



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
ESCOLA DE NUTRIÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ALIMENTOS, NUTRIÇÃO E SAÚDE**

CAMILA RIBEIRO DE AVELAR

**EFEITO DA SILIMARINA SOBRE INDICADORES BIOQUÍMICOS EM
PACIENTES PORTADORES DE DOENÇA HEPÁTICA: REVISÃO
SISTEMÁTICA COM METANÁLISE**

Salvador

2016

CAMILA RIBEIRO DE AVELAR

**EFEITO DA SILIMARINA SOBRE INDICADORES BIOQUÍMICOS EM
PACIENTES PORTADORES DE DOENÇA HEPÁTICA: REVISÃO
SISTEMÁTICA COM METANÁLISE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Alimentos, Nutrição e Saúde da Escola de Nutrição, da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Alimentos, Nutrição e Saúde.

Área de concentração: Bases Experimentais e Clínicas da Nutrição

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Lucivalda P. Magalhães de Oliveira

Salvador

2016

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca universitária de Saúde,
SIBI - UFBA

Avelar, Camila Ribeiro de

Efeito da silimarina sobre indicadores bioquímicos em
pacientes portadores de Doença hepática: Revisão
sistemática com metanálise / Camila Ribeiro de Avelar. -
- Salvador, 2016.

81 f.

Orientador: Lucivalda Pereira Magalhães de Oliveira.
Dissertação (Mestrado - Mestrado em Alimentos,
Nutrição e Saúde) -- Universidade Federal da Bahia,
Escola de Nutrição, 2016.

1. Silimarina. 2. Silybum marianum. 3. Doenças
Hepáticas. 4. Doença Hepática Gordurosa Não-alcoólica. 5.
Metanálise. I. Oliveira, Lucivalda Pereira Magalhães
de. II. Título.

CAMILA RIBEIRO DE AVELAR

**EFEITO DA SILIMARINA SOBRE INDICADORES BIOQUÍMICOS EM
PACIENTES PORTADORES DE DOENÇA HEPÁTICA: REVISÃO SISTEMÁTICA
COM METANÁLISE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Alimentos, Nutrição e Saúde da Escola de Nutrição, da Universidade Federal da Bahia, na área de concentração em Bases Experimentais e Clínicas da Nutrição, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Alimentos, Nutrição e Saúde.

Aprovada em 5 de dezembro de 2016.

Lucivalda Pereira Magalhães de Oliveira – Orientadora _____
Doutora em Medicina e Saúde pela Universidade Federal da Bahia
Professora da Universidade Federal da Bahia

Mônica Leilla Portela de Santana _____
Doutora em Medicina e Saúde pela Universidade Federal da Bahia
Professora da Universidade Federal da Bahia

André Castro Lyra _____
Doutor em Gastroenterologia Clínica pela Universidade de São Paulo
Professor da Universidade Federal da Bahia

Jairza Maria Barreto Medeiros _____
Doutora em Nutrição pela Universidade Federal de Pernambuco
Professora da Universidade Federal da Bahia

Dedico essa dissertação a minha família, amigos e professores que foram meus grandes incentivadores.

AGRADECIMENTOS

A Deus, guias espirituais, irmãos de luz e a meu anjo da guarda por escutarem todas as minhas orações, pela proteção e força para seguir adiante;

A minha mãe, por estar ao meu lado em todos os momentos, me fazendo sentir que tenho mais dois braços e duas pernas, meu amor, minha base e mais fiel companheira;

A minha avó Haidê, por todo amor, carinho e cuidado;

A Ramon e sua família, pelo carinho, amor e torcida de sempre;

A minha fiel e companheira cadelinha Vivi, por ficar de plantão ao meu lado em todas as noites e madrugadas de estudos, como se quisesse me dizer “não desista, eu te apoio”;

A minha excelente orientadora Lucivalda Oliveira, que foi fundamental nesse processo, pela atenção, confiança e grande incentivo;

A querida Rosângela Passos, pelo acolhimento, apoio, por acreditar no meu potencial e ter iniciado esse projeto comigo;

A Priscila Ribas, pela análise estatística e todos os esclarecimentos estatísticos e metodológicos que foram muito importantes para a construção desse trabalho;

A Emile Miranda, por ser a segunda revisora da metanálise e aceitar dividir essa tarefa comigo;

A seu Zé Carlos, que tive o prazer de conhecer ainda trabalhando na PPGANS e que conseguia diluir toda a burocracia, facilitando a vida dos alunos, com muito carinho e cuidado;

A todos os meus amigos, colegas e familiares pela compreensão e pelos pensamentos positivos para que tudo desse certo;

A todos que de forma direta ou indireta contribuíram e torceram pelo meu sucesso, o meu mais sincero e sonoro obrigada!!!!

*NAS GRANDES BATALHAS DA VIDA,
O PRIMEIRO PASSO PARA A VITÓRIA
É O DESEJO DE VENCER*

Mahatma Gandhi

AVELAR, Camila ribeiro de. Efeito da silimarina sobre indicadores bioquímicos em pacientes portadores de Doença Hepática: revisão sistemática com metanálise. 81f. 2016. Dissertação (Mestrado) – Escola de Nutrição, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2016.

RESUMO

A silimarina é um conjunto de flavolignanas, presente na planta *Silybum marianum*, usada há muitos anos em distúrbios hepáticos, por ser considerada hepatoprotetora. Isso se deve ao seu potencial terapêutico devido a propriedades antioxidante, anti-inflamatória e imunomoduladora. Apresenta também efeito redutor de indicadores bioquímicos, como transaminases e ferritina, as quais estão associadas a danos e progressão de doenças hepáticas. Assim, revisar seus efeitos, avaliando a qualidade das evidências científicas sobre este fitoterápico em portadores de doenças hepáticas se mostra importante para esclarecer seus reais benefícios. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da silimarina sobre os níveis séricos de Alanina aminotransferase (ALT), Aspartato aminotransferase (AST) e Gama glutamil transpeptidase (γ GT) em pacientes portadores de doença hepática. Trata-se de uma revisão sistemática com metanálise de ensaios clínicos randomizados e controlados que avaliaram o efeito da silimarina em pacientes portadores de doenças hepáticas, publicados até 31 de janeiro de 2016. Esse estudo foi realizado com base nas disposições do *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement*. Também avaliou-se a qualidade metodológica dos estudos selecionados. E como resultado, foi elaborado um artigo considerando todas as variáveis avaliadas, como níveis de ALT, AST e γ GT após uso de silimarina, avaliação desses indicadores de acordo com tempo de intervenção e composição do produto oferecido (silimarina isolada ou associada a nutrientes) e investigação da qualidade metodológica dos estudos. Concluiu-se que o uso da silimarina parece exercer efeito positivo na redução de ALT e AST, sem apresentar impacto nos níveis de γ GT, porém os resultados observados não apresentaram relevância clínica. Observou-se ainda alto grau de heterogeneidade e baixa qualidade metodológica, sugerindo a necessidade da elaboração de estudos com desenhos metodológicos mais adequados.

Palavras-chaves: Silimarina, *Silybum marianum*, Doença Hepática, Doença Hepática Gordurosa Não-alcoólica, Metanálise.

AVELAR, Camila ribeiro de. Effects of silymarin on biochemical indicators in patients with liver disease: systematic review with meta-analysis. 81pp. 2016. Master Dissertation – Escola de Nutrição, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2016.

ABSTRACT

Silymarin is a group of flavonoid present in the *Silybum marianum* plant, used for many years in liver disorders, because it is hepatoprotective. This is due to their therapeutic potential due to the antioxidant, anti-inflammatory and immunomodulatory properties. It also has a reducing effect of biochemical indicators, such as transaminases and ferritin, which are associated with damage and progression of liver disease. Thus, to review its effects, evaluating the quality of the scientific evidence about this herbal medicine in patients with liver diseases is important to clarify its real benefits. The objective of this work was to evaluate the effect of silymarin on the serum levels of Alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), and Gamma glutamyl transpeptidase (γ GT) in patients with liver disease. This is a systematic review with a meta-analysis of randomized controlled trials that evaluated the effect of silymarin in patients with liver disease, published by January 31th, 2016. This study was based on the provisions of Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. The methodological quality of the selected studies was also evaluated. As a result, an article was prepared considering all variables evaluated, such as ALT, AST and γ GT levels after the use of silymarin, evaluation of these indicators according to intervention time and composition of the product offered (isolated silymarin or associated with nutrients) and investigation of the methodological quality of the studies. It was concluded that the use of silymarin seems to exert a positive effect on the reduction of ALT and AST and, without affecting the γ GT levels, but the results observed were not clinically relevant. There was also a high degree of heterogeneity and low methodological quality of the studies, suggesting the need to elaborate studies with more adequate methodological designs.

Keywords: Silymarin, *Silybum marianum*, Liver diseases, Non-Alcoholic Fatty Liver Disease, Meta-analysis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

PROJETO DE PESQUISA

Figura 1 Possíveis mecanismos de ação da silimarina.....	26
---	----

ARTIGO

Figura 1 Fluxograma de seleção dos artigos.....	58
Figura 2 Avaliação do risco de viés. (a) Sumário do risco de viés: revisão da avaliação dos autores sobre cada item do risco de viés para cada estudo incluído. (b) Gráfico do risco de viés: revisão da avaliação dos autores sobre cada item do risco de viés apresentados em % para todos os estudos incluídos.....	64
Figura 3a Níveis de ALT.....	68
Figura 3b Níveis de AST.....	68
Figura 3c Níveis de γ GT.....	69
Figura 4a Níveis de ALT segundo tipo de produto utilizado na intervenção.....	69
Figura 4b Níveis de AST segundo tipo de produto utilizado na intervenção.....	70
Figura 4c Níveis de ALT segundo tempo de intervenção.....	70

LISTA DE TABELAS

ARTIGO

Tabela 1 Sumário das características dos ensaios clínicos incluídos na metanálise.....60

Tabela 2 Resultados dos estudos selecionados.....67

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

PROJETO DE PESQUISA

DHGNA	Doença Hepática Gordurosa Não-Alcoólica
NASH	Esteatohepatite Não-Alcoólica
EROS	Espécies Reativas de Oxigênio
NFκB	Fator Nuclear Kappa B
RI	Resistência a Insulina
ALT	Alanina Aminotransferase
AST	Aspartato Aminotransferase
γ GT	Gama Glutamil Transpeptidase
Nrf2	Fator Nuclear Eritróide 2
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral Alfa
IL-1	Interleucina 1
IFN- γ	Interferon Gama
IL-2	Interleucina 2
IL-4	Interleucina 4
iNOS	Óxido Nítrico Sintetase Induzível
CDKs	Quinases Dependentes de Ciclinas
CDKIs	Inibidoras das Quinases Dependentes de Ciclinas
VEGF	Fator de Crescimento Endotelial Vascular
MAPKs	Proteínas Quinases Ativadas por Mitógenos
AP1	Proteína Ativadora 1
HIF-1α	Fator Indutor de Hipóxia 1 Alfa

STATs	Signal Transducer and Activator of Transcriptions
PI3K/Akt	Fosfatidilinositol 3-Quinase/ Proteína Quinase
IGF-IGFBP3	Insulin-Like Growth Fator-Binding Protein 3
mTOR	Mammalian Target of Rapamycin
AMPK	AMP-Activated Protein Kinase
DDIT4/Redd1	DNA-Damage-Inducible Transcript 4 Protein/ DNA Damage Responses 1
Bcl-2	Célula B de Linfoma 2
CDK1	Proteína Quinase Dependente de Cilcina 1
HCV	Hepatite pelo vírus C
VHC	Vírus da hepatite C

ARTIGO

DHGNA	Doença Hepática Gordurosa Não-Alcoólica
NASH	Esteatohepatite Não-alcoólica
EROS	Espécies Reativas de Oxigênio
RI	Resistência a Insulina
ALT	Alanina Aminotransferase
AST	Aspartato Aminotransferase
PRISMA	Peferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta- Analyses
γ GT	Gama Glutamil Transpeptidase
IC	Intervalo de Confiança
I ²	Teste de Inconsistência de Higgins
SM	Síndrome Metabólica

