

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
FACULDADE DE NUTRIÇÃO
MESTRADO EM NUTRIÇÃO

RESVERATROL E SUAS IMPLICAÇÕES PARA A SAÚDE

FERNANDA MARANHÃO LAGES DE BRITO

MACEIÓ-2016

FERNANDA MARANHÃO LAGES DE BRITO

RESVERATROL E SUAS IMPLICAÇÕES PARA A SAÚDE

Dissertação apresentada à Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Alagoas como requisito à obtenção do título de Mestre em Nutrição.

Orientadora: **Prof^a Dr^a Suzana Lima de Oliveira**
Faculdade de Nutrição
Universidade Federal de Alagoas

Co-Orientador: **Prof^o Dr^o Nassib Bezerra Bueno**
Faculdade de Nutrição
Universidade Federal de Alagoas

MACEIÓ-2016

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho aos meus avós Hélio (*in memoriam*) e Delma, por serem meus maiores exemplos.

AGRADECIMENTOS

Cheguei ao fim de mais uma etapa. Não foi fácil o caminho percorrido ao longo desses dois anos. Passei por altos e baixos, amadureci e hoje posso dizer o quanto foi válida essa experiência. Não cheguei até aqui sozinha, por isso quero agradecer aqueles que de alguma forma contribuíram para esse momento:

Em primeiro lugar agradeço a Deus por me governar, me guardar e me iluminar sempre.

À minha mãe, pelo esforço feito para me proporcionar uma boa formação educacional e por todo amor que me é dedicado.

À minha irmã Amanda, pela ajuda quando pedi, pelas conversas quando necessitei e pelo incentivo que sempre me deu.

Ao meu namorado Rodrigo, pela compreensão todas as vezes que precisei me dedicar aos estudos, pelo amor que me fortalece e por ser um grande companheiro.

À minha orientadora Prof^a. Dr^a. Suzana Lima de Oliveira, pela sua orientação sempre inspiradora, pela compreensão e força quando eu mais precisei, por ser um grande exemplo de pessoa e de profissional.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Nassib Bezerra Bueno, pela sua colaboração na elaboração deste e de outros trabalhos, pela generosidade em repassar seu conhecimento e pelo exemplo a ser seguido.

Por fim agradeço a Socorro Lira, que é uma grande amiga de profissão e da vida. Pessoa a qual tenho um grande respeito e admiração. Aquela que é responsável por grande parte da profissional que sou hoje.

Meu muito obrigada!

RESUMO

O resveratrol consiste em um composto fenólico, da classe dos estilbenos, que desempenha diversas propriedades biológicas. É conhecido por ser amplamente distribuído na natureza e sintetizado por diversas plantas em resposta a estressores externos e infecções. Suas principais fontes alimentares são: uvas, vinho tinto, amendoim e manteiga de amendoim. Porém, o atual conhecimento sobre sua farmacocinética, biodisponibilidade e concentração do resveratrol em gêneros alimentícios levou a um maior consumo desse composto através de suplementos alimentares, que conferem uma alta concentração e podem ser uma alternativa para aumentar sua ingestão. A relação do resveratrol com diversos quadros patológicos se deu através da descoberta de seus possíveis mecanismos de ação. Propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e de analogia à restrição calórica têm sido discutidas como seus principais efeitos nos seres vivos. Estudos com animais foram extensivamente realizados e apontaram possíveis benefícios da utilização do resveratrol na prevenção e/ou tratamento de obesidade, diabetes, câncer, doenças cardiovasculares, doença hepática gordurosa não alcoólica, entre outras. Diante das evidências *in vivo*, ensaios clínicos começaram a ser realizados para explorar os benefícios desse composto nas diversas patologias a que foi inicialmente associado. Visando contribuir com a discussão do problema, esta dissertação apresenta dois capítulos: uma revisão da literatura abordando vários aspectos do resveratrol, incluindo estrutura, absorção, biodisponibilidade, metabolismo, além de evidenciar os principais achados sobre a sua relação com diversas condições clínicas; e um artigo de resultados, que se refere a uma metanálise de ensaios clínicos aleatórios, objetivando determinar se existem diferenças nos parâmetros de avaliação da doença hepática gordurosa não alcoólica em pacientes adultos suplementados com resveratrol ou placebo. Para tal, foram realizadas buscas nas bases de dados PUBMED, CENTRAL, SciELO, ClinicalTrials.gov e literatura cinzenta até Maio de 2016. O desfecho primário analisado foi a ALT e os desfechos secundários foram AST, GGT, TAG, colesterol total, LDL-C, HDL-C, peso, Glicose, Insulina e HOMA-IR. Foram encontrados 143 estudos e, após avaliação, quatro foram selecionados para análise quantitativa. Nenhuma alteração significativa foi encontrada para os desfechos analisados, com exceção da glicose, que apresentou uma redução significativa nos indivíduos suplementados com resveratrol em relação aos suplementados com placebo (WMD -0,24 (95% IC -0,46 - -0,02) mmol/L, $P=0,03$; $I^2=27\%$, $P=0,25$). Concluiu-se que, nas condições do presente trabalho, o resveratrol não promoveu benefícios como tratamento adjuvante da DHGNA.

Palavras-chave: resveratrol; doenças crônicas; hepatopatia gordurosa não alcoólica; ensaios clínicos

ABSTRACT

Resveratrol consists of a phenolic compound accounting to the stilbene class, which has several biological properties. It is known to be widely distributed in nature and synthesized by various plants in response to infections and external stressors. Its main food sources are: grapes, red wine, peanuts and peanut butter. However, current knowledge of its pharmacokinetics, bioavailability and concentration in foodstuffs has led to increased consumption of this compound through dietary supplements, which have a high concentration and can be an alternative to increase its intake. The relationship between resveratrol and various pathological conditions occurred through the discovery of its possible mechanisms of action. Its properties as antioxidant, anti-inflammatory and analogical to caloric restriction have been discussed as its main effects on living beings. Animal studies have been extensively conducted and showed potential benefits of the use of resveratrol in the prevention and / or treatment of obesity, diabetes, cancer, cardiovascular disease, non-alcoholic fatty liver disease, among others. Faced with in vivo evidence, clinical trials started to be conducted to explore the benefits of this compound in the various pathologies to which it was originally associated. In order to contribute to the discussion of the problem, this dissertation presents two chapters: a literature review addressing various aspects of resveratrol, including structure, absorption, bioavailability, metabolism, and also highlighting the main findings about its relationship with various medical conditions; and a result article, which refers to a meta-analysis of randomized clinical trials, aimed to determine whether there are differences in the parameters of evaluation of non-alcoholic fatty liver disease in adult patients supplemented with resveratrol or placebo. To this end, searches were conducted in PUBMED, CENTRAL, SciELO, ClinicalTrials.gov and gray literature until May 2016. The primary outcome analyzed was the ALT and secondary outcomes were AST, GGT, TAG, total cholesterol, LDL- C, HDL-C, weight, glucose, insulin, and HOMA-IR. It was found 143 studies and, after evaluation, four were selected for quantitative analysis. No significant change was found for the outcomes analyzed, with the exception of glucose, which showed a significant reduction in individuals supplemented with resveratrol when compared to those supplemented with placebo (WMD -0.24 (95% CI -0.46 - -0.02) mmol / L, $P = 0.03$; $I^2 = 27\%$, $P = 0.25$). We conclude that, under the conditions of this study, resveratrol did not provide benefits as adjunctive treatment of NAFLD.

Keywords: resveratrol; chronic diseases; nonalcoholic fatty liver disease; clinical trials.

LISTA DE FIGURAS

	Página
1º capítulo: capítulo de revisão	
Figura 1 Estrutura química do trans-resveratrol e cis-resveratrol.....	17
Figura 2 Fontes de Resveratrol.....	18
Figura 3 Mecanismos bioquímicos responsáveis pelo potencial quimiopreventivo e quimioterapêutico do resveratrol.....	22
2º capítulo: artigo de resultados	
Figura 1 Fluxograma da seleção dos estudos.....	37
Figura 2 Efeito da suplementação com resveratrol na alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), gama-glutamil transferase (GGT) e peso de indivíduos com doença hepática gordurosa não alcoólica.....	39
Figura 3 Efeito da suplementação com resveratrol na glicemia, insulina e HOMA-IR de indivíduos com doença hepática gordurosa não alcoólica.....	40
Figura 4 Efeito da suplementação com resveratrol no colesterol total, triglicerídeos (TAG), lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) e lipoproteína de alta densidade (HDL-c) de indivíduos com DHGNA	41

LISTA DE TABELAS

2º capítulo: artigo de resultados

Tabela 1	Características dos estudos incluídos.....	36
Tabela 2	Análise de viés dos artigos incluídos.....	38

LISTA DE ABREVIATURAS

ALT – alanina aminotransferase

AST – aspartato aminotransferase

ApoB – Apolipoproteína B

DCV – doenças cardiovasculares

DHGNA – doença hepática gordurosa não alcoólica

DMP – diferença média ponderada

EHNA – esteato-hepatite não alcoólica

GGT – gama glutamil transferase

GLUT-4 – transportador de glicose tipo 4

Hba1c – hemoglobina glicada 1c

HDL – lipoproteína de alta densidade (*High Density Lipoprotein*)

HOMA-IR – modelo de avaliação da homeostase para quantificar a resistência à insulina

LDL – lipoproteína de baixa densidade (*Low Density Lipoprotein*)

NAD⁺ – nicotinamida-adenina-dinucleótido oxidada

OMS – Organização Mundial da Saúde

PGC-1 α – *peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator*

RC – restrição calórica

RVS – resveratrol

SIRT-1 – *silent mating type information regulator 2 homolog 1*

TAG – triacilgliceróis

UV – ultravioleta

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	12
2. COLETÂNEA DE CAPÍTULOS.....	14
2.1. Capítulo de revisão	
Resveratrol e saúde humana.....	15
2.2. Artigo de resultados	
Efeitos da suplementação de resveratrol sobre marcadores de função hepática em pacientes com DHGNA.....	30
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	49
REFERÊNCIAS.....	51
APÊNDICE.....	62
ANEXOS.....	67

1 INTRODUÇÃO GERAL

A descoberta de um composto fenólico, identificado como resveratrol, ocorreu em 1940 (TAKAOKA, 1940). Entretanto, o interesse real em estudá-lo surgiu em 1992, quando foi postulado para explicar alguns efeitos protetores do vinho tinto (RENAUD, 1992). A partir deste momento, relações com diversas doenças e supostos mecanismos de ação foram atribuídos ao resveratrol ao longo dos anos.

Uma quantidade considerável de dados suportando os benefícios do resveratrol em doenças crônicas não transmissíveis foi obtida em modelos animais (GAMBINI et al., 2015). Estudos apontam para os seus mecanismos de ação ocorrerem por meio de processos anti-inflamatórios e antioxidantes, em contexto análogo ao da restrição calórica (KING et al., 2006). Ensaio clínicos que associam o resveratrol com indivíduos obesos, diabéticos, oncológicos e com doenças cardiovasculares são crescentes, porém, conflitantes (TIMMERS et al., 2011; LIU et al., 2014; CARTER et al., 2014; MAGYAR et al., 2012). Em meio às descobertas, a relação benéfica no tratamento da doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) despertou o interesse da comunidade científica pela necessidade de se descobrir tratamentos alternativos para essa condição.

A patogênese da DHGNA envolve um processo de acúmulo de triglicerídeos no fígado, que, se não tratado, pode evoluir para formas mais graves da doença, como esteato-hepatite, fibrose, cirrose e até hepatocarcinoma (ONYEKWERE et al., 2015). Além disso, existe uma forte relação da DHGNA com a síndrome metabólica e todas as condições associadas a ela (VERNON et al., 2011). Desse modo, o fato dos possíveis mecanismos de ação do resveratrol se associarem com os fatores para o desenvolvimento e progressão da DHGNA fez com que o resveratrol surgisse como uma nova opção terapêutica para essa condição.

Em suma, o presente trabalho compreende um capítulo de revisão, que resgata as principais evidências sobre o resveratrol e suas associações com diversos quadros patológicos, e um artigo de resultados baseado em uma revisão sistemática com metanálise acerca dos parâmetros de avaliação da DHGNA, em indivíduos suplementados com resveratrol ou placebo.

2 COLETÂNEA DE CAPÍTULOS

Capítulo de revisão

BRITO, FML; BUENO, NB; OLIVEIRA, SL.
Resveratrol e saúde humana.

INTRODUÇÃO

O reconhecimento dos compostos fenólicos como possível tratamento no combate a uma série de doenças crônicas despertou o interesse da comunidade científica, consistindo em um grupo de substâncias bastante estudadas. Dentre as classes de compostos fenólicos investigadas, os estilbenos, em especial o resveratrol (RVS), destacam-se pelo seu amplo espectro de efeitos biológicos (MARÍN et al., 2012).

As propriedades benéficas da molécula de resveratrol estão descritas em diversos estudos, dentre elas o seu papel como agente protetor em processos tumorais, doenças cardiovasculares, processos neurodegenerativos, envelhecimento, diabetes, obesidade e saúde hepática são as mais investigadas (BAUR e SINCLAIR, 2006; HEEBØLL et al., 2014; NOVELLE et al., 2015). Entretanto, pesquisas apontam para a escassez de dados em seres humanos e para a necessidade de se realizar mais ensaios clínicos (PONZO et al., 2014).

Diante dos possíveis benefícios do resveratrol para a saúde humana, a presente revisão abordará vários aspectos desse composto, incluindo estrutura, absorção, biodisponibilidade e metabolismo. Além disso, evidenciará os principais achados sobre a sua relação com as diversas condições clínicas associadas.

RESVERATROL

O resveratrol (3,4',5- Tri-hidroxiestilbeno, RVS) foi identificado pela primeira vez em um artigo japonês, em 1940, a partir da raiz de uma planta medicinal venenosa: a *White Hellebore* (*Veratum grandiflorum* O. Loes) e depois, em 1963, a partir das raízes de *Polygonum cuspidatum*, uma planta usada na medicina tradicional chinesa e japonesa (Figura 1) (TAKAOKA, 1940; NONOMURA et al., 1963). Contudo, o interesse pelo composto aumentou em 1992, quando ele foi considerado para explicar alguns dos efeitos cardio protetores do vinho tinto e foi sugerido como um fator importante para compreender o “Paradoxo francês”, um termo utilizado para descrever a observação de que a população francesa tem uma incidência muito baixa de doenças cardiovasculares, apesar de possuir uma dieta rica em gordura saturada (RENAUD, 1992). O cientista francês Renaud (1992) atribuiu esse paradoxo ao alto consumo de vinho tinto por essa população.

O RVS caracteriza-se por ser um polifenol natural encontrado em diversas plantas, frutas e sementes. É formado pela reação de condensação entre três

moléculas de malonil-CoA e uma molécula de 4-coumaroil-CoA, mediante ação da enzima resveratrol sintase e liberação de quatro moléculas de CO₂ (SOLEAS et al., 1997a). Seu esqueleto básico é constituído por dois anéis fenólicos ligados entre si por uma dupla ligação de estireno, que é responsável pela isomeria *cis* e *trans* (GAMBINI et al., 2015). O isômero *trans* é o mais estável do ponto de vista estérico e a forma predominante em dietas e suplementos (TRELA, WATERHOUSE, 1996; COTTART et al., 2013).

