenih zvjezdastih stanica u kolagen aktivne stanice. Popisani poremećaja predstavljaju podražaj za aktivaciju ROS. Osim toga, oksidacijski spojevi i produkti lipidne peroksidacije doprinose oslobađanju profibrogenih faktora rasta, citokina i prostaglandina. Stoga, ROS igrati važnu ulogu u pokretanju fibroze integrirajući različite profibrozne čimbenike (47).

Ciroza jetre

Ciroza jetre je krajnji rezultat raznih kroničnih bolesti jetre, a fibroza je prekursor nastanka ciroze. Etiologija nastanka varira od kroničnog alkoholizma, kroničnog hepatitisa C i B, nealkoholne masne bolesti jetre do nasljednih bolesti (hemokromatoza, Wilsonova bolest, autoimuni hepatitis…). Hepatociti su glavne stanice jetrenog parenhima, te predstavljaju glavni cilj brojnih hepatotoksičnih spojeva. Kronične bolesti jetre ili potiču apoptozu ili regenraciju hepatocita. Oštećeni hepatociti oslobađaju reaktivne oblike kisika (ROS), potiču aktivaciju HSC i miofibroblasta. Aktivacija jetrenih stelatnih stanica (HSC) je središnji događaj u pokretanju i napredovanju fibroze. HSC su smještene u Disseovom sinusu, a njihova glavna funkcija je skladištenje vitamina A i drugih retinoida. Potaknute kroničnim stanjima jetre prelaze iz stanja mirovanja u aktivirano stanje, koje je karakterizirano proliferacijom i migracijom, pretvaranjem u miofibroblaste te pojačanom sintezom kolagena i drugih komponenata ekstracelularnog matriksa. Nadalje, dolazi do zatvaranja pora

(defenistracija) i kapilarizacije sinusoidalnih endotelnih stanica (LSEC) što je važan čimbenik nefunkcioniranja jetre u cirozi. LSEC predstavljaju pore na površini endotela. Djeluju kao filtar te tako olakšavaju razmjenu tekućine, otopljenih tvari i čestica između sinusne krvi i stanica parenhima. Također dolazi i do aktivacije Kupfferovih stanica (KC), koje uništavaju hepatocite i stimuliraju aktivaciju HSC. KC su vrsta tkivnih makrofaga koji oblažu sinuse jetre. Mogu biti aktivirane brojnim štetnim čimbenicima kao što su virusne infekcije, hrana s mnogo masnoće i taloženje željeza. Aktivirani luče štetne topljive medijatore i služe kao antigen prezentirajuće stanice tijekom virusne infekcije. Glavne komplikacije ciroze jetre su varikoziteti, ascites, jetrene encefalopatije (HE), hepatopulmonalna hipertenzija, hepatocelularni karcinom i poremećaji koagulacije (63, 64).

Jetrena encefalopatija

Jetrena encefalopatija (HE) je karakteriziran nizom neuropsihijatrijskih poremećaja kod pacijenata s uznapredovanom cirozom ili porto-sistemskim šantom.. U krvi dolazi do nagomilavaju otrovnih tvari koje bi inače zdrava jetra normalno uklonila. Amonijak je definiran kao glavni toksin jer potiče edem astrocita u mozgu. Amonijak nastaje kao produkt metabolizma proteina (razgradnja u crijevima pomoću bakterija), amino kiselina, purinskih i pirimidnskih baza. Zdrava jetra metabolizira višak amonijaka, te ga se rješava u obliku uree. Astrociti su vrsta glija stanica, odgovornih za pružanje hranjivih tvari neuronu i formiranje krvno-moždane barijere. Astrociti sadrže enzim glutamin sintazu, koja prevodi amonijak i glutamat u glutamin. Potencijalna disfunkcija jetre vodi ka hiperamonemiji, a ona do povećanog stvaranja i nakupljanja glutamina u astrocitima, a to pak povećava osmotski tlak i uzokuje edem. Hiperamonemija može nastati i kao uzok krvarenja u gornjem gastrointestinalnom traktu, dehidracije ili infekcije. Nadalje, tako stimulirani astrociti izazivaju aktivaciju NMDA receptora koji smanjuju aktivnost enzimskih antioksidansa i povećavaju stvaranje ROS-a. Ova povezanost između edema astrocita i oksidacijskog stresa rezultira automatskom pojačanju signalizacije, koja se odražava pogoršanjem neurokognitivnih sposobnosti (47, 63).

Dekompenzacijska ciroza

Dekompenzacijska ciroza se očituje portalnom hipertenzijom, gastorintestinalnim krvarenjem, hepatičkom encefalopatijom i ascitesom. Portalna hipertenzija se definirana kao povišenje gradijenta portalnog tlaka iznad 5 mm Hg, i u cirozi je rezultat povećanja intrahepatičnog otpora krvnom protoku i povećanog crijevni krvotoka zbog vazodilatacije u

crijevnih žila. Gastrointestinalno kvarenje u cirozi često nastaje zbog razvoja gastroezofagealni varikoziteta. Gastroezofagealni varikoziteti se formiraju kada zbog razvoja portalne hipertenzije je potrebno pronaći alternativni put za povratak krvi iz portalnog sustava u sistemsku cirkulaciju. Te kolateralne žile predstavljaju visoki rizik nastanka ruptura, te tako predstavljaju glavni uzrok morbiditeta i mortaliteta u cirotičara. Ascites je najčešća pojava jetrene dekompenzacije, a njegova pojava je povezana sa lošom prognozom preživljavanja (65).

Hepatitis C

Hepatitis C je upalna bolest jetre uzrokovana hepatitis C virusom (HCV). HCV je ljudski patogen, replicira se u citoplazmi, a često izaziva akutni i kronični hepatitis, a putem oksidativnog stresa, inzulinske rezinstencije, fibroze, ciroze i steatoze vodi nastanku HCK-a (66). U 80% slučajeva ljudi s hepatitisom C razviju ga kao kroničnu bolest s pripadajućim komorbiditetima.. Pojava oksidacijskog stresa u pacijenata s kroničnim hepatitisom C (CHC) sagledana je kroz nekoliko intervencija, mjernjem: ROS-a, antioksidansa, razine ekspresije i aktivnosti antioksidacijskih enzima i produkata interakcije ROS-a s biološkim molekulama. Utvrđen je značajan porast koncentracije ROS-a, 2 do 5 puta, kao i porast limfocita u pacijenata s CHC-om. U većine pacijenata utvrđeno je smanjenje razine glutationa i drugih neenzimskih antioksidansa, ali i smanjenje razine enzimskih antioksidansa (SOD, glutatuion reduktaze i peroksidaze), te povećanje omjera GSSG/GSH. I na karaju je utvrđeno značajno povećanje produkata lipidne peroksidacije i oksidacije proteina (67).

Hepatitis B

Hepatitis B je zarazna bolest uzrokovana virusom hepatitisa B (HBV). Rizik razvoja kroničnog hepatitisa B (CHB) nakon izlaganja virusu izgleda ovisi o dobi kad je došlo do prvog kontakata. Infekcija u prvoj godini života vodi ka 90% šansi razvoja CHB-a, infekcija u djetinjstvu 20-30% šansi, a infekcija u odrasloj dobi manje od 1% šanse razvoja CHB-a. Mutacije HBV-a su učestalije od mutacija nekih drugih virusa što ima za posljedicu veću virulenciju i otpornost na antivirusnu terapiju (68). Smatra se da je infekcija CHB-om glavni etiološki čimbenik razvoja HCC-a. Povećana razina oksidacijskog stresa je zamijećena u CHB pacijenata. Smatra da je to posljedica pojačane ekspresije virusnog proteina HBx koji djeluje kao pleiotropni transaktivator. HBx cilja mitohondriji vežući se za o naponu ovisni ion selektivni kanal proteina 3 (VDAC3), na taj način mijenjajući potencijal mitohondrijske

membrane izaziva povećanje endogenog ROS-a. Isto tako HBx povećava akumulaciju Ca^{2+} u mitohondrijima što u prisutnosti ROS-a izaziva stres endoplazmatskog retikuluma (ER) i ne mogućnost smatanja proteina (unfolded protein response, UPR). U konačnici stanica to prepoznaje i aktivira proces autofagije da bi obnovila integritet ER-a, a to je važno za replikaciju virusa (69).

Hepatocelularni karcinom

Hepatocelularni karcinom (HCK) je maligni tumor epitelnih stanica jetrenog parenhima.. Virusni hepatitis je najvažniji čimbenik rizika za HCK. Virus hepatitisa B (HBV) i virus hepatitisa C (HCV) zajedno su odgovorni za 78% HCK-a u svijetu (70). Patogeneza HCK-a je povezana sa progresivnim gubitkom stanične diferencijacije, normalne stanične adhezije, razgradnje izvanstaničnog matriksa i trajne aktivacije signalnih putova važnih u staničnom rastu (68). Od osam genotipova HBV-a, genotip C HBV-a i njegove mutacije se povezuju sa većim rizikom nastanka HCK-a, što može poslužiti u ranom otkrivanju rizičnih bolesnika s HBV-om za nastanak HCK-a (71). Učinak HBV-a na pojavu HCK-a je pojačan uz kroničan prekomjeran unos alkohola što je izraženo u Sjevernoj Americi i sjevernoj Europi, pretilost, šećernu bolest te izloženost aflatoksinu B (68, 72). HCV uzrokuje akutni i kronični hepatitis, a putem oksidativnog stresa, inzulinske rezinstencije, fibroze, ciroze i steatoze vodi nastanku HCK-a (73, 74). Rizik nastanka HCK-a u ljudi sa cirozom uzrokovanom HCV-om je između 1 i 7%, a pojavljuje se 20-30 godina nakon infekcije uz prethodni razvoj ciroze (72). Stvaranje reaktivnih kisikovih spojeva (reactive oxygen species, ROS), koje proizvode mononuklearne upalne stanice tijekom upale i nekroze, uslijed utjecaja alkohola, HCV-a i HBV-a ubrajaju se u rane događaje hepatokarcinogeneze (75, 76). Ostali čimbenici rizika u nastanku HCK-a su: nealkoholna masna bolest jetre prirođena hemokromatoza, nedostatak alfa-1-antitripsina, šećerna bolest, pretilosti te pušenje i to uglavnom u Americi, Europi, Kanadi i Australiji gdje se bilježi njihov porast (68, 76).

Kao što vidimo evidentan je doprinos oksidacijskog stresa, a samim tim i ROS-a u patofiziologiji mnogih kroničnih jetrenih oboljenja. Zadaća ovog rada je provesti sustavni pregled dosad već provedenih studija, ocjenjujući korisne i štetne učinke najčešće korištenih antioksidansa (beta-karoten, vitamin A, vitamin C, vitamin E i selen) kao potencijalne terapije bolesti jetre.

2. Cilj istraživanja

Cilj ovog rada je pronaći dostupne dokaze o djelotvornosti i sigurnosti antioksidanasa u pacijenata sa oboljelom jetrom. Naglaska je stavljen samo na sustavne preglede randomiziranih kontroliranih pokusa (razina dokaza 1a) i pojedinačne randomizirane kontrolirane pokuse (razina dokaza 1b), kao najpouzdanije izvore dokaza.

3. Materijali i metode

Prvi korak u pretraživanju literature o djelotvornosti i sigurnosti antioksidanasa u pacijenata sa oboljelom jetrom je bio na stranici Cochrane knjižnice, gdje je pronađen sustavni pregled: „Antioxidant supplements for liver diseases (Review)“ (77). Taj sustavni pregled je bio temelj daljnjeg istraživanja. Nakon detaljnog proučavanja navedenog sustavnog pregleda (77), dalje su pretraživane baze podataka MEDLINE (PubMed), DARE i CENTRAL u potrazi za novim kliničkim istraživanjima i sustavnim pregledima objavljenima nakon Cochrane sustavnog pregleda (77) prema istim kriterijima uključenja.

Baze MEDLINE i CENTRAL su pretražene prema strategiji pretraživanja navedenoj u dodatku 1. Cochrane sustavnog pregleda uz dodatak vremenskog ograničenja od siječnja 2011. Sljedeći korak je bio isključenje publikacija. Prvo su se isključile publikacije koje nisu odgovarale kriterijima Cochrane sustavnog pregleda (77), što je zahtijevalo isključenje svih publikacija koje su se odnosile na nealkoholnu masnu bolest jetre (NAFLD) i nealkoholni steatohepatits (NASH), te studije koje su istraživale bolest jetre u osoba mlađih od 18 godina. Zatim su isključene publikacije za koje se iz naslova vidjelo da im predmet istraživanja nije bila uloga antioksidansa u bolesnika sa oboljelom jetrom, da su koristile lijekove umjesto antioksidansa ili da su koristili biljne pripravke i druge antioksidanse koji nisu bili predmet istraživanja Cochrane sustavnog pregleda (77) (npr., studije koje su se bavile ulogom antioksidansa kod bolesnika s rakom pluća, učinkom prednizolona ili pentoksifilina u alkoholnom hepatitisu ili učinkom melatonina, silimarina i N-acetilcisteina kao monoterapije ili u kombinaciji sa lijekovima u liječenju raznih oštećenja jetre). Nakon toga uslijedilo je čitanje sažetaka preostalih studija. Isključene su one studije koje nisu bile RCT (randomizirani kontrolirani pokus). Publikacije za koje se pretpostavilo da bi mogle biti uključene u sustavni pregled su zatražene u cjelovitom tekstu. One koje nisu bile dostupne kao cjeloviti tekstovi su također isključene zbog manjka informacija.

Na mrežnoj stranici Cochrane knjižnice u tražilicu su upisane ključne riječi: „antioxidant“ i „liver“. 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), a predstavlja jednu od baza Cochrane knjižnice koja indeksira druge sustavne preglede i pritom se daje procjena njihove kvalitete. Također istim riječima je pretražena MEDLINE baza u svrhu pronalaska novijih sustavnih pregleda.

Nakon pretraživanja literature, napravljena je procjena kvalitete Cochrane sustavnog pregleda (77) pomoću R-AMSTAR obrasca (78).

3.1. Kriteriji odabira studija za Cochrane sustavni pregled (77)

Vrste studija

Randomizirana klinička istraživanja, neovisno o zasljepljenju, publikacijskom statusu ili jeziku.

Vrste sudionika

Odrasli sudionici (u dobi od 18 godina ili više), muškarci i žene, bilo koje nacionalnosti s autoimunim bolestima jetre, virusnim hepatitisom, alkoholne bolesti jetre i ciroze bilo koje etiologije.

Isključena su istraživanja na sudionicima s posebnim prehrambenim potrebama, uključujući djecu, trudnice i dojilje, te s malignim bolestima jetre. Također su isključeni sudionici sa nealkoholnom masnom bolesti jetre, jer ovom skupinom bolesnika se bavi drugi Cochrane sustavni pregled (77, 79).

Vrste intervencije

Uključene su samo randomizirane studije koje su uspoređivale primijenjene antioksidanse (tj. beta-karoten, vitamin A, vitamin C, vitamin E, i selen) neovisno o dozi, trajanju i načinu primjene u odnosu na placebo ili bez intervencijske grupe. Antioksidansi su mogli biti primijenjeni:

- pojedinačno;
- u bilo kojoj kombinaciji međusobno;
- u kombinaciji s drugim vitaminima;
- u kombinaciji s elementima u tragovima bez antioksidativnog učinka.

Istodobna (popratna) intervencija bila je dopuštena ako je bila podjednaka u svim interventnim skupinama istraživanja.

Vrste mjerenih ishoda

Primarne mjere ishoda

1. Svi uzroci smrti.
2. O jetri ovisna smrt.

3. O jetri ovisan pobol (rak jetre, gastrointestinalno krvarenje, encefalopatija jetre, hepato-renalni sindrom, ascites, žutica).
4. Nuspojave. Ovisno o dostupnosti podataka, nuspojave su klasificirane kao ozbiljne ili neozbiljne. Ozbiljne nuspojave definirane su kao bilo koja van medicinska pojava koja je opasna po život, rezultirala smrću ili trajnom ili značajnom invalidnošću, ili bilo koji medicinski događaj, koji može ugroziti pacijenta, ili je potrebna intervencija (80). Sve ostale nuspojave (tj. medicinska pojava koja ne mora nužno imati liječničku intervenciju, ali može izazvati smanjenje doze ili prekid liječenja) se smatraju kao neozbiljne.
5. Kvaliteta života.

Sekundarne mjere ishoda

6. Biokemijski pokazatelji (alanin aminotransferaza (ALT), aspartat aminotransferaza (AST), gama glutamil transpeptidaza, bilirubin, i albumin).
7. Neuspjeh virološkog odgovora na kraju liječenja ili šest mjeseci nakon liječenja (npr., bez klirensa HBV-DNA ili HCV-RNA iz seruma).
8. Isplativost.

3.2. Metode pretraživanja za identifikaciju studija

Pretražen je Cochrane Hepato-Biliary Grup Controlled Trials Register (koristeći izraze: antioxidant* i (liver or hepat*) (77).

Pretražen je Cochrane Central Register of Controled Trials (Cochrane knjižnica 2011, izdanje 1) koristeći sljedeću strategiju:

1. MeSH descriptor Antioxidantsexplode all trees
2. antioxidant* supplement*:ti,ab
3. (#1 OR #2)
4. MeSH descriptor Liver Diseases explode all trees
5. (liver or hepat*):ti,ab
6. (#4 OR #5)
7. (#3 AND #6) (77)

Pretražene su i baze MEDLINE (od 1950. do siječnja 2011.) i EMBASE (od 1980. do siječnja 2011.) koristeći sljedeću strategiju:

1. exp antioxidant/
2. antioxidant* supplement*.ab,ti.
3. 1 or 2
4. exp liver disease/
5. (liver or hepat*).ab,ti.
6. 4 or 5
7. 6 and 3
8. limit 7 to (human and (adult <18 to 64 years> or aged <65+years>))
9. (random* or blind* or placebo* or meta-analysis).mp. [mp= title, abstract, subject headings, heading word, drug trade name, original title, device manufacturer, drug manufacturer name]
10. 8 and 9 (77)

Također su pretraženi Science Citation Index Expanded (od 1990. do siječnja 2011.) i Conference Proceedings Citation Index-Science (od 1990. do siječnja 2011.) koristeći sljedeću startegiju:

5. 257 #4 AND #3
4. >100,000TS=(random* or blind* or placebo* ormeta-analysis)
3. 2,169 #2 AND #1
2. >100,000 TS=(liver or hepat*)
1. 12,106 TS=(antioxidant* supplement*) (77)

Proučen je popis literature istraživanja pronađenih gore navedenim načinom pretraživanja i kontaktirani su proizvođači antioksidanasa u svrhu pronalaska dodatnih istraživanja (77).

3.3. Prikupljanje podataka

Prikupljali su se sljedeći podatci: datum objavljivanja istraživanja, mjesto istraživanja, financiranje, rizik pristranosti istraživanja, duljina praćenja, publikacijski status, kriteriji uključivanja i isključivanja pacijenata, srednja dob bolesnika, udio žena te doza i trajanje liječenja. (77).