SUMÁRIO

PARTE 1: PROJETO DE DISSERTAÇÃO

1. INTRODUÇÃO.....	17
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	19
2.1 Doenças Hepáticas.....	19
2.2 Silimarina.....	19
2.2.1 Absorção e metabolismo.....	20
2.2.2 Mecanismos de Ação.....	21
2.3 Segurança de administração via oral.....	27
2.4 Silimarina nas Doenças Hepáticas.....	28
3. OBJETIVOS.....	31
3.1 Objetivo geral.....	31
3.2 Objetivos específicos.....	31
4. JUSTIFICATIVA.....	32
5. METODOLOGIA DO PROJETO DE DISSERTAÇÃO.....	33
5.1 Desenho do estudo.....	33
5.2 Identificação e seleção dos artigos.....	33
5.3 Estratégias de busca.....	33
5.4 Seleção dos estudos.....	34
5.4.1 Avaliação da elegibilidade dos estudos.....	34
5.4.2 Critérios de inclusão.....	34
5.4.3 Critérios de exclusão.....	35
5.5 Extração dos dados.....	35
5.6 Avaliação da qualidade metodológica dos artigos.....	35
5.7 Análise estatística dos estudos.....	36
REFERÊNCIAS.....	38
6. RESULTADOS DO PROJETO DE DISSERTAÇÃO.....	49

PARTE 2: ARTIGO

TÍTULO: Efeito da silimarina sobre indicadores bioquímicos em pacientes portadores de Doença Hepática: revisão sistemática com metanálise.....	50
--	----

RESUMO.....	50
ABSTRACT.....	51
INTRODUÇÃO.....	52
METODOLOGIA.....	53
RESULTADOS.....	57
DISCUSSÃO.....	71
REFERÊNCIAS.....	67
ANEXO.....	73
ANEXO A – Ficha Clínica para avaliação de elegibilidade.....	74
ANEXO B – Checklist Dow & Black.....	75

APRESENTAÇÃO

O objetivo desta dissertação foi realizar uma revisão sistemática com metanálise de ensaios clínicos aleatorizados e controlados que avaliaram o efeito da silimarina sobre os níveis séricos de Alanina aminotransferase (ALT), Aspartato aminotransferase (AST) e Gama glutamil transpeptidase (γ GT) de pacientes portadores de Doença Hepática.

Estudos tem demonstrado efeito benéfico da silimarina em pacientes com doenças hepáticas e discutido seu potencial como coadjuvante no tratamento dessas enfermidades. Resultados clínicos favoráveis como melhora dos indicadores bioquímicos, redução da inflamação e melhora do perfil hepático foram observados em ensaios clínicos nos pacientes tratados com silimarina. Apesar de alguns estudos demonstrarem resultados positivos, outros não relataram significância estatística na melhora de indicadores bioquímicos e perfil hepático.

Assim, a realização de trabalho que revise sistematicamente e realize uma metanálise pode auxiliar a esclarecer os reais efeitos da silimarina, bem como se a sua utilização pode ser considerada como coadjuvante no tratamento de pacientes portadores de doenças hepáticas. Portanto, esta dissertação engloba o projeto contendo a revisão de literatura sobre o tema estudado e o artigo que foi produzido, intitulado “Efeito da silimarina sobre indicadores bioquímicos em pacientes portadores de doença hepática: revisão sistemática com metanálise.”

PARTE 1. PROJETO DE DISSERTAÇÃO

1. INTRODUÇÃO

Doença crônica do fígado é umas das principais causas de morbidade e mortalidade no mundo, sendo as infecções virais, como hepatite C, obesidade e inflamação os fatores etiológicos mais importantes (GRAVITZ, 2011; LAZO *et al.*, 2011; CHARK *et al.*, 2011).

Por ser considerada hepatoprotetora, *Silybum marianum* é uma das plantas mais utilizadas como coadjuvante no tratamento de doenças hepáticas, e tem sido bastante usada em pacientes portadores de cirrose, hepatites crônicas e doença hepática associada ao consumo de álcool e exposição a toxinas ambientais. Atualmente, é uma das ervas medicinais mais estudadas em Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica (DHGNA) e esteatohepatite não-alcoólica (NASH) e tem se mostrado segura, bem tolerada, com limitados efeitos adversos também para esse grupo de pacientes (RAINONE, 2005; SALLER *et al.*, 2008; MILOSEVIC *et al.*, 2014).

A silimarina é um flavonoide extraído da planta *Silybum marianum*, composta por aproximadamente 50% de silibinina, que é considerada o componente mais biologicamente ativo da silimarina (AHRQ, 2000; SCHRIEBER *et al.*, 2011).

Estudos *in vitro* indicam que a silimarina atua principalmente como antioxidante, reduzindo a produção de espécies reativas de oxigênio (EROS) e peroxidação lipídica, aumentando as concentrações endógenas de enzimas antioxidantes como glutathione peroxidase, glutathione reductase, superóxido dismutase e catalase (FEHER *et al.*, 1988; PRADHAN, GIRISH, 2006; ABEVANOLI, 2011). Exerce efeito anti-inflamatório significativo, principalmente pela interação com proteínas kinases e redução da expressão (*downregulation*) da ciclooxigenase 2, além da inibição de fator nuclear Kappa B (NFkB) e conseqüentemente, efeito anti-inflamatório no parênquima hepático (ABENAVOLI *et al.*, 2010). Atua também como imunomodulador e agente antifibrótico, devido à redução da ativação ou indução de apoptose das células estreladas (células de Ito) ou aumentando a degradação dos depósitos de colágeno no parênquima hepático (LOGUERCIO *et al.*, 2007; SALAMONE *et al.*, 2012). Além disso, é considerado um agente bloqueador de toxinas, pois possui a capacidade de se ligar a receptores

presentes nas membranas dos hepatócitos inibindo a ligação de agentes nocivos nesses sítios (TUCHWEBER *et al.*, 1979; FAULSTICH *et al.*, 1980).

Ensaio clínico demonstraram que a silimarina também pode melhorar o metabolismo de glicose e lipídeos, reduzindo resistência à insulina (RI) e risco cardiovascular, além de melhorar níveis de Alanina aminotransferase (ALT) e Aspartato aminotransferase (AST) (VELUSSI *et al.*, 1997; LOGUERCIO *et al.*, 2007; HAJAGHAMOHAMMADI, ZIAEE, RAFLEI, 2008; WANG *et al.*, 2012; SOLHI *et al.* 2014).

A farmacocinética da silimarina pode ocorrer de forma diferente a depender da padronização dos princípios ativos, do tipo da doença hepática e consequente capacidade de metabolização do fígado, o que pode exercer importante efeito na sua eficácia em diferentes populações (SCHRIEBER *et al.*, 2008).

Em estudo de intervenção Palasciano *et al.* (1994) demonstraram que a silimarina pode minimizar lesão hepática induzida por drogas psicotrópicas reduzindo danos de lipoperoxidação hepática, comum no tratamento com essas drogas. Ensaio clínico realizado por Luangchosiri *et al.* (2015) também demonstrou que a silimarina pode diminuir a incidência de lesão hepática induzida por drogas anti-tuberculose, tendo, portanto, efeito protetor.

Diversos estudos clínicos têm evidenciado o potencial terapêutico da silimarina em pacientes portadores de diferentes doenças hepáticas por meio de achados histológicos e laboratoriais (BARES *et al.*, 2008; HAJAGHAMOHAMMADI, ZIAEE, RAFLEI, 2008; HASHEMI, HAJIANI, SARDABI, 2009; HUTCHINSON, BOMFORD, GEISLER, 2012; CACCIAPUOTI *et al.*, 2013; MILOSEVIC *et al.*, 2014; SOLHI *et al.*, 2014), apesar de alguns trabalhos que avaliaram o efeito da silimarina apresentarem resultados não significantes (GORDON *et al.*, 2006; FRIED *et al.*, 2012). Entretanto, é importante salientar que os estudos utilizaram diferentes concentrações de silimarina e formulações diversas, o que dificultou uma análise comparativa dos trabalhos por falta de padronização do princípio ativo, além de desenhos metodológicos questionáveis. Dessa forma, revisar sistematicamente esses estudos torna-se uma ferramenta relevante para avaliar os reais benefícios da silimarina, que é comumente prescrita e utilizada na prática clínica de muitos profissionais de saúde.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Doenças Hepáticas

As doenças hepáticas mais frequentes são de natureza inflamatória e em geral designadas como hepatites, que podem ser agudas ou crônicas. As hepatites agudas e crônicas possuem etiologias e características morfológicas variadas. As causas mais comuns de doenças inflamatórias crônicas do fígado são as infecções virais (vírus da hepatite B e C), doenças autoimunes, doença alcoólica do fígado e DHGNA. Outras doenças também cursam com inflamação como doenças biliares crônicas, doenças metabólicas hereditárias e agressões hepáticas por substâncias hepatotóxicas (FREITAS; FREITAS, 2014)

Estudo realizado no México por Méndez-Sánchez *et al.* (2005) estimou aproximadamente dois milhões de casos de doenças hepáticas crônicas para o ano de 2050. Estima-se que, no mundo, cerca de 325 milhões de indivíduos estejam infectados cronicamente pelo vírus da hepatite B, aproximadamente 2 a 3% sejam portadores do vírus da hepatite C (130-170 milhões de pessoas) e que 20 a 30% da população adulta esteja afetada por DHGNA (SOUTO, 1999; LAUER, WALKER, 2001; VEENA *et al.*, 2014).

As doenças hepáticas crônicas resultam em grande impacto no estado nutricional, independentemente de sua etiologia, o que pode influenciar negativamente o prognóstico dos portadores dessas patologias (MCCULLOUGH, 2006; PLAUTH *et al.*, 2006). A avaliação e o tratamento nutricional compõem uma etapa fundamental no tratamento clínico desses pacientes, bem como na minimização e/ou no adiamento da sintomatologia comum nessas doenças (RORIZ *et al.*, 2014).

2.2 Silimarina

Silimarina é uma mistura complexa de flavonolignanas extraída da planta *Silybum marianum* (L.) Gaertn popularmente conhecida como Cardo mariano, e mundialmente como *Milk Thistle*, pertencente à família das Asteraceae/Compositaceae. Os principais componentes da silimarina são as flavonolignanas isômeras silibina A e B (juntas conhecidas como silibinina),

isosilibina A e B, silicristina, silidianina e outro flavonóide precursor, taxifolina. A silibinina foi descoberta como o primeiro membro de uma família das flavonolignanas em 1959, sendo considerado o ativo primário e predominante da silimarina (BIEDERMAN *et al.*, 2014).

De forma geral, extratos padronizados com silimarina contêm aproximadamente 65 a 80% de flavonolignanas e 20 a 35% de ácidos graxos e compostos fenólicos com uma variedade de efeitos regulatórios metabólicos (COMELLI *et al.*, 2007). *Silybum marianum* é uma planta, cujos frutos e sementes, têm sido usados como “remédio” há mais de 2000 anos no tratamento de desordens do fígado e faz parte da Medicina Tradicional Chinesa. Encontrada na Europa, Estados Unidos, América do Sul e Ásia. Tradicionalmente, as folhas têm sido usadas em saladas e o fruto torrado utilizado como substituto do café (POLYAK, FERENCI, PAWLITSKY, 2013).

2.2.1 Absorção e Metabolismo

De forma geral, a silimarina possui baixa biodisponibilidade intestinal (WU *et al.*, 2007). A biodisponibilidade da silibinina, maior componente da silimarina, parece depender de fatores como presença de substâncias associadas com capacidade solubilizante como flavonóides, derivados fenólicos, aminoácidos, tocoferóis, gorduras e da sua própria concentração na preparação (VOINOVICH *et al.*, 2009). Sua absorção é aumentada quando está na forma complexada com fosfolipídeos, a qual é encontrada na maioria dos produtos padronizados, comercialmente disponíveis (MASTRON *et al.*, 2015).

Estudos sobre farmacocinética relatam que após ingestão oral de extratos padronizados de *Silybum marianum*, as flavonolignanas são absorvidas e eliminadas, com meia vida para a silibinina de 6 horas, sendo rapidamente metabolizada no fígado por enzimas de fase II, que utilizam a conjugação como via de biotransformação (FLORY *et al.*, 1980; BARZAGHI *et al.*, 1990). Dessa forma, níveis plasmáticos podem alcançar concentração máxima aproximadamente de 1 a 2 horas com estimativa de meia vida de 4 a 6 horas. Estudo experimental observou que após consumo oral de silibinina houve aumento significativo da atividade da glutathione S-transferase e quinona redutase no fígado, pulmão, estômago, pele e intestino, sendo dose e tempo dependentes (ZHAO & AGARWAL, 1999).