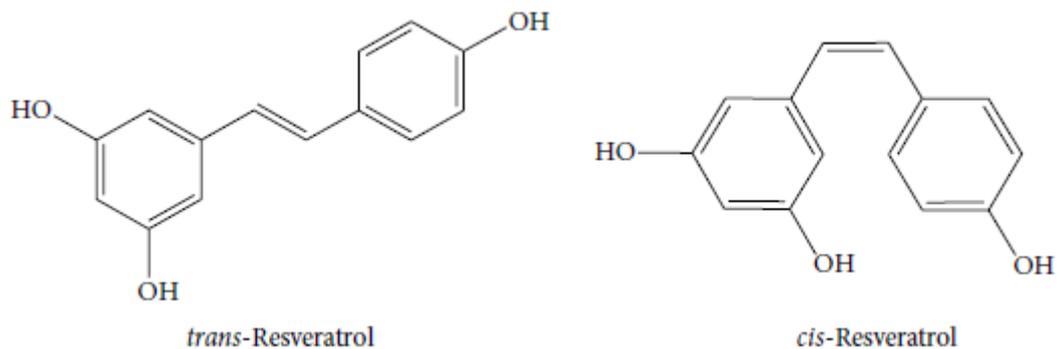


Figura 1: Estrutura química das formas *trans* e *cis* do resveratrol. Fonte: Gambini et al. (2015).

É conhecido por ser amplamente distribuído na natureza e sintetizado por diversas plantas, em resposta a estressores externos e infecções (Figura 2) (SHAKIBAEI et al., 2009). Devido ao seu baixo peso molecular e a sua capacidade de inibir o progresso de determinadas infecções, o RVS atua como uma fitoalexina (composto químico com atividade antimicrobiana) em diversas plantas. Sua produção ocorre por meio de um mecanismo de resistência a fatores estressantes, tais como parasitas, fungos, infecções, radiação UV e substâncias químicas (JEANDET et al., 2002; JEANDET et al., 2012).

As principais fontes de resveratrol na dieta humana são uvas, vinho tinto, amendoim e manteiga de amendoim (KING et al., 2006). As concentrações de resveratrol encontradas nos vinhos e sucos de uvas variam de acordo com a origem e o tipo da uva, o processo de vinificação ou extração do suco e a infecção fúngica ocorrente na videira (FREITAS et al., 2010; SAUTTER et al., 2005). A concentração de resveratrol no vinho tinto é maior que no vinho branco; isso se dá devido ao seu processo de produção, no qual são maceradas as partes da uva em que a concentração de RVS é maior, a exemplo da pele e sementes (GAMBINI et al., 2015; SOLEAS et al., 1997b). No amendoim, o resveratrol está naturalmente

presente em partes comestíveis e não comestíveis e suas concentrações são influenciadas pelo cultivo, tempo de armazenamento, maturidade e qualidade (SALES e RESURRECCION, 2014).

Considerando o conhecimento sobre farmacocinética, biodisponibilidade e concentração de RVS em gêneros alimentícios, é improvável que o consumo moderado e regular de fontes alimentares de resveratrol pudesse alcançar a quantidade dietética necessária, em humanos, para os efeitos biológicos observados *in vitro* (VITAGLIONE et al., 2004). Atualmente, sabe-se que a dieta convencional fornece apenas alguns miligramas diários de resveratrol; entretanto, existem suplementos de RVS que conferem uma alta concentração e podem ser uma alternativa para aumentar a ingestão do composto (POLSEN et al., 2013a).

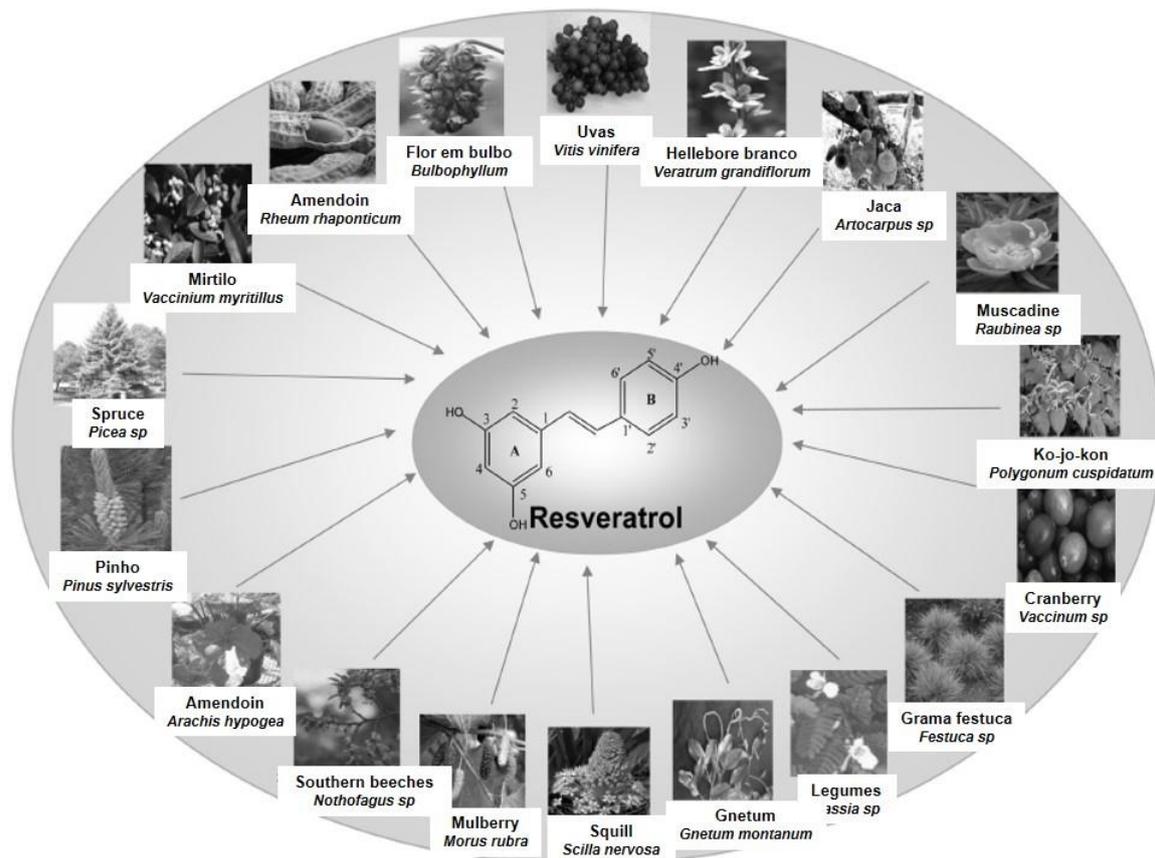


Figura 2: Fontes de Resveratrol. Fonte: adaptado de Shakibaei et al. (2009).

ABSORÇÃO, BIODISPONIBILIDADE E METABOLISMO

Os potenciais benefícios de saúde do RVS dependem, em parte, da sua absorção, biodisponibilidade e metabolismo (KING et al., 2006).

O processo de captação dessa molécula inicia-se em nível intestinal, onde o resveratrol é absorvido por difusão passiva ou formando complexos com transportadores de membrana. Uma vez na corrente sanguínea, o RVS é rapidamente metabolizado por glucuronidação hepática e processos de sulfonidação, resultando em metabólitos na forma de glucuronido (*trans*-resveratrol-3-O-D-glucuronido e *trans*-resveratrol-4'-O-D-glucuronido) e sulfato (resveratrol-3-O-sulfato e resveratrol-4'-O-sulfato), respectivamente. Após a absorção, ele também pode ser encontrado em menor quantidade na forma livre ou ligado à albumina ou a lipoproteínas, o que facilita o processo de entrada nas membranas celulares, através dos receptores dessas proteínas (DELMAS et al., 2011).

Walle et al. (2004) identificaram que, após a administração de doses orais de resveratrol, foi observada uma alta absorção em seres humanos; entretanto, apenas pequenas quantidades do composto foram encontradas no plasma dos sujeitos, caracterizando uma baixa biodisponibilidade. Isso ocorre provavelmente pelo metabolismo rápido em glucuronido e conjugados sulfato, indicando que a formação extremamente rápida desses metabólitos pode ser o principal fator limitante para a biodisponibilidade. Todavia, Polsen et al. (2013b) especulam que os metabólitos de resveratrol também podem ser responsáveis pelos efeitos biológicos, tendo em vista sua rápida metabolização e o fato deles estarem presentes em quantidades mais elevadas em relação a circulação do composto natural.

Perante o reconhecimento do metabolismo do RVS e da incerteza da ação de seus metabólitos, algumas pesquisas se concentraram em como melhorar a biodisponibilidade desse composto. A estrutura química do resveratrol, que possui uma baixa solubilidade em água e alta afinidade por lipídeos, é um dos fatores que afeta diretamente a sua absorção e distribuição no organismo. Dessa maneira, ofertar outras substâncias, como o álcool, concomitante ao RVS, pode aumentar sua absorção e permeabilidade celular (GAMBINI et al., 2015).

Para aumentar a biodisponibilidade do RVS, ofertá-lo com outros agentes que inibam seu metabolismo *in vivo* também pode ser uma opção (PONZO et al., 2014). Outros compostos polifenólicos, a exemplo dos flavonoides, podem agir de forma sinérgica aumentando a disponibilidade de polifenóis (SCHEEPENS et al., 2010). A quercetina, por exemplo, atua inibindo a sulfatação e glucuronidação do resveratrol no fígado e tecido duodenal, através de mecanismo competitivo pelos mesmos

sistemas de enzimas, favorecendo a permanência em seu estado natural (GAMBINI et al., 2015).

Em relação ao seu mecanismo de excreção, sabe-se que níveis de resveratrol são encontrados facilmente no plasma e na urina, com concentrações plasmáticas mais elevadas sendo alcançadas em torno de 30 a 60 minutos após a ingestão, sendo cerca de 75% excretado via fezes e urina (WENZEL e SOMOZA, 2005). Além disso, acredita-se que existe uma recirculação entérica dos metabólitos conjugados através da reabsorção intestinal, ou seja, os segregados que voltam novamente para o intestino podem ser desconjugados e reabsorvidos ou excretados nas fezes (WALLE et al., 2004; MARIER et al., 2002).

EFEITOS BIOLÓGICOS DO RESVERATROL

Diversas propriedades biológicas têm sido apontadas para o resveratrol, incluindo ação anticancerígena, antiobesidade, antidiabetes, proteção cardiovascular, reversão de doença hepática gordurosa não alcoólica, entre outras (TIMMERS et al., 2011; KING et al., 2006; BUJANDA et al., 2008). Sua atuação nessas condições implica em inúmeros mecanismos de ação, devido ao seu grande número de moléculas alvo diferentes (SHAKIBAEI et al., 2009).

Vale ressaltar que, em indivíduos saudáveis, o RVS é bem tolerado, e quando efeitos adversos (principalmente digestivos) ocorrem, são leves e se resolvem espontaneamente, sem sequelas. Entretanto, em doses mais altas, no tratamento em longo prazo, no contexto das diversas patologias, mais estudos são necessários para avaliar a segurança do consumo do RVS (COTTART et al., 2013; POPAT et al., 2013). Além disso, quando administrado concomitante com outras drogas, ele pode ter o potencial de alterar os efeitos de uma variedade de medicamentos através da sua ação de inibir enzimas do complexo citocromo P450 (CHOW et al., 2010).

As pesquisas com modelos animais são bastante consistentes, todavia, só recentemente, surgiu um número maior de dados para descrever os efeitos do resveratrol sobre as diversas condições patológicas em seres humanos, bem como da sua suplementação. Tradicionalmente, as doenças crônicas têm sido tratadas através de intervenções farmacêuticas, na sequência de um diagnóstico médico; porém, mudanças no estilo de vida e modificações nutricionais têm emergido como ferramentas essenciais para sua prevenção e seu tratamento (SMOLIGA et al., 2011). Nesse contexto, devido as suas propriedades antioxidantes, anti-

inflamatórias, antimutagênicas e sua ação similar à restrição calórica, o resveratrol surge como uma possível alternativa natural, que pode atuar otimizando o tratamento e a prevenção de obesidade, diabetes, câncer e doenças cardiovasculares (GAMBINI et al., 2015).

Resveratrol e câncer

Há uma necessidade crescente de descobrir terapias anticâncer que sejam inovadoras e que promovam, além da cura, qualidade de vida para os indivíduos acometidos e/ou prevenção para os indivíduos saudáveis (SHAKIBAEI et al., 2009). Diante disso, substâncias conhecidas como fitofármacos (compostos derivados de plantas) têm chamado atenção nas pesquisas de terapias anticâncer (ATHAR et al., 2007).

Devido à extrema heterogeneidade das células cancerosas, é difícil encontrar um alvo molecular específico para a prevenção ou o tratamento do câncer. Assim, um agente preventivo ou terapêutico do câncer deve visar às diversas vias bioquímicas envolvidas no processo que conduziu à malignidade, limitando, ao mesmo tempo, uma toxicidade indesejada ou efeitos colaterais em tecidos saudáveis. Em meio à lista dos compostos naturais com propriedades anticancerígenas, o resveratrol tem sido bastante investigado (KUNDU e SURH, 2008).

O RVS tem mostrado atividade em todos os estágios do câncer (iniciação, promoção e progressão), principalmente no controle do ciclo celular e indução da apoptose (SHANKAR et al., 2007). Os mecanismos de ação do resveratrol no câncer não estão totalmente compreendidos, mas as suas propriedades quimiopreventivas têm-se refletido na sua capacidade de bloquear a ativação de vários agentes cancerígenos e/ou estimular a sua desintoxicação, prevenir danos oxidativos ao DNA celular, reduzir respostas inflamatórias e diminuir a proliferação de células cancerosas (KUNDU e SURH, 2008). A Figura 3 ilustra as bases bioquímicas das potenciais ações quimiopreventivas e quimioterapêuticas atribuídas ao resveratrol.

O primeiro estudo que mostrou as propriedades anticâncer do RVS *in vivo* foi conduzido por Jang et al. (1997), onde verificaram que a aplicação tópica de resveratrol em ratos com câncer de pele inibiu a carcinogênese, em diversos estágios, o que suportou os efeitos antitumorais reportados anteriormente em estudos *in vitro* (SURH et al., 1999; DING e ADRIAN, 2002; JOE et al., 2002).

Posteriormente, mais artigos foram publicados mostrando as atividades anticancerígenas e quimioterapêuticas do RVS *in vivo* (BAUR e SINCLAIR, 2006; KUNDU e SURH, 2008; GOSWAMI e DAS, 2009).