3.3. Analiza podataka

Zbog opasnosti od precjenjivanja korisnih učinaka intervencije u randomiziranim istraživanjima s nejasnom ili neodgovarajućom metodološkom kvalitetom (81-83), ocijenjen

je utjecaj metodološke kvalitete na rezultate Cochrane sustavnog pregleda (77). Metodološka kvaliteta istraživanja, a time i rizik od pristranosti samog istraživanja procijenjen je pomoću sljedeće domene definirane na način:

Način nasumične raspodjele ispitanika (eng. *random sequence generation*)

- Nizak rizik pristranosti: nasumična raspodjela ispitanika je postignuta korištenjem računalne randomizacije. Izvlačenje brojeva, bacanje novčića, miješanje karata i bacanje kockice su prihvatljivi ako ih izvodi neovisna osoba.
- Nejasan rizik pristranosti: istraživanje je opisano kao randomizirano, ali metoda nasumične raspodjele ispitanika nije navedena.
- Visoki rizik pristranosti: metoda nasumične raspodjele ispitanika nije, ili ne može biti, randomizirana. Kvazi-randomizirane studije, one koje koriste datume, imena, ili ulazne brojeve kako bi se raspodijelili bolesnici, nisu prikladne i isključene su za procjenu koristi, ali nisu isključene za procjenu štetnosti (77).

Prikrivanje razvrstavanja ispitanika po skupinama (engl. *allocation concealment*)

- Nizak rizik pristranosti: razvrstavanje ispitanika po skupinama kontrolira centralno i nezavisno vijeće, rednim brojivima, neprozirnim i zatvorenim omotnicama ili nečim sličnim, tako da se ne može predvidjeti koji ispitanik će biti razvrstan u koju skupinu prije ili za vrijeme uključenja u studiju.
- Nejasan rizik pristranosti: studija je opisana kao randomizirana, ali metoda korištena za prikrivanje razvrstavanja ispitanika nije opisana, tako da je možda moguće predvidjeti u koju skupinu će ispitanici biti razvrstani prije ili za vrijeme uključenja u studiju.
- Visoki rizik pristranosti: ako je slijed razvrstavanja ispitanika bio poznat ispitivačima koji su raspodjeljivali sudionke ili ako je studija kvazi-randomizirana. Kvazi-randomizirane studije su isključene za procjenu koristi, ali nisu za procjenu štetnosti (77).

Zasljepljenje (engl. *blinding*)

- Nizak rizik pristranosti: istraživanje je opisano kao slijepo, strane koje su bile zaslijepljene i metoda zasljepljenja su opisane, tako da je poznavanje raspodjele ispitanika po skupinma bilo prikladno spriječeno tijekom istraživanja.
- Nejasan rizik pristranosti: istraživanje je opisano kao slijepo, ali metoda zasljepljivanja nije opisana, tako da je poznavanje raspodjele bilo moguće tijekom istraživanja.

- Visoki rizik pristranosti: istraživanje nije bilo zasljepljeno, tako da je raspodjela ispitanika po skupinma bila poznata tijekom istraživanja (77).

Nepotpuni prikaz podataka o ishodima (engl. *incomplete outcome dana*)

- Nizak rizik pristranosti: broj i razlozi odustajanja od uzimanja lijeka i povlačenja iz studije u svim intervencijskim skupinama su opisani ili je navedeno da nije bilo odustajanja od uzimanja lijeka i povlačenja.
- Nejasan rizik pristranosti: znanstveni rad daje dojam da nije bilo odustajanja od uzimanja lijeka i povlačenja iz studije, ali to nije izričito navedeno.
- Visoki rizik pristranosti: broj ili razlozi odustajanja od uzimanja lijeka i povlačenja iz studije nisu opisane (77).

Selektivno prikazivanje rezultat (engl. *selective outcome reporting*)

- Nizak rizik pristranosti: unaprijed definirane ili klinički relevantne i očekivane mjere ishoda su opisane.
- Nejasan rizik pristranosti: nisu sve unaprijed definirane ili klinički relevantne i očekivane mjere ishoda opisane ili nisu opisane u potpunosti, ili je nejasno da li su zabilježeni podatci o tim ishodima.
- Visoki rizik pristranosti: jedan ili više klinički relevantnih i očekivanih ishoda nisu opisani; podaci o tim ishodima su vjerojatno bili zabilježeni, ali nisu opisani u znanstvenom radu (77).

Ostale pristranosti

- Nizak rizik pristranosti: čini se da istraživanje nema drugih čimbenika koje bi mogle imati utjecaj na pristranost.
- Nejasan rizik pristranosti: istraživanje može ili ne mora biti bez ostalih čimbenika koje bi mogle imati utjecaj na pristranost.
- Visoki rizik pristranosti: postoje i drugi čimbenici u istraživanju koji bi mogli imati utjecaj na pristranost, npr. utjecaj profita, autori su proveli ispitivanja na istu temu, itd. (77).

Za dihotomne podatke iz ishoda, izračunat je relativni rizik (RR) i/ili razlika rizika (RD), a za kontinuirane ishode srednja razlika (MD), sve s intervalom pouzdanosti od 95% (CI). Podatci su analizirani meta-analizom fiksnog učinka i meta-analizom slučajnog učinka. U slučaju da nije postojala razlika u statističkoj značajnosti između rezultata dobivenih s ova

dva modela, predstavljeni su rezultati meta-analize slučajnog učinaka. Model meta-analize slučajnog učinka je izabrana zbog kliničke heterogenosti. I^2 statistika je korištena kao mjera postotka varijacije zbog heterogenosti radije nego vjerojatnost. Analize su provedene pomoću načela namjere liječenja (engl. *intention-to-treat*, ITT), uključujući sve randomizirane sudionike bez obzira na to jesu li ostali u studiji do kraja. Bolesnici s nepotpunim podacima bili su uključeni u analizu pomoću unaprijed dogovorenog načina. Prema tome, pacijenti koji nisu bili prikladno praćeni su računati kao preživjeli. Za istraživanja s više od dvije paralelne grupe i dodatnom terapijom, uspoređivane su samo aktivnosti antioksidansa s placebom ili bez intervencijskom grupom. Za ukrižene studije (engl. cross-over studies) uključeni su samo podatci iz prvog razdoblja (77).

Također je provedena sekvencijalna analiza istraživanja kako bi se smanjio rizik od slučajnih pogrješaka i spriječilo prerano zaključivanje o korisnosti eksperimentalne ili kontrolne intervencije. Izvedena je sekvencijalna analiza za sve uzroke smrti s pogrješkom I. vrste od 5%, pogrješkom II. vrste od 20% (80% energije) prilagođenom za heterogenost i različitost među uključenih istraživanjima. Pretpostavljeno je 5% smrtnih slučajeva u kontrolnoj skupini i predvidljiv učinak intervencije smanjen za 20% u odnosu na rizika (77).

3.4. Procjena kvalitete sustavnih pregleda

Sustavni pregled je nastao kao rezultat sustavnog pregledavanja istraživačke literature koje se temeljilo na pažljivo izrađenim istraživačkim pitanjima (PICO). Pitanja su sastavljena tako da se jasno i nedvosmisleno navede problematična populacija pacijenata (P), intervencija (I) pod usporedbom (C) i klinički ishod od interesa (O) (84-86).

Sustavni pregled nije identičan pretraživanoj literaturi se temelji na objektivnom i transparentnom pristupu, koji se bazira na znanosti istraživačke sinteze sa specifičnom namjerom i ciljem da se umanji pristranost. Stoga, većina se sustavnih pregleda temelji na eksplicitnoj kvantitativnoj analizi mjerljivih podataka (npr. prihvatljiva analiza uzorka, meta-analiza). Međutim, znatan dio sustavnih pregleda je kvalitativne prirode, i uz pridržavanje prihvaćenih standarda za sakupljanje, procjenu i objavljivanje dokaza, ne dopušta kvantitativnu ocjenu (78, 86). Iako sustavni pregledi omogućuju najvišu razinu dokaza u zdravstvenoj skrbi utemeljenoj na dokazima, nisu svi sustavni pregledi jednako pouzdani i dovoljne kvalitete da zadovoljavajuće smanje pristranost (87).

Kako bi se riješio ovaj problem, razvijen je R-AMSTAR obrazac koji kvantificira kvalitetu sustavnih pregleda (78). R-AMSTAR obrazac je revidirana inačica AMSTAR

obrasca koji procjenjuje 11 najvažnijih obilježja sustavnog pregleda (88). Kvantitativna mjera R-AMSTAR-a su bodovi za svaku od 11 individualnih domena originalnog instrumenta (AMSTAR-a). Bodovi svake domene u rasponu su od 1 do 4 (maksimum), a ukupni zbroj bodova na ljestvici R-AMSTAR je u rasponu od 11 do 44 (maksimum). Prema tome, ukupni rezultat 11 pokazuje da nijedan od AMSTAR kriterija nije zadovoljen među navedenih 11 domena. Naprotiv, ukupan rezultat 44 pokazuje da su svi kriteriji izvrsnosti sustavnog pregleda zadovoljeni (78).

Revidirani AMSTAR (R-AMSTAR) (78)

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 podatke?

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 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, referencama ili dodatnim izvorima.

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 li sukob interesa u uključenim **primarnim** studijama.

4. Rezultati

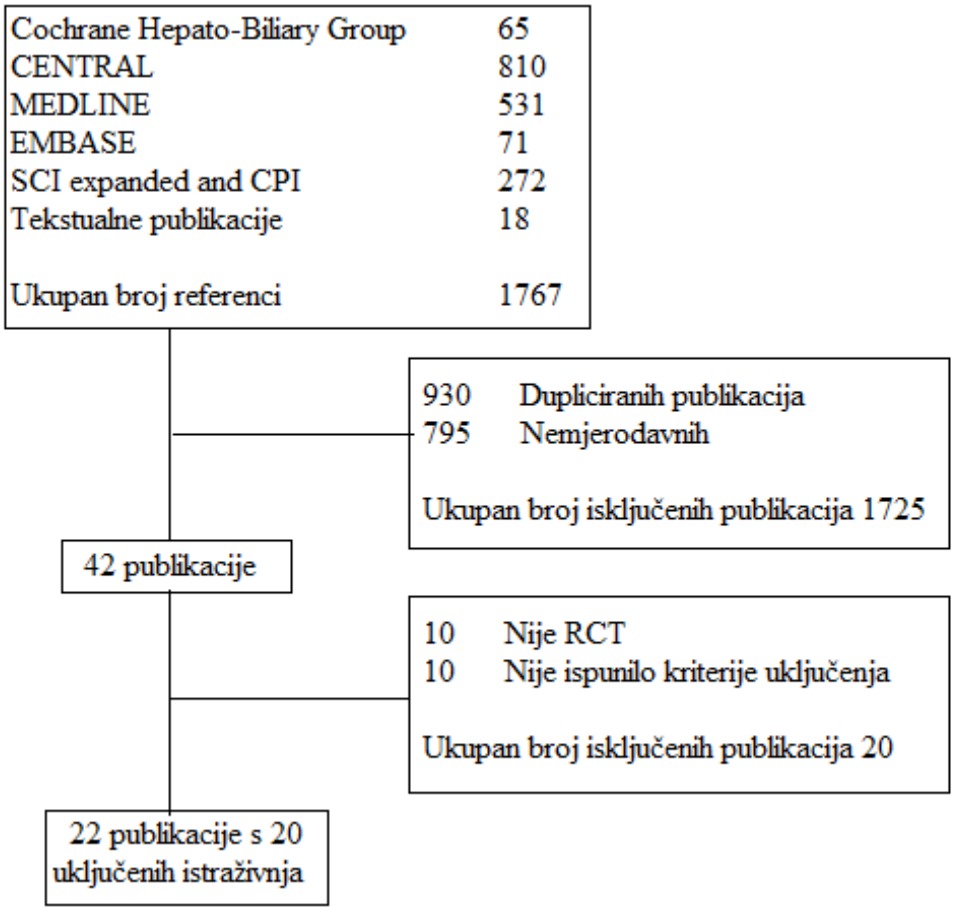
4.1. Rezultati Cochrane sustavnog pregleda

4.1.1. Opis studija

Rezultati pretrage

Rezultati pretrage adekvatnih istraživanja za Cochrane sustavni pregled prikazan je shematski (Slika 1.) (77).

Slika 2. Shematski prikaz pretrage kliničkih istraživanja



Karakteristike uključenih studija (77)

Andreone 2001 (89, 90)

Metode	Randomizirano kliničko istraživanje s paralelnim grupama.
Sudionici	Zemlja: Italija Broj randomiziranih sudionika: 32.25% žena, medijan godina 39.5 Kriteriji uključenja: histološki dokazan kronični hepatitis B, serum pozitivan na HBV-DNA i povišena razina ALT (> 1,5

	puta iznad granice normalne) najmanje 6 mjeseci. Kriteriji isključenja: dekompenzacijska bolest jetre, povijest hepatične encefalopatije ili ascites, rizik krvarenja od varikoziteta jednjaka i želudca, delta hepatitis ili C virus i infekcije virusom radi imunodeficijencije, drugi uzročnici bolesti jetre koji nisu HBV, intravenozna zloupotreba droge, trudnoća, maligne bolesti, kronično zatajenje bubrega i imunosupresivna ili antivirusna terapija u prethodnih 6 mjeseci.	

Intervencije	Sudionici su nasumično dobivali:
	skupina 1: vitamin E 660 IU (n=15);
	skupina 2: bez intervencije (n=17);
	dnevno kroz period od 3 mjeseca. Sudionici su praćeni 15 mjeseci.	

Rezultati	Primarna mjera ishoda je bila efikasnost vitamina E u liječenju kronične HBV infekcije	
Bilješke	Suradljivost nije opisana. Dodatne informacije su primljene kroz osobnu komunikaciju s autorima (8.11.2007.)	
Rizik pristranosti		
Stavka	**Stav autora**	**Opis**
Dobivanje slijeda slučajnih brojeva primjereno?	Da	Slijed slučajnih brojeva dobiven je računalnom randomizacijom.
Prikrivanje raspodjele?	Ne	Slijed razvrstavanja je bio poznat istraživačima koji su razvrstavali sudionike.
Zasljepljenje? Svi ishodi	Ne	Studija nije bila dvostruko slijepa, tako da se raspodjela ispitanika po skupinama znala tijekom studije.
Rezultati su cjeloviti? Svi ishodi	Da	Brojevi i razlozi odustajanja od uzimanja lijeka i povlačenje u svim intervencijskim skupinama su bili opisani.
Bez selektivnog izvještavanja?	Nejasno	Nisu prikazani svi unaprijed definirani ili klinički relevantni i razumno očekivani ishodi.
Bez ostalih pristranosti?	Da	Čini se da studija nema drugih čimbenika koje bi mogle povećati rizik od pristranosti.

Butcher 1993 (91)

Metode	Randomizirano, dvostruko slijepo, placebom kontrolirano

	istraživanje s paralelnim grupama	
Sudionici	Zemlja: Ujedinjeno Kraljevstvo Broj randomiziranih sudionika: 28 alkoholičara, 39% žena, medijan godina 45.5, između 19 i 70 godina. Kriteriji uključenja: povijest prosječnog unosa alkohola, više od 80 g dnevno, najmanje godinu dama Kriteriji isključenja: nije navedeno	
Intervencije	Pacijenti su nasumično dobivali: skupina 1: beta-karoten 40 mg, vitamin C 1000 mg, vitamin E 400 mg, selen 100 μg, n = 14; skupina 2: placebo, n = 14; dnevno kroz period od 7 dana. Sudionici su praćeni tijekom 7 dana.	
Rezultati	Primarna mjera ishod je bila pad markera slobodnih kružnih radikala i pad enzimskih markera oštećenja jetre	
Bilješke	Suradljivost nije opisana. Studija je podržana od strane F Hoffmann La Roche, Basel, Švicarska	
Rizik pristranosti		
Stavka	**Stav autora**	**Opis**
Dobivanje slijeda slučajnih brojeva primjereno?	Nejasno	Studija je opisana kao randomizirana, ali metoda nasumične raspodjele nije navedena.
Prikrivanje raspodjele?	Nejasno	Metoda korištena za prikrivanje razvrstavanja nije opisana, tako da je možda moguće predvidjeti u koju skupinu će ispitanici biti razvrstani prije ili za vrijeme uključenja u studiju.
Zasljepljenje? Svi ishodi	Nejasno	Studija je opisana kao dvostruko slijepa, ali metoda zasljepljivanja nije opisana, tako da je poznavanje raspodjele bilo moguće tijekom istraživanja.
Rezultati su cjeloviti? Svi ishodi	Nejasno	Znanstveni rad daje dojam da nije bilo odustajanja od uzimanja lijeka i povlačenja iz studije, ali to nije izričito navedeno.
Bez selektivnog izvještavanja?	Nejasno	Nisu prikazani svi unaprijed definirani ili klinički relevantni i razumno očekivani ishodi.
Bez ostalih pristranosti?	Ne	Postoje drugi čimbenici u istraživanju koji bi mogli povećati rizik od pristranosti.

de la Maza 1995 (92)

Metode	Randomizirano, dvostruko slijepo, placebom kontrolirano istraživanje s paralelnim grupama.	
Sudionici	Zemlja: Čile Broj randomiziranih sudionika: 74, medijan godina 50, 15% žena Kriteriji uključenja*:* klinički dokaz alkoholne bolesti jetre u vrijeme upisa (dva ili više dokaza od sljedećih): žutica, encefalopatija, ascites, edemi, paukovo crvenilo, kolateralna cirkulacija, poremećaji krvarenja, varikoziteti jednjaka na endoskopiju; povijest> 5 godina teškog konzumiranja alkohola (dnevni unos alkohola> 150 g); nepostojanje površinskog antigena hepatitisa B; izostanak bubrežne, plućne ili srčane bolesti, šećerne bolesti ili malignih tumora (uključujući hepatome). Kriteriji isključenja*:* nije navedeno	

Intervencije	Pacijenti su nasumično dobivali:
	skupina 1: vitamin E 500 mg (u obliku alfa-tokoferil acetat (n = 37);
	skupina 2: placebo (n = 37);
	dnevno kroz period od 1 godine. Sudionici su praćeni tijekom godinu dana.	

Rezultati	Primarne mjere ishoda su bile: funkcija jetre, smrtnost i stopa hospitalizacije.	
Bilješke	Bolesnici su nadgledani jednom mjesečno od strane medicinske sestre na klinici za jetrene bolesti. Ocjenjivala se suradljivost bolesnika na način da se provjeravala količina ostatnih tableta. Uzorci krvi su prikupljeni na početku studije i svaka 3 mjeseca radi mjerenja serumskih razina vitamina E.	
Rizik pristranosti		
Stavka	**Stav autora**	**Opis**
Dobivanje slijeda slučajnih brojeva primjereno?	Nejasno	Studija je opisana kao randomizirana, ali metoda nasumične raspodjele nije navedena.
Prikrivanje raspodjele?	Nejasno	Metoda korištena za prikrivanje razvrstavanja nije opisana, tako da je možda moguće predvidjeti u koju skupinu će ispitanici biti razvrstani prije ili za vrijeme uključenja u studiju.
Zasljepljenje? Svi ishodi	Nejasno	Studija je opisana kao dvostruko slijepa, ali metoda zasljepljivanja nije opisana, tako da je poznavanje raspodjele bilo moguće tijekom istraživanja.
Rezultati su cjeloviti?	Da	Brojevi i razlozi odustajanja

Svi ishodi		od uzimanja lijeka i povlačenje u svim intervencijskim skupinama su bili opisani.
Bez selektivnog izvještavanja?	Nejasno	Nisu prikazani svi unaprijed definirani ili klinički relevantni i razumno očekivani ishodi.
Bez ostalih pristranosti?	Da	Čini se da studija nema drugih čimbenika koje bi mogle povećati rizik od pristranosti.