A silibinina é encontrada na circulação principalmente na forma conjugada, mas há relatos de que em indivíduos saudáveis, 10 a 17% pode estar na forma livre não-conjugada no plasma (WEYHENMEYER, MASCHER, BIRKMAYER, 1992; CALANI *et al.*, 2012). Aproximadamente 20% a 40% da silimarina é conjugada e excretada pela bile, 3 a 8% excretada na urina e o que não foi absorvido excretado por meio das fezes (SALLER *et al.*, 2008).

2.2.2 Mecanismos de ação

Ação antioxidante

Estudo farmacológico relata que a silimarina pode contribuir para as defesas antioxidantes por várias vias. É capaz de neutralizar ou remover uma gama de radicais livres de forma direta (FU *et al.*, 2009). Estudos em animais demonstraram que a silimarina inibiu a produção de radicais livres, de forma dose dependente, em células de Kupffer isoladas de ratos (DEHMLow, ERHARD, GROOT, 1996; DEHMLow, MURAWSKI, GROOT, 1996).

Trabalhos experimentais evidenciaram que esse composto também é capaz de prevenir a formação de espécies reativas de oxigênio, pela inibição de enzimas responsáveis por essa produção nas mitocôndrias ou pela manutenção da integridade da cadeia transportadora de elétrons mitocondrial, em condições de stress. Estes efeitos poderiam evitar disfunções mitocondriais, uma vez que os radicais livres induzem modificações protéicas, peroxidação lipídica e dano ao DNA mitocondrial (DETAILLE *et al.*, 2008; SEKINE & ICHIJO, 2015). Em estudo com ratos submetidos a isquemia/reperfusão, a silimarina foi capaz de prevenir mudanças mitocondriais ocorridas durante esse processo, inibindo, portanto, lesão celular (ROLO *et al.*, 2003).

Outros estudos experimentais observaram inibição da peroxidação lipídica (KOKSAL *et al.*, 2009) e aumento das concentrações endógenas de enzimas com efeito antioxidante como glutathione redutase, glutathione peroxidase, superóxido dismutase e catalase (FEHÉR *et al.*, 1988; MURIEL & MOURELLE, 2006; PRADHAN & GIRISH, 2006). Além da participação da silimarina na manutenção de um status redox adequado por estimular a síntese dessas enzimas (PERVAIZ, 2006) e também

de antioxidantes não enzimáticos modulando via de fatores de transcrição como NFkB (fator nuclear Kappa B) e Nrf2 (Fator nuclear eritróide 2).

A via Nrf2 resulta no aumento da expressão de genes que codificam moléculas citoprotetoras, como as sirtuínas, que participam de uma classe de proteínas com importante ação na sobrevivência das células. As sirtuínas estão envolvidas no aumento da regulação (*upregulation*) de sistemas de defesas antioxidantes (WU, WU, WEI, 2014). Além disso, também aumentam a expressão de genes codificadores de enzimas de detoxificação de fase II e suas vias de conjugação do processo de biotransformação hepática e realiza aumento (*upregulation*) na reparação e degradação de moléculas danificadas durante o stress oxidativo (LUSHCHAK, 2011). Estudo em modelos experimentais de esteatohepatite não-alcoólica observou aumento da translocação nuclear de Nrf2 e consequente proteção contra estresse oxidativo nos animais alimentados com silimarina (KIM *et al.*, 2012). A via NFkB induz fatores de transcrição associados a regulação de vários processos celulares, incluindo inflamação e estresse oxidativo e a silimarina parece inibir a expressão de genes regulados por essa via que estão associados a aumento da inflamação e estresse oxidativo (RAMASAMY, AGARWAL, 2008).

Ação anti-inflamatória, hepatoprotetora e imunomoduladora

A silimarina também parece exercer atividade anti-inflamatória, imunomoduladora e hepatoprotetora por diversas vias. A atividade anti-inflamatória de compostos fenólicos tem sido demonstrada em estudos *in vitro* e *in vivo* (MANNA *et al.*, 1999; GHARAGOZLOO *et al.*, 2010; GIORGI *et al.*, 2012; KIM *et al.*, 2013). Os polifenóis, inclusive a silimarina, podem afetar a inflamação, principalmente, como moduladores de vias de sinalização redox inflamatória (GUPTA *et al.*, 2014).

Compostos fenólicos possuem atividade anti-inflamatória pela modulação da expressão de genes pró-inflamatórios, como cicloxigenases, lipoxigenases, óxido nítrico sintase e de citocinas pró-inflamatórias como TNF- α (Fator de necrose tumoral α) e IL-1 (Interleucina 1) (STEVENSON & HURST, 2007). A silimarina é considerada um potente inibidor da ativação do fator de transcrição nuclear NFkB (KIM *et al.*, 2013). Estudo *in vitro* com células humanas demonstrou inibição de TNF- α mediado pelo NFkB em dose dependente de silimarina (MANNA *et al.*, 1999). Outros trabalhos experimentais sugerem que ela é capaz de inibir a

expressão de citocinas inflamatórias como TNF- α , leucotrienos B4, moléculas de adesão, como as E-selectinas, moléculas transmembrana expressas na superfície de leucócitos envolvidos com padrão inflamatório (DEHMLOW, ERHARD, GROOT, 1996; KANG *et al.*, 2003; ABENAVOLI *et al.*, 2010).

Segundo estudo *in vitro*, a silimarina também atua na inativação intra-hepática do fator de transcrição nuclear NF κ B, maior mecanismo de sua atividade hepatoprotetora, pois previne subseqüentes síntese de citocinas inflamatórias como TNF, IFN- γ (Interferon Gama), IL-2 (Interleucina 2), IL-4 (Interleucina 4), quimiocinas, leucotrienos B4 e óxido nítrico sintetase induzível (iNOS) e conseqüente processo inflamatório no parênquima hepático (DEHMLOW, MURAWSKI, GROOT, 1996). O efeito hepatoprotetor da silimarina parece ser ainda mais amplo. Há diversos relatos de atividade antifibrótica, devido à redução da formação de colágeno intra-hepático e retardo da ativação de células hepáticas estreladas, envolvidas no processo de fibrogênese, além de promover regeneração dos hepatócitos, como demonstrado em estudos experimentais (MOURELLE *et al.*, 1989; BOIGK *et al.*, 1997; JIA *et al.*, 2001; LIEBER *et al.*, 2003).

Acredita-se que a silimarina estabiliza as membranas celulares, evitando a entrada de substâncias químicas tóxicas nas células, reduzindo o dano hepatocelular induzida por drogas; e estimula a síntese e atividade de enzimas responsáveis pelo processo de biotransformação hepática, como glutathione S-transferase (MATEEN, RAINA, AGARWAL, 2013). Estudo observou que em estresse oxidativo induzido por etanol, a silimarina também parece proteger o fígado, devido a redução dos níveis de ALT e AST, aumento da atividade de superóxido dismutase e glutathione S-peroxidase, além da redução de malonildialdeído no fígado dos animais (ZHANG *et al.*, 2013).

Além de modular expressão gênica de moléculas e sinalização de células do sistema imune envolvidas com processo inflamatório, como já discutido, supõe-se que a silimarina também pode exercer imunomodulação devido a sua passagem intestinal. Polifenóis, como a silimarina, são extensamente metabolizados pelas bactérias do intestino em diversos produtos finais, o que poderia afetar a ecologia de bactérias simbióticas podendo alterar a fisiologia do hospedeiro, melhorando a saúde gastrointestinal e modulando o equilíbrio da microbiota (MOCO, MARTIN, REZZI, 2012). Provavelmente há uma modulação da microbiota pelo estímulo a proliferação

de lactobacillus e bifidobactérias, o que teria importante efeito papel imunomodulador (SURAI, 2015).

Ação antineoplásica

Nas últimas duas décadas, estudos *in vitro*, *in vivo* e ensaios clínicos têm sido publicados relatando potencial efeito antineoplásico da silimarina devido a inibição dos processos de proliferação celular, inflamação, angiogênese, metabolismo de células neoplásicas e estímulo a apoptose (ZI, MUKHTAR, AGARWAL, 1997; VARGUESE *et al.*, 2005; RAMAKRISHNAN *et al.*, 2006; RAMAKRISHNAN *et al.*, 2007; RAMAKRISHNAN *et al.*, 2009; EL-KAMARY *et al.*, 2009; HAWKE *et al.*, 2010). A silibinina pode ativar pontos de controle celular, alterando a interação entre quinases dependentes de ciclinas (CDKs) e as inibidoras das quinase dependentes de ciclinas (CDKIs). Acredita-se que a silibinina seja capaz de diminuir os níveis de CDKs, que induzem progressão do ciclo celular e ativar CDKIs, inibindo, portanto, a proliferação celular (ZI & AGARWAL, 1999; DEEP *et al.*, 2006; MATEEN *et al.*, 2010).

Existem evidências que a silimarina possui notável potencial antiangiogênico, por inibir fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), seus receptores e enzima iNOS (SINGH *et al.*, 2005; SINGH *et al.*, 2006; RAINA *et al.*, 2008). Influencia diversas vias de sinalização celular e moléculas incluindo proteínas quinases ativadas por mitógenos (MAPKs), proteína ativadora 1 (AP1), fator indutor de hipóxia 1 α (HIF-1 α), STATs (*Signal transducer and activator of transcriptions*), PI3K/Akt (fosfatidilinositol 3-quinase/proteína quinase), β - catenina, IGF-IGFBP3 (*Insulin-like growth fator-binding protein 3*), NF κ B, ciclooxigenases-2 e outras vias associadas a processos neoplásicos (SINGH *et al.*, 2004; SINGH *et al.*, 2006; JUNG *et al.*, 2009; SINGH *et al.*, 2009; LI *et al.*, 2010; RAJAMANICKAM *et al.*, 2010).

Outra hipótese é que o potencial antineoplásico da silimarina também pode ser explicado pela sua capacidade de inibir a via do mTOR (*mammalian Target of Rapamycin*), associada a proliferação celular, por duas vias, suprimindo a função mitocondrial pela ativação de AMPK (*AMP-activated protein kinase*) para inibir mTOR ou induzir diretamente a ativação do complexo DDIT4/Redd1 (*DNA-damage-inducible transcript 4 protein/ DNA damage responses 1*), e desta forma suprimindo a via do mTOR (LI *et al.*, 2010; LOVELACE *et al.*, 2015).

Supõe-se que a silimarina possa aumentar os níveis citosólicos de citocromo C mitocondrial que está associado a *upregulation* da expressão de proteínas pró-apoptóticas como p53, Bax, proteínas ativadoras do fator 1 e caspase 3 e *downregulation* da expressão de proteínas anti-apoptóticas, Bcl-2 (Célula B de linfoma 2) e proteínas associadas a proliferação celular, como CDK1 (Proteína quinase dependente de ciclina 1), protooncogene c-Myc e β -catenina (RAMAKRISHNAN *et al.*, 2009).

Os principais mecanismos de ação da silimarina citados nesta revisão estão resumidos da figura 1.