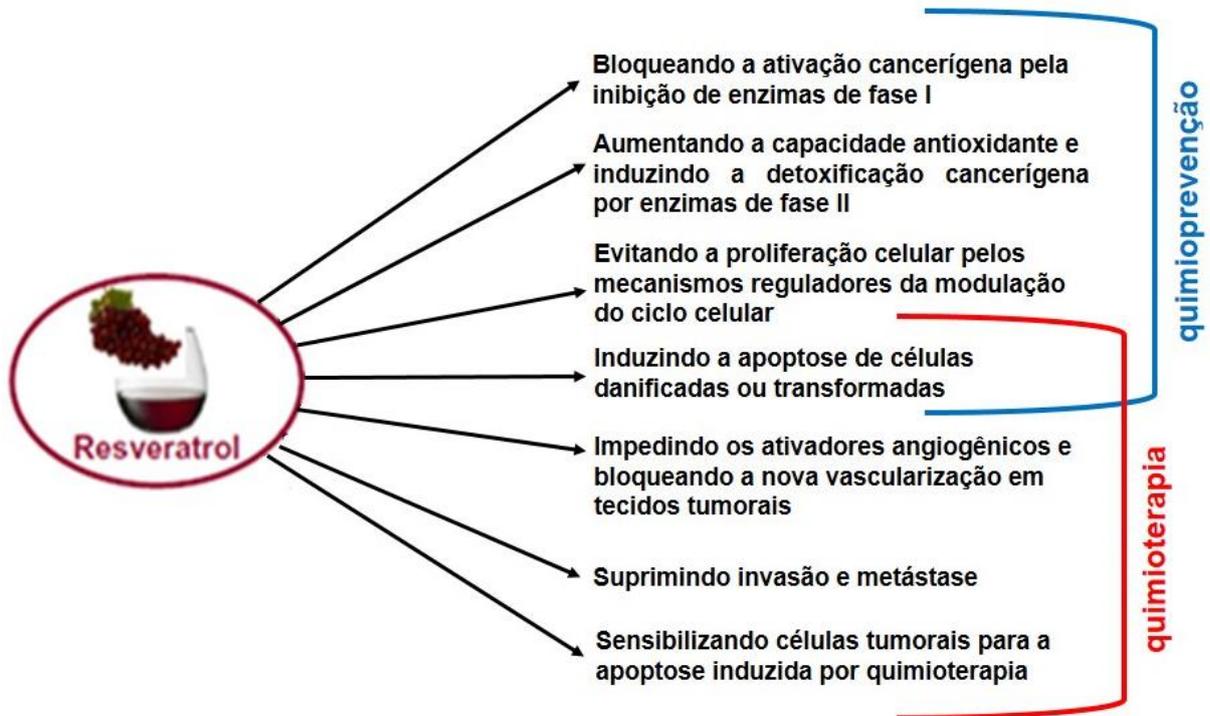


Figura 3: Mecanismos bioquímicos responsáveis pelo potencial quimiopreventivo e quimioterapêutico do resveratrol. Fonte: adaptado de Kundu e Surh (2008).

Algumas pesquisas conduzidas em modelos animais para avaliar o efeito do tratamento com resveratrol sobre a formação do tumor de cólon apontam resultados promissores, indicando o potencial terapêutico do composto para esse tipo de câncer (SALE et al., 2005; SENGOTTUVELAN et al., 2009; MAJUMDAR et al., 2009; ALFARAS et al., 2010). Por outro lado, de acordo com Nguyen et al. (2009), que publicaram um estudo clínico piloto, o RVS, em combinação com outros compostos encontrados nas uvas, pode diminuir o risco de desenvolvimento de câncer de colón, entretanto, não é eficaz no câncer já estabelecido.

Em relação ao câncer de mama, pesquisas com modelos animais mostram que a suplementação com resveratrol diminuiu a incidência da formação e desenvolvimento do tumor mamário (BANERJEE et al., 2002; WHITSETT et al., 2006; GARVIN et al., 2006). Entretanto, segundo Castillo-Pichardo et al. (2013), a suplementação com RVS, testada em diversas concentrações, pode promover um

aumento da formação de tumor mamário e metástase, ainda no contexto experimental.

Pesquisas abordando a relação do hepatocarcinoma com a suplementação de RVS em modelos animais de câncer hepático mostram resultados consistentemente positivos, indicando seu potencial benefício na prevenção ou tratamento dessa condição (CARBO et al., 1999; LUTHER et al., 2011; RAJASEKARAN et al., 2011; LIN et al., 2012).

As evidências clínicas para o uso do resveratrol como um suplemento eficaz para a prevenção e tratamento do câncer são insuficientes para tirar conclusões. Além disso, os estudos com animais apresentam amostras pequenas, doses e vias de administração diferentes, diferentes origens para o tumor e presença de outros componentes alimentares ofertados associadamente (KUNDU e SURH, 2008). Portanto, apesar de promissores, esses estudos devem ser interpretados com cautela e o RVS deve ser mais investigado a fim de garantir que ele represente uma opção de tratamento viável para o câncer (NOVELLE et al., 2015). Além do mais, até agora seu uso parece ser mais promissor na prevenção do que no tratamento (CARTER et al., 2014).

Resveratrol, obesidade e diabetes

O tratamento da obesidade e de suas complicações, como o diabetes, é um desafio crítico para a saúde pública em todo mundo (*WORLD HEALTH ORGANIZATION*, 2012). Devido à estreita associação entre diabetes e obesidade, uma série de medidas relacionadas com a obesidade também tem sido explorada no diabetes. Terapias alternativas para prevenção e tratamento dessas doenças estão chamando atenção, como, por exemplo, a utilização do resveratrol (SMOLIGA et al., 2011).

Dados da literatura demonstram que o RVS exerce uma ação pleiotrópica nos organismos (TIMMERS et al., 2012). As vias referentes ao efeito benéfico do resveratrol na obesidade e diabetes não estão totalmente compreendidas, mas acredita-se que podem envolver efeitos similares ao da restrição calórica (RC), via ativação da SIRT-1 (do inglês: *silent mating type information regulator 2 homolog 1*) (BARGER et al., 2008; AGARWAL e BAUR, 2011). A SIRT-1 tem um papel chave na regulação do metabolismo, pois modula a biogênese mitocondrial em vários tecidos, estimula o catabolismo de gordura e colesterol no fígado, músculo esquelético e

tecido adiposo, induz os genes gliconeogênicos, reprime os genes glicolíticos e ativa a oxidação dos ácidos graxos sistematicamente (VILLALBA e ALCAÍN, 2012).

A RC é uma intervenção não farmacológica que atua contra doenças crônicas relacionadas à idade. Alguns de seus efeitos no metabolismo consistem em redução da taxa metabólica, melhora da sensibilidade à insulina e redução dos fatores de risco cardiovasculares. O RVS foi o primeiro composto descoberto capaz de agir de maneira similar à RC, por estimulação das sirtuínas, família de enzimas com atividade desacetilase dependentes de nicotinamida-adenina-dinucleótido oxidada-NAD⁺, que atuam inibindo/ativando certos genes ou enzimas. Por exemplo, a SIRT-1 controla as vias gliconeogênicas/glicolíticas através da co-ativação transcricional de PGC-1 α (do inglês: *peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator*), que leva a um aumento na massa e função mitocondrial em animais e em modelos *in vitro* (VILLALBA e ALCAÍN, 2012).

Estudos pré-clínicos sugeriram que o RVS atua de modo similar à RC para melhorar parâmetros metabólicos de obesidade e diabetes (LAGOUGE et al., 2006; BAUR et al., 2006b). Além disso, uma série de estudos clínicos foram conduzidos a fim de confirmar os resultados dos estudos com animais, entretanto, as conclusões obtidas são controversas (BRASNYO' et al., 2011; BHATT et al., 2012; CRANDALL et al., 2012; TIMMERS et al., 2011; POULSEN et al., 2013b; YOSHINO et al., 2012).

Brasnyo' et al. (2011) avaliaram 19 pacientes portadores de diabetes tipo 2, recebendo 5 mg de RVS oral (n=10) ou placebo (n=9), duas vezes por dia, durante quatro semanas. Os autores encontraram que o RVS melhorou a sensibilidade à insulina e a concentração pós-prandial de glicose plasmática na população estudada. De acordo com esse achado, Bhatt et al. (2012) relataram melhora no controle glicêmico de indivíduos com diabetes tipo 2, tratados por três meses com suplementação de resveratrol (250 mg por dia; n=31), em relação a um controle (n=31), ambos os grupos tratados com agentes antidiabéticos convencionais.

Crandall et al. (2012) referiram uma melhora na tolerância à glicose em idosos com intolerância à glicose. Em adição, Timmers et al. (2011) suplementaram com 150mg de RVS/dia, durante 30 dias, 11 homens obesos, em um estudo cruzado duplo-cego, com uma fase de pausa na intervenção de quatro semanas, e demonstraram melhorias no HOMA-IR (do inglês: *homeostatic model assessment*), método utilizado para quantificar a resistência à insulina baseado nos níveis séricos

de glicose em jejum e insulina. Tal estudo sugeriu um efeito positivo do resveratrol na sensibilidade à insulina.

Recentemente, uma meta-análise foi publicada abordando os efeitos do RVS em pacientes com diabetes. Os autores encontraram que a intervenção reduz significativamente a glicose em jejum e a insulina, além de diminuir as concentrações de Hba1c (hemoglobina glicada, que é útil na identificação de altos níveis de glicemia durante períodos prolongados) e HOMA-IR, nos indivíduos suplementados; entretanto, esses achados não se repetiram nos controles. O estudo sugere que o consumo de resveratrol teve um efeito favorável sobre o controle da glicose e sensibilidade à insulina em participantes com diabetes mellitus tipo 2 (LIU et al., 2014).

Ao contrário dos estudos relatados, segundo Poulsen et al. (2013b), doses elevadas de RVS (500mg, 3x/dia, durante 4 semanas) não levam a alterações na sensibilidade à insulina, no HOMA-IR, em glicemia e insulina de jejum, no gasto energético de repouso ou nas taxas de oxidação lipídica, além de não promover efeitos na disposição de gordura ectópica, nem alterações significativas nos biomarcadores metabólicos e de inflamação, em homens obesos. Resultado similar foi observado por Yoshino et al. (2012), em que a suplementação com resveratrol (75mg/dia, por 12 semanas) não afetou alvos moleculares no músculo esquelético e tecido adiposo, ou melhorou a função metabólica, incluindo sensibilidade à insulina e lipídios plasmáticos, em mulheres não obesas com tolerância normal à glicose. Diante desses resultados, conclui-se que é possível que o RVS melhore os desfechos metabólicos somente em indivíduos obesos ou metabolicamente anormais.

Em adição, outras vias para entender a ação do RVS em obesidade e diabetes são especuladas, são elas: estímulo à captação de glicose através do aumento da expressão de GLUT-4 (PENUMATHSA et al., 2008), ativação da captação de glicose induzida por RVS (SU et al., 2006) e efeito anti-inflamatório em células do tecido adiposo (OLHOLM et al., 2010). Porém, mais estudos são necessários para confirmar essas hipóteses.

Resveratrol e saúde cardiovascular

As doenças cardiovasculares (DCV) são consideradas a maior causa de mortalidade no mundo. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS),

estima-se que 17,1 milhões de pessoas morreram de doenças cardiovasculares em 2004. Além disso, as estimativas para 2030 são ainda piores; acredita-se que em torno de 24 milhões de pessoas morrerão de doenças cardiovasculares, no mundo (TOMÉ-CARNEIRO et al., 2012). No Brasil, a morbimortalidade cardiovascular também consiste no maior enfrentamento da área da saúde. Dados do Ministério da Saúde verificaram a ocorrência, em 2010, de 326 mil mortes por DCV (SIMÃO et al., 2014).

Diante do cenário atual, a busca por alternativas para prevenção e tratamento dessa condição é fundamental. A partir do “paradoxo francês”, foi sugerido que o resveratrol seria o responsável pelos benefícios cardiovasculares observados com o consumo moderado de vinho (RENAUD, 1992). A ligação apontada entre resveratrol e o “paradoxo francês” criou um considerável interesse em estudar o potencial desse composto para melhorar a saúde cardiovascular (SMOLIGA et al., 2011).

Evidências da cardioproteção do resveratrol são observadas em estudos *in vitro* e em modelos animais, contudo, a sua eficácia terapêutica em seres humanos ainda não está totalmente estabelecida (BRADAMANTE et al., 2004).

Tomé-carneiro et al. (2012) estudaram por 6 meses, em um ensaio clínico aleatório, triplo cego, controlado por placebo, os efeitos que um suplemento de uva enriquecido com resveratrol proporcionava nos níveis sanguíneos de apolipoproteína B (ApoB) e no colesterol LDL, em pacientes com um risco elevado de doenças cardiovasculares, tratados com estatinas (n=75). Os autores encontraram uma redução significativa no colesterol LDL e ApoB, o que mostrou um benefício no consumo de baixas doses de resveratrol.

Nesse contexto, o estudo de Magyar et al. (2012), que foi aleatório, duplo cego, controlado por placebo, em pacientes com histórico de infarto do miocárdio (n=40), que receberam 10mg de resveratrol por dia, durante 3 meses, identificou que, após o tratamento, foi observada inibição da agregação plaquetária, diminuição dos níveis de colesterol LDL e melhora da função diastólica do ventrículo esquerdo. Os autores concluíram que o RVS exerce múltiplos efeitos de proteção cardiovascular em pacientes com doença arterial coronariana e que pode ser benéfico como tratamento adicional à rotina medicamentosa de prevenção secundária de infarto do miocárdio.

Ainda em relação à prevenção, Zamora-ros et al. (2012) reforçaram essa ideia após identificarem que, quando altos níveis de metabólitos do RVS estão presentes

na urina, a prevalência de fatores de risco cardiovascular (perfil lipídico sérico, glicemia de jejum e frequência cardíaca) é diminuída em pacientes de alto risco cardiovascular. Vale ressaltar que, em se tratando de prevenção, o objetivo principal é o controle da lipidemia, uma vez que está bem documentada a evidência da redução do risco cardiovascular em função da diminuição do colesterol total e colesterol LDL na circulação (TOMÉ-CARNEIRO et al., 2012).

Por outro lado, uma meta-análise que avaliou os benefícios da suplementação com RVS sobre os lipídios plasmáticos revelou nenhum efeito significativo sobre qualquer um dos parâmetros de lipídios (por exemplo, colesterol LDL e HDL, colesterol total e triglicerídeos), independentemente da dose, da duração do estudo ou do risco cardiovascular da população estudada (SAHEBKAR, 2013).

Além da discussão sobre ação do RVS na dislipidemia, especula-se que ele pode atuar nas doenças cardiovasculares pelos seguintes mecanismos: inibição da agregação plaquetária, inibição da síntese de eicosanoides pró-aterogênicos, inibição da expressão de fator tecidual pro coagulante, inibição da proliferação celular, aumento da regulação de óxido nítrico sintase e vasodilatação (BRADAMANTE et al., 2004). Contudo, são necessários mais estudos para tornar consistente o conhecimento de suas ações e por quais mecanismos elas são promovidas.