Gabbay 2007 (93)

Metode	Randomizirano, dvostruko slijepo, placebom kontrolirano istraživanje s paralelnim grupama.
Sudionici	Zemlja: Izrael Broj randomiziranih sudionika: 50, 32% žena, između 24 do 75 godina, medijan godina 57.4 godina Kriteriji uključenja: bolesnici s kroničnim hepatitisom C u dobi od 18 do 75 godina pozitivni 2 puta na test HCV RNA u posljednjih 6 mjeseci koji su prije upisa imali neuspješno ili kontraindicirano liječenje interferonom. Dijagnoza kroničnog hepatitisa C bazirana je na pozitivnim vrijednostima HCV RNA, utvrđenih biopsijom jetre (unutar godine dana od početka studije) te s ili bez povišenih jetrenih enzima. Propisana je apstinencija od bilo kakvih alternativnih lijekova ili vitaminskih dodataka 6 mjeseci prije početka terapije. Kriteriji isključenja: B ili C dekompenzacijska bolest jetre prema Childs-Pugh scoreu, razina kreatinina iznad 150 mmol / L, razina hemoglobina ispod 100 mg / l, broj bijelih krvnih stanica ispod 3×10^9 / L, ili broj trombocita ispod 1×10^{11} / L, povijesti varikoziteta, ascitesa ili encefalopatije, nepopravljivog neurološkog deficita ili aktivne infekcije s HBV, HAV, HDV, ili HIV virusom, liječenje interferonom, pegiliranim interferonom ili ribavirinom unutar 6 mjeseci prije upisa, povijest liječenja antineoplastičnim ili imunološkim modulatorima 6 mjeseci prije prve doze lijeka, drugi uzroci bolesti jetre ili druge teške bolesti, konzumiranje alkohola ili antivirusnih lijekova, trudnoće ili dojenja, povijest jetrene, bubrežne, ili drugih velikih transplantacija organa.
Intervencije	Pacijenti su nasumično dobivali: skupina 1: vitamin C 200 mg, vitamin E 800 IU, Glycyrrhiza 1000 mg, schizandrae 1500 mg, L-glutation 300 mg, silymarin 750 mg, lipoična kiselina 300 mg (n = 25); skupina 2: placebo (n = 25); dnevno kroz period od 24 tjedana. Pacijenti su praćeni

	tijekom dodatna 24 tjedana.	
Rezultati	Primarne mjere ishoda su bile: serumska aktivnosti jetrenih enzima, razina HCV-RNA i histologija jetre.	
Bilješke	Suradljivost nije opisana. Antioksidanse je osigurala Vital Nutrients Middletown (CT,USA). Dodatne informacije su dobivene kroz osobnu komunikaciju s autorima (18.12.2007.)	
Rizik pristranosti		
Stavka	**Stav autora**	**Opis**
Dobivanje slijeda slučajnih brojeva primjereno?	Da	Slijed slučajnih brojeva dobiven je računalnom randomizacijom.
Prikrivanje raspodjele?	Da	Razvrstavanje ispitanika po skupinama je provedena od strane trećih osoba koji su dali svakom bolesniku broj.
Zasljepljenje? Svi ishodi	Da	Studija je opisana kao dvostruko slijepa te je metoda zasljepljenja opisana, tako da je poznavanje razvrstavanja ispitanika po skupinama bilo prikladno spriječeno tijekom istraživanja.
Rezultati su cjeloviti? Svi ishodi	Da	Ishodi s nepotpunim rezultatima su prikladno izneseni**.** Brojevi i razlozi odustajanja od uzimanja lijeka i povlačenje u svim intervencijskim skupinama su bili opisani.
Bez selektivnog izvještavanja?	Da	Unaprijed definirane ili klinički relevantne i očekivane mjere ishoda su opisane.
Bez ostalih pristranosti?	Ne	Postoje drugi čimbenici u istraživanju koji bi mogli povećati rizik od pristranosti.

Groenbaek 2006 (94)

Metode	Randomizirano, dvostruko slijepo, placebom kontrolirano istraživanje s paralelnim grupama.
Sudionici	Zemlja: Danska. Broj randomiziranih sudionika: 23, 52% žena, između 23-55 godina, medijan godina 45. Kriteriji uključenja: pacijenti u dobi od 18 do 75 godina s kroničnim hepatitisom C i povišenom razinom alanin-

	aminotransferaze (ALT) u posljednjih 6 mjeseci, kao i otkrivenim HCV-RNA u serumu. Kriteriji isključenja: druge bolesti jetre (HBsAg pozitivni, plazma alfa1-antitripsin <0,8 g/PL, plazma ceruloplazmin <0,15 g/CL, S-feritina> 300 μg/pl u kombinaciji s pozitivnim genetičkim testom na hemokromatozu, umjereno ili jako povećanje antinuklearnih antitijela, glatkih mišićnih antitijela ili mitohondrijskih antitijela u kombinaciji s povišenim imunoglobulinima (IgA, IgG ili IgM)), antivirusna ili imunosupresivna terapija u posljednjih 6 mjeseci, korištenje dodataka s vitaminom C, vitaminom E ili selenom koji nadilazi preporučeni dnevni unos u zadnjih 3 mjeseca, teška respiratorna, kardiovaskularna ili bubrežna bolest, epilepsija ili kompromitirana funkcija središnjeg živčanog sustava, postojeće bolesti štitnjače, anti-HIV pozitivnost, postojeća ili potencijalna trudnoća i dojenje, intravenska zlouporaba droga ili unos alkohola veći od 50 PL / dan.	
Intervencije	Pacijenti su nasumično dobivali: skupina 1: vitamin C 500 mg, vitamin E (D-alfa-tokoferol) 945 IU, a selen kao selenometionin (200 μg) (n = 12); skupina 2: placebo (n = 11); dnevno kroz period od 6 mjeseci. Pacijenti su praćeni 9 mjeseci.	
Rezultati	Primarne mjere ishoda su bile utjecaj antioksidanasa na serumsku alanin-aminotransferazu (ALT) i plazma opterećenje HCV-om kao i oksidativni i antioksidativni markeri u pacijenata s kroničnim hepatitisom C.	
Bilješke	Suradljivost nije opisana. Pet pacijenata odustajanja je odustalo od uzimanja lijeka tijekom promatranog razdoblja. Dva iz intervencijske skupine i dva iz placebo skupine su ispala prije kontrole nakon 3 mjeseca, a jedan iz placebo skupine prije kontrole nakon 9 mjeseci. Od tih pet pacijenata, dva su se preselila, a troje je odbilo nastaviti zbog osobnih razloga. Dodatne informacije dobivene kroz osobnu komunikaciju s autorima (25.11.2007). Antioksidanse i placebo tablete je proizvela DanskDroge (Danska).	
Rizik pristranosti		
Stavka	**Stav autora**	**Opis**
Dobivanje slijeda slučajnih brojeva primjereno?	Da	Slijed slučajnih brojeva dobiven je računalnom randomizacijom.
Prikrivanje raspodjele?	Da	Razvrstavanje ispitanika po skupinama je kontrolirano od strane centralnog i nezavisnog vijeća**,** tako da se ne može predvidjeti koji ispitanik će biti razvrstan koju skupinu prije ili za vrijeme uključenja u studiju.

Zasljepljenje? Svi ishodi	Da	Studija je opisana kao dvostruko slijepa te je metoda osljepljenja opisana, tako da je poznavanje raspodjele adekvatno spriječeno za vrijeme istraživanja.
Rezultati su cjeloviti? Svi ishodi	Da	Brojevi i razlozi odustajanja od uzimanja lijeka i povlačenje u svim intervencijskim skupinama su bili opisani.
Bez selektivnog izvještavanja?	Da	Unaprijed definirane ili klinički relevantne i očekivane mjere ishoda su opisane.
Bez ostalih pristranosti?	Ne	Postoje drugi čimbenici u istraživanju koji bi mogli povećati rizik od pristranosti.

Gueguen 2003 (95)

Metode	Randomizirano, dvostruko slijepo, kliničko istraživanje s paralelnim grupama.
Sudionici	Zemlja: Francuska Broj randomiziranih sudionika: 118 alkoholno ovisnih bolsenika, 25% žena, medijan godina je 40. Kriteriji uključenja: alkoholičari s plazmatskim albuminom >30 g/L, bilirubinom <50 μmol/L, Quick time > 65%, aspartat aminotransferaza (AST) <300 U/L i alanin aminotransferaza (ALT) <300 U/L. Kriteriji isključenja: klinički ili biološki dokaz teške bolesti jetre, encefalopatija, ascites, pankreatitis.
Intervencije	Pacijenti su nasumično dobivali: skupina 1: vitamin C 120 mg, beta-karoten 6 mg, vitamin E 30 mg, 20 mg cinka i selena 100 μg (n = 59); skupina 2: placebo (n = 59); dnevno kroz period od 21 dana. Sudionici su praćeni 21 dan.
Rezultati	Primarne mjere ishoda su bile serumske koncentracije beta-karotena, vitamina A, vitamina C, vitamina E, zeaksantina/luteina, beta-kriptoksantina, likopena, alfa i betacarotena, cinka i selena nakon suplementacije tijekom alkoholne rehabilitacije.
Bilješke	Apstinencija i suradljivost su provjeravani redovitim razgovorima. Na kraju boravka u bolnici, serumski pokazatelji znatno su poboljšani u liječenoj skupini u odnosu na placebo skupinu za vitamin C, vitamin E, betacarotene, cink i selen. Povećanje

	likopena je bilo više u placebo skupini nego u skupini od interesa. Promjene u koncentraciji vitamina A, zeaksantina/luteina, betacryptoxanthina i alfa-karotena promatrane tijekom vremena su vrlo slične i ne značajne između dvije skupine. Poslano je pismo 22.11.2008. autorima za dodatne informacije ne opisane u objavljenom izvješću o studiji. Odgovor nije zaprimljen.	
Rizik pristranosti		
Stavka	**Stav autora**	**Opis**
Dobivanje slijeda slučajnih brojeva primjereno?	Da	Slijed slučajnih brojeva dobiven je računalnom randomizacijom.
Prikrivanje raspodjele?	Nejasno	Metoda korištena za prikrivanje razvrstavanja nije opisana, tako da je možda moguće predvidjeti u koju skupinu će ispitanici biti razvrstani prije ili za vrijeme uključenja u studiju.
Zasljepljenje? Svi ishodi	Nejasno	Studija je opisana kao dvostruko slijepa, ali metoda zasljepljivanja nije opisana, tako da je poznavanje raspodjele bilo moguće tijekom istraživanja.
Rezultati su cjeloviti? Svi ishodi	Da	Brojevi i razlozi odustajanja od uzimanja lijeka i povlačenje u svim intervencijskim skupinama su bili opisani.
Bez selektivnog izvještavanja?	Da	Unaprijed definirane ili klinički relevantne i očekivane mjere ishoda su opisane.
Bez ostalih pristranosti?	Da	Čini se da studija nema drugih čimbenika koje bi mogle povećati rizik od pristranosti.

Hernandez-Guerr 2006 (96)

Metode	Randomizirano, dvostruko slijepo, kliničko istraživanje s paralelnim grupama.
Sudionici	Zemlja: Španjolska. Broj randomiziranih sudionika: 37 bolesnika s portalnom hipertenzijom i cirozom jetre, 46% žena, medijan godina je 60.

	Kriteriji uključenja: bolesnici s cirozom jetre i gradijentom venskog hepatičkog tlaka (HVPG) 12 mmHg. Kriteriji isključenja: zatajenje jetre, definirano kao protrombinskog vrijeme od 40% i bilirubina 5 mg/dl; trudnoća; tromboza portalne vene; srčano, bubrežno ili respiratorno zatajenje; prethodni kirurški ili transjugularni intrahepatični porto-sistemski shunting; difuzni ili multinodularni hepatocelularni karcinom; propisani vazoaktivni lijekovi, antioksidansi, ili bilo kakva preosjetljivost na askorbinsku kiselinu.	
Intervencije	Pacijenti su nasumično dobivali: skupina 1: vitamina C (3 g, intravenozno u 100 ml fiziološke otopine tijekom 15 minuta), (n = 15); zatim miješani tekući obrok (400 ml) koji sadrži 26 g proteina, 74 g ugljikohidrata i 21 g masti, energetske vrijednosti 613 kcal, progutan otprilike unutar 5 min. skupina 2: placebo (100 mL fiziološke otopina) (n = 12); zatim miješani tekući obrok (400 ml) koji sadrži 26 g proteina, 74 g ugljikohidrata i 21 g masti, energetske vrijednosti 613 kcal, progutan otprilike unutar 5 min.. skupina 3: vitamina C (3 g, intravenozno u 100 ml fiziološke otopine tijekom 15 minuta), (n = 10); zatim lažni obrok (400 mL vode).	
Rezultati	Primarne mjere ishoda su bile poboljšanje funkcije jetrenog endotela i prigušenje postprandijalnoga povećanja portalnog tlaka u bolesnika s cirozom jetre i portalnom hipertenzijom.	
Bilješke	Vitamin C je osigurala Roche Farma, Barcelona, Španjolska**.**	
Rizik pristranosti		
Stavka	**Stav autora**	**Opis**
Dobivanje slijeda slučajnih brojeva primjereno?	Nejasno	Studija je opisana kao randomizirana, ali metoda nasumične raspodjele nije navedena.
Prikrivanje raspodjele?	Nejasno	Metoda korištena za prikrivanje razvrstavanja nije opisana, tako da je možda moguće predvidjeti u koju skupinu će ispitanici biti razvrstani prije ili za vrijeme uključenja u studiju.
Zasljepljenje? Svi ishodi	Nejasno	Studija je opisana kao dvostruko slijepa, ali metoda zasljepljivanja nije opisana, tako da je poznavanje raspodjele bilo moguće tijekom istraživanja.
Rezultati su cjeloviti? Svi ishodi	Da	Naglašeno je da nije bilo odustajanja od uzimanja lijeka i povlačenje u svim intervencijskim skupinama.

Bez selektivnog izvještavanja?	Da	Unaprijed definirane ili klinički relevantne i očekivane mjere ishoda su opisane.
Bez ostalih pristranosti?	Ne	Postoje drugi čimbenici u istraživanju koji bi mogli povećati rizik od pristranosti.

Hino 2006 (97)

Metode	Randomizirano kliničko istraživanje s paralelnim skupinama.
Sudionici	Zemlja: Japan. Broj randomiziranih sudionika: 32 bolesnika s kroničnim hepatitisom C, 47% žena, medijan godina je 52. Kriteriji uključenja: bolesnici s kroničnim hepatitisom C i neprestano rastućom razinom ALT duže od 6 mjeseci prije upisa, pozitivni na serumski HCV-RNA i visokim virusnim opterećenjem (>105 IU/ml). Kriteriji isključenja: dekompenziranom cirozom, otkriveni površinski antigen hepatitisa B virusa, drugi potencijalni uzroci kronične bolesti jetre, razina hemoglobina niža od 12 g/dL, broj trombocita manji od 70000/mm3, infekcije virusom humane imunodeficijencije, slabo kontrolirana šećerna bolest ili kardiovaskularne bolesti.

Intervencije	Pacijenti su nasumično dobivali:
	skupina 1: Vitamin E 745 IU i vitamin C 750 mg (n = 14);
	skupina 2: bez intervencije (n = 18);
	dnevno kroz period od 8 tjedana. Sudionici su praćeni tijekom 26 tjedana.
	Bolesnici su uzimali 500 mg vitamina E (Juvela, jedna tableta sadrži 50 mg tokoferolacetata, Eisai, Tokyo, Japan) i 750 mg vitamina C (HICEE jedan paket sadrži 250 mg askorbinske kiseline, Takeda Chemical Industries, Osaka, Japan) oralno nakon tri obroka (vitamin E: 150 mg ujutro, 150 mg popodne i 200 mg uvečer; vitamin C: 250 mg ujutro, 250 mg popodne i 250 mg uvečer).
	Dodatno su uzimali injekcije 6 milijuna jedinica IFN-alfa-2b (Intron A, Schering-Plough KK, Osaka, Japan) šest puta tjedno tijekom 2 tjedna, a zatim tri puta tjedno kroz 24 dodatna tjedna, plus 600 mg dnevno (tjelesne težine <60 kg) ili 800 mg dnevno(tijelo masa> 60 kg) Ribavirina (Revetol, Schering-Plough KK) oralnim putem tijekom 24 tjedana. Tijekom liječenja, doza ribavirina smanjen je na 200 mg/dnevno u pacijenata čija je Hb razina pala ispod 10 g / dl, i ribavirina je ukinut kada razina padne ispod 8,5 g / dl. Pacijenti su bili dužni ne uzimati željezo ili druge antioksidanse za vrijeme liječenja.

Rezultati	Primarne mjere ishoda su bile sastav masnih kiselina u fosfolipidnoj membrani mononuklearnih stanica i kliničkih

	opažanja.	
Bilješke	Suradljivost nije opisana. Aktivne supstance i placebo je osigurala Takeda Chemical Industries, Osaka, Japan.	
Rizik pristranosti		
Stavka	**Stav autora**	**Opis**
Dobivanje slijeda slučajnih brojeva primjereno?	Nejasno	Studija je opisana kao randomizirana, ali metoda nasumične raspodjele nije navedena.
Prikrivanje raspodjele?	Nejasno	Metoda korištena za prikrivanje razvrstavanja nije opisana, tako da je možda moguće predvidjeti u koju skupinu će ispitanici biti razvrstani prije ili za vrijeme uključenja u studiju.
Zasljepljenje? Svi ishodi	Nejasno	Studija je opisana kao dvostruko slijepa, ali metoda zasljepljivanja nije opisana, tako da je poznavanje raspodjele bilo moguće tijekom istraživanja.
Rezultati su cjeloviti? Svi ishodi	Da	Brojevi i razlozi odustajanja od uzimanja lijeka i povlačenje u svim intervencijskim skupinama su bili opisani.
Bez selektivnog izvještavanja?	Da	Unaprijed definirane ili klinički relevantne i očekivane mjere ishoda su opisane.
Bez ostalih pristranosti?	Ne	Postoje drugi čimbenici u istraživanju koji bi mogli povećati rizik od pristranosti.

Ideo 1999 (98)

Metode	Randomizirano kliničko istraživanje s paralelnim skupinama.
Sudionici	Zemlja: Italija. Broj randomiziranih sudionika: 120, medijan godina je 47.5. Kriteriji uključenja: biopsijom dokazana kronični hepatitis C, bez odgovora na prijašnje liječenje alfa-interferonom primijenjenim u dozi od 3 do 6 milijuna jedinica 3 puta tjedno kroz 6 mjeseci; porast razine serumske alanin aminotransferaze (više od dva puta od gornje granice normalne vrijednosti) unutar tri mjerenja tijekom 6 mjeseci prije liječenja; pozitivni na anti-HCV antitijela.