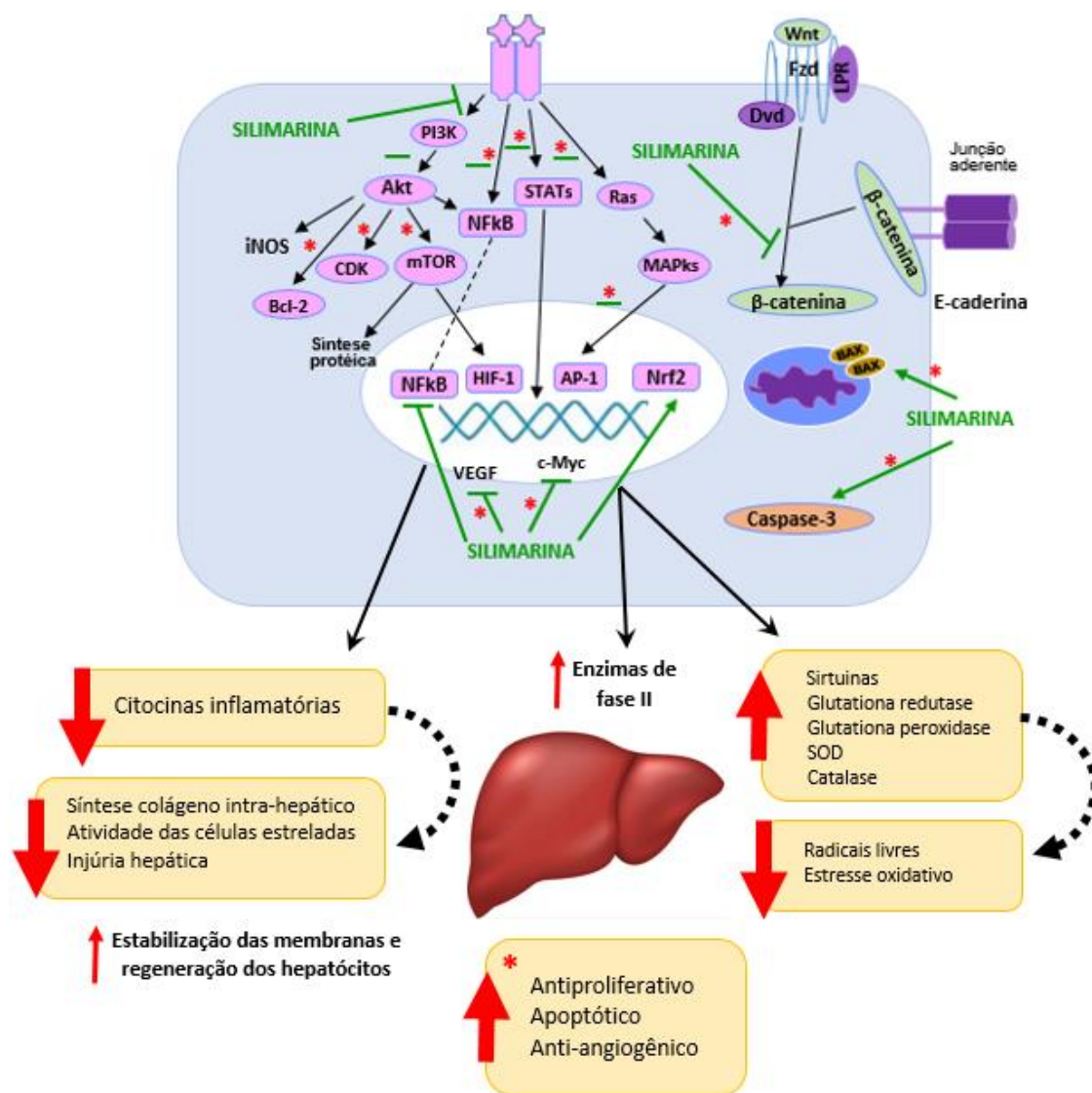


Figura 1: Possíveis mecanismos de ação da silimarina. O efeito inibitório da silimarina na expressão e/ou ativação do receptor que sinaliza várias vias e cascatas subsequentes associadas a inflamação, estresse oxidativo e câncer (PIK3/Akt, NFkB, STATs, MAPks), além de inibir β-catenina, relacionada a proliferação celular e câncer. A silimarina é capaz de aumentar expressão de Nrf2, associado ao aumento de enzimas hepáticas de fase II, sirtuinas e enzimas antioxidantes, reduzindo produção de radicais livres e estresse oxidativo. Aumenta expressão de Bax nas mitocôndrias e caspases 3, induzindo apoptose.

2.3 Segurança da administração via oral

É possível encontrar suplementos a base de silimarina em diferentes dosagens e formas químicas. Estudos clínicos relatam uso de doses que variam de 210mg a 1200mg ao dia, sendo que a dose mais utilizada é de aproximadamente 420mg ao dia (JACOBS *et al.*, 2002) considerada segura e bem tolerada. Além disso, não foram encontrados relatos de morte ou eventos adversos graves nos estudos.

A incidência de eventos adversos é considerada baixa. Um estudo que revisou sistematicamente ensaios clínicos com indivíduos que ingeriram silimarina referiu incidência de aproximadamente 1%, tendo o efeito laxativo como sintoma mais comumente observado quando em uso de doses acima de 1500mg ao dia (SALLER *et al.*, 2008). Há relatos de náuseas, desconforto epigástrico e urticária, embora em outros estudos esses sintomas também tenham sido observados no grupo controle não tendo portanto, relação com a ingestão de silimarina (PARES *et al.*, 1998; ADRAC, 1999). Em animais, a silimarina parece exercer efeito laxativo quando administrada em altas doses, mas alguns pesquisadores acreditam que esse efeito pode ocorrer apenas durante os dias de consumo, não sendo mantido posteriormente, e pode ser devido ao grande efeito estimulador do fígado e vesícula (BAHMANI, ZARGARAN, RAFIEIAN-KOPAEI, 2014).

Alguns tipos de reações alérgicas podem acontecer em indivíduos sensíveis aos componentes naturais do *Silybum marianum*. Há relato na literatura de um caso de anafilaxia em paciente com alergia determinada anteriormente a Kiwi (ADRAC, 1999).

Supõe-se que a silimarina possa interagir de forma positiva com outras medicações, reduzindo por exemplo, a demanda de insulina, em pacientes diabéticos com cirrose (VELUSSI *et al.*, 1997) ou reduzindo efeitos adversos causados por álcool e medicamentos como quimioterápicos, estatinas, drogas psicotrópicas, acetaminofeno, ciclosporina (PALASCIANO *et al.*, 1994; MATEEN, RAINA, AGARWAL, 2013; ZHANG *et al.*, 2013; LUANGCHOSIRI *et al.*, 2015).

Ensaio clínico que avaliou efeito da silimarina nos sinais, sintomas e marcadores laboratoriais de pacientes com hepatite aguda independente da etiologia observou boa tolerância desses indivíduos, devido a ausência de efeitos adversos, além da melhora de sintomas e biomarcadores analisados (EL-KAMARY *et al.*, 2009). Desta forma, o uso via oral da silimarina pode ser considerado bem tolerado

e caracterizado por um excelente perfil de segurança para diferentes grupos de pacientes (PARES *et al.*, 1998).

2.4 Silimarina nas Doenças Hepáticas

Considerando as propriedades antioxidante, anti-inflamatória e mecanismos de ação da silimarina discutidos, é possível entender seu potencial benefício nas diversas desordens hepáticas. Por isso, *Silybum marianum* é uma das plantas mais estudadas para portadores dessas doenças. Estudos experimentais (CAMPOS *et al.*, 1989; ALTHAGAFY *et al.*, 2013; BLAISING *et al.*, 2013) e clínicos (VELUSSI *et al.*, 1997; POST-WHITE, LADAS, KELLY, 2007; PAR, ROTH, 2009; HAWKE *et al.*, 2010; BEINHARDT *et al.*, 2011) confirmam atividade farmacológica da silimarina e seus benefícios para pacientes com doença hepática. Existem relatos de benefícios do uso da silimarina em casos de lesão hepática induzida por drogas como acetaminofeno, tetracloreto de carbono, fenilidrazina e até por radiação, há, demonstrando a importância deste fitoterápico como hepatoprotetor. O que pode estar associado a proteção que a silimarina pode exercer nas membranas celulares, estabilizando-as e evitando dano celular, além de minimizar o estresse oxidativo (CAMPOS *et al.*, 1989; MURIEL *et al.*, 1992; HAKOVA *et al.*, 1993; HALIM *et al.*, 1997; LUANGCHOSIRI *et al.*, 2015).

Estudo com pacientes portadores de hepatite pelo vírus C, com diagnóstico de DHGNA e com ferritina elevada, demonstrou que o uso da silimarina promoveu redução significativa dos níveis de ferritina (BARES *et al.*, 2008). Resultado de grande relevância clínica, uma vez que hiperferritinemia está associada com a rápida progressão da doença hepática (MOIRAND *et al.*, 1997; FORD & COGSWELL, 1999; WREDE *et al.*, 2006; YONEDA *et al.*, 2010; KOWDLEY *et al.*, 2012; YONEDA *et al.*, 2014). Além de marcador de estoque de ferro, a ferritina também é considerada um marcador inflamatório, pois níveis elevados de citocinas inflamatórias como TNF- α e IL-1 α parecem induzir síntese da cadeia H da ferritina, sugerindo que a inflamação e o estresse oxidativo são capazes de alterar a regulação da ferritina (TORTI & TORTI, 2002). Assim, a silimaria também pode ser interessante nesses casos, já que parece ser capaz de modular vias indutoras de inflamação e estresse oxidativo, por reduzir expressão de gens pró-inflamatórios e aumentar concentrações de enzimas antioxidantes, neutralizando e inibindo produção de espécies reativas de oxigênio.

Além de diminuir níveis de ferritina, há registros de que a silimarina também é capaz de reduzir transaminases hepáticas em pacientes portadores de NASH (HASHEMI *et al.*, 2009; MASSODI *et al.*, 2013; SOLHI *et al.*, 2014), bem como reduzir resistência à insulina e peroxidação lipídica em pacientes diabéticos com cirrose (VELUSSI *et al.*, 1997), impactando de forma positiva no tratamento desses indivíduos. Todos esses achados também podem ser explicados pelo potencial anti-inflamatório e antioxidante da silimarina, já abordados, os quais também podem exercer efeitos benéficos no metabolismo glicêmico e lipídico desses pacientes.

Estudos *in vitro* demonstram efeito antiviral da silimarina, devido à capacidade de bloquear infecção pelo vírus da hepatite C (HCV) (POLYAK *et al.*, 2007; POLYAK *et al.*, 2010; WAGONER *et al.*, 2010; WAGONER *et al.*, 2011; POLYAK *et al.*, 2013). Ensaio clínico também demonstraram inibição da replicação do VHC e consequente redução do risco de cirrose em portadores do vírus C que utilizaram formulações intravenosas de silibinina (FERENCI *et al.*, 2008; NEUMANN *et al.*, 2010; BEINHARDT *et al.*, 2011; BEINHARDT *et al.*, 2012). Resultados que podem estar associados ao potencial imunomodulador da silimarina, o qual é capaz de modular resposta imune, além de inibir expressão de moléculas de adesão na membrana de leucócitos com padrão pró-inflamatórios (KANG *et al.*, 2003; ABENAVOLI, CAPASSO, CAPASSO, 2010).

O potencial na prevenção de cânceres e propriedade antitumoral da silimarina também é relatado em várias publicações (CHEUNG *et al.*, 2010; DEEP & AGARWAL, 2010; VAID & KATIYAR, 2010; RAINA & AGARWAL, 2013; MATEEN, RANA, AGARWAL, 2013; DEEP & AGARWAL, 2013). Estudos *in vitro* e *in vivo* demonstram que a silimarina é capaz de inibir crescimento de células de câncer de fígado e aumentar taxa de apoptose nestas células por diversas vias de sinalização (VARGHESE *et al.*, 2005; POOK, TOH, MAHENDRAN, 2006; RAMAKRISHNAN *et al.*, 2006; RAMAKRISHNAN *et al.*, 2008; CHEN *et al.*, 2009). Outros estudos têm demonstrado efeito anti-neoplásico também para diversos tipos de cânceres extra-hepáticos (AGARWAL *et al.*, 2003; CHU *et al.*, 2004; RAMAKRISHMAN *et al.*, 2007; RAMAKRISHMAN *et al.*, 2009). Dados que corroboram a propriedade anti-proliferativa, pró-apoptótica e antiangiogênica da silimarina.

Apesar de alguns estudos clínicos apresentarem resultados controversos ou sem significância estatística, outras publicações demonstram que o uso da silimarina pode ser benéfico para pacientes com doenças hepáticas (HASHEMI *et al.*, 2009;

MASSODI *et al.*, 2013; STIUSO *et al.*, 2014; LUANGCHOSIRI *et al.*, 2015). Siegel *et al.* (2014) observaram melhora dos níveis séricos de citocinas em paciente portador de hepatocarcinoma celular avançado. Guedj *et al.* (2012) sugerem que a silimarina pode bloquear infecção viral, reduzindo a carga viral, além de ser bem tolerada por esses pacientes.

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

Realizar uma revisão sistemática com metanálise sobre o efeito da silimarina nos níveis séricos de Alanina aminotransferase (ALT), Aspartato aminotransferase (AST) e Gama glutamil transpeptidase (γ GT) em pacientes portadores de doença hepática.