Resveratrol e DHGNA

A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) vem emergindo como uma das doenças crônicas mais comuns e está prestes a se tornar a causa predominante da doença hepática crônica em muitas partes do mundo (LOOMBA e SANYAL, 2013). A DHGNA possui forte associação com a síndrome metabólica, bem como com a epidemia mundial de obesidade, e, seguindo a prevalência desses fatores associados, ela continua a aumentar (VERNON et al., 2011). Entretanto, devido à sintomatologia inexistente apresentada pela maioria dos pacientes no início da doença, o conhecimento sobre a sua real prevalência é difícil, estimando-se que 10-24% da população geral, em vários países, esteja afetada por essa condição (FERREIRA et al., 2010).

A DHGNA caracteriza-se pelo acúmulo de gordura difuso ou focal no parênquima hepático de pacientes que negam qualquer história de consumo abusivo de álcool e pode variar desde esteatose simples à esteato-hepatite não alcoólica

(EHNA), fibrose e até cirrose, além de poder progredir para carcinoma hepatocelular (AKBAR e KAWTHER, 2006). O diagnóstico consiste na exclusão das muitas outras causas de esteatose hepática, além de marcadores hepáticos, exames de imagem e biópsia hepática (ONYEKWERE et al., 2015; VALLS et al., 2006). A primeira linha de tratamento para pacientes com DHGNA abrange as mudanças no estilo de vida, que devem ser acompanhadas do tratamento das co-morbidades metabólicas associadas, como obesidade, hiperlipidemia e resistência à insulina (ONYEKWERE et al., 2015).

Tratamentos alternativos para DHGNA são necessários e intensivamente procurados; nesse contexto, o resveratrol surge como uma nova e potencial opção terapêutica (HEEBOLL et al., 2014). Através dos efeitos pleiotrópicos desse composto, como a ativação de SIRT-1, propriedades anti-inflamatórias e propriedades antioxidantes, acredita-se que o RSV pode inibir o desenvolvimento e/ou a progressão de esteatose e esteato-hepatite (HEEBOLL et al., 2014).

Uma série de estudos com animais foram realizadas e, em geral, apontam os efeitos benéficos do tratamento com RVS sobre a DHGNA, apesar de referirem uma ampla variedade de modelos, períodos de intervenção e doses administradas (SHANG et al., 2008; BUJANDA et al., 2008; GO´MEZ-ZORITA et al., 2012; ANDRADE et al., 2014).

Em se tratando de ensaios clínicos, inicialmente, um estudo com obesos saudáveis relatou dados hepáticos, sugerindo que RVS promove um número de efeitos metabólicos benéficos, entre estes uma redução das transaminases hepáticas e gordura no fígado (TIMMERS et al., 2011). Em outro estudo, 24 participantes receberam uma dose de 1.500 mg de RVS ou placebo diariamente, durante quatro semanas, e não houve efeito sobre o teor de gordura no fígado ou níveis de transaminases (POLSEN et al., 2013b).

De acordo com Faghihzadeh et al. (2015), que estudaram os efeitos da suplementação de resveratrol sobre fatores de risco cardiovascular, em um ensaio clínico randomizado, duplo-cego, controlado por placebo, realizado com 50 pacientes portadores de DHGNA, recebendo 500mg/dia de RVS, por 12 semanas, o resveratrol não teve qualquer efeito benéfico sobre medidas antropométricas, marcadores de resistência à insulina, perfil lipídico e pressão arterial. No entanto, o RVS pode reduzir a alanina amino transferase (ALT) e esteatose hepática em pacientes com DHGNA. Em relação aos marcadores da DHGNA, resultados

similares foram observados por Chen et al. (2015), que concluíram que a suplementação de resveratrol pode ser benéfica em portadores de doença hepática gordurosa não alcoólica.

Por outro lado, Chachay et al. (2014), em um estudo controlado por placebo, avaliaram os efeitos do RVS em 20 pacientes com DHGNA, que receberam 3000mg/dia de RVS ou placebo, por oito semanas. Os resultados mostraram que, apesar de ser bem tolerado, o RVS não reduziu a resistência à insulina, esteatose ou distribuição de gordura abdominal, quando comparados com os valores basais. Em adição, nenhuma mudança foi observada nos marcadores lipídicos ou de atividade antioxidante. Os níveis de ALT e aspartato aminotransferase (AST) aumentaram significativamente entre os pacientes do grupo suplementado com RVS até seis semanas, quando comparado com o grupo placebo. Diante desses resultados, os autores concluíram que oito semanas de administração de RVS não melhoraram significativamente quaisquer características da DHGNA, em comparação com o placebo, mas aumentou o estresse hepático, com base em aumentos observados nos níveis de enzimas hepáticas.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O RVS tem sido amplamente pesquisado no contexto das diversas doenças a que foi associado como alternativa terapêutica. Estudos *in vitro* e com animais, em sua maioria, resultam em efeitos benéficos desse composto, o que forneceu subsídios para o crescente número de ensaios clínicos que são realizados atualmente. Entretanto, resultados conflitantes são observados nestes ensaios clínicos, que podem dever-se ao número pequeno de participantes, à variabilidade nas doses ofertadas e aos períodos de duração distintos nos estudos. Além disso, a incerteza sobre a biodisponibilidade do composto, mesmo que ofertado por meio de suplementação, ainda permanece.

Perspectivas no estudo do resveratrol apontam para a necessidade de mais pesquisas com metodologias similares, a fim de elucidar a sua real eficácia, seja na prevenção ou no tratamento, bem como os seus mecanismos de ação nas diversas enfermidades.

Artigo de resultados

BRITO, FML; BUENO, NB; OLIVEIRA, SL. Efeitos da suplementação de resveratrol sobre marcadores de função hepática em pacientes com doença hepática gordurosa não alcoólica: revisão sistemática e metanálise de ensaios clínicos aleatórios

A ser submetido ao BRITISH JOURNAL OF NUTRITION (BJN)

RESUMO

É crescente o número de ensaios clínicos que indicam o resveratrol como uma potencial opção terapêutica para doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA). Diante disso, a presente revisão sistemática com metanálise objetiva determinar se existem diferenças nos parâmetros de avaliação da DHGNA em pacientes adultos suplementados com resveratrol ou placebo. Para tal, foram realizadas buscas nas bases de dados PUBMED, CENTRAL, SciELO, ClinicalTrials.gov e literatura cinzenta, até maio de 2016. Ensaios clínicos aleatórios com indivíduos adultos portadores de DHGNA e suplementados com placebo foram selecionados sem restrição de ano de publicação e idioma. O desfecho primário analisado foi a alanina aminotransferase e os desfechos secundários foram aspartato aminotransferase, gamaglutamiltransferase, triglicerídeos, colesterol total, LDL-c, HDL-c, peso, glicose, insulina e HOMA-IR. Foram encontrados 143 estudos e, após avaliação, quatro foram selecionados para análise quantitativa. Nenhuma alteração significativa foi encontrada para os desfechos analisados, com exceção da glicose, que apresentou uma redução significativa nos indivíduos suplementados com resveratrol em relação aos suplementados com placebo (WMD -0,24 (95% IC - 0,46 - -0,02) mmol/L, $P=0,03$; $I^2= 27\%$, $P=0,25$). Concluiu-se que, nas condições do presente trabalho, o resveratrol não promoveu benefícios como tratamento adjuvante da DHGNA.

PALAVRAS-CHAVE

resveratrol; hepatopatia gordurosa não alcoólica; esteato-hepatite não alcoólica; fígado gorduroso; ensaios clínicos

ABSTRACT

A growing number of clinical trials has indicated resveratrol as a potential therapeutic option for non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). Therefore, the present systematic review with meta-analysis aims to determine whether there are differences in the evaluation parameters of NAFLD in adult patients supplemented with resveratrol or placebo. To this end, searches were conducted in PUBMED, CENTRAL, SciELO, ClinicalTrials.gov and gray literature until May 2016. Randomized clinical trials with adult carriers of NAFLD and supplemented with placebo were selected with no restriction of year of publication and language. The primary outcome analyzed was alanine aminotransferase and the secondary

outcomes were aspartate aminotransferase, gamma glutamyl transferase, triglycerides, total cholesterol, LDL-C, HDL-C, weight, glucose, insulin and HOMA-IR. It was found 143 studies and, after evaluation, four were selected for quantitative analysis. No significant change was found for the outcomes analyzed, with the exception of glucose, which showed a significant reduction in individuals supplemented with resveratrol when compared to those supplemented with placebo (WMD -0.24 (95% CI -0.46 - -0.02) mmol / L, P = 0.03; I^2 = 27%, $P=0.25$). We conclude that, under the conditions of this study, resveratrol did not provide benefits as adjunctive treatment of NAFLD.

KEYWORDS

Resveratrol; Non-alcoholic fatty liver disease; Nonalcoholic steatohepatitis; Steatosis; Clinical trial

INTRODUÇÃO

O resveratrol (3,4',5- Tri-hidroxiestilbeno, RVS) é um composto que vem sendo estudado desde 1940, quando foi identificado a partir da raiz de uma planta medicinal venenosa: a *White Hellebore* (*Veratum grandiflorum Loes*) (TAKAOKA, 1940). Contudo, o interesse neste composto aumentou em 1992, quando foi considerado um dos responsáveis pelos efeitos cardioprotetores do vinho tinto (RENAUD e LORGERIL, 1992). Em sequência, descobriu-se um amplo espectro de efeitos biológicos associados ao RVS; dentre os mais investigados estão seu papel como agente protetor em processos tumorais, doenças cardiovasculares, envelhecimento, diabetes, obesidade e como promotor da saúde hepática (BAUR e SINCLAIR, 2006; TIMMERS et al., 2012; NOVELLE et al., 2015).

O RVS é um polifenol natural, amplamente distribuído na natureza e sintetizado em resposta a estressores externos e infecções (SHAKIBAEI et al., 2009), atuando como uma fitoalexina, composto químico com atividade antimicrobiana, em diversas plantas (JEANDET, 2012). As principais fontes de RVS na dieta humana são uvas, vinho tinto, amendoim e manteiga de amendoim (KING et al., 2006). Entretanto, o consumo moderado de RVS a partir de gêneros alimentícios fornece uma baixa concentração do composto, sendo a suplementação uma alternativa para o aumento da ingestão (POULSEN et al., 2013a). Os diversos mecanismos de ação do RVS não estão totalmente compreendidos, mas suas ações antioxidantes, anti-inflamatórias e como análogo da restrição calórica, via ativação

do *silent mating type information regulator 2 homolog 1* (SIRT-1), são as vias principalmente propostas para explicar os seus efeitos (GAMBINI et al., 2015; COTTART et al., 2013; AGARWAL e BAUR, 2011).

A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) vem emergindo como uma das doenças crônicas mais comuns e está prestes a se tornar a causa predominante da doença hepática crônica em muitas partes do mundo (LOOMBA e SANYAL, 2013). A DHGNA é determinada pelo acúmulo de gordura difuso ou focal no parênquima hepático de pacientes que negam qualquer história de consumo abusivo de álcool e pode variar desde esteatose simples à esteato-hepatite não alcoólica (EHNA), fibrose e até cirrose, além de poder progredir para carcinoma hepatocelular (AKBAR e KAWTHER, 2006). A primeira linha de tratamento para pacientes com DHGNA abrange as mudanças no estilo de vida, que devem ser acompanhadas do tratamento das co-morbidades metabólicas associadas, como obesidade, hiperlipidemia e resistência à insulina (ONYEKWERE et al., 2015). No entanto, tratamentos alternativos para a DHGNA são necessários e intensivamente procurados.

Nesse contexto, o RVS surgiu como uma nova e potencial opção terapêutica para a DHGNA (HEEBOLL et al., 2014). Diante do aumento do número de publicações acerca desse tema, a presente revisão sistemática com metanálise visa avaliar os ensaios clínicos aleatórios publicados até o momento, para determinar se existem diferenças nos parâmetros de avaliação da DHGNA em pacientes adultos suplementados com RVS ou placebo.

MÉTODOS

O artigo foi elaborado de acordo com o *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) Statement* (MOHER et al., 2009). O protocolo foi previamente publicado na base de dados PROSPERO (<http://www.crd.york.ac.uk/PROSPERO>), sob o registro nº CRD42015029273.

Estratégia de busca

As bases de dados foram pesquisadas até 14 de maio de 2016: PUBMED, CENTRAL, SciELO e ClinicalTrials.gov. Além disso, foram pesquisadas as seguintes bases de dados da literatura cinzenta: OpenGrey.eu, DissOnline.de, NYAM.org and ClinicalEvidence.com. Não foram realizadas buscas manuais de artigos e nenhum

especialista da área foi consultado, para evitar risco de viés de citação (STERNE et al., 2011). A estratégia de busca incluiu termos relacionados à doença estudada (*Non alcoholic Fatty Liver Disease OR NAFLD OR Fatty liver OR Liver steatosis OR Steatohepatitis*), bem como a intervenção (resveratrol). Não houve restrição quanto ao ano de publicação ou idioma, entretanto, era necessário que o artigo apresentasse pelo menos o resumo em inglês. A estratégia de busca completa consta no material suplementar.

Crítérios de inclusão

Foram incluídos apenas ensaios clínicos aleatórios que preenchiam os seguintes critérios: (1) os participantes dos estudos serem indivíduos com mais de 18 anos de idade, sem restrição de sexo, raça ou comorbidades; (2) diagnóstico para DHGNA definido previamente; (3) suplementação com RVS sem restrição de dose, tipo e tempo de administração; (4) O grupo controle ter recebido placebo; (5) Ter mensurado os níveis sanguíneos de alanina aminotransferase (ALT).

Os critérios de exclusão foram os seguintes: (1) estudos que examinaram outros tipos de doença hepática (por exemplo, doença hepática alcoólica, hepatite viral, carcinoma hepatocelular); (2) RVS administrado em conjunto com outras substâncias ou exclusivamente de fonte alimentar; (3) grupo controle não exposto a intervenção; (4) publicações duplicadas nas bases de dados.

Extração de dados

A busca foi realizada por dois revisores de forma independente que identificaram, mediante uma triagem inicial por título e resumo, os estudos que potencialmente atenderam aos critérios de inclusão. As diferenças de opinião entre os revisores foram resolvidas por discussão e consenso. O texto completo dos artigos selecionados passou por uma avaliação mais profunda.

O desfecho primário identificado nos estudos foi a concentração sanguínea da enzima hepática ALT, em U/L. Os desfechos secundários foram a concentração sanguínea de aspartato aminotransferase (AST) e gamaglutamiltransferase (GGT), ambos em U/L; triglicerídeo (TAG; para converter em mg/dL, multiplicou-se por 88,57), colesterol total, colesterol-HDL (HDL-c) e LDL-colesterol (LDL-c), em mmol/L (para converter em mg/dL, multiplicou-se por 38,67); peso corporal final, em kg; glicemia de jejum (em mmol/dL; para converter em mg/dL, multiplicou-se por

0,0555), insulina (em pmol/L; para converter para μ IU/ml, multiplicou-se por 6,945) e HOMA-IR.

Os dados foram extraídos a partir dos artigos e informações suplementares, bem como armazenados em um formulário criado com base no modelo da Cochrane (HIGGINS e DEEKS, 2011). Com a intenção de incluir o máximo de informações no trabalho, entrou-se em contato com os autores dos estudos, quando necessário.