	Kriteriji isključenja: dekompenzacijska ciroza, liječenje steroidima ili imunomodulacijskim sredstvima, HIV pozitivni, zloporaba droga, psihoze, maligne ili druge ozbiljne bolesti	
Intervencije	Pacijenti su nasumično dobivali: skupina 1: prirodni interferon alfa N3 u dozi od 6 - 9 MU TIW, kada je težina tijela <60 kg ili> 60 kg, odnosno oralno 1200 mg N-acetilcisteina, 600 mg vitamin E (n = 58). skupina 2: prirodni interferon alfa N3 u dozi od 6 do 9 MU TIW, kada je težina tijela <60 kg ili> 60 kg, odnosno (n = 62). dnevno kroz period od 6 mjeseci.	
Rezultati	Primarna mjera ishoda je bila stopa odgovora ponovnog liječenja alfa-interferonom nakon ne-odgovora na početno liječenje kroničnog hepatitisa C.	
Bilješke	Liječenje je bilo nastavljeno i nakon četvrtog mjeseca u 12 bolesnika: 6 iz skupini 1 i 6 iz skupini 2 Vitamin E je osigurao Evion, Bracco SpA, Milano, Italija, a N-acetilcisteina Fluimucil, Zambon S.P.A., Vicenza, Italija Poslano je pismo 11. 11. 2008. autorima za dodatne informacije neopisane u objavljenom znanstvenom radu o studiji. Odgovor nije zaprimljen.	
Rizik pristranosti		
Stavka	**Stav autora**	**Opis**
Dobivanje slijeda slučajnih brojeva primjereno?	Nejasno	Studija je opisana kao randomizirana, ali metoda nasumične raspodjele nije navedena.
Prikrivanje raspodjele?	Da	Razvrstavanje ispitanika po skupinama je kontrolirano zatvorenim omotnicama**,** tako da se ne može predvidjeti koji ispitanik će biti razvrstan koju skupinu prije ili za vrijeme uključenja u studiju.
Zasljepljenje? Svi ishodi	Ne	Studija nije bila dvostruko slijepa, tako da se raspodjela ispitanika po skupinama znala tijekom studije.
Rezultati su cjeloviti? Svi ishodi	Da	Brojevi i razlozi odustajanja od uzimanja lijeka i povlačenje u svim intervencijskim skupinama su bili opisani.
Bez selektivnog izvještavanja?	Da	Unaprijed definirane ili klinički relevantne i očekivane mjere ishoda su opisane.
Bez ostalih pristranosti?	Ne	Postoje drugi čimbenici u istraživanju koji bi mogli

		povećati rizik od pristranosti.

Look 1999 (99)

Metode	Randomizirano kliničko istraživanje s paralelnim skupinama.	
Sudionici	Zemlja: Njemačka. Broj randomiziranih sudionika: 24, 42% žena, medijan godina je 36. Kriteriji uključenja: interferon-alfa-naivni pacijenti s kroničnim hepatitisom C. Dijagnoza kroničnog hepatitisa C temelji se na pozitivnim HCV-PCR i povišenim aminotransferaza (> 24 U / L). Kriteriji isključenja: ciroza jetre, prijašnji tretman interferonom (IFN), bubrežni poremećaji, koinfekcije s drugim virusima (HBV, HIV), drugi uzročnici kronične bolesti jetre i kontraindikacije na IFN-terapiju.	
Intervencije	Pacijenti su nasumično dobivali: skupina 1: 4,5 milijuna jedinica (MU) standardnog interferon-alfa 2a kao monoterapiju tri puta tjedno kroz 24 tjedno, subkutano (n = 8); skupina 2: 4,5 milijuna jedinica (MU) standardnog interferon-alfa-2A kao monoterapija tri puta tjedno tijekom 24 tjedana, subkutano u kombinaciji s N-acetilcistein (NAC), (1800 mg/ dan šumeće tablete); i natrijev selenit (400 μg / dan Na3SeO4; u bočicama) (n = 8); skupina 3: 4.5million jedinice (MU) standardnog interferon alfa-2a kao monoterapija tri puta tjedno tijekom 24 tjedana, subkutano u kombinaciji s N-acetilcistein (NAC), (1800 mg / dan šumeće tablete); natrijev selenit (400 μg / dan); vitamin E 544 IU/dan (d-alfa-tokoferol acetat) meke želatinske kapsule (n = 8). kroz razdoblje od 6 mjeseci.	
Rezultati	Primarna mjera ishoda je bio potpuni odgovor, tj. normalizacija serumske ALT i nepostojanje HCV-RNA na kraju liječenja (24 tjedan). Sekundarne mjere ishoda su bile: smanjenje HCV-RNA i aktivnost ALT kao i promjene u histologije jetre i promjene sporednih markera oksidativnog stresa.	
Bilješke	Suradljivost nije opisana. Interferon-alfa-2a je osigurao Roferon, Hoffman LaRoche, N-acetilcistein Fluimucil long®, Zambon GmbH, Gräfelfing, Njemačka, selen Selenase GNPharm, Fellbach, Njemačka, a vitamin E Spondyvit®, Brenner-Efeka, Münsteru, Njemačka. Poslano je pismo 13.11.2008. autorima za dodatne informacije neopisane u objavljenom izvješću o studiji. Odgovor nije zaprimljen.	
Rizik pristranosti		
Stavka	**Stav autora**	**Opis**

Dobivanje slijeda slučajnih brojeva primjereno?	Nejasno	Studija je opisana kao randomizirana, ali metoda nasumične raspodjele nije navedena.
Prikrivanje raspodjele?	Da	Razvrstavanje ispitanika po skupinama je kontrolirano zatvorenim omotnicama**,** tako da se ne može predvidjeti koji ispitanik će biti razvrstan koju skupinu prije ili za vrijeme uključenja u studiju.
Zasljepljenje? Svi ishodi	Nejasno	Studija je opisana kao dvostruko slijepa, ali metoda zasljepljivanja nije opisana, tako da je poznavanje raspodjele bilo moguće tijekom istraživanja.
Rezultati su cjeloviti? Svi ishodi	Da	Brojevi i razlozi odustajanja od uzimanja lijeka i povlačenje u svim intervencijskim skupinama su bili opisani.
Bez selektivnog izvještavanja?	Da	Unaprijed definirane ili klinički relevantne i očekivane mjere ishoda su opisane.
Bez ostalih pristranosti?	Ne	Postoje drugi čimbenici u istraživanju koji bi mogli povećati rizik od pristranosti.

Mezey 2004 (100)

Metode	Randomizirano, dvostruko slijepo, kliničko istraživanje s paralelnim grupama.
Sudionici	Zemlja: USA i Španjolska Broj randomiziranih sudionika: 51, 33.33% žena, između 18 i 70 godina, medijan godina je 48. Kriteriji uključenja**:** novija povijest teškog alkoholizma , te klinička i laboratorijska obilježja usvojena prema International Informatics Hepatology Group za dijagnozu alkoholnog hepatitisa. Ti kriteriji uključuju umjereno povišenje serumske aspartat aminotransferaze AST (<10 puta iznad normalne), AST/ALT omjer veći od 1,0, bolesti jetre koje nisu uzrokovane virusom hepatitisa, autoimunime bolesti, hemokromatoze, Wilsonova bolest ili lijekovima izazvan hepatitis. Kriteriji isključenja**:** trudnoća, dojenje, kardiovaskularne, plućne, bubrežne bolesti, pankreatitis, dijabetes tipa I,

	nedavno (unutar mjesec dana) gastrointestinalno krvarenje, peptički ulkus, infekcije, povijest tromboflebitisa, HIV pozitivni i povijest uzimanja više od 100 IU vitamina E prethodnog mjeseca.	

Intervencije	Pacijenti su nasumično dobivali:
	skupina 1: vitamin E 1000 IU (n = 25);
	skupina 2: placebo (n = 26);
	dnevno u trajanju od 3 mjeseca. Pacijenti su praćeni tijekom godinu dana.	

Rezultati	Primarne mjere ishoda su bili klinički i laboratorijski šarametri jetrene funkcije i markeri fibrogeneze.	
Bilješke	Suradljivost je provjeravana serumskim procjenama. Razina plazmatskog alfa-tokoferol je povećan u bolesnika na vitaminu E. Autori su objavljivali rezultate nakon kraćih (3 mjeseca) i dužih (1 godine) razdoblja praćenja.	
Rizik pristranosti		
Stavka	**Stav autora**	**Opis**
Dobivanje slijeda slučajnih brojeva primjereno?	Da	Slijed slučajnih brojeva dobiven je računalnom randomizacijom.
Prikrivanje raspodjele?	Da	Razvrstavanje ispitanika po skupinama je provedeno zatvorenim omotnicama**,** tako da se ne može predvidjeti koji ispitanik će biti razvrstan koju skupinu prije ili za vrijeme uključenja u studiju.
Zasljepljenje? Svi ishodi	Da	Studija je opisana kao dvostruko slijepa te je metoda osljepljenja opisana, tako da je poznavanje raspodjele adekvatno spriječeno za vrijeme istraživanja.
Rezultati su cjeloviti? Svi ishodi	Da	Brojevi i razlozi odustajanja od uzimanja lijeka i povlačenje u svim intervencijskim skupinama su bili opisani.
Bez selektivnog izvještavanja?	Da	Unaprijed definirane ili klinički relevantne i očekivane mjere ishoda su opisane.
Bez ostalih pristranosti?	Da	Čini se da studija nema drugih čimbenika koje bi mogle povećati rizik od pristranosti.

Nishiguchi 2001 (101)

Metode	Randomizirano kliničko istraživanje s paralelnim skupinama.	
Sudionici	Zemlja: Japan. Broj randomiziranih sudionika: 62, 29% žena, između 27 i 67 godina, medijan godina je 43. Kriteriji uključenja: histološki dijagnosticiranim kronični aktivni hepatitis, prisutnost HCV-RNA, odsustvo retinopatije, te odsutnost dijabetesa melitusa. Kriteriji isključenja: nije naveden.	
Intervencije	Pacijenti su nasumično dobivali: skupina 1: 6 milijuna IU prirodnog alfa-IFN (Sumiferon, Sumitomo Pharmaceuticals, Osaka, Japan) ili 10 miljuna IU rekombinantnog humanog alfa-IFN-2b (Intron; Schering-Plough, Madison, WI, USA) intramuskularno plus 600 mg vitamina C oralno (n = 31); skupina 2: 6 milijuna IU prirodnog alfa-IFN (Sumiferon, Sumitomo Pharmaceuticals, Osaka, Japan) ili 10 miljuna IU rekombinantnog humanog alfa-IFN-2b (Intron; Schering-Plough, Madison, WI, USA) intramuskularno (n=31). Interferon je davan svaki dan tijekom prva 2 tjedna, a zatim tri puta tjedno kroz sljedeća 22 tjedna. Vitamin C se uzimao 1 put dnevno kroz period od mjeseca. Bolesnici su praćeni godinu dana.	
Rezultati	Primarna mjera ishoda je bila pojava retinopatije tijekom IFN terapije kod pacijenata sa kroničnim hepatitisom C.	
Bilješke	Suradljivost nije opisana.	
Rizik pristranosti		
Stavka	**Stav autora**	**Opis**
Dobivanje slijeda slučajnih brojeva primjereno?	Nejasno	Studija je opisana kao randomizirana, ali metoda nasumične raspodjele nije navedena.
Prikrivanje raspodjele?	Da	Razvrstavanje ispitanika po skupinama je kontrolirano zatvorenim omotnicama.
Zasljepljenje? Svi ishodi	Nejasno	Studija je bila jednostruko slijepa.
Rezultati su cjeloviti? Svi ishodi	Da	Napomenuto je da nije bilo odustajanja od uzimanja lijeka ili povlačenja.
Bez selektivnog izvještavanja?	Nejasno	Nisu opisani svi unaprijed definirani, te klinički relevantni i razumno očekivani ishodi.
Bez ostalih pristranosti?	Da	Čini se da studija nema drugih čimbenika koje bi mogle povećati rizik od pristranosti.

Prince 2003 (102)

Metode	Randomizirano, dvostruko slijepo, placebom kontrolirano unakrsno istraživanje.
Sudionici	Zemlja: Ujedinjeno Kraljevstvo Broj randomiziranih sudionika: 61 bolesnik primarnom bilijarnom cirozom, 56 (92%) žena, medijan godina je 58. Kriteriji uključenja: primarna bilijarna ciroza i samoprocjena slabosti Kriteriji isključenja: promjena u bolesti (ili simptomu) promjenom lijekova 3 mjeseca prije randomizacije (npr ursodeoksikolna kiselina, kolestiramin, rifampicin), trenutnu uporabu ili stalna uporaba zadnjih 3 mjeseca prehrambenih dodataka koji sadrže antioksidanse, nemogućnost procjene ozbiljnosti simptoma, po život opasne bolesti; prisutnost drugih nekontroliranih bolesti gdje umor čini važan dio kliničko spektra (npr, hipotireoza, anemija, zatajenje bubrega, depresije); ovisnost o drogi; fertilne žene koje nisu koristile učinkovitu kontracepciju.
Intervencije	Pacijenti su nasumično dobivali: skupina 1: beta-karoten 3 mg, vitamin C 150 mg, vitamin E (d-alfa-tokoferol acetat) 50 mg, selen (l-selenomethionine) 75 µg, l-metionin 375 mg, i ubikinon (koenzima Q10) 25 mg (n = 29); skupina 2: placebo (n = 32); kroz period od 6 mjeseci. Studija je izvedena kao unakrsna. Svaki sudionik je primao 12 tjedana placebo i antioksidans (vitamini A, C i E, selen, metionin i ubikinon) slučajnim redoslijedom, s četiri tjedna pauze između uzimanja druge tvari. Od sudionika je zatraženo da ne uzimaju druge dodatke prehrani ili komplementarnu terapiju za vrijeme ispitivanja. 43 (70%) bolesnika su imali propisanu ursodeoksikolnu kiselinu. Srednja vrijednost propisane doze (raspon) bila je 9,6 mg/kg (8,5-11.3 mg/kg). 15 (25%) bolesnika je uzimalo tiroksina radi postojeće hipotireoze. Svi bolesnici su imali normalne razine hormona štitnjače i bili su na stabilnim dozama tiroksina najmanje 3 mjeseca prije upisa. Dva bolesnika su dugoročno koristila beta-adrenergičke blokatore (po jedan propranolol i sotalol). Tri pacijenta su dugoročni korisnici benzodiazepina.
Rezultati	Primarna mjera ishoda za ovu studiju je bila promjena u općem stanju pacijenta. Opće stanje pacijenta je procijenjeno korištenjem ljestvice *Fisk fatigue severity score* (FFSS). FFSS ocjenjuje utjecaj općeg stanja na tri vrste sposobnosti (fizičke, kognitivne i psihosocijalne) koje se mogu sažeti i dati ukupnu ocjenu. Viši rezultati se odnose na pogoršanje općeg stanja.
Bilješke	Lijekove je osigurao Bioquantox, Pharma Nord, Morpeth,UK.

	Dodatne informacije su dobivene kroz osobnu komunikaciju s autorima (05.11.2005.)	
Rizik pristranosti		
Stavka	**Stav autora**	**Opis**
Dobivanje slijeda slučajnih brojeva primjereno?	Da	Slijed slučajnih brojeva dobiven je računalnom randomizacijom.
Prikrivanje raspodjele?	Da	Razvrstavanje ispitanika po skupinama je kontrolirano od strane centralnog i nezavisnog vijeća**.**
Zasljepljenje? Svi ishodi	Da	Studija je opisana kao dvostruko slijepa te je metoda osljepljenja opisana, tako da je poznavanje raspodjele adekvatno spriječeno za vrijeme istraživanja.
Rezultati su cjeloviti? Svi ishodi	Da	Brojevi i razlozi odustajanja od uzimanja lijeka i povlačenje u svim intervencijskim skupinama su bili opisani.
Bez selektivnog izvještavanja?	Da	Unaprijed definirane ili klinički relevantne i očekivane mjere ishoda su opisane.
Bez ostalih pristranosti?	Ne	Postoje drugi čimbenici u istraživanju koji bi mogli povećati rizik od pristranosti.

Saeian 2004 (103)

Metode	Randomizirano kliničko istraživanje s paralelnim skupinama.
Sudionici	Zemlja: SAD. Broj randomiziranih sudionika: 47, 19% žena, medijan godina je 45. Kriteriji uključenja: liječeni-naivni bolesnici s kompenziranim kroničnim hepatitisom C, dob> 18 godina, biopsija jetre u skladu s kroničnim hepatitisom C, serum pozitivan na virus hepatitisa C i povišena razina alanin aminotransferaze (ALT) ili aspartat aminotransferaze (AST) godinu dana prije. Samo oni s vrijenostima hemoglobina (HGB) jednakim ili većim od 12 g/dl za žene ili 13 g/dl za muškarce, broj leukocita >3000/mm3, neutrofila >1500/mm3, trombocita >80 000/mm3, albumina >3,0 g/dl, INR <1,4, serumski kreatinin <1.2, antinuklearna antitijela <1: 160 i alfa-fetoproteina u granicama normale unutar godine dana prije uključenja u studiju.

	Kriteriji isključenja: druge jetrene bolesti, hemoglobinopatije (npr. talasemije) ili bilo koji drugi uzrok hemolitičke anemije, dokaz dekompenzacijske bolesti jetre poput povijesti prisutnosti ascitesa, krvarenje varikoziteta ili encefalopatije.	
Intervencije	Pacijenti su nasumično dobivali: skupina 1: vitamin E 1600 IU plus alfa-interferon-2b (3 milijuna jedinica, supkutano, tri puta tjedno) i ribavirin (doziranje na bazi mase, 1000 mg/dan za masu <75 kg, 1200 mg/dan za masu > 75 kg) (n = 27); skupina 2: alfa-interferon-2b (3 milijuna jedinica supkutano tri puta tjedno) i ribavirin (doziranje na bazi mase, 1000 mg/dan za masu <75 kg, 1200 mg/dan za masu> 75 kg) (n = 20); Sudionici su primali 800 IU vitamina E, dvaput dnevno u trajanju od 6 mjeseci.	
Rezultati	Primarna mjera ishoda bila je ribavirin povezane hemoliza i unapređenje tolerancije bolesnika na terapiju standardnim interferonom i ribavirinom.	
Bilješke	Nije bilo razlike u suradljivosti za vrijeme liječenja između dviju grupa. Studija dijelom podržana od Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ, SAD.	
Rizik pristranosti		
Stavka	**Stav autora**	**Opis**
Dobivanje slijeda slučajnih brojeva primjereno?	Nejasno	Studija je opisana kao randomizirana, ali metoda nasumične raspodjele nije navedena.
Prikrivanje raspodjele?	Nejasno	Metoda korištena za prikrivanje razvrstavanja nije opisana, tako da je možda moguće predvidjeti u koju skupinu će ispitanici biti razvrstani prije ili za vrijeme uključenja u studiju.
Zasljepljenje? Svi ishodi	Ne	Studija nije bila dvostruko slijepa, tako da se raspodjela ispitanika po skupinama znala tijekom studije.
Rezultati su cjeloviti? Svi ishodi	Da	Brojevi i razlozi odustajanja od uzimanja lijeka i povlačenje u svim intervencijskim skupinama su bili opisani.
Bez selektivnog izvještavanja?	Da	Unaprijed definirane ili klinički relevantne i očekivane mjere ishoda su opisane.
Bez ostalih pristranosti?	Ne	Postoje drugi čimbenici u

		istraživanju koji bi mogli povećati rizik od pristranosti.