3.2 Específicos

- Sumarizar os dados dos ensaios clínicos selecionados;
- Revisar os dados destes ensaios clínicos sobre o efeito da silimarina em pacientes portadores de doença hepática;
- Relatar efeitos adversos descritos nos estudos avaliados;
- Determinar a medida sumária da média dos níveis de ALT, AST e γ GT do total dos estudos avaliados;

4. JUSTIFICATIVA

O uso de fitoterápicos faz parte das Práticas integrativas do SUS e pode ser uma opção terapêutica coadjuvante simples e de fácil acesso para muitos indivíduos, podendo impactar de forma positiva no tratamento dos pacientes portadores de Doenças hepáticas. O uso da silimarina nas afecções hepáticas é descrito na literatura como milenar e tem sido comumente prescrito na prática clínica de muitos profissionais de saúde, além de ser ingerido por automedicação por muitos pacientes. Estudos experimentais e clínicos sugerem benefícios do uso da silimarina em diversas desordens hepáticas, discutindo seus principais mecanismos de ação. Alguns ensaios clínicos observam resultados positivos, em outros, os resultados são controversos ou sem significância estatística. Diante das diferenças e particularidades metodológicas dos estudos faz-se necessário a realização de uma revisão sistemática com metanálise para esclarecimentos sobre os reais benefícios da silimarina nas doenças hepáticas.

5. METODOLOGIA DO PROJETO DE DISSERTAÇÃO

5.1 Desenho do estudo

Trata-se de uma revisão sistemática com metanálise de ensaios clínicos aleatorizados e controlados que avaliarão o efeito da silimarina em pacientes adultos e idosos de ambos os sexos portadores de doença hepática, publicados até 31 de janeiro de 2016. O desfecho avaliado será níveis de ALT, AST e Gama GT antes e após uso da silimarina.

5.2 Identificação e seleção dos artigos

Esta revisão sistemática com metanálise será realizada levando em consideração *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement* (MOHER *et al.*, 2009).

5.3 Estratégias de busca

Busca-se ensaios clínicos aleatorizados e controlados nas bases de dados The Cochrane Central Register of Controlled Trails na Cochrane Library, Pubmed/Medline, Scopus, Web of Science, Lilacs e Clinical Trials. Por se tratar de um tema muito específico, a pesquisa será conduzida sem restrição inicial de idiomas e ano de publicação, visando evitar perdas de importantes estudos elegíveis ou de estudos cujos resultados possam ser relevantes na formação de opinião do meio técnico e científico.

Serão utilizados os termos indexados “silybum marianum”, “milk thistle”, “silymarin”, “silybin”, “silibinin”, “silydianin”, “silychristin”, “carduus marianus”, “liver disease”, “chronic liver disease”, “end stage liver disease”, “drug-induced liver injury”, “Nonalcoholic fatty liver disease”, “fatty liver”, “alcoholic fatty liver”, “alcoholic liver disease”, “fibrosis”, “liver cirrhosis”, “nonalcoholic steatohepatitis”, “alcoholic steatohepatitis”, “alcoholic liver disease”, “hepatocellular carcinoma”, “viral liver disease”, “hepatitis B”, “hepatitis C”, “hemochromatosis”, “liver steatosis”, “alcoholic hepatitis” e “chronic hepatitis” nos idiomas inglês, português e espanhol. Todas essas

palavras chaves serão combinadas utilizando os operadores booleanos “OR” e “AND” nas várias bases de dados. A construção da estratégia busca levar em consideração a questão de pesquisa estruturada pelo acrônimo PICO, sendo definido apenas os termos para os componentes **P**opulação, **I**ntervenção e **C**ontrolado. Não serão definidos os termos para o “**O**” de desfecho para evitar atribuir especificidade não desejada nessa etapa de coleta dos dados (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012).

A busca será realizada por dois revisores de forma independente e os desacordos serão avaliados e discutidos por um terceiro avaliador.

5.4 Seleção dos estudos

5.4.1 Avaliação da elegibilidade dos estudos

Será realizado, pela dupla de revisores, um processo de avaliação da elegibilidade dos estudos por meio da etapa de triagem com leitura dos títulos e resumo, e etapa de confirmação pela leitura do texto completo, identificando-se as duplicatas, em todas as bases de dados descritas. Na etapa de confirmação, a razão da exclusão de cada artigo será registrada em um formulário de fluxo para seleção dos artigos. As discordâncias entre os revisores, referentes a elegibilidade dos artigos, serão resolvidas pelo terceiro revisor.

5.4.2 Critérios de inclusão

Serão incluídos ensaios clínicos aleatorizados e controlados com pacientes portadores de Doenças Hepáticas que adotaram o uso de silimarina oral, na forma de extrato ou isolada, bem como silimarina combinada com outros nutrientes. Os ensaios deverão disponibilizar informações sobre a intervenção (doses e detalhamento do produto utilizado), bem como avaliação qualitativa e níveis de ALT, AST e γ GT *no baseline* e ao final da intervenção.

5.4.3 Critérios de exclusão

Serão excluídos artigos que utilizarem medicamentos associados a silimarina, não disponibilizarem dados descritivos do grupo controle ou grupo intervenção, utilizarem desenho crossover e artigos que após o contato com os autores não se obtiver repostas para fornecimento de dados necessários às análises. Estudos que utilizaram como medidas descritivas a mediana e intervalo interquartil para as variáveis desfecho não poderão ser incluídos. Ensaio clínico cujos acessos na íntegra não forem possíveis devido ao ano de publicação ou indisponibilidade online também serão excluídos.

5.5 Extração dos dados

Os artigos elegíveis nesta revisão foram analisados pelos dois revisores, de maneira independente. Para o processo de extração dos dados, os artigos elegíveis foram lidos na íntegra e utilizou-se uma ficha padronizada (anexo 1) para cada artigo, com todos os critérios de seleção estabelecidos. Os dados referentes às medidas descritivas das variáveis desfecho, *no baseline* e ao final da intervenção, foram registrados em planilha no programa Excel.

5.6 Avaliação da qualidade metodológica dos artigos

A qualidade metodológica dos artigos incluídos nessa revisão será avaliada de acordo com checklist adaptado de Downs & Black (1998). Esse checklist avalia critérios como descrição das informações nos estudos, itens para analisar validade externa itens referentes a participantes, intervenção e testes estatísticos, além da validade interna, como fatores de confundimento e possíveis vieses de seleção e o poder dos estudos.

Os artigos serão avaliados com base nos seguintes critérios: (1) definição dos objetivos/hipótese; (2) descrição dos resultados; (3) caracterização dos participantes incluídos no estudo; (4) descrição da exposição; (5) qualidade da descrição dos principais resultados; (6) relatos dos intervalos de confiança de 95% e/ou p valor para os principais desfechos; (7) representatividade dos indivíduos convidados a participar do estudo; (8) representatividade dos indivíduos incluídos na investigação;

(9) clareza se algum dos estudos foi baseado em *post hoc*; (10) uso apropriado de testes estatísticos utilizados para avaliar os principais resultados; (11) validade e confiabilidade das medidas dos principais desfechos; (12) se a análise estatística inclui ajuste adequado para as principais variáveis de confusão.

Os ensaios clínicos também serão avaliados de acordo com os seguintes itens: (1) as informações sobre as características da perda de seguimento; (2) análise ajustada para diferentes tempo de seguimento; (3) se os participantes dos grupos de intervenção e controle foram recrutados da mesma população; (4) se os participantes dos grupos intervenção e controle foram recrutados no mesmo período de tempo; (5) relato de cegamento da intervenção para participantes e avaliadores; e (6) se as perdas de seguimento foram consideradas.

Para avaliar a qualidade será estabelecido para resposta dicotômica “sim” pontuação 1 ou “não” pontuação 0 para cada item do checklist. Ao final será realizado um somatório da pontuação e calculado percentual para cada artigo incluído na metanálise. Considera-se-á como percentual de qualidade metodológica ideal valor igual ou superior a 80%, de acordo com Downs & Black (1998).

O risco de viés dos estudos será avaliado de acordo com os critérios da Colaboração Cochrane para desenvolvimento de revisões sistemáticas de intervenção (HIGGINS, GREEN, 2011).

5.7 Análise estatística dos dados

A análise estatística será realizada utilizando o programa de MAC STATA 12 (Stata Corp, College Station, TX, USA). Será realizado o cálculo da diferença de médias padronizadas entre os grupos para cada indicador avaliado e seus respectivos intervalos de confiança, que serão apresentados em gráficos *Forest plot*.

O pressuposto da homogeneidade dos estudos será testado por meio da extensão da heterogeneidade interpretado pela porcentagem total de variação entre os estudos analisados com a estatística I^2 (teste de inconsistência de Higgins). Esse teste de inconsistência com p-valor maior que 50% será usado como indicador de heterogeneidade moderada. E a depender da heterogeneidade entre os estudos, poderá ser utilizado modelo de efeitos fixos ou aleatórios para estimar a extensão global. Os vieses de publicação serão avaliados pelo gráfico *Funnel plot* e do modelo de regressão de Egger. A heterogeneidade da metanálise será avaliada por

metaregressão e a possível influência de variáveis serão testadas. Em todas as análises, será considerado significativo um p valor inferior a 0,05.

REFERÊNCIAS

- ABENAVOLI L. *et al.* Milk thistle in liver diseases: past, present, future. **Phytother Res**, v.24, p.1423-1432, 2010.
- ABENAVOLI L. Role of silymarin to treat fibrosis development in non-alcoholic fatty liver disease. **Hepatology Research**., v.41, n. 7, p.668, 2011.
- ADVERSE DRUG REACTIONS ADVISORY COMMITTEE. An adverse reaction to the herbal medication milk thistle (*Silybum marianum*). **Med J Aust.**,v.170, p.218-219,1999.
- AGARWAL C. *et al.* Silibinin upregulates the expression of cyclin-dependent kinase inhibitors and causes cell cycle arrest and apoptosis in human colon carcinoma HT-29 cells. **Oncogene**, v.22, p.8271-8282, 2003.
- AGENCY FOR HEALTHCARE RESEARCH AND QUALITY (AHRQ). Milk Thistle: Effects on liver disease and cirrhosis and clinical adverse effects:summary. N.01-E024, 2000.
- ALTHAGAFY H.S., *et al.*, Semisynthesis, cytotoxicity, antiviral activity, and drug interaction liability of 7-O-methylated analogues of flavonolignans from milk thistle. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v.21, n.13, p.3919–3926, 2013.
- BAHMANI M., ZARGARAN A., RAFIEIAN-KOPAEI M. Identification of medicinal plants of Urmia for treatment of gastrointestinal disorders. **Rev Bras Farmacogn**.v.24, p.468-480, 2014.
- BARES J.M. Silybin Treatment is Associated with Reduction in Serum Ferritin in Patients with Chronic Hepatitis C. **J. Clin. Gastroenterol.**, v.42, n.8, p.937-944, 2008.
- BARZAGHI N., *et al.* Pharmokinetic studies in IdB 1016, a silybin-phosphatidylcholine complex, in healthy human subjects. **Eur. J. Drug. Metab. Pharmacokinet.**, v.15, p.333-338,1990.
- BEINHARDT S., *et al.* Intravenous silibinin-therapy in patients with chronic hepatitis C in the transplant setting. **J. Hepatol.**, v.56, S77–S78, 2012.
- BEINHARDT S., *et al.* Silibinin monotherapy prevents graft infection after orthotopic liver transplantation in a patient with chronic hepatitis C. **J. Hepatol.**, v.54, p. 591-592, 2011.
- BIEDERMANN D., *et al.* Chemistry of silybin. **Nat. Prod. Rep.**.v.31, p.1138-1157, 2014.
- BLAISING J., *et al.* Silibinin inhibits hepatitis C virus entry into hepatocytes by hindering clathrindependent trafficking. **Cellular Microbiology**, v.15, n.11, p.1866–1882, 2013.

BOIGK G. *et al.* Silymarin retards collagen accumulation in early and advanced biliary fibrosis secondary to complete bile duct obliteration in rats. **Hepatology**, v.26, p.643–649, 1997.

CACCIAPUOTI F. Silymarin in non alcoholic fatty liver disease. **World J. Hepatol.**, v.5, n.3, p.109-113, 2013.

CALANI L., *et al.* Absorption and metabolism of milk thistle flavanolignans in humans. **Phytomedicine**, v.20, p.40-46, 2012.

CAMPOS R., *et al.* Silybin dihemisuccinate protects against glutathione depletion and lipid peroxidation induced by acetaminophen on rat liver. **Planta Med.**, v.55, p.417-419, 1989.

CHARK E. *et al.* Hepatitis C virus infection in the USA: an estimate of true prevalence. **Liver Int.**, v.31, p.1090-1101, 2011.