Avaliação do risco de viés

O risco de viés foi avaliado de acordo com as recomendações do *Handbook da Cochrane* (HIGGINS et al., 2011), no nível do desfecho primário. A qualidade dos estudos foi avaliada por dois investigadores independentemente, em cinco categorias: geração adequada da sequência, sigilo da alocação, cegamento dos avaliadores, relato incompleto dos desfechos (intenção-de-tratar vs análise por protocolo) e relato seletivo dos desfechos.

Análises dos dados

Para cada variável foram utilizados os resultados da análise final. As médias finais de todos os ensaios foram agrupadas, e as diferenças entre grupos das médias ponderadas, para cada desfecho analisado, foram calculadas. Os pesos dos estudos foram atribuídos usando o método do inverso das variâncias (DEEKS et al., 2011) e os cálculos foram realizados utilizando-se um modelo de efeitos aleatórios (DERSIMONIAN e LAIRD, 1986). Um valor de P menor que 0,05 foi considerado como sendo estatisticamente significativo. Quando não foi possível obter dados de forma adequada, imputações foram realizadas (HIGGINS et al., 2011). Em Chen et al. (2015), os dados das enzimas hepáticas foram fornecidos em mediana e amplitude, sendo imputada a mediana no lugar da média e repetido o desvio padrão (DP) do artigo de Faghihzadeh et al. (2015), que possuía características semelhantes (como idade dos participantes, duração do estudo e dose de resveratrol suplementada). Além disso, nas variáveis que apresentaram como resultado a diferença entre as médias, foi calculada a média final (média inicial – média das diferenças) e imputado o DP final a partir do DP inicial.

A heterogeneidade estatística entre os estudos foi testada usando-se o teste Q de Cochran, e inconsistências foram testadas usando o teste I^2 . Um valor de P inferior a 0,10 foi considerado como sendo estatisticamente significativo. Sempre

que um resultado mostrou heterogeneidade, explorou-se repetindo cada análise com a remoção de cada um dos estudos, um de cada vez, a fim de avaliar se um determinado estudo explicava a heterogeneidade. Não foi realizada análise de subgrupos e meta regressão devido ao número restrito de estudos incluídos.

Todas as análises e os gráficos traçados foram realizados usando RevMan 5.4 (Colaboração Cochrane).

RESULTADOS

Após a pesquisa nos bancos de dados, foram encontradas 143 ocorrências. Destas, após remoção das duplicatas, apenas 137 artigos foram submetidos à leitura por título e resumo. Seis artigos foram classificados como potencialmente relevantes, por atender aos critérios de inclusão, e foram recuperados na íntegra para uma avaliação mais profunda. Destes seis, Timmers et al. (2011) e Faghihzadeh et al. (2014) foram excluídos por apresentarem isenção de diagnóstico prévio de DHGNA e banco de dados igual a Faghihzadeh et al. (2015), respectivamente. Após a avaliação do texto completo, quatro artigos foram incluídos na análise qualitativa e quantitativa. Os estudos selecionados realizaram diagnóstico para DHGNA por meio de ultrassom e todos os participantes possuíam sobrepeso ou obesidade. As características dos estudos incluídos apresenta-se na Tabela 1. O fluxograma, ilustrando a pesquisa e a seleção dos estudos, bem como seus respectivos motivos de exclusão, consta na Figura. 1. No total, foram incluídos 156 indivíduos na análise quantitativa, distribuídos igualmente para uma condição (78 no grupo placebo e 78 no grupo suplementado com resveratrol).

Tabela 1. Características dos estudos incluídos

Estudo	País	n aleatorizado	Idade média	Sexo Masculino (%)	Duração (meses)	Quantidade de RVS ofertada (mg/dia)
Heeboll et al., 2016	Dinamarca	28	43,3	65	6	1.500
Faghihzadeh et al., 2015	Irã	50	45,1	70	3	500
Chen et al., 2015	China	60	44,3	70	3	600
Chachay et al., 2014	Austrália	20	48,1	100	2	3.000

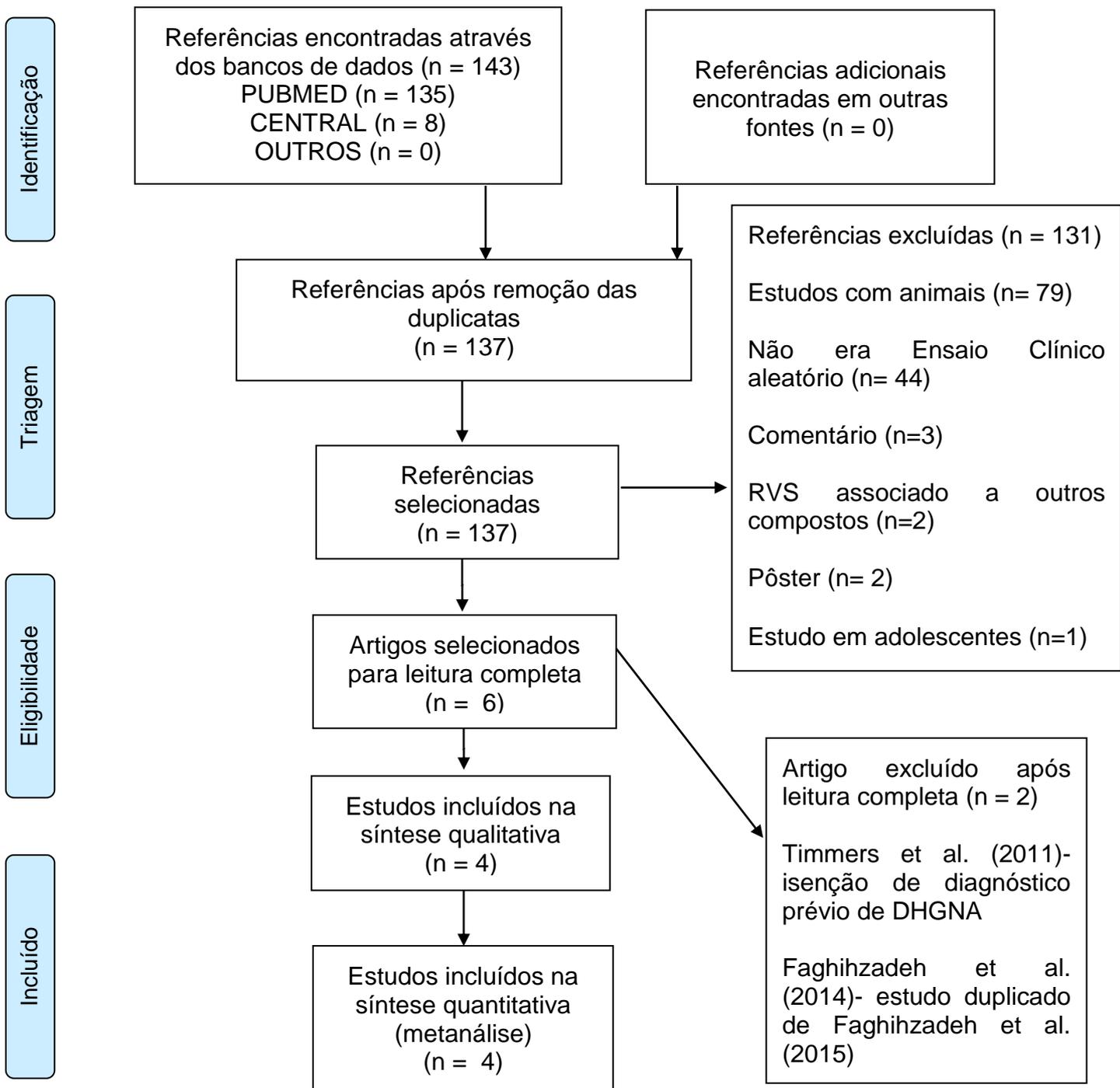


Figura 1. Fluxograma da seleção dos estudos

O risco de viés nos estudos, em nível do desfecho primário, está exposto na Tabela 2. No resultado final, três dos estudos incluídos foram avaliados como possuindo um baixo risco de viés e apenas Faghihzadeh et al. (2015) apresentou um risco alto.

Os estudos selecionados determinaram a geração de sequência aleatória por computador. Todos os estudos ofertaram a substância placebo de forma idêntica à oferta do resveratrol, entretanto, Faghihzadeh et al. (2015) ofertaram os produtos de forma alternada (mascarados como produto A ou B). Chachay et al. (2014) relataram informações insuficientes sobre o processo de sigilo de alocação para permitir o julgamento. Os investigadores estavam cegos para o tratamento designado até o final de todos os estudos. Em relação à manipulação dos dados faltantes todos apresentaram baixo risco de viés. Não houve evidência de relatórios com resultados seletivos. A descrição da análise do risco de viés encontra-se no material suplementar (Apêndice 1).

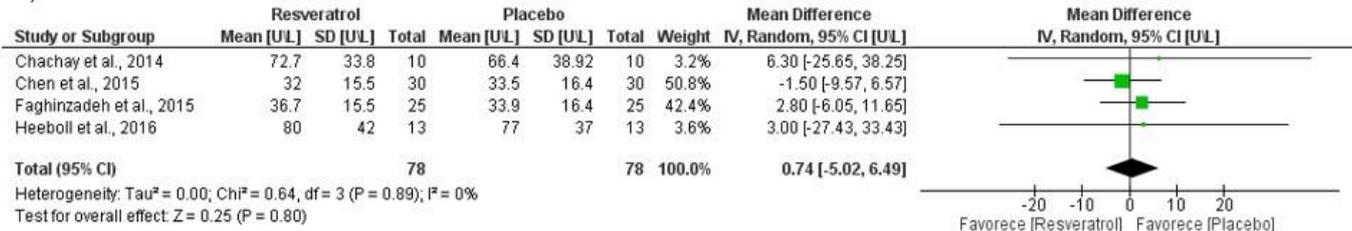
Tabela 2. Análise de viés dos artigos incluídos

Estudo	Geração de sequência	Sigilo da alocação	Cegamento dos investigadores e participantes	Dados faltantes	Relato seletivo	No geral
Heeboll et al., 2016	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo
Faghihzadeh et al., 2015	Baixo	Alto	Baixo	Baixo	Baixo	Alto
Chen et al., 2015	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo
Chachay et al., 2014	Baixo	Incerto	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo

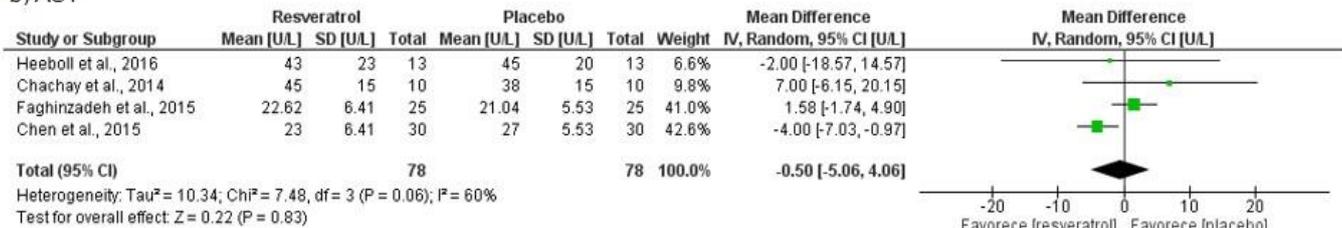
ALT, AST, GGT e peso- Os quatro estudos incluídos (n analisado= 156 pacientes) foram avaliados para enzimas hepáticas e peso, com exceção de Chachay et al. (2014), que não dosou GGT (Figura 2). Referindo-se à ALT, os indivíduos suplementados com RVS não apresentaram diferenças significativas em relação ao placebo (diferença média ponderada (DMP) 0,74 (95% IC -5,02 - 6,49) U/L, $P= 0,80$; $I^2= 0\%$, $P=0,89$). O mesmo ocorreu para AST, os indivíduos suplementados com RVS não apresentaram diferenças significativas em relação ao placebo (DMP -0,50 (95% IC -5,06 - 4,06) U/L, $P=0,83$; $I^2= 60\%$, $P=0,06$). Além disso, a heterogeneidade foi revertida quando o estudo de Chen et al. (2015) foi excluído, porém, não foram identificadas alterações significativas nos resultados (dados não apresentados). GGT também não apresentou diferenças significativas entre os grupos (DMP -7,43 (95% IC -18,17 - 3,32) U/L, $P=0,18$; $I^2= 0\%$, $P=0,49$). Em se tratando de peso, mais uma vez os indivíduos suplementados com RVS não

apresentaram diferenças significativas em relação ao placebo (DMP -1,54 (95% IC - 5,00 - 1,93) kg, $P=0,38$; $I^2= 0\%$, $P=0,93$).

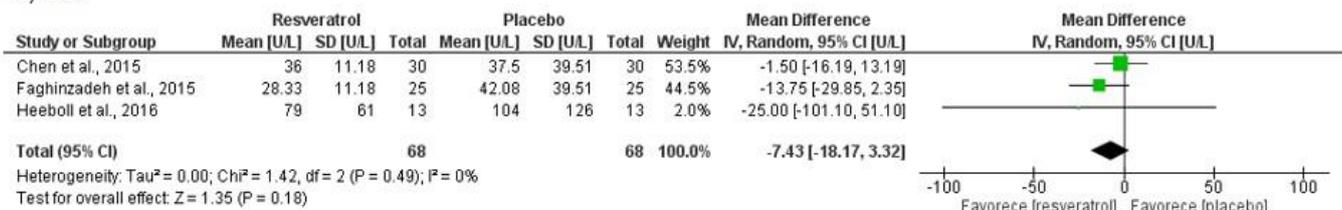
a) ALT



b) AST



c) GGT



d) Peso

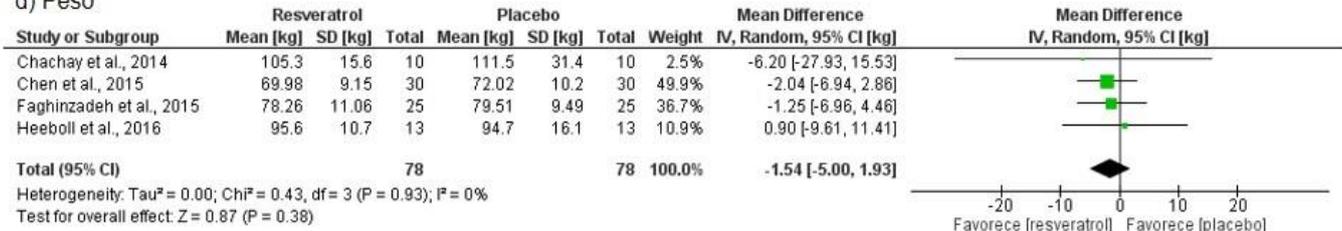


Figura 2. Efeito da suplementação com resveratrol na alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), gama-glutamil transferase (GGT) e peso de indivíduos com doença hepática gordurosa não alcoólica.