Stewart 2007 (104)

Metode	Randomizirano, dvostruko slijepo, kliničko istraživanje s paralelnim grupama.	
Sudionici	Zemlja: Ujedinjeno Kraljevstvo Broj randomiziranih sudionika: 70 između 38 i 50 godina. 49% žena, medijan godina je 44. Kriteriji uključenja: novi teški alkoholičari (> 40 g / dan za žene,> 60 g / dan za muškarce) u dobi od 18 do 65 godina dijagnosticirani bilo putem biopsije jetre ili dva od sljedeća: hepatomegalije, leukocitoza > 11 × 10 stanica / L i "white out" na jetri ili skeniranje izotopa u slezeni. Kriteriji isključenja: dokaz malignosti, pozitivna serologija HBV ili HCV, trudnice i dojilje, te bolesnici s cirozom hospitalizirani prvenstveno radi kontrole komplikacija koje proizlaze iz portalne hipertenzije.	
Intervencije	Pacijenti su nasumično dobivali: skupina 1: početnu dozu N-acetilcisteina (NAC) od 150 mg/kg tijekom 30 minuta, zatim 100 mg/kg tijekom 24 sata kroz tjedan dana, vitamin A 5000 IU, vitamin C 600 mg, vitamin D (kolekalciferol) 7,5 μg, vitamin E (d-alfa-tokoferol acetat) 400 IU, vitamin B1 12 mg, vitamina B2 15 mg, vitamin B6 12 mg, vitamin B12 13,5 μg, niacin 45 mg, folnu kiselinu 600 μg, biotin 0.1 mg, pantotensku kiselinu 7.5 mg, magnezij 150 mg, cink 22.5 mg, joda 225 mg, selen (L-selenomethionine) 187.5 μg, mangana 6 mg, bakara 3 mg, i koenzima Q 100 mg (n = 39). skupina 2: placebo (n = 38); dnevno kroz period od 6 mjeseci Steroide su dobivali osim ako postoji dokaz aktivne infekcije ili gastrointestinalnog krvarenja. Za 38 pacijenata liječenih steroidima medijan liječenja je bio 16 dana.	
Rezultati	Primarna mjera ishoda je bila sveukupna smrtnost.	
Bilješke	Liječenje je prekinuto prerano u 14 (37%) bolesnika zbog gastrointestinalnog krvarenja (5 bolesnika) ili sepse (9 bolesnika). Dodatne informacije su dobivene kroz osobnu komunikaciju s autorima (07.11.2007.)	
Rizik pristranosti		
Stavka	**Stav autora**	**Opis**
Dobivanje slijeda slučajnih brojeva primjereno?	Da	Slijed slučajnih brojeva dobiven je računalnom randomizacijom.
Prikrivanje raspodjele?	Da	Razvrstavanje ispitanika po skupinama provelo je

		centralno i nezavisno vijeće**,** tako da se ne može predvidjeti koji ispitanik će biti razvrstan koju skupinu prije ili za vrijeme uključenja u studiju.
Zasljepljenje? Svi ishodi	Da	Studija je opisana kao dvostruko slijepa te je metoda osljepljenja opisana, tako da je poznavanje raspodjele adekvatno spriječeno za vrijeme istraživanja.
Rezultati su cjeloviti? Svi ishodi	Da	Brojevi i razlozi odustajanja od uzimanja lijeka i povlačenje u svim intervencijskim skupinama su bili opisani.
Bez selektivnog izvještavanja?	Da	Unaprijed definirane ili klinički relevantne i očekivane mjere ishoda su opisane.
Bez ostalih pristranosti?	Da	Čini se da studija nema drugih čimbenika koje bi mogle povećati rizik od pristranosti.

Takagi 2003 (105)

Metode	Randomizirano kliničko istraživanje s paralelnim skupinama.	
Sudionici	Zemlja: SAD Broj randomiziranih sudionika: 93, 55% žena, medijan godina je 62.5. Kriteriji uključenja: ciroza jetre izazvana virusom hepatitisa C. Kriteriji isključenja: nije naveden.	
Intervencije	Pacijenti su nasumično dobivali: skupina 1: vitamin E (600 mg) (n = 51); skupina 2: bez liječenja (n = 42); dnevno kroz period od 5 godina.	
Rezultati	Primarne mjere ishoda su bile preživljavanje bez tumora i kumulativna stopa preživljavanja.	
Bilješke	Suradljivost nije opisana**.**	
Rizik pristranosti		
Stavka	**Stav autora**	**Opis**
Dobivanje slijeda slučajnih brojeva primjereno?	Nejasno	Studija je opisana kao randomizirana, ali metoda nasumične raspodjele nije navedena.

Prikrivanje raspodjele?	Nejasno	Metoda korištena za prikrivanje razvrstavanja nije opisana, tako da je možda moguće predvidjeti u koju skupinu će ispitanici biti razvrstani prije ili za vrijeme uključenja u studiju.
Zasljepljenje? Svi ishodi	Ne	Studija nije bila dvostruko slijepa, tako da se raspodjela ispitanika po skupinama znala tijekom studije.
Rezultati su cjeloviti? Svi ishodi	Da	Brojevi i razlozi odustajanja od uzimanja lijeka i povlačenje u svim intervencijskim skupinama su bili opisani.
Bez selektivnog izvještavanja?	Da	Unaprijed definirane ili klinički relevantne i očekivane mjere ishoda su opisane.
Bez ostalih pristranosti?	Nejasno	Studija može i ne mora biti bez ostalih čimbenika koje bi mogle imati utjecaja na pristranost.

van Gossum 1995 (106)

Metode	Randomizirano, dvostruko slijepo, kliničko istraživanje s paralelnim grupama.
Sudionici	Zemlja: Belgija. Broj randomiziranih sudionika: 16 Kriteriji uključenja: bolesnici s uznapredovanom alkoholnom cirozom. Kriteriji isključenja: nije naveden.
Intervencije	Pacijenti su nasumično dobivali: skupina 1: 100 μg selena (n = 8); skupina 2: placebo (n = 8); dnevno u trajanju od 4 mjeseca. Nakon boravka u bolnici radi pregleda i liječenja (1 do 2 tjedna), bolesnicima je dopušteno da se vrate kućama i dobili su zajedničke upute o liječenju (apstinencije od alkohola i B vitamina) ili selena tablete (selen obogaćeni kvasac) ili placebo.
Rezultati	Primarne mjere ishoda su bile plazmatska koncentracija selena, plazmatska koncetracija maloilaldehida, i test izdaha 14C aminopirina.

Bilješke	Suradljivost nije opisana.	
Rizik pristranosti		
Stavka	**Stav autora**	**Opis**
Dobivanje slijeda slučajnih brojeva primjereno?	Nejasno	Studija je opisana kao randomizirana, ali metoda nasumične raspodjele nije navedena.
Prikrivanje raspodjele?	Nejasno	Metoda korištena za prikrivanje razvrstavanja nije opisana, tako da je možda moguće predvidjeti u koju skupinu će ispitanici biti razvrstani prije ili za vrijeme uključenja u studiju.
Zasljepljenje? Svi ishodi	Nejasno	Studija je opisana kao dvostruko slijepa ali metoda zasljepljenja nije opisana, tako da je poznavanje raspodjele bilo moguće tijekom istraživanja.
Rezultati su cjeloviti? Svi ishodi	Da	Brojevi i razlozi odustajanja od uzimanja lijeka i povlačenje u svim intervencijskim skupinama su bili opisani.
Bez selektivnog izvještavanja?	Nejasno	Nisu prikazani svi unaprijed definirani, te klinički relevantni i razumno očekivani ishodi.
Bez ostalih pristranosti?	Da	Čini se da studija nema drugih čimbenika koje bi mogle povećati rizik od pristranosti.

von Herbay 1997 (107)

Metode	Randomizirano, dvostruko slijepo, placebom kontrolirano unakrsno istraživanje.
Sudionici	Zemlja: Njemačka. Broj randomiziranih sudionika: 26 bolesnika s kroničnim hepatitisom C, 48% žena, medijan godina je 55 +- 11. Kriteriji uključenja: bolesnici s kroničnim hepatitisom C (pozitivni HCV-protutijela i HCV-RNA) i ALT iznad 50 U/L. Kriteriji isključenja: nije naveden.
Intervencije	Pacijenti su nasumično dobivali: skupina 1: vitamin E (RRR-tokoferol) 800 IU (n = 13);

	skupina 2: placebo (n = 13); dnevno kroz period od 6 mjeseci. Studija je izvedena kao unakrsna. 13 pacijenta je dobilo vitamin E u prvoj fazi i placebo u drugoj fazi, druga polovica je primila u prvoj fazi placebo te u drugoj vitamin E. Svaka faza je trajala 12 tjedana, a između dviju faza bio je interval od 4 tjedna bez tretmana.	
Rezultati	Primarna mjera ishoda je bio status aminotransferaza u bolesnika s hepatitisom C, koji nisu imali odgovor na klasičnu terapiju alfa-interferonom.	
Bilješke	Kapsule vitamina E (RRR-tokoferol) i prikladnog placeba je osigurala tvrtka Henkel Co, Dűsseldorf, Njemačka. Dodatne informacije prikupljene su kroz osobnu komunikaciju s autorima (21. 12. 2007).	
Rizik pristranosti		
Stavka	**Stav autora**	**Opis**
Dobivanje slijeda slučajnih brojeva primjereno?	Nejasno	Studija je opisana kao randomizirana, ali metoda nasumične raspodjele nije navedena.
Prikrivanje raspodjele?	Nejasno	Metoda korištena za prikrivanje razvrstavanja nije opisana, tako da je možda moguće predvidjeti u koju skupinu će ispitanici biti razvrstani prije ili za vrijeme uključenja u studiju.
Zasljepljenje? Svi ishodi	Nejasno	Studija je opisana kao dvostruko slijepa ali metoda zasljepljenja nije opisana, tako da je poznavanje raspodjele bilo moguće tijekom istraživanja.
Rezultati su cjeloviti? Svi ishodi	Da	Brojevi i razlozi odustajanja od uzimanja lijeka i povlačenje u svim intervencijskim skupinama su bili opisani.
Bez selektivnog izvještavanja?	Da	Unaprijed definirane ili klinički relevantne i očekivane mjere ishoda su opisane.
Bez ostalih pristranosti?	Da	Čini se da studija nema drugih čimbenika koje bi mogle povećati rizik od pristranosti.

Worner 1988 (108)

Metode	Randomizirano, kliničko, placebom kontrolirano istraživanje s paralelnim grupama.	
Sudionici	Zemlja: SAD. Broj randomiziranih sudionika: 30 muških alkoholičara, medijan godina je 50. Kriteriji uključenja: muški alkoholičari sa seksualnom disfunkcijom, apstinencija od minimalno 3 mjeseca. Kriteriji isključenja: depresija.	

Intervencije	Pacijenti su nasumično dobivali:
	skupina 1: 10000 IU vitamina A (n = 15);
	skupina 2: placebo (n = 15);
	dnevno u trajanju od 4 mjeseca.	

Rezultati	Primarna mjera ishoda je bila seksualna funkcija.	
Bilješke	Bolesnici su nadgledani jednom mjesečno kroz 4 mjeseca. Suradljivost je praćena prema povijesti samo 30 ili 31 u mjesecu.	
Rizik pristranosti		
Stavka	**Stav autora**	**Opis**
Dobivanje slijeda slučajnih brojeva primjereno?	Nejasno	Studija je opisana kao randomizirana, ali metoda nasumične raspodjele nije navedena.
Prikrivanje raspodjele?	Nejasno	Metoda korištena za prikrivanje razvrstavanja nije opisana, tako da je možda moguće predvidjeti u koju skupinu će ispitanici biti razvrstani prije ili za vrijeme uključenja u studiju.
Zasljepljenje? Svi ishodi	Da	Studija je opisana kao dvostruko slijepa te je metoda osljepljenja opisana, tako da je poznavanje raspodjele adekvatno spriječeno za vrijeme istraživanja.
Rezultati su cjeloviti? Svi ishodi	Da	Naglašeno je da nije bilo odustajanja od uzimanja lijeka i povlačenja.
Bez selektivnog izvještavanja?	Da	Unaprijed definirane ili klinički relevantne i očekivane mjere ishoda su opisane.
Bez ostalih pristranosti?	Da	Studija se čini slobodna ostalih komponenti koje bi mogle povećati rizik od pristranosti.

Yu 1997 (109)

Metode	Randomizirano, kliničko, placebom kontrolirano istraživanje s paralelnim grupama.	
Sudionici	Zemlja: Kina Broj randomiziranih sudionika: 226, između 21 i 63 godine. Kriteriji uključenja: HBsAg bolesnici s normalnom funkcijom jetre. Kriteriji isključenja: nije naveden.	
Intervencije	Pacijenti su nasumično dobivali: skupina 1: selen (200 μg) (n = 113); skupina 2: placebo (n = 113); dnevno u razdoblju od 4 godine. Pacijenti su praćeni 8 godina.	
Rezultati	Primarna mjera ishoda je bila učestalost raka jetre.	
Bilješke	Suradljivost nije opisana. Podaci su izvađeni iz primarne publikacije.	
Rizik pristranosti		
Stavka	**Stav autora**	**Opis**
Dobivanje slijeda slučajnih brojeva primjereno?	Nejasno	Studija je opisana kao randomizirana, ali metoda nasumične raspodjele nije navedena.
Prikrivanje raspodjele?	Nejasno	Metoda korištena za prikrivanje razvrstavanja nije opisana, tako da je možda moguće predvidjeti u koju skupinu će ispitanici biti razvrstani prije ili za vrijeme uključenja u studiju.
Zasljepljenje? Svi ishodi	Nejasno	Studija je opisana kao dvostruko slijepa ali metoda zasljepljenja nije opisana, tako da je poznavanje raspodjele bilo moguće tijekom istraživanja.
Rezultati su cjeloviti? Svi ishodi	Da	Naglašeno je da nije bilo odustajanja od uzimanja lijeka ili povlačenja.
Bez selektivnog izvještavanja?	Nejasno	Nisu prikazani svi unaprijed definirani, te klinički relevantni i razumno očekivani ishodi.
Bez ostalih pristranosti?	Da	Studija se čini slobodna ostalih komponenti koje bi mogle povećati rizik od pristranosti

Karakteristike isključenih studija (77)

Studija	Razlog isključenja
Baines 1988 (110)	Randomizirana, kontrolirana studija. Bili smo u nemogućnosti izvući relevantne podatke. Korištene doze antioksidanasa nisu prijavljene.
Bartels 2004 (111)	Randomizirana, kontrolirana studija s 68 bolesnika izabranih prema o tumoru ovisnom djelomičnom zatajenju jetre. Ovo istraživanje nije ispunilo kriteriji uključenja.
Brown 1983 (112)	Studija nije RCT.
Bugianesi 2005 (113)	RCT. Studija nije ispunila kriterije uključenja (bolesnici s nealkoholnom masnom promjenom jetre).
Dufour 2006 (114)	RCT. Studija nije ispunila kriterije uključenja (bolesnici s nealkoholnim steatohepatitsom).
Ersoz 2005 (115)	RCT. Ne postoji placebo ili bez intervencijska skupina. Obe skupine u istraživanju su primile potencijalno aktivne supstance.
Ferro 1999 (116)	Studija nije RCT.
Gomez 2010 (117)	RCT. Studija nije ispunila kriterije uključenja
Harrison 2013 (118)	RCT. Studija nije ispunila kriterije uključenja (bolesnici s nealkoholnim steatohepatitsom).
Hasegawa 2001 (119)	Studija nije RCT.
Houglum 1997 (120)	Studija nije RCT.
Kaushal 2005 (121)	Studija nije RCT.
Kugelmas 2003 (122)	RCT. Studija nije ispunila kriterije uključenja (bolesnici s nealkoholnim steatohepatitsom).
Madan 2005 (121)	Studija nije RCT.
Mahmood 2003 (123)	Studija nije RCT.
Marotta 2001 (124)	RCT. Studija nije ispunila kriterije uključenja. Autori koriste „Bionormalizer“ bez ikakvih antioksidansa odabranih za ovaj pregled.
Marotta 2007 (125)	RCT. Sudionici u kontrolnoj skupini nisu bili randomizirani. Obje skupine randomiziranih sudionika su bile dopunjene.
Melhem 2005 (126)	Studija nije RCT.
Phullips 2006 (127)	RCT. Ne postoji placebo ili bez intervencijska skupina. Obe skupine u istraživanju su primile potencijalno aktivne supstance.
Wenzel 1993 (128)	Kvazi-randomizirano kliničko istraživanje. Bolesnici su randomizirani pomoću datum rođenja. Autori nisu izvijestili o eventualnim nuspojavama.

Sudionici (77)

Ukupno je randomizirano 1225 sudionika u 20 istraživanja. Broj sudionika u svakom istraživanju bio je u rasponu od 16 do 226 (medijan 48). Nije bilo moguće izdvojiti relevantne podatke o spolu sudionika u 3 istraživanja (98, 106, 109) i o srednjoj dobi sudionika iz dva istraživanja (103, 109). Postotak žena je bio 38% u onim istraživanjima koji su dali podatke o spolu. Prosječna dob sudionika bila je 49 godina. Bilo je sedam istraživanja s pacijentima s alkoholnom bolesti jetre (alkoholičari, (91, 95, 108); alkoholni hepatitis, (100, 104); i alkoholnom cirozom, (92, 106)), devet istraživanja u bolesnika s kronični hepatitis C (93, 94, 97-99, 103, 105, 107), dva istraživanja u bolesnika s kroničnim hepatitisom B (89, 109), jedno istraživanje u bolesnika s primarnom bilijarnom cirozom (102) i jedno istraživanje u bolesnika s cirozom jetre (96).

Mjere ishoda (77)

Svih 20 studija je ispitalo intenzitet i napredovanje bolesti jetre. U dvije studije nije bilo moguće izdvojiti relevantne podatke za meta-analize (96, 101). Šest studija je dostavilo podatke svih uzroka smrti (92, 100, 102, 104, 105), tri studije o smrtnost poveznom s jetrom (92, 100, 105), četiri studije o jetri ovisnom morbiditetu (104, 106, 109), a pet studija o nuspojavama (89, 97, 98, 102, 108).

Sponzorstvo (77)

Farmaceutske tvrtke su osigurale antioksidanse u 10 od 20 uključenih studija(50%). Ova informacija nije bila dostupna u 10 studija (89, 92, 95, 100, 101, 104-106, 108, 109).

4.1.2. Rizik od pristranosti u uključenim studijama (77)

Za pet studija (25%) se smatra da imaju nizak rizik pristranosti (93, 94, 100, 102, 104).

Prikladne metode randomizacije

Sedam istraživanja je jasno opisalo način dobivanja slijeda nasumučnih brojeva (tj. računalnom randomizacijom) (89, 93-95, 100, 102, 104), dok je ostala istrživanja ta metoda nije bila jasno naznačena (tj. istraživanje je opisano kao randomizirano, ali nije navedena metoda randomizacije).

Prikrivanje razvrstavanja

Osam istraživanja je jasno prikazalo postupak prikrivanja razvrstavanja ispitanika po skupinama (59, 65, 98-102, 104) (tj., raspodjela je kontrolirana od strane centralnog i nezavisnog vijeća), jedanaest istraživanja je nejasno prikazalo (91, 92, 95-97, 103, 105-109)

(tj., istraživanje je opisano kao randomizirano ali metoda korištena za prikrivanje razvrstavanja nije opisana), dok jedno istraživanje uopće nije koristilo postupak prikrivanja razvrstavanja (89) (tj., slijed razvrstavanja je bio poznat istraživačima koji su dodijeljeni sudionicima)

Zasljepljenje

Šest istraživanja je jasno opisalo zasljepljenje (93, 94, 100, 102, 104, 108) (tj., istraživanje je opisano kao dvostruko slijepo te je metoda zasljepljenja opisana), u deset istraživanja nije bilo jasno opisano (91, 92, 95-97, 99, 101, 106, 107, 109) (tj., istraživanje je opisano kao dvostruko slijepo ali metoda osljepljenja nije opisana), dok četiri istraživanja uopće nisu koristila postupak zasljepljenja (89, 98, 103, 105) (tj., istraživanje nije dvostruko slijepo).