CHEN C.H., *et al.* Synergistic anti-cancer effect of baicalein and silymarin on human hepatoma HepG2 Cells. **Food Chem Toxicol.**, v.47, p.638-644, 2009.

CHEUNG C.W., *et al.* Silibinin – a promising new treatment for cancer. **Anticancer Agents Med Chem.**, v.10, p.86–195, 2010.

CHU S.C. *et al.* Silibinin inhibits the invasion of human lung cancer cells via decreased productions of urokinase-plasminogen activator and matrix metalloproteinase-2. **Mol. Carcinogen.**, v.40, p.143-149, 2004.

COMELLI M.C., *et al.* Toward the definition of the mechanism of action of silymarin: Activities related to cellular protection from toxic damage induced by chemotherapy. **Integr. Cancer Ther.** v.6, p.120-129, 2007.

DEEP G, AGARWAL R. Targeting tumor microenvironment with silibinin: promise and potential for a translational cancer chemopreventive strategy. **Curr Cancer Drug Targets**, v.13, p.486–499, 2013.

DEEP G., AGARWAL R.. Antimetastatic efficacy of silibinin: molecular mechanisms and therapeutic potential against cancer. **Cancer Metastasis Rev.**, v.29, p.447–463, 2010.

DEEP G., *et al.* Silymarin and silibinin cause G1 and G2-M cell cycle arrest via distinct circuitries in human prostate cancer PC3 cells: A comparison of flavanone silibinin with flavanolignan mixture silymarin. **Oncogene**, v.25, n.7, p.1053–1069, 2006.

DEHMLOW C., ERHARD J., DE GROOT H. Inhibition of Kupffer cell functions as an explanation for the hepatoprotective properties of silibinin. **Hepatology**, v.23, p.749-754, 1996.

DEHMLOW C., MURAWSKI N., DE GROOT H. Scavenging of reactive oxygen species and inhibition of arachidonic acid metabolism by silibinin in human cells. **Life Sci.** v.58, p.1591–1600, 1996.

DETAILLE D., *et al.* Interrelation between the inhibition of glycolytic flux by silibinin and the lowering of mitochondrial ROS production in perfused rat hepatocytes. **Life Sci.**, v.82, p.1070–1076, 2008.

DOWNS, S.H.; BLACK, N. The feasibility of creating a checklist for the assessment of the methodological quality both of randomized and non-randomised studies of health care interventions. **Jornal Of Epidemiology and Community Health**, London, v.52, n.6, p.377-384, 1998.

EL-KAMARY S.S., *et al.* A randomized controlled trial to assess the safety and efficacy of silymarin on symptoms, signs and biomarkers of acute hepatitis. **Phytomedicine**, v.16, p.391–400, 2009.

FAULSTICH H., JAHN W., WIELAND T. Silybin inhibition of amatoxin uptake in the perfused rat liver. **Arzneimittelforschung**. v.30, p.452-454, 1980.

FEHÉR J., *et al.* Effect of free radical scavengers on superoxide dismutase (SOD) enzyme in patients with alcoholic cirrhosis. **Acta Med Hung**, v.45, p.265–276, 1988.

FERENCI, P., *et al.* Silibinin is a potent antiviral agent in patients with chronic hepatitis C not responding to pegylated interferon/ribavirin therapy. **Gastroenterology**, v.135, p.1561–1567, 2008.

FLORY P.J., *et al.* Studies on elimination of silymarin in cholecystectomized patients. I. Biliary and renal elimination after a single oral dose. **Plant. Med.**, v.38, p. 227-237, 1980.

FORD E.S. & COGWELL, M.E. Diabetes and serum ferritin concentration among US adults. **Diabetes Care**, v. 22, p.1978-1983, 1999.

FREITAS, L.A.R.; FREITAS, J.R. Alterações Histológicas nas Doenças Crônicas do Fígado. In: JESUS, R.P., OLIVEIRA, L.P.M., LYRA, L.G.C. (Eds) **Nutrição e Hepatologia: abordagem terapêutica, clínica e cirúrgica**. Rio de Janeiro: rubbio, 2014. p. 1-17.

FRIED M. W. *et al.* Effect of silymarin (Milk Thistle) on liver Disease in Patients with Chronic Hepatitis C Unsuccessfully Treated with Interferon Therapy. A randomized controlled Trial. **JAMA**, v.308, n.3, p. 274-282, 2012.

FU H. *et al.* Free radical scavenging reactions and antioxidant activities of silybin: Mechanistic aspects and pulse radiolytic studies. **Free Radic. Res.**, v.43, p.887–897, 2009.

GHARAGOZLOO M., *et al.* Silymarin suppress CD4+ T cell activation and proliferation: Effects on NF- κ B activity and IL-2 production. **Pharmacol. Res.**, v. 61, p. 405–409, 2010.

GIORGI V.S, *et al.* Silibinin modulates the NF- κ B pathway and pro-inflammatory cytokine production by mononuclear cells from preeclamptic women. **J. Reprod. Immunol.**, v.95, p.67–72, 2012.

GORDON, A. *et al.* Effects of Silybum marianum on serum hepatitis C virus RNA, alanine aminotransferase levels and well-being in patients with chronic hepatitis C. **J Gastrol and Hepatol.**, v.21, p.275-280, 2006.

GRAVITZ L. Introduction: a smouldering public-health crisis. **Nature**, v.474, S2-4, 2011.

GUEDJ J., *et al.* Understanding silybinin's modes of action against HCV using viral kinetic modeling. **J Hepatol.**, v.56, p.1019–1024, 2012.

GUPTA S.C., *et al.* Downregulation of tumor necrosis factor and other proinflammatory biomarkers by polyphenols. **Arch. Biochem. Biophys.** v.559, p.91–99, 2014.

HAJAGHAMOHAMMADI A.A., ZIAEE, A., RAFLEI, R. The efficacy of silymarin in decreasing transaminase activities in nonalcoholic fatty liver disease. A randomized controlled clinical trail. **Hepat Mon.**, v.8, p.191-195, 2008.

HAKOVA H., MISU´ ROVA´, E. The effect of silymarin and gamma radiation on nucleic acids in rat organs. **J Pharm Pharmacol.** v.45, p.910-912, 1993.

HALIM A.B., *et al.* Biochemical effect of antioxidants on lipids and liver function in experimentally-induced liver damage. **Ann Clin Biochem.**, v.34, n.6, p.656-663, 1997.

HASHEMI S.J., HAJIANI, E., SARDABI, E. H. A placebo-controlled Trial of Silymarin in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. **Hepatitis Monthly**; v. 9, n. 4, p. 265-270, 2009.

HAWKE R.L., *et al.* SyNCH Trial Group. Silymarin ascending multiple oral dosing phase I study in noncirrhotic patients with chronic hepatitis C. **J Clin Pharmacol.**,v.50, p.434–449, 2010.**Hepatology**, v.51, p.1912-1921, 2010.

HIGGINS J.P.T., Green S. Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions, Version 5.1.0, **The Cochrane Collaboration**, 2011, <http://handbook.cochrane.org/>).

HUTCHINSON C., BOMFORD, A., GEISLER, C. A. The iron-chelating potential of silybin in patients with hereditary haemochromatosis. **Eur J Clin Nutr.**, v. 64, n.10, p. 1239-1241, 2010.

JACOBS B. P. *et al.* Milk Thistle for the Treatment of Liver Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Am J Med.**, v.113. p.506-515, 2002.

JIA J.D., *et al.* Antifibrotic effect of silymarin in rat secondary biliary fibrosis is mediated by downregulation of procollagen alpha 1(I) and TIMP-1. **J Hepatol.**, v.35, p.392–398, 2001.

JUNG, H.J., *et al.* Silibinin inhibits expression of HIF-1alpha through suppression of protein translation in prostate cancer cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.390, n.1, p.71–76, 2009.

KANG J.S. *et al.* Silymarin inhibits TNFalpha-induced expression of adhesion molecules in human umbilical vein endothelial cells. **FEBS Lett.**, v.550, p.89-93, 2003.

KIM B.R. *et al.* Silibinin inhibits the production of pro-inflammatory cytokines through inhibition of NF- κ B signaling pathway in HMC-1 human mast cells. **Inflamm. Res.**, v.62, p.941-950, 2013.

KIM M. *et al.* Silymarin suppresses hepatic stellate cell activation in a dietary rat model of non-alcoholic steatohepatitis: Analysis of isolated hepatic stellate cells. **Int. J. Mol. Med.**, v.30, p.473–479, 2012.

KÖKSAL E., *et al.* In vitro antioxidant activity of silymarin. **J. Enzyme Inhib. Med. Chem.**, v. 24, p.395–405, 2009.

KOWDLEY, K.V., *et al.* Serum ferritin is an independent predictor of histologic severity and advanced fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. **Hepatology**, v.55, n.1, p.77-85, 2012.

LAZO M., *et al.* Non-alcoholic fatty liver disease and mortality among US adults: prospective cohort study. **BMJ**, v.343, d6891, 2011.

LAUER G.M., Walker B.D. Hepatitis C Virus Infection. **N Engl J Med**. v.345, p.41-52, 2001.

LI, L., *et al.* Targeting silibinin in the antiproliferative pathway. **Expert Opinion on Investigational Drugs**, v.19, n.2, p.243–255, 2010.

LIEBER C.S., *et al.* Silymarin retards the progression of alcohol-induced hepatic fibrosis in baboons. **J Clin Gastroenterol.**, v. 37, p.336–339, 2003.

LOGUERCIO C., *et al.* The effect of a Silybin-vitamina E-phospholipid complex on Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Pilot Study. **Dig Dis Sci.**, v.52, p.2387-2395, 2007.

LOVELACE ES. *et al.* Silymarin suppresses cellular inflammation by inducing reparative stress signaling. **J Nat Prod.**, v.28, n.8, p.1990-2000, 2015.

LUANGCHOSIRI C. *et al.* A double-blinded randomized controlled trial of silymarin for the prevention of antituberculosis drug-induced liver injury. **BMC complementary & Alternative Medicine**. V.15, n.334, 2015.

LUSHCHAK V.I. Adaptive response to oxidative stress: Bacteria, fungi, plants and animals. **Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.**, v.153, p.175–190, 2011.

MANNA S.K., *et al.* Silymarin suppresses TNF-induced activation of NF- κ B, c-Jun N-terminal kinase, and apoptosis. **J. Immunol.**, v.163, p.6800–6809, 1999.

MARCHESINI G., *et al.* Nonalcoholic fatty liver disease: a feature of the metabolic syndrome. **Diabetes** v. 50, p.1844-1850, 2001.

MASSODI M, *et al.* Effects of silymarin on reducing liver aminotransferases in patients with nonalcoholic fatty liver diseases. *Govaresh*, v.18, n.3, p.181-185, 2013.

MASTRON J.K., *et al.* Silymarin and hepatocellular carcinoma: a systematic, comprehensive, and critical review. **Anticancer drugs.**, v.26, p.475-486, 2015.

MATEEN S., RAINA K., AGARWAL R. Chemopreventive and anti-cancer efficacy of silibinin against growth and progression of lung cancer. **Nutr Cancer**, v.65, Suppl 1, p.3–11, 2013.

MATEEN, S., *et al.* Silibinin inhibits human nonsmall cell lung cancer cell growth through cell-cycle arrest by modulating expression and function of key cell-cycle regulators molecular. **Carcinogenesis**, v.49, n.3, p.247–258, 2010.

MCCULLOUGH A.J. Pathophysiology of nonalcoholic steatohepatitis. **J Clin Gastroenterol.** v. 40, (Suppl 1), p. 52-57, 2006.

MÉNDEZ-SÁNCHEZ N, *et al.* Trends in liver disease prevalence in Mexico from 2005 to 2050 through mortality data. **Ann Hepatol.** v.4, p.52-55, 2005.

MILOSEVIC, N., *et al.* Phytotherapy and NAFLD – from Goals and Challenges to Clinical Practice. **Reviews on Recent clinical Trials.** V. 9, p. 195-203, 2014.

MINISTÉRIO DE SAÚDE. **Diretrizes metodológicas: elaboração de revisão sistêmica e metáanálise de ensaios clínicos randomizado** (2012). URL http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diretrizes_metodologicas_elaboracao_sistematica.pdf (Acesso fevereiro 2016).

MOCO S., MARTIN F.P., REZZI S. Metabolomics view on gut microbiome modulation by polyphenol-rich foods. **J. Proteome. Res.**, v. 11, p.4781–4790, 2012.