Glicemia, insulina e HOMA-IR- No total, os quatro estudos (n analisado= 156 pacientes) foram incluídos nas análises de glicose, insulina e HOMA-IR (Figura 3). Os indivíduos suplementados com resveratrol apresentaram uma redução da glicose significativamente maior em relação aos suplementados com placebo (DMP -0,24 (95% IC -0,46 - -0,02) mmol/L, $P=0,03$; $I^2= 27\%$, $P=0,25$). Para insulina (DMP -3,56 (95% IC -16,83 - 9,71) pmol/L, $P=0,60$; $I^2= 0\%$, $P=0,52$) e HOMA-IR (DMP -0,17 (95% IC -0,63 - 0,29), $P=0,47$; $I^2= 17\%$, $P=0,31$) não houve diferenças significativas entre os grupos.

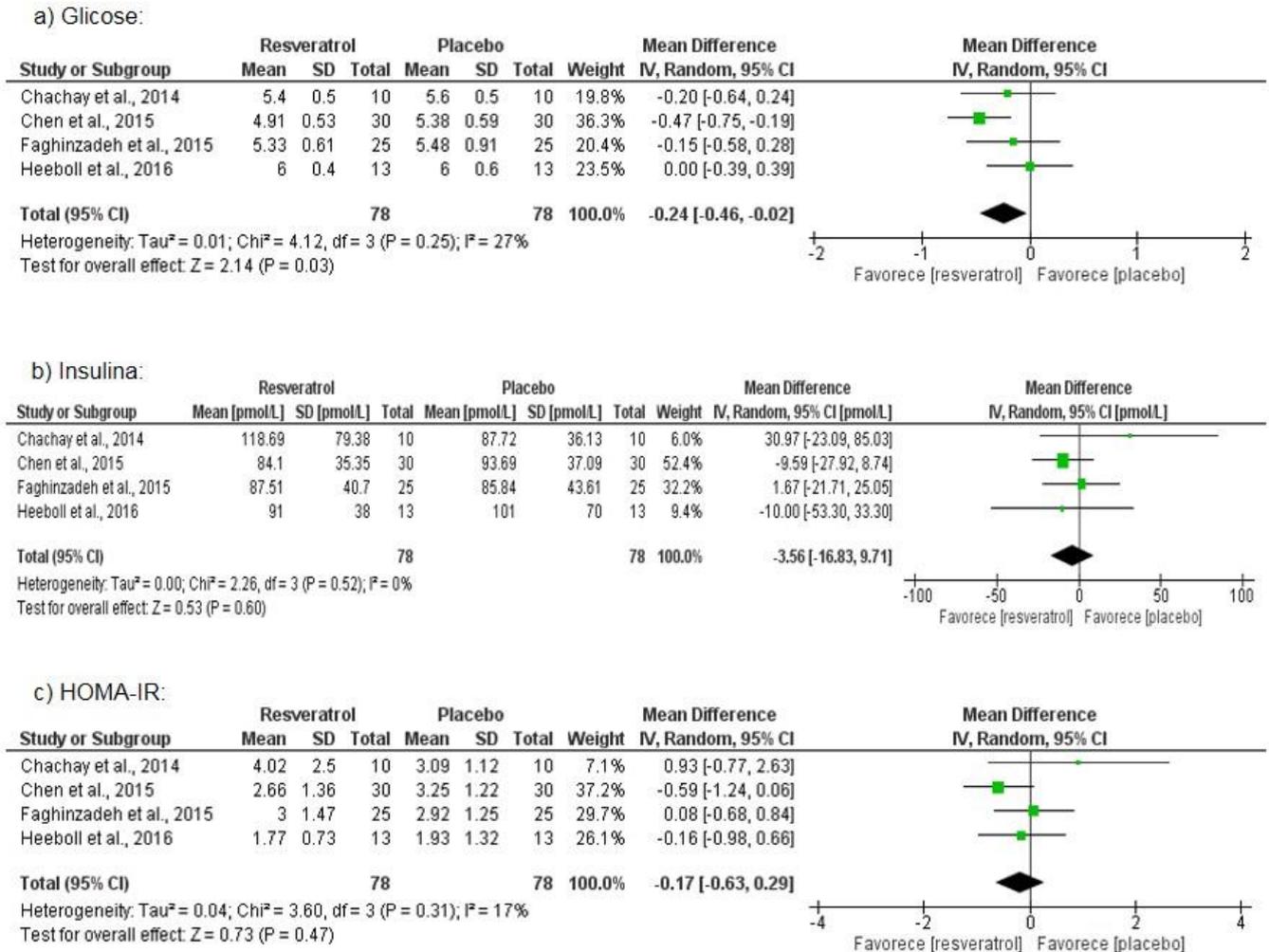
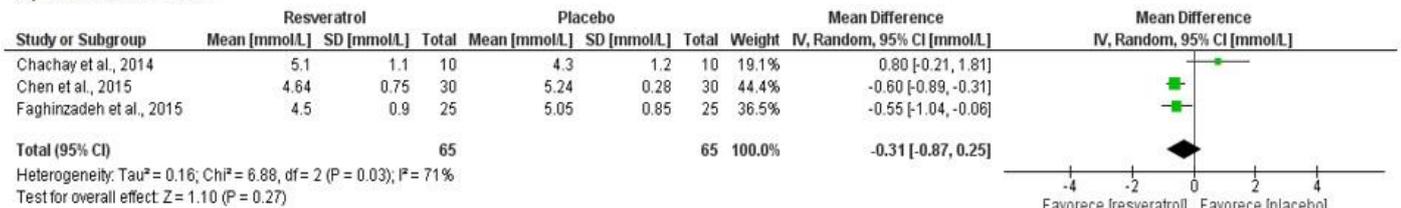


Figura 3. Efeito da suplementação com resveratrol na glicemia, insulina e HOMA-IR de indivíduos com doença hepática gordurosa não alcoólica.

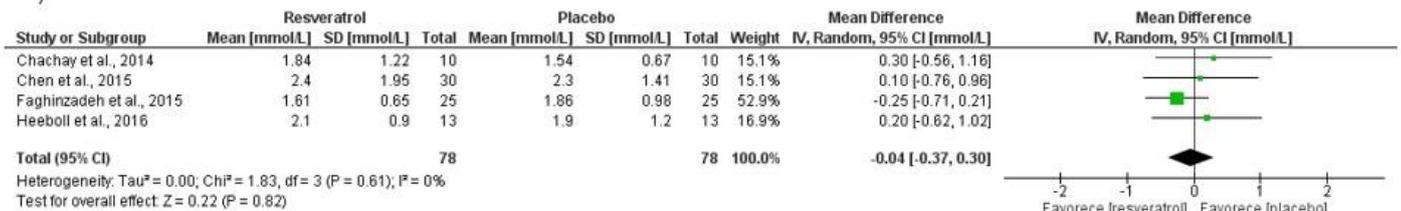
Colesterol total, TAG, LDL e HDL- Para análise de colesterol total, três estudos (n analisado= 130 pacientes) foram avaliados e não apresentaram diferenças significativas (DMP -0,31 (95% IC -0,87 - 0,25) mmol/L, $P=0,27$; $I^2= 71\%$, $P=0,03$) (Figura 4). A heterogeneidade foi revertida quando o estudo de Chachay et al. (2014) foi excluído e os resultados ficaram significativos (dados não apresentados). Os quatro estudos (156 pacientes) foram incluídos nas análises de TAG, LDL e HDL (Figura 4). Os indivíduos suplementados com resveratrol não apresentaram diferenças significativas em relação ao placebo para TAG (DMP -0,04 (95% IC -0,37 - 0,30) mmol/L, $P=0,82$; $I^2= 0\%$, $P=0,61$), LDL (DMP 0,09 (95% IC -0,37 - 0,55) mmol/L, $P=0,69$; $I^2= 68\%$, $P=0,02$) e HDL (DMP -0,22 (95% IC -0,56 - 0,13) mmol/L, $P=0,22$; $I^2= 96\%$, $P<0,01$). Na análise de sensibilidade para LDL, o

estudo de Chen et al. (2015) e o estudo de Chachay et al. (2014) foram, cada um, individualmente, responsáveis pela heterogeneidade alta na análise geral, e a exclusão gradual de ambos os estudos diminuiu a heterogeneidade e não alterou o resultado principal (dados não apresentados). Em HDL, a exclusão de Heeboll et al. (2016) diminui a heterogeneidade e não altera os resultados (dados não apresentados), ao passo que a exclusão dos outros artigos não leva a alterações importantes.

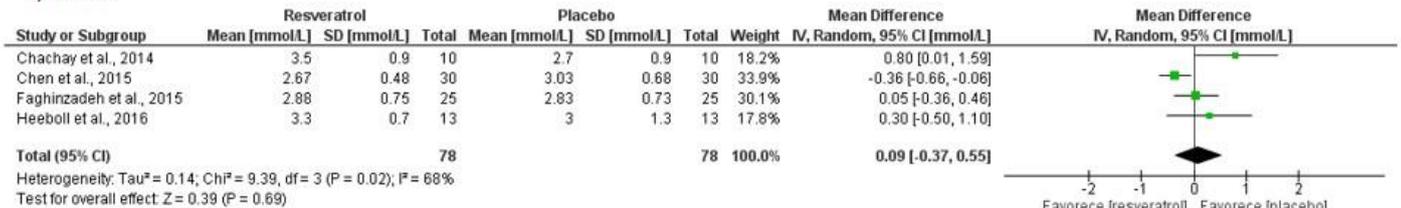
a) Colesterol Total



b) TAG



c) LDL-C



c) HDL-C

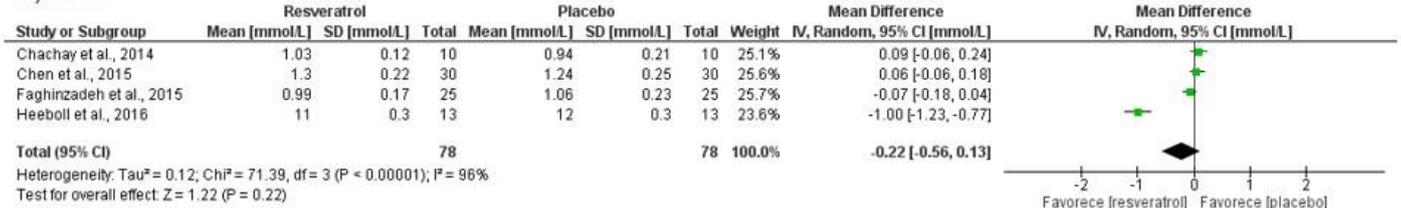


Figura 4. Efeito da suplementação com resveratrol no colesterol total, triglicerídeos (TAG), lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) e lipoproteína de alta densidade (HDL-c) de indivíduos com doença hepática gordurosa não alcoólica.

DISCUSSÃO

Desfechos positivos encontrados em vários estudos com animais motivaram o interesse na promoção de ensaios clínicos sobre o impacto da suplementação de RVS em indivíduos com DHGNA (BUJANDA et al., 2008; GO´MEZ-ZORITA et al., 2012; ANDRADE et al., 2014). Entretanto, a presente metanálise identificou que a suplementação com RVS não alterou significativamente os parâmetros bioquímicos avaliados, com exceção da glicemia. Vale destacar, a ferramenta utilizada para classificar os estudos, quanto ao seu desenho, revelou baixo risco de viés em três dos quatro artigos analisados. Tal avaliação é um ponto positivo, pois reforça a qualidade metodológica dos artigos incluídos.

As enzimas hepáticas, em especial a ALT, que foi a variável primária, não refletiram uma melhora significativa da DHGNA com a suplementação de RVS. Apenas Chen et al. (2015) encontraram diminuição significativa de AST em relação ao placebo nos seus estudos isolados. Embora a dosagem de enzimas hepáticas seja um método menos invasivo e fácil de ser executado, ele não configura uma boa ferramenta para monitorização das alterações no curso da DHGNA, bem como da resposta ao tratamento. Contudo, não existem outros biomarcadores séricos baratos, confiáveis e reproduzíveis para esse fim na prática clínica (PEARCE et al., 2013).

Ainda que as enzimas hepáticas com suas limitações não sejam os melhores marcadores, o único estudo que investiu na histologia hepática por meio de biópsia foi Heeboll et al. (2016) e, mesmo assim, não encontrou resultado positivo para o tratamento com RVS. De acordo com Chen et al. (2015) e Chachay et al. (2014), o RVS também não foi superior ao placebo nos exames de imagem analisados. Em contrapartida, Faghihzadeh et al. (2015) identificaram que pacientes submetidos a modificações do estilo de vida apresentaram uma redução significativa da esteatose hepática, nos exames de imagem, quando utilizaram o RVS em seu tratamento. Vale ressaltar, que a biópsia hepática é o padrão ouro para diagnóstico e monitoramento da DHGNA e que exames de imagem têm limitada sensibilidade na detecção de esteatose e seus quadros progressivos (ONYEKWERE et al., 2015).

Um ponto importante é o fato dos níveis séricos de resveratrol não terem sido mensurados nos estudos que foram incluídos na presente metanálise, exceto Chachay et al. (2014) que investigaram a segurança na ingestão de altas doses de resveratrol. Walle et al. (2004) identificaram que, após a administração de doses orais de RVS, foi observada uma alta absorção em seres humanos; entretanto,

apenas pequenas quantidades do composto foram encontradas no plasma dos sujeitos, caracterizando uma baixa biodisponibilidade. Isso ocorre, provavelmente, pelo metabolismo rápido em glucuronido e conjugados sulfato, indicando que a formação extremamente rápida desses metabólitos pode ser o principal fator limitante para a biodisponibilidade. Todavia, Polsen et al. (2013b) especulam que os metabólitos de RVS também podem ser responsáveis pelos efeitos biológicos, tendo em vista sua rápida metabolização e o fato deles estarem presentes em quantidades mais elevadas do que circula o composto natural. Tendo em vista a baixa biodisponibilidade do RVS, os artigos que não comprovam a sua presença por meio de exames bioquímicos podem não ser absolutamente conclusivos.

Ainda que não se tenha detectado alteração em outros parâmetros, na presente metanálise, que analisou apenas indivíduos não diabéticos, uma melhora significativa foi apontada para os níveis de glicemia após a suplementação com RVS, de maneira diferente dos níveis de insulina e do HOMA-IR. Tal resultado difere de Liu et al. (2014), que em uma metanálise de 11 ensaios clínicos aleatorizados, comparou entre indivíduos não diabéticos e diabéticos, a concentração de glicose, insulina de jejum, hemoglobina glicada e HOMA-IR. O estudo concluiu que o consumo de RVS tem um efeito favorável sobre o controle da glicose e a sensibilidade à insulina em participantes com diabetes mellitus tipo 2 (DM2), mas não em indivíduos não diabéticos. Em adição, considerando que a relação dos parâmetros glicêmicos com a deposição de gordura hepática está bem estabelecida (KOTRONEN E YKI-JARVINEN, 2008), a redução da glicose se torna interessante na DHGNA tanto em indivíduos diabéticos como naqueles com tolerância normal a glicose.

A DHGNA está estreitamente associada às comorbidades da síndrome metabólica (ONYEKWERE et al., 2015), portanto, a análise do perfil lipídico como desfecho secundário deste estudo é extremamente relevante. Porém, para esses parâmetros, nenhuma alteração significativa em relação ao placebo foi observada, após o consumo do RVS. Resultado semelhante foi observado por Sahebkar (2013), em uma metanálise que avaliou o efeito da suplementação com RVS nos lipídios plasmáticos de indivíduos com diversas doenças e revelou nenhum efeito significativo sobre colesterol total, TAG, LDL-c e HDL-c.