Nepotpuni prikaz podataka o ishodima

Devetnaest istraživanja je naglasilo da nije bilo nepotpunih podataka (tj., naglašeno je da nije bilo odustajanja od uzimanja lijeka ili povlačenja iz intervencijskih skupina), dok samo jedno istraživanje je bilo nejasno u vezi nepotpunih podataka (91) (tj., izvješće je dalo utisak da nije bilo odustajanja od uzimanja lijeka i povlačenja, ali to nije izričito navedeno).

Selektivno prikazivanje rezultata

Četrnaest istraživanja je prikazalo rezultate intervencije na korektan način (tj., prikazani su svi unaprijed definirani, te klinički relevantni i razumno očekivani ishodi), dok šest istraživanja je to učinilo na nejasan način (89, 91, 92, 101, 106, 109) (tj., nisu prikazani svi unaprijed definirani, te klinički relevantni i razumno očekivani ishodi).

Ostale pristranosti

Za dest istraživanja je procijenjeno da nemaju rizik od drugih pristranosti (90, 92, 95, 100, 101, 104, 106-109) (tj., čini se da istraživanje nema ostalih čimbenika koji bi mogli povećati rizik od pristranosti), u jednom istraživanju to je bilo nejasno (105) (tj., istraživanje je naizgled bilo bez ostalih čimbenika koji bi mogli povećati rizik od pristranosti), dok je devet istraživanja je bilo pod utjecajem ostalih čimbenika pristranosti (91, 93, 94, 96-99, 102, 103) (tj., postoje drugi čimbenici u istraživanju koji mogu povećati rizik od pristranosti).

4.1.3. Učinci intervencije

U Tablici 1. prikazani su primarni i sekundarni ishodi studija uvrštenih u Cochrane sustavni pregled (77).

Tablica 1. Primarni i sekundarni ishodi

Ishodi ili naslov podgrupe	Broj studija	Broj sudionika	Statistička metoda	Raspon učinka

1. Svi uzroci smrti	7	526	Omjer rizika (M-H, fiksna MA, 95% CI)	0.83 [0.59, 1.18]
1.1. niska pristranost	4	239		0.99 [0.65, 1.52]
1.2. visoka pristranost	3	287		0.65 [0.36, 1.17]
2. Smrtnost ovisna o jetri-svi uzroci	3	218	Omjer rizika (M-H, fiksna MA, 95% CI)	0.89 [0.39, 2.05]
3. Smrtnost ovisna o jetri-specifični uzroci	3		Omjer rizika (M-H, fiksna MA, 95% CI	
3.1. GIT krvarenje	3	218		1.08 [0.26, 4.44]
3.2.Zatajenje jetre	3	218		1.36 [0.50, 3.71]
3.3. Rak jetre	1	93		0.31 [0.09, 1.09]
3.4. Sepsa	1	51		1.04 [0.07, 15.74]
4.Morbiditet ovisan o jetri	3		Omjer rizika (M-H, slučajna MA, 95%)	
4.1. GIT krvarenje	2	93		1.18 [0.38, 3.63]
4.2. hepatička encefalopatija	1	77		0.90 [0.65, 1.25]
4.3. sepsa	1	77		0.90 [0.47, 1.71]
4.4. Rak jetre	1	226		0.36 [0.12, 1.11]
5. Štetni učinci vit. A	1		Omjer rizika (M-H, slučajna MA, 95%)	
5.1. porast jetrenih enzima	1	30		5.0 [0.66, 37.85]
6. Štetni učinci vit. E	2		Omjer rizika (M-H, slučajna MA, 95%)	
6.1. porast ALT	1	32		2.27 [0.48, 10.67]
6.2. dispepsija i umor	1	120		2.14 [0.20, 22.95]
6.3. leukocitopenija	1	120		1.07 [0.07, 16.70]
6.4. trombocitopenija	1	120		1.07 [0.22, 5.09]
6.5. autoimuni tireoiditis	1	120		0.71 [0.12, 4.11]
6.6. depresija	1	120		0.53 [0.05, 5.74]
7. Štetni učinci – vit. C i vit E	1	32	Omjer rizika (M-H, slučajna MA, 95%)	
7.1.umor, anoreksija i/ili depresija	1			0.96 [0.26, 3.62]
8. Štetni učinci – vit. A, vit. C, vit. E i selena	1		Omjer rizika (M-H, slučajna MA, 95%)	
8.1. artralgija	1	61		9.9 [0.56, 176.29]
8.2. dijareja	1	61		0.55 [0.05, 5.77]
8.3. dispepsija	1	61		4.41 [0.52, 37.25]
8.4. disgeuzija	1	61		0.55 [0.05, 5.77]
8.5. slabo raspoloženje	1	61		1.10 [0.17, 7.34]
8.6. menoragija	1	61		3.3 [0.14, 77.95]
8.7. herpes zoster	1	61		0.37 [0.02, 8.66]
8.8. hunjavica	1	61		0.37 [0.02, 8.66]
8.9. vrtoglavica	1	61		3.3 [0.14, 77.95]
8.10. disurija	1	61		3.3 [0.14, 77.95]

9. Biokemijski parametri	12		Srednja razlika (IV, slučajna MA, 95 CI)	
9.1. ALT	9	407		0.20 [-9.99, 10.39]
9.2. AST	8	393		3.80 [-6.07, 13.67]
9.3. GGT	2	192		24.21 [6.67, 41.75]
9.4. Albumin	6	319		0.13 [-0.90, 1.17]
9.5. Bilirubin	4	273		-0.01 [-0.61, 0.58]
10. Neuspjeli biokemijski odgovor na kraju liječenja	3		Omjer rizika (M-H, slučajna MA, 95%)	
10.1. CHB	1	32		0.57 [0.35, 0.92]
10.2. CHC	2	44		0.99 [0.88, 1.11]
11. Neuspjeh održivog biokemijskog odgovora	1		Omjer rizika (M-H, slučajna MA, 95%)	
11.1. CHC	1	120		0.98 [0.94, 1.03]
12. Neuspjeli virološki odgovor na kraju liječenja	4		Omjer rizika (M-H, slučajna MA, 95%)	
12.1. CHB	1	32		0.57 [0.32, 1.02]
12.2. CHC	3	190		0.85 [0.55, 1.32]
13. Neuspjeh održivog virološkog odgovora	3		Omjer rizika (M-H, slučajna MA, 95%)	
13.1. CHC	3	199		0.89 [0.54, 1.45]
14. Neuspjeli zajednički (biokemijski i virološki) odgovor na kraju liječenja	2		Omjer rizika (M-H, slučajna MA, 95%)	
14.1. CHB	1	32		0.55 [0.34, 0.87]
14.2. CHC	1	24		0.8 [0.39, 1.65]
15. Neuspjeli održivi zajednički (biokemijski i virološki) odgovor	1		Omjer rizika (M-H, slučajna MA, 95%)	
15.1. CHB	1	32		0.55 [0.34, 0.87]

Mjera kvalitete života (77)

Samo je jedna studija (93) prikazala podatke o kvaliteti života. Prosječne vrijednosti kvalitete života u liječenoj i placebo skupini nisu bile značajno različite u odnosu na vrijednosti poslije liječenja.

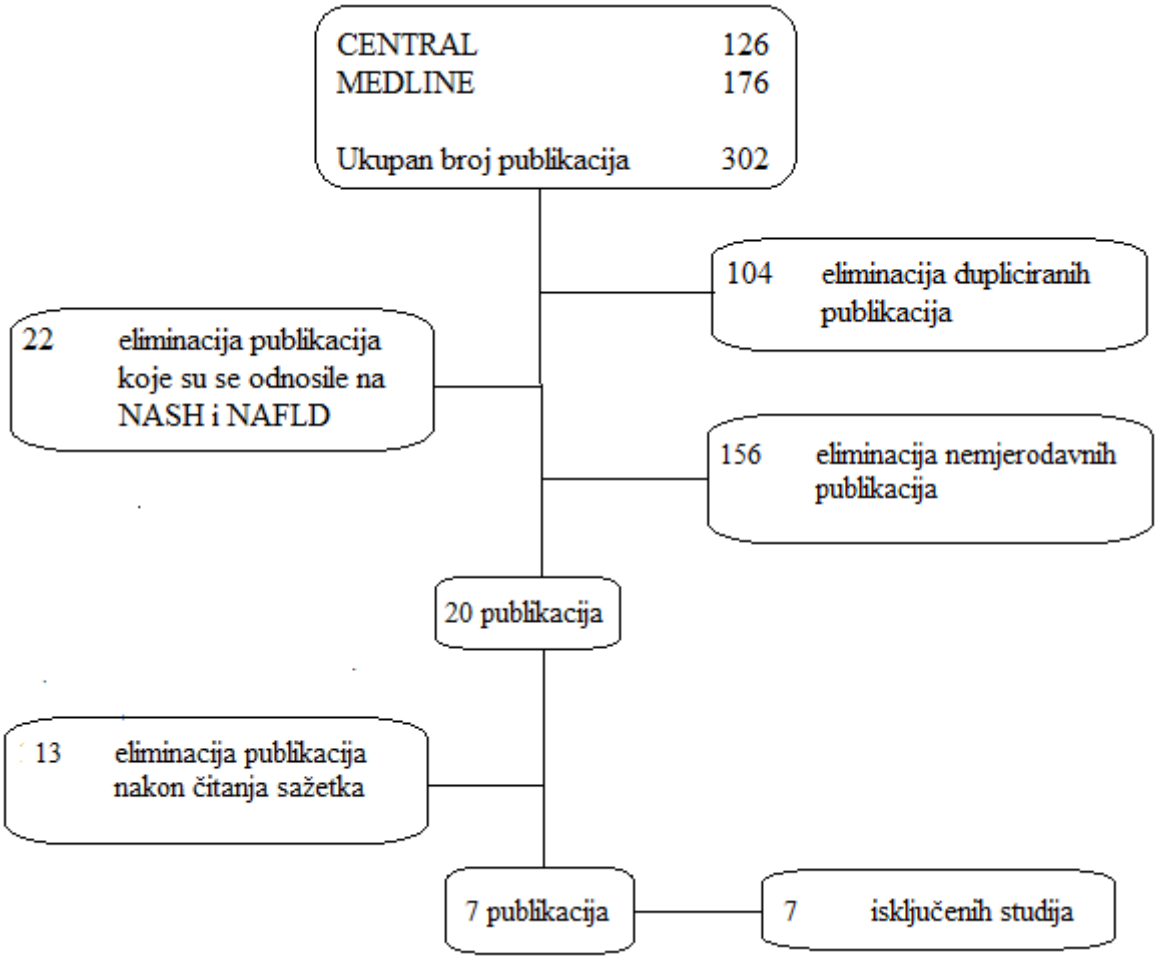
Mjera isplativosti (77)

Ne postoji nikakvi podatci o isplativosti randomiziranih studija uključenih u ovaj pregled.

4.2. Pretraživanje literature objavljene nakon Cochrane sustavnog pregleda

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

Slika 2. Shematski prikaz pretraživanja baza MEDLINE i CENTRAL



Na Slici 3. prikazan je postupak pretraživanja baze MEDLINE i CENTRAL, koji je detaljnije opisan u odjeljku materijali i metode.

Karakteristike isključenih studija

Studija	**Razlog isključenja**
Mousa 2014 (129)	Manjak informacija o istraživanju.
Kazi 2012 (130)	Nije RCT.

Bunchorntavakul 2014 (131)	Manjak informacija o istraživanju.
Farias 2012 (132)	Nije RCT.
Chandok 2011 (133)	Nije izneseno dovoljno podataka da bi uključili ovo istraživanje (primjerice, doze, vrijednosti mjerenja, statistički parametri…).
Nagata 2013 (134)	Studija ne zadovoljava kriterije uključenja (radi se o zdravim pojedincima koji nemaju nikakvog jetreno oštećenje, služe kao donatori dijela jetre).
Lai 2014 (135)	Ne može se uključiti jer se istraživanje nastavilo na podatke istraživanja (136) koje nije bilo dizajnirano za ispitivanje bolesnika sa oboljelom jetrom (kriteriji uključena su nejasni, ne navodi se uopće podatak koliko je ljudi imalo bilo kakav oblik jetrene bolesti). Sve procjene su izvedene pomoću načela namjere liječenja.

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

U bazi podataka DARE pronađeno je 2 sustavna pregleda po ključnim riječima „antioxidant“ i „liver“, te uz ograničenje pretrage od siječnja 2011. Kod oba sustavna pregleda, već se iz naslova vidjelo da ne odgovaraju temi Cochrane sustavnog pregleda (77).

Nakon baze DARE, pretražena je baza MEDLINE u potrazi za novijim sustavnim pregledima. U tražilicu su upisane ključne riječi: „antioxidant“ i „liver“. Označen je filtar „Systematic reviews“ uz ograničenje pretrage od siječnja 2011 jer nas sada zanimaju samo sustavni pregledi. Dobiveni broj rezultata bio je 84. Zatim je uslijedilo isključenje radova kojima se iz naslova vidjelo da ne odgovaraju zadanoj temi. Na kraju je ostao samo jedan sustavni pregled koji se mogao djelomično uključiti jer se dijelom odnosi na NASH i NAFLD, a dijelom na CHC (137).

Ji 2014 (137)

„Effect of vitamin E supplementation on aminotransferase levels in patients with NAFLD, NASH and CHC: Results from a meta-analysis“

Cilj ove meta-analize bio je procijeniti učinak vitamina E pri snižavanju alanin aminotransferaze (ALT) i aspartat aminotransferaze (AST) u bolesnika s nealkoholnom masnom bolesti jetre (NAFLD), nealkoholnim steatohepatitis (NASH) i kroničnim

hepatitisom C (CHC). Zbog zahtjeva navedenih u Cochrane sustavnom pregledu (77) koristio sam samo zaključke koji su se odnosili na CHC. Iz 3 uključene studije vezano za problematiku CHC utvrđeno je da vitamin E pridonosi smanjenju razina ALT (SMD 0.61, 95% CI (0.20 do 1.02)) i AST (0.68, 95% CI (0.07 do 1.29)). Heterogenost nije pronađen među uključenim studijama (137).

4.3. R-AMSTAR procjena sustavnih pregleda

1. „Antioxidant supplements for liver diseases (Review)“ (77)

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

UKUPNA OCJENA KVALITETE SUSTAVNOG PREGLEDA: **39 bodova.**

2. „Effect of vitamin E supplementation on aminotransferase levels in patients with NAFLD, NASH and CHC: Results from a meta-analysis“ (137)

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

9. Zadovoljava kriterije B, C i D → 3 BODA
10. Zadovoljava 0 kriterija → 1 BOD
11. Zadovoljava 0 kriterija → 1 BOD

UKUPNA OCJENA KVALITETE SUSTAVNOG PREGLEDA: **20 bodova.**

5. Rasprava

Cilj ovog rada bio je pronaći dostupne dokaze o djelotvornosti i sigurnosti antioksidanasa u pacijenata sa oboljelom jetrom. Prilikom traženja dokaza težište je stavljeno na sustavne preglede i pojedinačne randomizirane pokuse. Iako sustavni pregledi i pojedinačni randomizirani pokusi omogućuju najvišu razinu dokaza u zdravstvenoj skrbi utemeljenoj na dokazima, jasno je da zapravo nisu svi sustavni pregledi i randomizirani pokusi jednako pouzdani i kvalitetni.

Pretraživanje literature je započelo sa Cochrane sustavnim pregledom (77) koji govori da antioksidansi, odnosno beta-karoten, vitamin A, vitamin C, vitamin E i selen primijenjeni pojedinačno ili u kombinacijama nemaju učinka u bolesnika s oboljelom jetrom. Međutim, neki od tih antioksidansa su pokazali obećavajuće rezultate u opservacijskim studijama, kao i u nekim randomiziranim kliničkim ispitivanjima s visokim rizikom od pristranosti, ali rezultati randomiziranih studija s niskim rizikom pristranosti i meta-analiza nisu potvrdili njihovu korist za bolesnika. Ustvari, predloženi sustavni pregled ukazuje da ovi antioksidansi mogu biti povezani s biokemijskim markerima oštećenja jetre. Iako nemaju klinički učinak, dokazi ističu važnost upoznavanja kompletne medikacijske povijesti uključujući i korištene dodatke prehrani kada se utvrđuju razlozi promjene aktivnosti jetrenih enzima u bolesnika s oboljelom jetrom. Niti jedan od proučavanih antioksidansa nije značajno utjecao na preživljavanje, smrtnost ili morbiditet povezanu s jetrom. Niti su antioksidansi korisni u poboljšanju stanja bolesnika na kraju liječenja ili poboljšanju stalnog virološkog odgovora. Analize jedne studije visokog rizika pristranosti u bolesnika s kroničnim hepatitisom B predložila je da antioksidansi mogu biti korisni u povećanju broja bolesnika s poboljšanim biokemijskim odgovorom i poboljšanju održivog odgovora (biokemijski i virološki) na kraju liječenja (89), ali ta studija je uključila mali broj pacijenata. Prema tome, rizici od sustavnih pogrešaka (pristranost) i rizik od slučajnih pogrešaka („igre na sreću“) je toliko velika da treba tražiti više potvrdnih dokaza prije nego se povjeruje tim učincima (77).

Nuspojave su općenito vrlo rijetko prijavljivane. Brojna ispitivanja u bolesnika s kroničnim hepatitisom B ili C koriste antioksidanse u kombinaciji s interferonom ili drugim antioksidasima kao što je N-acetilcistein, te je teško suditi o njihovim pozitivnim ili negativnim učincima, ili ih povezati s bilo kojom zapaženom nuspojavom (77).

Rezultate Cochrane sustavnog pregleda treba tumačiti s oprezom zbog činjenice da je većina uključenih studija (75%) imala visok rizik pristranosti. Jedan od oblika pristranosti je selektivno izvješćivanje o rezultatima, koje predstavlja značajnu prijetnju valjanosti ovog

sustavnog pregleda. Izvješćivanje o rezultatima u uključenim rezultatima bilo je nedostatno i nedosljedno. Jedna od glavnih razloga za selektivno izvješćivanje o rezultatima randomiziranih studija može biti taj što rezultati nisu zadovoljili financijere studija, jer su farmaceutske tvrtke osigurale antioksidanse u 10 od 20 uključenih studija (50%). Osim toga, ovaj broj je vjerojatno i veći, jer je informacija o fininaciranju nije bila dostupna u ostalim studijama. Nadalje, većina ispitivanja uključenih u Cochrane meta-analizu su s malim brojem sudionika i kratkog perioda praćenja bez mogućnosti procjene kliničkih ishoda u bolesnika sa sporom progresijom bolesti. Isto tako, u većini istraživanja autori su koristili neprovjerene zamjenske rezultate, kao što su razina određenih antioksidansa u krvi uz pretpostavku da je viša razina korisna za pacijente. Zamjenski rezultati, posebno laboratorijski pokazatelji su vrlo često nepouzdana zamjena za kliničke rezultate. Oslanjanje na nevalidirane zamjenske rezultata je potencijalno opasno pri procjeni novih terapija (138). Općenito, nedostaje validiranih zamjenskih mjera ishoda u hepatologiji. Ni jedna studija uključena u ovaj pregled nije razmotrila stalni virološki odgovor kao zamjenski ishod za uspješno liječenje. Poboljšani stalni virološki odgovor ujedno ne znači i značajno poboljšanje u kliničkim ishodima (77).