MOIRAND R. *et al.* A new syndrome of liver iron overload with normal transferrin saturation. **Lancet.** n.349, p. 95-97, 1997.

MOHER D. *et al.* Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. **BMJ**, v.339:b2535, 2009.

MOURELLE M., *et al.* Prevention of CCl₄- induced liver cirrhosis by silymarin. **Fundam Clin Pharmacol**, v.3, p.183–191, 1989.

MURIEL P., MOURELLE M. Prevention by silymarin of membrane alterations in acute CCL4 liver damage. **J. Appl. Tox.**, v. 10, p.275-279, 2006.

MURIEL P., et al. Silymarin protects against paracetamol-induced lipid peroxidation and liver damage. **J Appl Toxicol.**, v.12, p.439–442, 1992.

NEUMANN U.P., et al. Successful prevention of hepatitis C virus (HCV) liver graft reinfection by silibinin mono-therapy. **J. Hepatol.**, v.52, p.951–952, 2010.

PAR E., et al. Effects of silymarin supplementation in chronic hepatitis C patients treated with peg-interferon + ribavirin. A placebo-controlled double blind study. **Orvosi Hetilap**, v.150, n. 2, p.73–79, 2009.

PALASCIANO G. et al. The effect of silymarin on plasma levels of malon-dialdehyde in patients receiving long-term treatment with psychotropic drugs. **Current therapeutic Research.** v.55, n.5, 1994.

PARES A., et al. Effects of silymarin in alcoholic patients with cirrhosis of the liver: results of a controlled, double-blind, randomized and multicenter trial. **J Hepatol.**,v.28, p.615-621,1998.

PERVAIZ S. Pro-oxidant milieu blunts scissors: insight into tumor progression, drug resistance, and novel druggable targets. **Curr Pharm Des.**, v.12, p.4469-4477, 2006.

PLAUGH M. et al. ESPEN guidelines on enteral nutrition: liver disease. **Clin Nutr.** v. 25, n.2, p.285-294, 2006.

POLYAK S.J., et al. Identification of hepatoprotective flavonolignans from silymarin. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v.107, p.5995-5999, 2010.

POLYAK S.J.; FERENCI, P.; PAWLITSKY, J.M. Hepatoprotective and antiviral functions of silymarin components in hepatitis C virus infection. **Hepatology**, v.57, p.1262-1271, 2013.

POOK S.H., TOH C.K, MAHENDRAN R. Combination of thiol antioxidant Silibinin with Brostallicin is associated with increase in the anti-apoptotic protein Bcl-2 and decrease in caspase 3 activity. **Cancer Lett.**,v.238, p.146–152, 2006.

POST-WHITE, J., LADAS, E.J., KELLY, K. Advances in the use of milk thistle (*Silybum marianum*). **Integrative CancerTherapies**, v. 6, n.2, p.104–109, 2007.

PRADHAN S.C., GIRISH C. Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine. **Indian J. Med. Res.**,v.124, p.491-504, 2006.

RAINA K., AGARWAL R. Promise and potential of silibinin in colorectal cancer management: what patterns can be seen? **Future Oncol.**,v.9, p.759–761, 2013.

RAINA, K., et al. Stage-specific inhibitory effects and associated mechanisms of silibinin on tumor progression and metastasis in transgenic adenocarcinoma of the mouse prostate model. **Cancer Research**, v.68, n.16, p.6822–6830, 2008.

RAINONE, F. Milk thistle. **Am. Fam. Phys.**, v. 72, n.7, p.1285-1288, 2005.

RAJAMANICKAM S., *et al.* Chemoprevention of intestinal tumorigenesis in APCmin/+ mice by silibinin. **Cancer Research.**, v.70,n.6,p.2368–2378, 2010.

RAMAKRISHNAN G. Suppression of N-nitrosodiethylamine induced hepatocarcinogenesis by silymarin in rats. **Chem Biol Interact.**,v.161, p.104–114, 2006.

RAMAKRISHNAN G., *et al.* Silymarin downregulates COX-2 expression and attenuates hyperlipidemia during NDEA-induced rat hepatocellular carcinoma. **Mol Cell Biochem.**, v.313, p.53-61, 2008.

RAMAKRISHNAN G., *et al.* Effect of silymarin on N-nitrosodiethylamine induced hepatocarcinogenesis in rats. **Exp Oncol.**, v.29,p.39–44, 2007.

RAMAKRISHNAN G., *et al.* Silymarin inhibited proliferation and induced apoptosis in hepatic cancer cells. **Cell Prolif.**, v. 42, p.229–240, 2009.

RAMAKRISHNAN G., *et al.* Suppression of N-nitrosodiethylamine induced hepatocarcinogenesis by silymarin in rats. **Chem Biol Interact.**, v.161, p.161:104–114, 2006.

RAMAKRISHNAN G., *et al.* Silymarin attenuated mast cell recruitment thereby decreased the expressions of matrix metalloproteinases-2 and 9 in rat liver. **Investigational New Drugs**, v.27, p.233-240, 2009.

RAMASAMY K., AGARWAL R. Multitargeted therapy of cancer by silymarin. **Cancer Lett.** v.269, p.352–362, 2008.

ROLO A.P.; *et al.* Protection against post-ischemic mitochondrial injury in rat liver by silymarin or TUDC. **Hepatol. Res.**, v. 26, p.217–224, 2003.

RORIZ, A.K.C. *et al.* Avaliação e Diagnóstico Nutricionais das Doenças Crônicas do Fígado. In: JESUS, R.P., OLIVEIRA, L.P.M., LYRA, L.G.C. (Eds) **Nutrição e Hepatologia: abordagem terapêutica, clínica e cirúrgica.** Rio de Janeiro: rubbio, 2014. p. 93-112.

SALAMONE F. Silibinin modulates lipid homeostasis and inhibits nuclear factor kappa B activation in experimental nonalcoholic steatohepatitis. **Translational Research.**, v.159, n.6, p.477-486, 2012.

SALLER R., *et al.* An updated systematic review with meta-analysis for the clinical evidence of silymarin. **Forsch Komplementmed**, v.15, p.9–20, 2008.

SCHRIEBER S. J. *et al.* The Pharmacokinetics of Silymarin is altered in Patients with Hepatitis C virus and Nonalcoholic Fatty Liver Disease and correlates with plasma caspase-3/7 activity. **Drug Metabolism and Disposition.** v.36, n.9, p.1909-1916, 2008.

SCHRIEBER S.J., et al. Differences in the disposition of silymarin between patients with nonalcoholic fatty liver disease and chronic hepatitis C. **Drug Metabolism and Disposition**. v.39, n.12, p.2182-2190, 2011.

SEKINE S., ICHIJO, H. Mitochondrial proteolysis: Its emerging roles in stress responses. **Biochim. Biophys. Acta**, v.1850, p.274–280, 2015.

SIEGEL A.B. et al. A phase I dose-finding study of silybin phosphatidylcholine (Milk thistle) in patients with advanced hepatocellular carcinoma. **Integr Cancer Ther.**, v.13, n.1, p.46-53, 2014.

SINGH R. P., AGARWAL R. Prostate cancer prevention by silibinin. **Current Cancer Drug Targets**, v.4, n.1, p.1-11, 2004.

SINGH R.P. *et al.* Silibinin strongly inhibits growth and survival of human endothelial cells via cell cycle arrest and downregulation of survivin, Akt and NF-kappaB: Implications for angioprevention and antiangiogenic therapy. **Oncogene**, v.24, n.7, p.1188–1202, 2005.

SINGH R.P., *et al.* Effect of silibinin on the growth and progression of primary lung tumors in mice. **Journal of the National Cancer Institute**, v.98, n.12, p.846–855, 2006.

SINGH R.P., *et al.* Silibinin suppresses growth of human prostate carcinoma PC-3 orthotopic xenograft via activation of extracellular signal-regulated kinase 1/2 and inhibition of signal transducers and activators of transcription signaling. **Clinical Cancer Research**, v.5, n.2, p.613–621, 2009.

SOLHI, H. *et al.* Silymarin in treatment of non-alcoholic steatohepatitis: A randomized clinical trial. **Caspian J Intern Med**. v.5, n.1, p.9-12, 2014.

SOUTO, F.J.D. Distribuição da Hepatite B no Brasil: atualização do mapa epidemiológico e proposições para seu controle. **Gastrointest Endosc Digest**. v.18, n.4, p.143-150, 1999.

STEVENSON D.E., HURST R.D. Polyphenolic phytochemicals—Just antioxidants or much more? **Cell Mol. Life. Sci.**, v.64, p.2900–2916, 2007.

STIUSO P. et al. Serum oxidative stress markers and lipidomic profile to detect NASH patients responsive to an antioxidant treatment: a pilot study. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**. 2014, 169216.

SURAI PF. Silymarin as a natural antioxidant: an overview of the current evidence and perspectives. **Antioxidants**, v.4, p.204-247, 2015.

TORTI F.M., TORTI S.V..Regulation of ferritin genes and protein. **Blood.**, v.99, p.3505–3516, 2002.

TUCHWEBER B., SIECK R., TROST W. Prevention of silybin of phalloidin-induced acute hepatotoxicity. **Toxicol Appl Pharmacol.**v.51, p.265-275, 1979.

VAID M., KATIYAR S.K. Molecular mechanisms of inhibition of photocarcinogenesis by silymarin, a phytochemical from milk thistle (*Silybum marianum* L. Gaertn.) (Review). **Int J Oncol.**, v.36, p.1053–1060, 2010.

VARGHESE L. Silibinin efficacy against human hepatocellular carcinoma. **Clin Cancer Res.**, v.11, p.8441–8448, 2005.

VEENA, J., *et al.* Non-alcoholic fatty liver disease: need for a balanced nutritional source. **British J Nutr.** P. 1-15, 2014.

VELUSSI M., *et al.* Long-term (12 months) treatment with an antioxidant drug (silymarin) is effective on hyperinsulinemia, exogenous insulin need and malondialdehyde levels in cirrhotic diabetic patients. **Journal of Hepatology**, v.26, n.4, p. 871– 879, 1997.

VOINOVICH D., *et al.* Solid state mechanochemical activation of *Silybum marianum* dry extract with β -cyclodextrins: Characterization and bioavailability of the coground systems. **J Pharm Sci.**, v. 98, p.4119–4129, 2009.

WAGONER J., *et al.* Multiple effects of silymarin on the hepatitis C virus lifecycle. **Hepatology**, v.51, n.6, p.1912-1921, 2010.

WAGONER J.; *et al.* Differential in vitro effects of intravenous versus oral formulations of silibinin on the HCV life cycle and inflammation. **PLoS ONE**, v.6, e16464, 2011.

WANG R. *et al.* Coexistence of non-alcoholic fatty liver disease with elevated alanine aminotransferase is associated with insulin resistance in young Han males. **Endocrine**, v.41,p. 70–75, 2012.

WEYHENMEYER R.; MASCHER, H.; BIRKMAYER, J. Study on dose-linearity of the pharmacokinetics of silibinin diastereomers using a new stereospecific assay. **Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.**, v.30,p.134-138,1992.

WREDE, C.E., *et al.* Association between serum ferritin and the insulin resistance syndrome in a representative population. **Eur. J. Endocrinol.**, v.154, p.333-340, 2006.

WU Y.T., WU S.B., WEI Y.H. Metabolic reprogramming of human cells in response to oxidative stress: Implications in the pathophysiology and therapy of mitochondrial diseases. **Curr. Pharm. Des.**, v.20, p.5510–5526, 2014.

WU, J.W., *et al.* Analysis of silibinin in rat plasma and bile for hepatobiliary excretion and oral bioavailability application. **J. Pharm. Biomed. Anal.**v.45, p.635-641,2007.

YONEDA M., *et al.* Serum ferritin is a clinical biomarker in Japanese patients with nonalcoholic steatohepatitis (NASH) independent of HFE gene mutation. **Dig Dis Sci.**, v.55, p.808-814, 2010.

YONEDA M. *et al.* Clinical usage of sérum ferritin to assess liver fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease: Proceed with caution. **Hepatology Research**, p. 1-4, 2014.

ZHANG B. *et al.* Anthocyanins from Chinese bayberry extract activate transcription factor Nrf2 in β cells and negatively regulate oxidative stress-induced autophagy. **J. Agric. Food Chem.**, v.61, p.8765–8772, 2013.

ZHAO J.; AGARWAL, R. Tissue distribution of silibinin, the major active constituent of silymarin, in mice and its association with enhancement of phase II enzymes: Implications in cancer chemoprevention. **Carcinogenesis**, v.20,p.2101-2108,1999.