Algumas limitações são observadas no presente trabalho. É importante observar a presença de poucos estudos elegíveis na literatura, bem como de

amostras pequenas (< 60 sujeitos), em todos eles. Além disso, os estudos apresentavam uma grande variação na dose de RVS suplementada (de 500mg a 3.000mg) e no tempo de duração dessa suplementação (de 2 a 6 meses). No entanto, a escolha de uma análise de efeitos aleatórios incorporou a heterogeneidade de uma maneira mais robusta do que uma análise de efeitos fixos.

Em suma, esta revisão sistemática com metanálise é a primeira a avaliar quantitativamente os ensaios clínicos publicados sobre os parâmetros da DHGNA, em pacientes adultos suplementados com RVS ou placebo. Não foram identificados benefícios da utilização do RVS como tratamento adjuvante da DHGNA, nas condições do presente estudo. Esta avaliação identifica a necessidade de mais ensaios clínicos acerca desse tema, que possuam desenhos metodológicos semelhantes, que se concentrem na realização de biopsia hepática ou, pelo menos, exames de imagem para diagnóstico e monitorização da DHGNA, além de tamanhos amostrais maiores e padronização da dose de RVS utilizada. Adicionalmente, a abordagem específica da biodisponibilidade do composto torna-se fundamental à constatação de seus efeitos biológicos no curso da doença.

REFERÊNCIAS

Agarwal B, Baur JA (2011) Resveratrol and life extension. *Ann NY Acad Sci* **1215**, 138–143.

Akbar DH, Kawther AH (2006) Non-alcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome: what we know and what we don't know. *Med Sci Monit* **12**:1, 23-6.

Andrade JMO, et al. (2014) Resveratrol attenuates hepatic steatosis in high-fat fed mice by decreasing lipogenesis and inflammation. *Nutrition* **30**, 915–919.

Baur JA, Sinclair DA (2006) Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence. *Nature reviews* **5**, 493-506.

Bujanda L, et al. (2008) Resveratrol inhibits nonalcoholic fatty liver disease in rats. *BMC Gastroenterology* **8**:40.

Chachay VS, et al. (2014) Resveratrol Does Not Benefit Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. **12**, 2092–2103.

Chen S, et al. (2015) Resveratrol improves insulin resistance, glucose and lipid metabolism in patients with non-alcoholic fatty liver disease: A randomized controlled trial. *Digestive and Liver Disease*. **47**, 226–232.

Cottart CH, et al. (2013) Review of recent data on the metabolism, biological effects, and toxicity of resveratrol in humans. *Mol. Nutr. Food Res*. **00**, 1–15.

Deeks JJ, Higgins JPT & Altman DG (2011) Analysing data and undertaking meta analyses. In Higgins JPT, Green S, eds. *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* version 5.1.0. [updated March 2011] <http://handbook.cochrane.org> (acessado em 01 Abril 2016).

Dersimonian R, Laird N (1986) Meta-analysis in clinical trials. *Control Clin Trials*. **7**, 177–188.

Faghihzadeh F, et al. (2014) Resveratrol supplementation improves inflammatory biomarkers in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Nutrition Research*. **34**, 837–843.

Faghihzadeh F, et al. (2015) The effects of resveratrol supplementation on cardiovascular risk factors in patients with non-alcoholic fatty liver disease: a randomised, double-blind, placebo-controlled study. *British Journal of Nutrition*. **114**, 796–803.

Gambini J, et al. (2015) Properties of Resveratrol: In Vitro and In Vivo Studies about Metabolism, Bioavailability, and Biological Effects in Animal Models and Humans. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*.

Go´mez-zorita S, et al. (2012) Resveratrol attenuates steatosis in obese Zucker rats by decreasing fatty acid availability and reducing oxidative stress. *British Journal of Nutrition*. **107**, 202–210.

Heeboll S, et al. (2014) Effects of resveratrol in experimental and clinical non-alcoholic fatty liver disease. *World J Hepatol.* **27**:4, 188-198.

Heeboll S, et al. (2016) Placebo-controlled, randomised clinical trial: highdose resveratrol treatment for non-alcoholic fatty liver disease. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* **51**:4, 456–463.

Higgins JPT & Deeks JJ (2011) Selecting studies and collecting data. In Higgins JPT, Green S, eds. *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* version 5.1.0. [updated March 2011] <http://handbook.cochrane.org> (acessado 18 de Março 2016).

Higgins JPT, Altman DG & Sterne JAC (2011) Assessing risk of bias in included studies. In Higgins JPT, Green S, eds. *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* version 5.1.0. [updated March 2011] <http://handbook.cochrane.org> (acessado 19 de Março 2016).

Higgins JPT, Deeks JJ & Altman DG (2011) Special topics in statistics. In Higgins JPT, Green S, eds. *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* version 5.1.0 [updated March 2011]. <http://handbook.cochrane.org> (acessado em 01 Abril 2016).

Jeandet P (2012) Metabolic engineering of yeast and plants for the production of the biologically active hydroxystilbene, resveratrol, *J Biomed Biotechnol.*

King RE, et al. (2006) Bioactivity of Resveratrol. *Comprehensive reviews in food science and food safety* **5**.

Kotronen A, Yki-Jarvinen H (2008) Fatty Liver: A Novel Component of the Metabolic Syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* **28**, 27-38.

Liu K, et al. (2014) Effect of resveratrol on glucose control and insulin sensitivity: a meta-analysis of 11 randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr.* **99**, 1510–9.

Loomba R, Sanyal AJ (2013) The global NAFLD epidemic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* **10**, 686–690.

Moher D, et al. (2009) Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *Ann Intern Med.* **151**, 264–269.

Novelle MG, et al. (2015) Resveratrol supplementation: Where are we now and where should we go? *Ageing Research Reviews.* **21**,1–15.

Onyekwere CA, et al. (2015) Nonalcoholic fatty liver disease: Synopsis of current developments. *Nigerian Journal of Clinical Practice.* **18**:6.

Pearce SG, Thosani NC, Pan JJ (2013) Noninvasive biomarkers for the diagnosis of steatohepatitis and advanced fibrosis in NAFLD. *Biomark Res.* **1**:7.

Poulsen MM, et al. (2013a) Resveratrol in metabolic health: na overview of the current evidence and perspectives. *Ann NY Acad Sci.* **1290**, 74–82.

Poulsen MM, et al. (2013b) High-Dose Resveratrol Supplementation in Obese Men An Investigator-Initiated, Randomized, Placebo-Controlled Clinical Trial of Substrate Metabolism, Insulin Sensitivity, and Body Composition. *Diabetes.* **62**.

Sterne JAC, Egger M & Moher D (2011) Addressing reporting biases. In Higgins JPT, Green S, eds. *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* version 5.1.0 [updated March 2011]. <http://handbook.cochrane.org> (acessado em 10 Março 2016).

Renaud S, Lorgeil DE (1992) Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet.* **339**, 1523–1526.

Sahebkar A (2013) Effects of resveratrol supplementation on plasma lipids: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrition Reviews.* **71**:12, 822–835.

Shakibaei M, et al. (2009) Resveratrol addiction: To die or not to die. *Mol. Nutr. Food Res.* **53**, 115–128.

Takaoka MJ (1940) Of the phenolic substances of White Hellebore (*Veratrum grandiflorum* Loes). *Journal of the Faculty of Science.* **3**, 1–16.

Timmers S, et al. (2011) Calorie Restriction-like Effects of 30 Days of Resveratrol Supplementation on Energy Metabolism and Metabolic Profile in Obese Humans. *Cell Metabolism.* **14**, 612–622.

Timmers S, et al. (2012) The journey of resveratrol from yeast to human. *AGING.* **4**:3.

Walle T, et al. (2004) High absorption but very low bioavailability of oral resveratrol in humans. *Drug Metab Dispos.* **32**:12, 1377–1382.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conforme os dados analisados neste trabalho, especialmente aqueles produzidos no contexto da experimentação animal, evidenciou-se a perspectiva do uso terapêutico do resveratrol no controle de diversas doenças crônicas, de importante expressão na saúde pública mundial. Entretanto, muito ainda precisa ser descoberto acerca da sua biodisponibilidade, mecanismos de ação e benefícios para a saúde. Informações sobre sua biodisponibilidade, particularmente, são fundamentais para conclusões precisas de seu efeito no organismo humano. Além disso, o interesse no estudo deste composto é relativamente recente. A elaboração de ensaios clínicos padronizados e com um número maior de participantes é fundamental para o avanço das pesquisas com resveratrol, tendo em vista a heterogeneidade nos protocolos utilizados e o número amostral pequeno nos estudos publicados até o momento. Ainda, a inclusão de marcadores sensíveis para o monitoramento do quadro também representa um desafio na concepção de estudos que venham a elucidar os efeitos específicos da substância no controle da doença.

Considerando-se os resultados apresentados na metanálise, o tratamento com resveratrol não produziu benefícios para indivíduos com DHGNA. Apesar deste resultado, as limitações observadas nos ensaios clínicos dão margem para a elaboração de estudos melhor planejados no intuito de responder às principais questões pertinentes ao uso terapêutico do resveratrol a fim de defini-lo, no futuro, como uma alternativa eficaz e segura.

REFERÊNCIAS

AGARWAL, B; BAUR JA. Resveratrol and life extension. *Ann NY Acad. Sci.* v.1215, p.138–143, 2011.

AKBAR, DH; KAWTHER, AH. Non-alcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome: what we know and what we don't know. *Med Sci Monit.*v.12, n.1, p.23-6, 2006.

ALFARAS, I; JUAN, ME; PLANAS, JM. Tans-resveratrol reduces precancerous colonic lesions in dimethylhydrazine-treated rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* V.58, p.8104–8110, 2010.

ANDRADE, JMO et al. Resveratrol attenuates hepatic steatosis in high-fat fed mice by decreasing lipogenesis and inflammation. *Nutrition.* v.30, p. 915–919, 2014.

ATHAR, M; BACK, JH; TANG, X; KIM, KH et al. Resveratrol: A review of preclinical studies for human cancer prevention, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* v.224, p.274 –283, 2007.

BANERJEE, S; BUESO-RAMOS, C; AGGARWAL, BB. Suppression of 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced mammary carcinogenesis in rats by resveratrol: role of nuclear factor-kB, cyclooxygenase 2, and matrix metalloprotease 9. *Cancer Research.* v.62, p.4945–4954, 2002.

BARGER, JL; KAYO, T; VANN, JM et al. A low dose of dietary resveratrol partially mimics caloric restriction and retards aging parameters in mice. *Plos One.* v.3, p.2264, 2008.

BAUR, JA; SINCLAIR, DA. Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence. *Nature reviews.* v.5, p.493-506, 2006.

BAUR, JA et al. Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature.* v.444, p.337–342, 2006b.

BHATT, JK; THOMAS, S; NANJAN, MJ. Resveratrol supplementation improves glycemic control in type 2 diabetes mellitus. *Nutr. Res.* v.32, p.537–541, 2012.

BRASNYO', P et al. Resveratrol improves insulin sensitivity, reduces oxidative stress and activates the Akt pathway in type 2 diabetic patients. *Br. J. Nutr.* v.106, p.383–389, 2011.

BRADAMANTE, S; BARENGHI, L; VILLA, A. Cardiovascular Protective Effects of Resveratrol. *Cardiovascular Drug Reviews*, v.22, n.3, 2004.

BUJANDA, L et al. Resveratrol inhibits nonalcoholic fatty liver disease in rats. *BMC Gastroenterology.* v.8, n.40, 2008.

CARBO, N et al. Resveratrol, a natural product present in wine, decreases tumour growth in a rat tumour model. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* v.254, p.739–743, 1999.

CASTILLO-PICHARDO, L; CUBANO, LA; DHARMAWARDHANE, S. Dietary grape polyphenol resveratrol increases mammary tumor growth and metastasis in immunocompromised mice. *BMC Complementary and Alternative Medicine.* v.13, n.6, 2013.

CARTER, LG; D'ORAZIO, JA; PEARSON, KJ. Resveratrol and cancer: focus on in vivo evidence. *Endocrine-Related Cancer.* v.21, p.209–225, 2014.

CHACHAY, VS et al. Resveratrol Does Not Benefit Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Clinical Gastroenterology and Hepatology.* v.12, p.2092–2103, 2014.

CHEN, S et al. Resveratrol improves insulin resistance, glucose and lipid metabolism in patients with non-alcoholic fatty liver disease: A randomized controlled trial. *Digestive and Liver Disease.* v.47, p.226–232, 2015.

CHOW, HH et al. Resveratrol modulates drug- and carcinogen-metabolizing enzymes in a healthy volunteer study. *Cancer Prevention Research*. v.3, p.1168–1175, 2010.

CRANDALL, JP et al. Pilot study of resveratrol in older adults with impaired glucose tolerance. *J Gerontol A Biol Sci Med*. v.4, 2012.

COTTART, CH et al. Review of recent data on the metabolism, biological effects, and toxicity of resveratrol in humans. *Mol. Nutr. Food Res*. v.00, p.1–15, 2013.

DELMAS, D et al. “Transport, stability, and biological activity of resveratrol,” *Annals of the New York Academy of Sciences*. v.1215, n.1, p.48–59, 2011.

DING, XZ; ADRIAN, TE. Resveratrol inhibits proliferation and induces apoptosis in human pancreatic cancer cells. *Pancreas*. v.25, n.4, p.71–6, 2002.

FAGHIHZADEH, F; ADIBI, P; HEKMATDOOST, A. The effects of resveratrol supplementation on cardiovascular risk factors in patients with non-alcoholic fatty liver disease: a randomised, double-blind, placebo-controlled study. *British Journal of Nutrition*. v.114, p.796–803, 2015.

FERREIRA, VSG et al. Frequency and risk factors associated with non-alcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes mellitus. *Arq Bras Endocrinol Metab*. v.54, n.4, 2010.

FREITAS, AA et al. Determinação de resveratrol e características químicas em sucos de uvas produzidas em sistemas orgânico e convencional. *Rev. Ceres, Viçosa*. v.57, n.1, p.001-005, 2010.

GAMBINI, J et al. Properties of Resveratrol: In Vitro and In Vivo Studies about Metabolism, Bioavailability, and Biological Effects in Animal Models and Humans. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2015.

GARVIN, S; OLLINGER, K; DABROSIN, C. Resveratrol induces apoptosis and inhibits angiogenesis in human breast cancer xenografts in vivo. *Cancer Letters*. v.231, p.113–122, 2006.

GOMEZ-ZORITA, S et al. Resveratrol attenuates steatosis in obese Zucker rats by decreasing fatty acid availability and reducing oxidative stress. *British Journal of Nutrition*. v.107, p.202–210, 2012.

GOSWAMI, SK; DAS, DK. Resveratrol and chemoprevention. *Cancer Letters*. v.284, p.1–6, 2009.

HEEBOLL, S et al. Effects of resveratrol in experimental and clinical non-alcoholic fatty liver disease. *World J Hepatol*. v.27, n.4, p.188-198, 2014.