Unatoč relativno velikom broju uključenih studija većinom s paralelnim grupama, nije bila moguća provedba analiza podskupina prema riziku pristranosti. Međutim, broj pacijenata i ishoda je bio mali što dodaje rizik izradi tipa 1. i tipa 2. pogrješke zbog nedovoljno podataka (77).

Nakon proučavanja Cochrane sustavnog pregleda (77) pretraživanjem literature pronađena je samo jedna meta-analiza koja se mogla djelomično koristiti (137). U njoj je zaključeno da vitamin E smanjuje razinu alanin aminotrasferaze (ALT) i aspartat aminotrasferaze (AST) u bolesnika sa CHC. Ti rezultati se ne slažu s Cochrane sustavnim pregledom, koji je zaključio da vitamin E nema utjecaja na ALT i AST. Osim toga, navedena meta-analiza je sastavljena od samo tri studije od kojih je jedna isključena u Cochrane sustavnom pregledu jer nije RCT.

Ostali Cochrane sustavni pregledi koji su se bavili ovom tematikom također nisu prepoznali korisne učinke ovih i drugih antioksidansa (79, 139, 140). Opsežni napori u procjeni koristi i štete antioksidansa rezultirali su neutralnim ili štetnim rezultatima (77).

Napravljena je R-AMSTAR ocjena kvalitete za dva sustavna pregleda, od kojih je Cochrane sustavni pregled (77) dobio razmjernu visoku ocjenu (39 od maksimalno 44 boda). Drugi sustavni pregled (137) dobio je 20 bodova. Kako vidimo navedeni sustavni pregledi se

razlikuju po ocjeni, a samim time i po kvaliteti. Budući da se razlikuju u zaključku, možemo reći da zaključak Cochrane sustavnog pregleda ima veću težinu.

6. Zaključak

1. Ne postoje uvjerljivi dokazi koji podupiru upotrebu antioksidansa (beta-karotena, vitamina A, vitamina C, vitamina E i selena) u bolesnika s autoimunim, alkoholnim, akutnim i kroničnim hepatitisom B, virusnim hepatitisom C ili cirozom jetre.
2. Upotreba antioksidansa kao pomoćne terapije uz primjenu drugih lijekova, poput interferona ili ribavirina također nije potvrđena ili opovrgnuta.
3. Iako se oksidacijski stres smatra čestim patološkim mehanizmom u raznim bolestima jetre, možemo sa sigurnošću reći da nije jedini te da su potrebna daljnja istraživanja u svrhu otkrivanja točnih patofizioloških mehanizama razvoja pojedinih bolesti jetre.
4. Potrebna su daljnja istraživanja kako bi se sa sigurnošću potvrdila opravdanost primjene antioksidansa u raznim jetrenim oštećenjima.

7. Popis citirane literature

1. Sadowska-Bartosz I, Bartosz G. Effect of antioxidants supplementation on aging and longevity. Biomed Res Int. 2014;2014:404680.
2. McHugh S MH. Consumer Consumption of Vitamin and Mineral Food Supplements 2008.
3. Briancon S, Boini S, Bertrais S, Guillemin F, Galan P, Hercberg S. Long-term antioxidant supplementation has no effect on health-related quality of life: the randomized, double-blind, placebo-controlled, primary prevention SU.VI.MAX trial. Int J Epidemiol. 2011;40(6):1605-16.
4. Costello RB, Coates P. In the midst of confusion lies opportunity: fostering quality science in dietary supplement research. J Am Coll Nutr. 2001;20(1):21-5.
5. Myung SK, Ju W, Cho B, Oh SW, Park SM, Koo BK, et al. Efficacy of vitamin and antioxidant supplements in prevention of cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. BMJ. 2013;346:f10.
6. Gutowski M, Kowalczyk S. A study of free radical chemistry: their role and pathophysiological significance. Acta Biochim Pol. 2013;60(1):1-16.
7. Zorov DB, Juhaszova M, Sollott SJ. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release. Physiol Rev. 2014;94(3):909-50.
8. Pandya CD, Howell KR, Pillai A. Antioxidants as potential therapeutics for neuropsychiatric disorders. Prog Neuropsychopharmacol Bol Psychiatry. 2013;46:214-23.
9. Modun D. Mehanizmi atioksidacijkog i vazodilatacijskog učinka crnog vina: disertacija. 2006.
10. Lu JM, Lin PH, Yao Q, Chen C. Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. J Cell Mol Med. 2010;14(4):840-60.
11. Forman HJ, Davies KJ, Ursini F. How do nutritional antioxidants really work: nucleophilic tone and para-hormesis versus free radical scavenging in vivo. Free Radic Biol Med. 2014;66:24-35.
12. Prior RL, Cao G. In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. Free Radic Biol Med. 1999;27(11-12):1173-81.
13. Kostyuk VA, Potapovich AI. Mechanisms of the suppression of free radical overproduction by antioxidants. Front Biosci. 2009;1:179-88.
14. Misra HP, Fridovich I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. J Biol Chem. 1972;247(10):3170-5.

15. Halliwell B, Gutteridge JM. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. Biochem J. 1984;219(1):1-14.
16. Gupta RK, Patel AK, Shah N, Chaudhary AK, Jha UK, Yadav UC, et al. Oxidative stress and antioxidants in disease and cancer: a review. Asian Pac J Cancer Prev. 2014;15(11):4405-9.
17. Halliwell B. Biochemistry of oxidative stress. Biochem Soc Trans. 2007;35(Pt 5):1147-50.
18. Crapo JD, Oury T, Rabouille C, Slot JW, Chang LY. Copper,zinc superoxide dismutase is primarily a cytosolic protein in human cells. Proc Natl Acad Sci U S A. 1992;89(21):10405-9.
19. Keele BB, Jr., McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase from escherichia coli B. A new manganese-containing enzyme. J Biol Chem. 1970;245(22):6176-81.
20. Sarsour EH, Kalen AL, Goswami PC. Manganese superoxide dismutase regulates a redox cycle within the cell cycle. Antioxid Redox Signal. 2014;20(10):1618-27.
21. Gorecki M, Beck Y, Hartman JR, Fischer M, Weiss L, Tochner Z, et al. Recombinant human superoxide dismutases: production and potential therapeutical uses. Free Radic Res Commun. 1991;12-13 Pt 1:401-10.
22. Fukai T, Ushio-Fukai M. Superoxide dismutases: role in redox signaling, vascular function, and diseases. Antioxid Redox Signal. 2011;15(6):1583-606.
23. Deisseroth A, Dounce AL. Catalase: Physical and chemical properties, mechanism of catalysis, and physiological role. Physiol Rev. 1970;50(3):319-75.
24. Kodydkova J, Vavrova L, Kocik M, Zak A. Human catalase, its polymorphisms, regulation and changes of its activity in different diseases. Folia Biol (Praha). 2014;60(4):153-67.
25. Kirkman HN, Galiano S, Gaetani GF. The function of catalase-bound NADPH. J Biol Chem. 1987;262(2):660-6.
26. Margis R, Dunand C, Teixeira FK, Margis-Pinheiro M. Glutathione peroxidase family - an evolutionary overview. FEBS J. 2008;275(15):3959-70.
27. Brown KM, Pickard K, Nicol F, Beckett GJ, Duthie GG, Arthur JR. Effects of organic and inorganic selenium supplementation on selenoenzyme activity in blood lymphocytes, granulocytes, platelets and erythrocytes. Clin Sci (Lond). 2000;98(5):593-9.

28. Belorgey D, Lanfranchi DA, Davioud-Charvet E. 1,4-naphthoquinones and other NADPH-dependent glutathione reductase-catalyzed redox cyclers as antimalarial agents. Curr Pharm Des. 2013;19(14):2512-28.
29. Willcox JK, Ash SL, Catignani GL. Antioxidants and prevention of chronic disease. Crit Rev Food Sci Nutr. 2004;44(4):275-95.
30. Gupta RK, Singh N. Morinda citrifolia (Noni) alters oxidative stress marker and antioxidant activity in cervical cancer cell lines. Asian Pac J Cancer Prev. 2013;14(8):4603-6.
31. Donaldson MS. Nutrition and cancer: a review of the evidence for an anti-cancer diet. Nutr J. 2004;3:19.
32. Goraca A, Huk-Kolega H, Piechota A, Kleniewska P, Ciejka E, Skibska B. Lipoic acid - biological activity and therapeutic potential. Pharmacol Rep. 2011;63(4):849-58.
33. Carreau JP. Biosynthesis of lipoic acid via unsaturated fatty acids. Methods Enzymol. 1979;62:152-8.
34. Suzuki YJ, Aggarwal BB, Packer L. Alpha-lipoic acid is a potent inhibitor of NF-kappa B activation in human T cells. Biochem Biophys Res Commun. 1992;189(3):1709-15.
35. Bast A, Haenen GR. Lipoic acid: a multifunctional antioxidant. Biofactors. 2003;17(1-4):207-13.
36. Biewenga GP, Haenen GR, Bast A. The pharmacology of the antioxidant lipoic acid. Gen Pharmacol. 1997;29(3):315-31.
37. Blair IA. Endogenous glutathione adducts. Curr Drug Metab. 2006;7(8):853-72.
38. Schafer FQ, Buettner GR. Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. Free Radic Biol Med. 2001;30(11):1191-212.
39. Mari M, Morales A, Colell A, Garcia-Ruiz C, Fernandez-Checa JC. Mitochondrial glutathione, a key survival antioxidant. Antioxid Redox Signal. 2009;11(11):2685-700.
40. Stocker R, Keaney JF, Jr. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. Physiol Rev. 2004;84(4):1381-478.
41. Frei B, Kim MC, Ames BN. Ubiquinol-10 is an effective lipid-soluble antioxidant at physiological concentrations. Proc Natl Acad Sci U S A. 1990;87(12):4879-83.

42. Benzie IF. Evolution of antioxidant defence mechanisms. Eur J Nutr. 2000;39(2):53-61.
43. Davies KJ, Sevanian A, Muakkassah-Kelly SF, Hochstein P. Uric acid-iron ion complexes. A new aspect of the antioxidant functions of uric acid. Biochem J. 1986;235(3):747-54.
44. Stocker R, Yamamoto Y, McDonagh AF, Glazer AN, Ames BN. Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. Science. 1987;235(4792):1043-6.
45. Traber MG, Stevens JF. Vitamins C and E: beneficial effects from a mechanistic perspective. Free Radic Biol Med. 2011;51(5):1000-13.
46. Halliwell B GJ. Free Radicals in Biology and Medicine. New York: Oxford University Press; 1999. 1999.
47. Cichoz-Lach H, Michalak A. Oxidative stress as a crucial factor in liver diseases. World J Gastroenterol. 2014;20(25):8082-91.
48. Neuzil J, Witting PK, Stocker R. Alpha-tocopheryl hydroquinone is an efficient multifunctional inhibitor of radical-initiated oxidation of low density lipoprotein lipids. Proc Natl Acad Sci U S A. 1997;94(15):7885-90.
49. Sandmann G. Carotenoids of biotechnological importance. Adv Biochem Eng Biotechnol. 2015;148:449-67.
50. Wisniewska A, Subczynski WK. Effects of polar carotenoids on the shape of the hydrophobic barrier of phospholipid bilayers. Biochim Biophys Acta. 1998;1368(2):235-46.
51. Fiedor J, Burda K. Potential role of carotenoids as antioxidants in human health and disease. Nutrients. 2014;6(2):466-88.
52. Siddiqui K, Bawazeer N, Joy SS. Variation in macro and trace elements in progression of type 2 diabetes. ScientificWorldJournal. 2014;2014:461591.
53. Kumar S, Pandey AK. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. ScientificWorldJournal. 2013;2013:162750.
54. Arrigo T, Leonardi S, Cuppari C, Manti S, Lanzafame A, D'Angelo G, et al. Role of the diet as a link between oxidative stress and liver diseases. World J Gastroenterol. 2015;21(2):384-95.
55. Collins AR, Gupte AA, Ji R, Ramirez MR, Minze LJ, Liu JZ, et al. Myeloid deletion of nuclear factor erythroid 2-related factor 2 increases atherosclerosis and liver injury. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2012;32(12):2839-46.

56. Aleksunes LM, Manautou JE. Emerging role of Nrf2 in protecting against hepatic and gastrointestinal disease. Toxicol Pathol. 2007;35(4):459-73.
57. Ambade A, Mandrekar P. Oxidative stress and inflammation: essential partners in alcoholic liver disease. Int J Hepatol. 2012;2012:853175.
58. De Minicis S, Brenner DA. Oxidative stress in alcoholic liver disease: role of NADPH oxidase complex. J Gastroenterol Hepatol. 2008;23 Suppl 1:S98-103.
59. Wu D, Cederbaum AI. Oxidative stress and alcoholic liver disease. Semin Liver Dis. 2009;29(2):141-54.
60. Paradies G, Paradies V, Ruggiero FM, Petrosillo G. Oxidative stress, cardiolipin and mitochondrial dysfunction in nonalcoholic fatty liver disease. World J Gastroenterol. 2014;20(39):14205-18.
61. Takaki A, Kawai D, Yamamoto K. Molecular mechanisms and new treatment strategies for non-alcoholic steatohepatitis (NASH). Int J Mol Sci. 2014;15(5):7352-79.
62. Ganz M, Szabo G. Immune and inflammatory pathways in NASH. Hepatol Int. 2013;7 Suppl 2:771-81.
63. Zhou WC, Zhang QB, Qiao L. Pathogenesis of liver cirrhosis. World J Gastroenterol. 2014;20(23):7312-24.
64. Nusrat S, Khan MS, Fazili J, Madhoun MF. Cirrhosis and its complications: evidence based treatment. World J Gastroenterol. 2014;20(18):5442-60.
65. Shah NL, Banaei YP, Hojnowski KL, Cornella SL. Management options in decompensated cirrhosis. Hepat Med. 2015;7:43-50. Epub 2015/07/24.
66. Paracha UZ, Fatima K, Alqahtani M, Chaudhary A, Abuzenadah A, Damanhouri G, et al. Oxidative stress and hepatitis C virus. Virol J. 2013;10:251.
67. Ivanov AV, Bartosch B, Smirnova OA, Isaguliants MG, Kochetkov SN. HCV and oxidative stress in the liver. Viruses. 2013;5(2):439-69.
68. Kew MC. Epidemiology of chronic hepatitis B virus infection, hepatocellular carcinoma, and hepatitis B virus-induced hepatocellular carcinoma. Pathol Biol (Paris). 2010;58(4):273-7.
69. Tarocchi M, Polvani S, Marroncini G, Galli A. Molecular mechanism of hepatitis B virus-induced hepatocarcinogenesis. World J Gastroenterol. 2014;20(33):11630-40.
70. Choi J, Corder NL, Koduru B, Wang Y. Oxidative stress and hepatic Nox proteins in chronic hepatitis C and hepatocellular carcinoma. Free Radic Biol Med. 2014;72:267-84.

71. Zhang QI, Cao, G. . Genotypes, mutations, and viral load of hepatitis B virus and the risk of hepatocellular carcinoma. . Hepat Mon. 2011.
72. Bosman FT, Carneiro, F., Hruban, R.H., Theise, N.D. . World Health Organization classification of tumours of the digestive system. 2010:196-216.
73. Jahan S, Ashfaq UA, Qasim M, Khaliq S, Saleem MJ, Afzal N. Hepatitis C virus to hepatocellular carcinoma. Infect Agent Cancer. 2012;7(1):2.
74. Choi J. Oxidative stress, endogenous antioxidants, alcohol, and hepatitis C: pathogenic interactions and therapeutic considerations. Free Radic Biol Med. 2012;52(7):1135-50.
75. Feitelson MA, Sun B, Satiroglu Tufan NL, Liu J, Pan J, Lian Z. Genetic mechanisms of hepatocarcinogenesis. Oncogene. 2002;21(16):2593-604.
76. Durr R, Caselmann WH. Carcinogenesis of primary liver malignancies. Langenbecks Arch Surg. 2000;385(3):154-61.
77. Bjelakovic G, Gluud LL, Nikolova D, Bjelakovic M, Nagorni A, Gluud C. Antioxidant supplements for liver diseases. Cochrane Database Syst Rev. 2011(3):CD007749.
78. 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.
79. Lirussi F, Azzalini L, Orando S, Orlando R, Angelico F. Antioxidant supplements for non-alcoholic fatty liver disease and/or steatohepatitis. Cochrane Database Syst Rev. 2007(1):CD004996.
80. Harmonization ICo. Code of Federal regulations Guidelines. Vol 1, Philadelphia, US: Barnett International/PAREXEL, 1997. 1997.
81. Wood L, Egger M, Gluud LL, Schulz KF, Juni P, Altman DG, et al. Empirical evidence of bias in treatment effect estimates in controlled trials with different interventions and outcomes: meta-epidemiological study. BMJ. 2008;336(7644):601-5.
82. Kjaergard LL, Villumsen J, Gluud C. Reported methodologic quality and discrepancies between large and small randomized trials in meta-analyses. Ann Intern Med. 2001;135(11):982-9.

83. Schulz KF, Chalmers I, Hayes RJ, Altman DG. Empirical evidence of bias. Dimensions of methodological quality associated with estimates of treatment effects in controlled trials. JAMA. 1995;273(5):408-12.
84. Chiappelli F. The science of research synthesis: a manual of evidence-based research for the health sciences. . NovaScience Publisher, Inc. 2008:1 - 327
85. Littell J, Corcoran, J., Pillai, V. . Systematic reviews and meta-analysis. New York, NY:Oxford University Press. 2008:220
86. CRD - critical review dissemination, systematic reviews. York GB. York university press. 2009.
87. Moher D, Tetzlaff J, Tricco AC, Sampson M, Altman DG. Epidemiology and reporting characteristics of systematic reviews. PLoS Med. 2007;4(3):e78.
88. 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.
89. Andreone P, Fiorino S, Cursaro C, Gramenzi A, Margotti M, Di Giammarino L, et al. Vitamin E as treatment for chronic hepatitis B: results of a randomized controlled pilot trial. Antiviral Res. 2001;49(2):75-81.
90. Andreone P, Gramonzi A, Bernardi M. Vitamin E for chronic hepatitis B. Ann Intern Med. 1998;128(2):156-7.
91. Butcher GP, Rhodes JM, Walker R, Krasner N, Jackson MJ. The effect of antioxidant supplementation on a serum marker of free radical activity and abnormal serum biochemistry in alcoholic patients admitted for detoxification. J Hepatol. 1993;19(1):105-9.
92. de la Maza MP, Petermann M, Bunout D, Hirsch S. Effects of long-term vitamin E supplementation in alcoholic cirrhotics. J Am Coll Nutr. 1995;14(2):192-6.
93. Gabbay E, Zigmond E, Pappo O, Hemed N, Rowe M, Zabrecky G, et al. Antioxidant therapy for chronic hepatitis C after failure of interferon: results of phase II randomized, double-blind placebo controlled clinical trial. World J Gastroenterol. 2007;13(40):5317-23.
94. Groenbaek K, Friis H, Hansen M, Ring-Larsen H, Krarup HB. The effect of antioxidant supplementation on hepatitis C viral load, transaminases and oxidative status: a randomized trial among chronic hepatitis C virus-infected patients. Eur J Gastroenterol Hepatol. 2006;18(9):985-9.

95. Gueguen S, Pirollet P, Leroy P, Guilland JC, Arnaud J, Paille F, et al. Changes in serum retinol, alpha-tocopherol, vitamin C, carotenoids, xinc and selenium after micronutrient supplementation during alcohol rehabilitation. J Am Coll Nutr. 2003;22(4):303-10.
96. Hernandez-Guerra M, Garcia-Pagan JC, Turnes J, Bellot P, Deulofeu R, Abraldes JG, et al. Ascorbic acid improves the intrahepatic endothelial dysfunction of patients with cirrhosis and portal hypertension. Hepatology. 2006;43(3):485-91.
97. Hino K, Murakami Y, Nagai A, Kitase A, Hara Y, Furutani T, et al. Alpha-tocopherol [corrected] and ascorbic acid attenuates the ribavirin [corrected] induced decrease of eicosapentaenoic acid in erythrocyte membrane in chronic hepatitis C patients. J Gastroenterol Hepatol. 2006;21(8):1269-75.
98. Ideo G, Bellobuono A, Tempini S, Mondazzi L, Airoldi A, Benetti G, et al. Antioxidant drugs combined with alpha-interferon in chronic hepatitis C not responsive to alpha-interferon alone: a randomized, multicentre study. Eur J Gastroenterol Hepatol. 1999;11(11):1203-7.
99. Look MP, Gerard A, Rao GS, Sudhop T, Fischer HP, Sauerbruch T, et al. Interferon/antioxidant combination therapy for chronic hepatitis C--a controlled pilot trial. Antiviral Res. 1999;43(2):113-22.
100. Mezey E, Potter JJ, Rennie-Tankersley L, Caballeria J, Pares A. A randomized placebo controlled trial of vitamin E for alcoholic hepatitis. J Hepatol. 2004;40(1):40-6.
101. Nishiguchi S, Shiomi S, Enomoto M, Lee C, Jomura H, Tamori A, et al. Does ascorbic acid prevent retinopathy during interferon therapy in patients with chronic hepatitis C? J Gastroenterol. 2001;36(7):486-91.
102. Prince MI, Mitchison HC, Ashley D, Burke DA, Edwards N, Bramble MG, et al. Oral antioxidant supplementation for fatigue associated with primary biliary cirrhosis: results of a multicentre, randomized, placebo-controlled, cross-over trial. Aliment Pharmacol Ther. 2003;17(1):137-43.
103. Saeian K, Bajaj JS, Franco J, Knox JF, Daniel J, Peine C, et al. High-dose vitamin E supplementation does not diminish ribavirin-associated haemolysis in hepatitis C treatment with combination standard alpha-interferon and ribavirin. Aliment Pharmacol Ther. 2004;20(10):1189-93.

104. Stewart S, Prince M, Bassendine M, Hudson M, James O, Jones D, et al. A randomized trial of antioxidant therapy alone or with corticosteroids in acute alcoholic hepatitis. J Hepatol. 2007;47(2):277-83.
105. Takagi H, Kakizaki S, Sohara N, Sato K, Tsukioka G, Tago Y, et al. Pilot clinical trial of the use of alpha-tocopherol for the prevention of hepatocellular carcinoma in patients with liver cirrhosis. Int J Vitam Nutr Res. 2003;73(6):411-5.
106. Van Gossum A, Neve J. Low selenium status in alcoholic cirrhosis is correlated with aminopyrine breath test. Preliminary effects of selenium supplementation. Biol Trace Elem Res. 1995;47(1-3):201-7.
107. von Herbay A, Stahl W, Niederau C, Sies H. Vitamin E improves the aminotransferase status of patients suffering from viral hepatitis C: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. Free Radic Res. 1997;27(6):599-605.
108. Worner TM, Gordon GG, Leo MA, Lieber CS. Vitamin A treatment of sexual dysfunction in male alcoholics. Am J Clin Nutr. 1988;48(6):1431-5.
109. 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.
110. Baines M, Bligh JG, Madden JS. Tissue thiamin levels of hospitalised alcoholics before and after oral or parenteral vitamins. Alcohol Alcohol. 1988;23(1):49-52.
111. Bartels M, Biesalski HK, Engelhart K, Sendlhofer G, Rehak P, Nagel E. Pilot study on the effect of parenteral vitamin E on ischemia and reperfusion induced liver injury: a double blind, randomized, placebo-controlled trial. Clin Nutr. 2004;23(6):1360-70.
112. Brown LM, Rowe, A.E., Ryle, P.R., Majumdar, S.K.,Jones, D., Thomson, A.D., et al. Efficacy of vitamin supplementation in chronic alcoholics undergoing detoxification. Alcohol Alcohol1983. p. 18(2):157–66.
113. Bugianesi E, Gentilcore E, Manini R, Natale S, Vanni E, Villanova N, et al. A randomized controlled trial of metformin versus vitamin E or prescriptive diet in nonalcoholic fatty liver disease. Am J Gastroenterol. 2005;100(5):1082-90.
114. Dufour JF, Oneta CM, Gonvers JJ, Bihl F, Cerny A, Cereda JM, et al. Randomized placebo-controlled trial of ursodeoxycholic acid with vitamin e in nonalcoholic steatohepatitis. Clin Gastroenterol Hepatol. 2006;4(12):1537-43.
115. Ersoz G, Gunsar F, Karasu Z, Akay S, Batur Y, Akarca US. Management of fatty liver disease with vitamin E and C compared to ursodeoxycholic acid treatment. Turk J Gastroenterol. 2005;16(3):124-8.

116. Ferro D, Basili S, Pratico D, Iuliano L, FitzGerald GA, Violi F. Vitamin E reduces monocyte tissue factor expression in cirrhotic patients. Blood. 1999;93(9):2945-50.
117. Gomez EV, Perez YM, Sanchez HV, Forment GR, Soler EA, Bertot LC, et al. Antioxidant and immunomodulatory effects of Viusid in patients with chronic hepatitis C. World J Gastroenterol. 2010;16(21):2638-47.
118. Harrison SA, Torgerson S, Hayashi P, Ward J, Schenker S. Vitamin E and vitamin C treatment improves fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. Am J Gastroenterol. 2003;98(11):2485-90.
119. Hasegawa T, Yoneda M, Nakamura K, Makino I, Terano A. Plasma transforming growth factor-beta1 level and efficacy of alpha-tocopherol in patients with non-alcoholic steatohepatitis: a pilot study. Aliment Pharmacol Ther. 2001;15(10):1667-72.
120. Houglum K, Venkataramani A, Lyche K, Chojkier M. A pilot study of the effects of d-alpha-tocopherol on hepatic stellate cell activation in chronic hepatitis C. Gastroenterology. 1997;113(4):1069-73.
121. Madan K, Batra Y, Gupta DS, Chander B, Anand Rajan KD, Singh R, et al. Vitamin E-based therapy is effective in ameliorating transaminasemia in nonalcoholic fatty liver disease. Indian J Gastroenterol. 2005;24(6):251-5.
122. Kugelmas M, Hill DB, Vivian B, Marsano L, McClain CJ. Cytokines and NASH: a pilot study of the effects of lifestyle modification and vitamin E. Hepatology. 2003;38(2):413-9.
123. Mahmood S, Yamada G, Niiyama G, Kawanaka M, Togawa K, Sho M, et al. Effect of vitamin E on serum aminotransferase and thioredoxin levels in patients with viral hepatitis C. Free Radic Res. 2003;37(7):781-5.
124. Marotta F, Safran P, Tajiri H, Princess G, Anzulovic H, Ideo GM, et al. Improvement of hemorheological abnormalities in alcoholics by an oral antioxidant. Hepatogastroenterology. 2001;48(38):511-7.
125. Marotta F, Yoshida C, Barreto R, Naito Y, Packer L. Oxidative-inflammatory damage in cirrhosis: effect of vitamin E and a fermented papaya preparation. J Gastroenterol Hepatol. 2007;22(5):697-703.
126. Melhem A, Stern M, Shibolet O, Israeli E, Ackerman Z, Pappo O, et al. Treatment of chronic hepatitis C virus infection via antioxidants: results of a phase I clinical trial. J Clin Gastroenterol. 2005;39(8):737-42.

127. Phillips M, Curtis H, Portmann B, Donaldson N, Bomford A, O'Grady J. Antioxidants versus corticosteroids in the treatment of severe alcoholic hepatitis--a randomised clinical trial. J Hepatol. 2006;44(4):784-90.
128. Wenzel G, Kuklinski B, Ruhlmann C, Ehrhardt D. [Alcohol-induced toxic hepatitis--a "free radical" associated disease. Lowering fatality by adjuvant antioxidant therapy]. Z Gesamte Inn Med. 1993;48(10):490-6. Alkoholtoxische Hepatitis--eine "freie Radikale"-assoziierte Erkrankung. Letalitatssenkung durch adjuvante Antioxidantientherapie.
129. Mousa N, Shiha, G., Zaher, A., Abdelrazik, A. . Zinc and antioxidants improving minimal hepatic encephalopathy in carpenters. J Hepatol. 2014;2014.
130. Kazi TG, Kolachi NF, Afridi HI, Kazi NG, Sirajuddin, Naeemullah, et al. Effects of mineral supplementation on liver cirrhotic/cancer male patients. Biol Trace Elem Res. 2012;150(1-3):81-90.
131. Bunchorntavakul C, Wootthananont T, Atsawarungruangkit A. Effects of vitamin E on chronic hepatitis C genotype 3: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. JMed Assoc Thai. 2014;97 Suppl 11:S31-40.
132. Farias MS, Budni P, Ribeiro CM, Parisotto EB, Santos CE, Dias JF, et al. Antioxidant supplementation attenuates oxidative stress in chronic hepatitis C patients. Gastroenterol Hepatol. 2012;35(6):386-94.
133. Chandok N, Tan P, Uhanova J, Shankar N, Marotta P. A pilot study of vitamin E for the treatment of cirrhotic muscle cramps. Liver Int. 2011;31(4):586-7.
134. Nagata S, Shirabe K, Sugimachi K, Ikegami T, Yoshizumi T, Uchiyama H, et al. Pilot study of preoperative immunonutrition with antioxidants in living donor liver transplantation donors. Fukuoka Igaku Zasshi. 2013;104(12):530-8.
135. 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.
136. Teikari JM, Laatikainen L, Virtamo J, Haukka J, Rautalahti M, Liesto K, et al. Six-year supplementation with alpha-tocopherol and beta-carotene and age-related maculopathy. Acta Ophthalmol Scand. 1998;76(2):224-9.
137. Ji HF, Sun Y, Shen L. Effect of vitamin E supplementation on aminotransferase levels in patients with NAFLD, NASH, and CHC: results from a meta-analysis. Nutrition. 2014;30(9):986-91.

138. Gluud C, Brok J, Gong Y, Koretz RL. Hepatology may have problems with putative surrogate outcome measures. J Hepatol. 2007;46(4):734-42.
139. Bjelakovic G, Nikolova D, Simonetti RG, Gluud C. Systematic review: primary and secondary prevention of gastrointestinal cancers with antioxidant supplements. Aliment Pharmacol Ther. 2008;28(6):689-703.
140. Rambaldi A, Gluud C. S-adenosyl-L-methionine for alcoholic liver diseases. Cochrane Database Syst Rev. 2006(2):CD002235.

8. Sažetak

Cilj istraživanja: Pronaći najbolje dokaze o sigurnosti i učinkovitosti primjene antioksidanasa u pacijenata sa oboljelom jetrom.

Materijal i metode: Na stranici Cochrane Library je pronađen sustavni pregled „Antioxidant supplements for liver diseases“ koji je bio temelj daljnjeg istraživanja. Dalje su pretražene baze podataka MEDLINE (PubMed), DARE i CENTRAL u potrazi za novim randomiziranim kontroliranim pokusima i sustavnim pregledima, a prema kriterijima uključenja i isključenja navedenima u Cochrane sustavnom pregledu. Nakon pretraživanja literature napravljena je R-AMSTAR procjena Cochrane sustavnog pregleda i novih pronađenih sustavnih pregleda.

Rezultati: Prema Cochrane sustavnom pregledu nije pronađeno nikakvo uporište za primjenu antioksidans pojedinačno ili u kombinacijama u bolesnika s oštećenjem jetre. Učinci antioksidansa na sve uzroke smrtnosti u studijma s niskim rizikom od pristranosti (RR 0.98, 95% CI 0.64 do 1.49, I^2 = 0%) nisu bili značajni. Antioksidansi nisu imali značajan utjecaj na smrtnost povezanu s jetrom (RR 0.89, 95% CI 0.39 do 2.05, I^2 = 37%). Također nisu imali značajan utjecaj na morbiditet povezan s jetrom: gastrointestinalna krvarenja (RR 1.18, 95% CI 0.38 do 3.63, I^2 = 0%), jetrene encefalopatije (RR 0.90, 95% CI 0.65 do 1.25), sepsa (RR 0.90, 95% CI 0.47 do 1.71), ili na rak jetre (RR 0.36, 95% CI 0.12 do 1.11). Vitamin A i vitamin E nisu pokazali značajno tendenciju porasta jetrenih enzima (RR 5.00, 95% CI 0.66 do 37.85 i RR 2,27, 95% CI 0.48 do 10.67). Dok u pronađenom sustavnom pregledu utvrđeno je da vitamin E pridonosi smanjenju razina ALT (SMD 0.61, 95% CI (0.20 do 1.02)) i AST (0.68, 95% CI (0.07 do 1.29)). U meta-analizi fiksnog učinka, antioksidansi znatno povećavaju aktivnost aspartat aminotransferaze (MD 7.64 IU/L, 95% CI 3.78 do 11.51, I^2 = 80%) i gama glutamil transpeptidase (MD 24.21 IU / L, 95% CI 6.67 do 41.75, I^2 = 0%), ali nisu imali značajan učinak na alanin aminotransferaze, koncentraciju serumskog albumina i bilirubina. U meta-analizi slučajnog učinka, antioksidansi nisu imali značajan utjecaj na aktivnost aspartat aminotransferaze (MD 3.80 IU/L, 95% CI -6.07 do 13.67). Antioksidansi nisu imali značajan utjecaj na virološki odgovora u bolesnika s kroničnim hepatitisom B ili kroničnim hepatitisom C na kraju liječenja (RR 0.57, 95% CI 0.32 do 1.02; RR 0.85, 95% CI 0.55 do 1.32, I^2 = 95%), te nisu imali značajan utjecaj na održivost virološkog odgovora u kroničnom hepatitisu C (RR 0.89, 95% CI 0.54 do 1.45, I^2 = 79%). Antioksidansi su imali značajan blagotvoran učinak na kraju liječenja i održivog odgovora (biokemijska i virološki) u bolesnika s kroničnim hepatitisom B (RR 0.55, 95% CI 0.34 do 0.87 i RR 0.55, 95% CI 0.34 do 0.86), ali nisu u bolesnika s kroničnim hepatitisom C (RR 0.80, 95% CI 0.39 do

1.65). Cochrane sustavni pregled je prema R-AMSTAR procjeni ocijenjen sa 36 bodova. Pronađen je još jedan sustavni pregled, koji je ocijenjen sa 20 bodova.

Zaključak: Na temelju pregledanih sustavnih pregleda ne postoje uvjerljivi dokazi koji podupiru upotrebu antioksidansa (beta-karotena, vitamina A, vitamina C, vitamina E i selena) u bolesnika s autoimunim, alkoholnim, akutnim i kroničnim hepatitisom B, virusnim hepatitisom C ili cirozom jetre. Potrebna su daljnja istraživanja kako bi se sa sigurnošću potvrdila opravdanost primjene antioksidansa u raznim jetrenim oštećenjima.

9. Summary

Diploma Thesis Title: Finding evidence of efficacy and safety of antioxidant supplements for liver diseases: systematic review approach.

Objectives: Finding the best available evidence of efficacy and safety of antioxidant supplements for liver diseases.

Material and Methods: „Antioxidant supplements for liver diseases“ 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 the Cochrane systematic review were found no basis for the use of an antioxidant alone or in combination in patients with hepatic impairment. The effects of antioxidants on all-cause mortality in study with low risk of bias (RR 0.98, 95% CI 0.64 to 1.49, I^2=0%) were not significant. Antioxidants have no significant effect on mortality associated with liver (RR 0.89, 95% CI 0.39 to 2.05, I^2 = 37%). Also, antioxidants have no significant effect on morbidity associated with liver: gastrointestinal bleeding (RR 1.18, 95% CI 3.63 to 0.38, I^2 = 0%), hepatic encephalopathy (RR 0.90, 95% CI 0.65 to 1.25), sepsis (RR 0.90, 95% CI 1.71 to 0.47), or liver cancer (RR is 0.36, 95% CI 0.12 to 1.11). Vitamin A and vitamin E showed a non-significant tendency toward elevation of liver function tests (RR 5.00, 95% CI 0.66 to 37.85 and RR 2.27, 95% CI 0.48 to 10.67). While, found systematic review showed that vitamin E contributes to a reduction in ALT levels (SMD 0.61, 95% CI (0.20 to 1.02)) and AST (SMD 0.68, 95% CI (0.07 to 1.29)). In fixed-effect meta-analysis, antioxidant supplements significantly increased the activity of aspartate aminotransferase (MD 7.64 IU/L, 95% CI 3.78 to 11.51, I^2 = 80%) and gamma glutamyl transpeptidase (MD 24.21 IU/L, 95% CI 6.67 to 41.75, I^2 = 0%) but had no significant effect on alanine aminotransferase, serum concentration of albumin and bilirubin. In random-effects meta-analysis, antioxidant supplements had no significant effect on the activity of aspartate aminotransferase (MD 3.80 IU/L, 95% CI -6.07 to 13.67). The antioxidant supplements had no significant effect on end-of treatment virological response in patients with chronic hepatitis B or chronic hepatitis C (RR 0.57, 95% CI 0.32 to 1.02; RR 0.85, 95% CI 0.55 to 1.32, I2 = 95%), and also had no significant effect on the sustained virological response in patients with chronic hepatitis C (RR 0.89, 95% CI 0.54 to 1.45, I^2 = 79%). The antioxidant supplements

had significant beneficial effect on the end-of-treatment and sustained response (biochemical and virological) in patients with chronic hepatitis B (RR 0.55, 95% CI 0.34 to 0.87 and RR 0.55, 95% CI 0.34 to 0.86, respectively), but had no significant effect on end-of treatment response in patients with chronic hepatitis C (RR 0.80, 95% CI 0.39 to 1.65). Total R-AMSTAR score for Cochrane systematic review was 36. It was found one more systematic review, which is evaluated with 20 points.

Conclusion: Based on the reviewed systematic reviews there are no convincing evidence to support the use of antioxidants (beta-carotene, vitamin A, vitamin C, vitamin E and selenium) in patients with autoimmune, alcoholic, acute and chronic hepatitis B, viral hepatitis C or liver cirrhosis. Further research is needed to safely confirmed the validity of the application of antioxidants in a variety of liver damage.

10.Životopis

OSOBNI PODACI

Ime i prezime: Paško Čule

Adresa: Trg Andrije Hebranga 11A, Šibenik

Telefon: +385998731759

Elektronička pošta: pasko.cule@gmail.com

Državljanstvo: Republike Hrvatske

Datum i mjesto rođenja: 2. listopada 1991. godine, Šibenik

IZOBRAZBA

- 1998. – 2006. Osnovna škola Tina Ujevića u Šibeniku
- 2006. – 2010. Gimnazija Antuna Vrančića u Šibeniku
- 2010. – 2015. Kemijsko-tehnološki fakultet i Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu, studij Farmacija

MATERINSKI JEZIK

- Hrvatski jezik

OSTALI JEZICI

- Engleski jezik
- Njemački jezik