JANG, M. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. *Science*. v.275, p.218–220, 1997.

JEANDET, P et al. Phytoalexins from the vitaceae: biosynthesis, phytoalexin gene expression in transgenic plants, antifungal activity, and metabolism. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v.50, n.10, p.2731–2741, 2002.

JEANDET, P. Metabolic engineering of yeast and plants for the production of the biologically active hydroxystilbene, resveratrol, *J Biomed Biotechnol*. 2012.

JOE, AK et al. Resveratrol induces growth inhibition, S-phase arrest, apoptosis, and changes in biomarker expression in several human cancer cell lines. *Clin Cancer Res*. v.8, n.3, p.893–903, 2002.

KING, RE et al. Bioactivity of Resveratrol. *Comprehensive reviews in food science and food safety*. v.5, 2006.

KUNDU, JK; SURH, YJ. Cancer chemopreventive and therapeutic potential of resveratrol: Mechanistic perspectives. *Cancer Letters*. v.269, p.243–261, 2008.

LAGOUGE, M et al. Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1alpha. *Cell*. v.127, p.1109–1122, 2006.

LIN, HC et al. Resveratrol helps recovery from fatty liver and protects against hepatocellular carcinoma induced by hepatitis B virus X protein in a mouse model. *Cancer Prevention Research*. v.5, p.952–962, 2012.

LIU, K; ZHOU, R; WANG, B; MI, MT. Effect of resveratrol on glucose control and insulin sensitivity: a meta-analysis of 11 randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr*. v.99, p.1510–9, 2014.

LOOMBA, R; SANYAL, AJ. The global NAFLD epidemic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. v.10, p.686–690, 2013.

LUTHER, DJ. Chemopreventive doses of resveratrol do not produce cardiotoxicity in a rodent model of hepatocellular carcinoma. *Investigational New Drugs*. v.29, p.380–391, 2011.

MAJUMDAR, AP et al. Curcumin synergizes with resveratrol to inhibit colon cancer. *Nutrition and Cancer*. v.61, p.544–553, 2009.

MARIER, JF et al. Metabolism and disposition of resveratrol in rats: extent of absorption, glucuronidation, and enterohepatic recirculation evidenced by a linked-rat model. *J Pharmacol Exp Ther*. v.302, p.369-373, 2002.

MARÍN, MV et al. Papel del resveratrol de uva como antioxidante. *revista.luna.azúl*. v.34, p.240-256, 2012.

MAGYAR, K et al. Cardioprotection by resveratrol: a human clinical trial in patients with stable coronary artery disease. *Clin. Hemorheol. Microcirc*. v.50, p.179–187, 2012.

NGUYEN, AV et al. Results of a phase I pilot clinical trial examining the effect of plant-derived resveratrol and grape powder on Wnt pathway target gene expression in colonic mucosa and colon cancer. *Cancer Management and Research*. v.1, p.25–37, 2009.

NONOMURA, S; KANAGAWA, H; MAKIMOTO, A. Chemical Constituents of Polygonaceous Plants. I. Studies on the Components of Ko-J O-Kon. (*Polygonum Cuspidatum* Sieb. Et Zucc.). *Yakugaku Zasshi*. v.83, p.988-990, 1963.

NOVELLE, MG et al. Resveratrol supplementation: Where are we now and where should we go? *Ageing Research Reviews*. v.21, p.1–15, 2015.

OLHOLM, J et al. Antiinflammatory effect of resveratrol on adipokine expression. and secretion in human adipose tissue explants. *Int. J. Obes*. v.34, p.1546–1553, 2010.

ONYEKWERE, CA et al. Nonalcoholic fatty liver disease: Synopsis of current developments. *Nigerian Journal of Clinical Practice*. v.18, n.6, 2015.

PENUMATHSA, SV. Resveratrol enhances GLUT-4 translocation to the caveolar lipid raft fractions through AMPK/Akt/eNOS signalling pathway in diabetic myocardium. *J Cell Mol Med*. v.12, p.2350–61, 2008.

PONZO, V; SOLDATI, L; BO, S. Resveratrol: a supplementation for men or for mice? *Journal of Translational Medicine*. v.12, n.158, 2014.

POPAT, R et al. A phase 2 study of SRT501 (resveratrol) with bortezomib for patients with relapsed and or refractory multiple myeloma. *British Journal of Haematology*. v.160, 2013.

POULSEN, MM et al. Resveratrol in metabolic health: na overview of the current evidence and perspectives. *Ann NY Acad Sci*. v.1290, p.74–82, 2013a.

POULSEN, MM et al. High-Dose Resveratrol Supplementation in Obese Men An Investigator-Initiated, Randomized, Placebo-Controlled Clinical Trial of Substrate Metabolism, Insulin Sensitivity, and Body Composition. *Diabetes*. v.62, 2013b.

RAJASEKARAN, D et al. Resveratrol interferes with N-nitrosodiethylamine-induced hepatocellular carcinoma at early and advanced stages in male Wistar rats. *Molecular Medicine Reports*. v.4, p.1211–1217, 2011.

RENAUD, S; LORGERIL, DE. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet*. v.339, p.1523–1526, 1992.

SAHEBKAR, A. Effects of resveratrol supplementation on plasma lipids: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutr Rev*. v.71, p.822–835, 2013.

SALES, JM; RESURRECCION, AVA. Resveratrol in Peanuts. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. v.54, p.734–770, 2014.

SALE, S et al. Comparison of the effects of the chemopreventive agente resveratrol and its synthetic analog trans 3,4,5,40-tetramethoxystilbene (DMU-212) on adenoma development in the Apc(MinC) mouse and cyclooxygenase-2 in human-derived colon cancer cells. *International Journal of Cancer*. v.115, p.194–201, 2005.

SAUTTER, CK et al. Determinação de resveratrol em sucos de uva no Brasil. *Ciênc Tecnol Aliment*. v.25, n.3, p.437-442, 2005.

SCHEEPENS, A; TAN, K; PAXTON, JW. Improving the oral bioavailability of beneficial polyphenols through designed synergies. *Genes Nutr*. v.5, p.75–87, 2010.

SENGOTTUVELAN, M; DEEPTHA, K; NALINI, N. Influence of dietary resveratrol on early and late molecular markers of 1,2-dimethylhydrazine- induced colon carcinogenesis. *Nutrition*. v.25, p.1169–1176, 2009.

SHANG, J et al. Resveratrol improves non-alcoholic fatty liver disease by activating AMPactivated protein kinase. *Acta Pharmacol Sin*. v.29, n.6, p.698–706, 2008.

SHAKIBAEI, M et al. Resveratrol addiction: To die or not to die. *Mol. Nutr. Food Res*. v.53, p.115 – 128, 2009.

SHANKAR, S; SINGH, G; SRIVASTAVA, RK. Chemoprevention by resveratrol: Molecular mechanisms and therapeutic potential. *Front Biosci.* v.12, p.4839-4854, 2007.

SMOLIGA, JM; BAUR, JA; HAUSENBLAS, HA. Resveratrol and health—a comprehensive review of human clinical trials. *Mol Nutr Food Res.* v.55, p.1129–1141, 2011.

SIMÃO, AF et al. Diretriz de Prevenção Cardiovascular da Sociedade Brasileira de Cardiologia – Resumo Executivo. *Arq Bras Cardiol.* v.102, n.5, p.420-431, 2014.

SOLEAS, GJ; DIAMANDIS, EP; GOLDBERG, DM. Resveratrol: a molecule whose time has come? And gone? *Clin Biochem.* v.30, n.2, p.91–113, 1997a.

SOLEAS, GJ; DIAMANDIS, EP; GOLDBERG, DM. Wine as a biological fluid: history, production, and role in disease prevention. *Journal of Clinical Laboratory Analysis,* v.11, n.5, p.287–313, 1997b.

SURH, YJ et al. Resveratrol, an antioxidant presente in red wine, induces apoptosis in human promyelocytic leukemia (HL-60) cells. *Cancer Lett.* v.140, n.1-2, p.1–10, 1999.

SU, HC; HUNG, LM; CHEN, JK. Resveratrol, a red wine antioxidant, possesses an insulin-like effect in streptozotocin-induced diabetic rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* v.290, p.1339–46, 2006.

TAKAOKA, MJ. Of the phenolic substances of white hellebore (*Veratrum grandiflorum* Loes. fil.). *Journal of the Faculty of Science.* v.3, p.1–16, 1940.

TIMMERS, S et al. Calorie restriction-like effects of 30 days of resveratrol supplementation on energy metabolism and metabolic profile in obese humans. *Cell Metab.* v.14, p.612–622, 2011.

TIMMERS, S et al. The journey of resveratrol from yeast to human. *AGING*. v.4, n.3, 2012.

TOME-CARNEIRO, J et al. Consumption of a grape extract supplement containing resveratrol decreases oxidized LDL and ApoB in patients undergoing primary prevention of cardiovascular disease: a triple-blind, 6-month follow-up, placebocontrolled, randomized trial. *Mol Nutr Food Res*. v.56, p.810–821, 2012.

TRELA, BC; WATERHOUSE, AL. Resveratrol: isomeric molar absorptivities and stability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v44, n5, p.1253–1257, 1996.

VALLS, C et al. Fat in the liver: Diagnosis and characterization. *Eur Radiol*. v.16, p.2292–308, 2006.

VERNON, G; BARANOVA, A; YOUNOSSI, ZM. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther*. v.34, p.274–285, 2011.

VILLALBA, JM; ALCAÍN, FJ. Sirtuin activators and inhibitors. *Biofactors*. v.38, n.5, p.349–359, 2012.

VITAGLIONE, P et al. Dietary Antioxidant Compounds and Liver Health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. v.44, p.575–586, 2004.

WALLE, T et al. High absorption but very low bioavailability of oral resveratrol in humans. *Drug Metab Dispos*. v.32, n. 12, p.1377–1382, 2004.

WENZEL E; SOMOZA V. Metabolism and bioavailability of trans-resveratrol. *Mol. Nutr Food Res*. v.49, p.472 – 481, 2005.

WHITSETT, T; CARPENTER, M; LAMARTINIERE, CA. Resveratrol, but not EGCG, in the diet suppresses DMBA-induced mammary cancer in rats. *Journal of Carcinogenesis*. v.5, n.15, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. 2012. Obesity and overweight. Fact sheet no. 311 [report online]. Available from <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/index.html>. Accessed 21 de Janeiro 2016.

YOSHINO, J et al. Resveratrol Supplementation Does Not Improve Metabolic Function in Nonobese Women with Normal Glucose Tolerance. *Cell Metabolism*. v.16, p.1–7, 2012.

ZAMORA-ROS, R et al. High urinary levels of resveratrol metabolites are associated with a reduction in the prevalence of cardiovascular risk factors in high-risk patients. *Pharmacol Res*. v.65, p.615–620, 2012.

Apêndice 1 Material suplementar

Efeitos da suplementação de resveratrol sobre marcadores de função hepática em pacientes com doença hepática gordurosa não alcoólica: revisão sistemática e metanálise de ensaios clínicos aleatórios

Estratégia de busca utilizada para o PUBMED

#1 (("non-alcoholic fatty liver disease"[MeSH Terms] OR ("non-alcoholic"[All Fields] AND "fatty"[All Fields] AND "liver"[All Fields] AND "disease"[All Fields]) OR "non-alcoholic fatty liver disease"[All Fields] OR ("non"[All Fields] AND "alcoholic"[All Fields] AND "fatty"[All Fields] AND "liver"[All Fields] AND "disease"[All Fields]) OR "non alcoholic fatty liver disease"[All Fields]) OR ("non-alcoholic fatty liver disease"[MeSH Terms] OR ("non-alcoholic"[All Fields] AND "fatty"[All Fields] AND "liver"[All Fields] AND "disease"[All Fields]) OR "non-alcoholic fatty liver disease"[All Fields] OR "nafld"[All Fields]) OR ("fatty liver"[MeSH Terms] OR ("fatty"[All Fields] AND "liver"[All Fields]) OR "fatty liver"[All Fields]) OR ("fatty liver"[MeSH Terms] OR ("fatty"[All Fields] AND "liver"[All Fields]) OR "fatty liver"[All Fields] OR ("liver"[All Fields] AND "steatosis"[All Fields]) OR "liver steatosis"[All Fields]) OR ("fatty liver"[MeSH Terms] OR ("fatty"[All Fields] AND "liver"[All Fields]) OR "fatty liver"[All Fields] OR "steatohepatitis"[All Fields]))

#2 ("resveratrol"[Supplementary Concept] OR "resveratrol"[All Fields])

#1 e #2

Análise do risco de viés

Geração de sequência

Estudo	Classificação	Motivo
Heeboll et al., 2016	Baixo	Aleatorização gerada por computador.
Faghihzadeh et al., 2015	Baixo	Aleatorização gerada por computador.
Chen et al., 2015	Baixo	Aleatorização gerada por computador.
Chachay et al., 2014	Baixo	Aleatorização gerada por computador.

Sigilo da alocação

Estudo	Classificação	Motivo
Heeboll et al., 2016	Baixo	Os produtos foram administrados na forma de comprimidos, em recipientes fechados e numerados sequencialmente.
Faghihzadeh et al., 2015	Alto	Os produtos foram mascarados como produto A ou B (alternância).
Chen et al., 2015	Baixo	Os produtos foram idênticos e um investigador independente determinou como o paciente seria tratado.
Chachay et al., 2014	Incerto	Os produtos foram idênticos, porém não explicaram como o processo de oferta aos pacientes foi realizado.

Cegamento dos investigadores e participantes

Estudo	Classificação	Motivo
Heeboll et al., 2016	Baixo	Os investigadores e participantes estavam cegos do início do tratamento até a conclusão do estudo e coleta de dados.
Faghihzadeh et al., 2015	Baixo	Os investigadores e participantes estavam cegos do início do tratamento até o final.
Chen et al., 2015	Baixo	Os investigadores e participantes estavam cegos do início do tratamento até o final.
Chachay et al., 2014	Baixo	Os investigadores e participantes estavam cegos do início do tratamento até a conclusão do resultado das análises.

Dados faltantes

Estudo	Classificação	Motivo
Heeboll et al., 2016	Baixo	Análise por protocolo, porém a perda foi balanceada entre os grupos e foi <10%, portanto não houve comprometimento do resultado final.
Faghihzadeh et al., 2015	Baixo	Análise por intenção de tratar.
Chen et al., 2015	Baixo	Análise por intenção de tratar.
Chachay et al., 2014	Baixo	Análise por intenção de tratar.

Relato seletivo

Estudo	Classificação	Motivo
Heeboll et al., 2016	Baixo	Todos os resultados de interesse previamente citados são relatados no estudo.
Faghihzadeh et al., 2015	Baixo	Todos os resultados de interesse previamente citados são relatados no estudo.
Chen et al., 2015	Baixo	Todos os resultados de interesse previamente citados são relatados no estudo.
Chachay et al., 2014	Baixo	Todos os resultados de interesse previamente citados são relatados no estudo.

Anexo 1 Protocolo publicado na base de dados PROSPERO, sob o registro nº
CRD42015029273