ZI, X., & AGARWAL, R. Silibinin decreases prostatespecific antigen with cell growth inhibition via G1 arrest, leading to differentiation of prostate carcinoma cells: Implications for prostate cancer intervention. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.96, n.13, p.7490–7495, 1999.

ZI X, MUKHTAR H, AGARWAL R. Novel cancer chemopreventive effects of a flavonoid antioxidant silymarin: inhibition of mRNA expression of an endogenous tumor promoter TNF alpha. **Biochem Biophys Res Commun.**,v.239, p.334-339, 1997.

6. RESULTADOS DO PROJETO DE DISSERTAÇÃO

Os resultados desse projeto de pesquisa serão apresentados na forma de artigo científico intitulado **“Efeito da silimarina sobre indicadores bioquímicos em pacientes portadores de Doença Hepática: revisão sistemática com metanálise.”** que será submetido para revista científica.

PARTE 2. ARTIGO

Efeito da silimarina sobre indicadores bioquímicos em pacientes portadores de Doença Hepática: revisão sistemática com metanálise.

Camila Ribeiro de Avelar, Emile Miranda Pereira, Priscila Ribas de Farias Costa, Rosângela Passos de Jesus, Lucivalda Pereira Magalhães de Oliveira.

Resumo

INTRODUÇÃO: As doenças hepáticas mais frequentes são de natureza inflamatória as quais possuem etiologias e características variadas. *Silybum marianum* é uma das espécies de plantas mais pesquisadas como coadjuvante no tratamento de doenças hepáticas e parece melhorar indicadores bioquímicos relacionados a dano e progressão de doenças do fígado. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da silimarina sobre os níveis séricos de ALT, AST e γ GT em portadores de doenças hepáticas. **MÉTODOS:** Realizou-se uma revisão sistemática com metanálise de ensaios clínicos aleatorizados e controlados que avaliaram o efeito da silimarina em pacientes com doenças hepáticas, publicados até 31 de janeiro de 2016. **RESULTADOS:** Foram identificadas 10904 publicações, sendo incluídas 17 na revisão sistemática e 6 na metanálise. Nesta metanálise os resultados indicaram redução de 0,26UI/mL nos níveis de ALT e de 0,53UI/mL nos níveis séricos de AST após uso da silimarina, ambos estatisticamente significantes, mas sem relevância clínica. Não foi observada nenhuma alteração significativa nos níveis de γ GT. Os estudos avaliados apresentaram alto grau de heterogeneidade e baixa qualidade metodológica. **CONCLUSÃO:** Os resultados dessa metanálise demonstram que o uso da silimarina reduziu minimamente, mas sem relevância clínica, os níveis séricos de ALT e AST em pacientes com DHGNA. E é notória a necessidade da realização de novas publicações com desenhos metodológicos mais adequados, com atenção especial na realização das etapas de planejamento e execução dos ensaios clínicos.

Abstract

INTRODUCTION: The most frequent liver diseases are of inflammatory nature, which have different etiologies and characteristics. *Silybum marianum* is one of the most researched plant species as a coadjuvant in the treatment of liver disease and appears to improve biochemical indicators related to damage and progression of liver diseases. This article aims to evaluate the effect of silymarin on serum levels of ALT, AST and γ GT in patients with liver disease. **METHODS:** A systematic review with meta-analysis of randomized and controlled clinical trials evaluating the effect of silymarin in patients with liver disease, published by January, 31th 2016 was conducted. This study took into account the provisions of the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis: The PRISMA Statement. **RESULTS:** A total of 10904 publications were identified, including 17 in the systematic review and 6 in the meta-analysis. In this meta-analysis, some intervention studies have observed improvement in the biochemical and clinical indicators evaluated in patients with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), including hepatic steatosis and NASH, after the use of silymarin. The results indicated a reduction of 0.26 UI/mL in the levels of ALT and 0.53 UI/mL in the serum levels of AST after the use of silymarin, both statistically significant, but without clinical relevance. No significant change in γ GT levels was observed. There was also a high degree of heterogeneity and low methodological quality of the studies evaluated. **CONCLUSION:** The results of this meta-analysis show that the use of silymarin minimally reduced, but without clinical relevance, the serum levels of ALT and AST in patients with NAFLD. And it is notorious that new publications with better methodological designs are needed, with special attention being given to the planning and execution stages of clinical trials.

INTRODUÇÃO

As doenças hepáticas mais frequentes são de natureza inflamatória as quais possuem etiologias e características variadas. As causas mais comuns de doenças inflamatórias crônicas do fígado são as infecções virais (vírus da hepatite B e C), doenças autoimunes, doença alcoólica do fígado e DHGNA. Outras doenças também cursam com inflamação como doenças biliares crônicas, doenças metabólicas hereditárias e agressões hepáticas por substâncias hepatotóxicas¹. Méndez-Sánchez *et al.*² estimaram aproximadamente dois milhões de casos de doenças hepáticas crônicas para o ano de 2050.

O tratamento nutricional compõe uma etapa fundamental no tratamento clínico desses pacientes, bem como na minimização e/ou no adiamento da sintomatologia comum nessas doenças³ e a prescrição de fitoterápicos pode ser uma ferramenta complementar às estratégias alimentares convencionais⁴.

A silimarina faz parte do grupo dos flavonoides e é extraída da planta *Silybum marianum*, fitoterápico que vem sendo muito estudado em diversas desordens hepáticas. É composta por aproximadamente 50% de silibinina, que é considerada o componente biologicamente mais ativo da silimarina^{5,6}. *Silybum marianum* é uma das plantas mais utilizadas em doenças hepáticas, por ser considerada hepatoprotetora e tem sido bastante usada em portadores de cirrose, hepatites crônicas e doença hepática associada ao consumo de álcool e exposição a toxinas ambientais^{7,8,9}. Atualmente, é uma das ervas medicinais mais estudadas para o tratamento de Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica (DHGNA) e esteatohepatite (NASH) e o seu uso tem se mostrado seguro, bem tolerado, com limitados efeitos adversos também para esses grupos de pacientes^{10,11,12}.

A silimarina atua principalmente como antioxidante, reduzindo a produção de espécies reativas de oxigênio (EROS) e peroxidação lipídica, aumentando as concentrações endógenas de enzimas antioxidantes como glutatona peroxidase, glutatona redutase, superóxido dismutase e catalase^{13,14,15,16}. Exerce efeito anti-inflamatório significativo, principalmente pela inibição do fator de transcrição nuclear NFkB e conseqüentemente redução de citocinas inflamatórias no parênquima hepático, além da interação com proteínas kinases e redução da expressão (*downregulation*) da ciclooxigenase 2^{17,18}.

Atua também como imunomodulador e agente anti-fibrótico, devido à redução da ativação ou estímulo a apoptose das células estreladas hepáticas, ou aumentando a degradação dos depósitos de colágeno no parênquima hepático^{19,20,21}. Além disso, é considerada um hepatoprotetor pela capacidade de estabilizar as membranas celulares de hepatócitos, evitando a entrada de substâncias químicas tóxicas nessas células. A silimarina se liga a receptores presentes nessas membranas, inibindo a ligação de toxinas nesses sítios, reduzindo o dano hepatocelular induzido por fármacos^{22,23}. Também estimula a síntese e atividade de enzimas responsáveis pelo processo de biotransformação hepática, como glutathione S-transferase^{24,25}.

Estudos demonstram que a silimarina exerce efeito importante na redução dos níveis de alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) em doenças hepáticas, sendo considerada benéfica no tratamento desses pacientes^{22,26,27,28}.

Entretanto, é importante salientar que a maioria desses estudos apresentam variações metodológicas consideráveis, além de terem utilizado doses variadas com diferentes concentrações de silimarina e formulações diversas, o que dificulta uma análise comparativa dos trabalhos e um consenso sobre o uso clínico deste fitoterápico e seus efeitos sobre indicadores bioquímicos como as enzimas hepáticas. Dessa forma, o objetivo deste artigo é realizar uma revisão sistemática com metanálise sobre o efeito da silimarina nos níveis de ALT, AST e Gama glutamil transpeptidase (γ GT) em pacientes portadores de Doenças Hepáticas. A presente revisão sistemática pode ser considerada uma publicação útil para avaliar o real benefício da silimarina tão comumente prescrita e utilizada como coadjuvante no tratamento de doenças hepáticas.

METODOLOGIA

Identificação e seleção dos artigos

Trata-se de uma revisão sistemática com metanálise de ensaios clínicos aleatorizados e controlados que avaliaram o efeito da silimarina em pacientes portadores de doença hepática, publicados até 31 de janeiro de 2016. Esta revisão foi realizada levando em consideração as disposições do PRISMA (*Preferred*

Reposting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses)²⁹. Buscou-se ensaios clínicos aleatorizados e controlados nas bases de dados The Cochrane Central Register of Controlled Trails na Cochrane Library, Pubmed/Medline, Scopus, Web of Science, Lilacs e Clinical Trials. A pesquisa foi conduzida sem restrição de ano de publicação.

Utilizou-se os termos indexados “silybum marianum”, “milk thistle”, “silymarin”, “silybin”, “silibinin”, “silydianin”, “silychristin”, “cardus marianus”, “liver disease”, “chronic liver disease”, “end stage liver disease”, “drug-induced liver injury”, “Nonalcoholic fatty liver disease”, “fatty liver”, “alcoholic fatty liver”, “alcoholic liver disease”, “fibrosis”, “liver cirrhosis”, “nonalcoholic steatohepatitis”, “alcoholic steatohepatitis”, “alcoholic liver disease”, “hepatocellular carcinoma”, “viral liver disease”, “hepatitis B”, “hepatitis C”, “hemochromatosis”, “liver steatosis”, “alcoholic hepatitis” e “chronic hepatitis” nos idiomas inglês, português e espanhol. Todas essas palavras chaves foram combinadas utilizando os operadores booleanos “OR” e “AND” nas várias bases de dados. A construção da estratégia de busca levou em consideração a questão de pesquisa estruturada pelo acrônimo PICO, sendo definido apenas os termos para os componentes **P**opulação, **I**ntervenção e **C**ontrolado. Não foram definidos os termos para o “**O**” de desfecho para evitar atribuir especificidade não desejada nessa etapa de coleta dos dados³⁰.

A busca ativa dos artigos científicos foi realizada por dois revisores de forma independente e os desacordos identificados foram avaliados e discutidos por um terceiro avaliador. Foi realizado, pela dupla de revisores, um processo de avaliação da elegibilidade dos estudos por meio da etapa de triagem com leitura dos títulos e resumo. Posteriormente foi realizada a etapa de confirmação pela leitura do texto completo, identificando-se as duplicatas em todas as bases de dados descritas. Na etapa de confirmação, o motivo da exclusão de cada artigo foi registrado num formulário de fluxo de seleção dos artigos. As discordâncias entre os revisores, referentes a elegibilidade dos artigos, foram resolvidas pelo terceiro revisor.

Critérios de inclusão

Foram incluídos ensaios clínicos aleatorizados e controlados com pacientes adultos e idosos de ambos os sexos portadores de Doenças Hepáticas que realizaram suplementação com silimarina oral, na forma de extrato ou isolada, assim

como silimarina combinada com outros nutrientes. Incluiu-se estudos nos idiomas inglês, português e espanhol. Os ensaios deveriam disponibilizar informações sobre a intervenção tais como, doses e detalhamento do produto utilizado, bem como média e desvio padrão dos níveis séricos de ALT, AST e γ GT no *baseline* e ao final da intervenção.

Critérios de exclusão

Foram excluídos artigos que utilizaram medicamentos associados a silimarina, não disponibilizaram dados descritivos do grupo controle ou intervenção, utilizaram desenho de estudo crossover e também aqueles que após contato, não se obteve respostas dos autores para fornecimento de dados não disponíveis nos artigos. Estudos que utilizaram mediana e intervalo interquartil com medidas descritivas das variáveis desfecho não puderam ser incluídos na metanálise. *Trials* cujos acessos na íntegra não foram possíveis devido ao ano de publicação, ou por indisponibilidade *online* também foram excluídos.

Extração dos dados

Os artigos elegíveis foram analisados por dois revisores, de maneira independente. Para o processo de extração de dados, os artigos elegíveis foram lidos na íntegra e utilizou-se uma ficha padronizada para cada artigo, com todos os critérios de seleção estabelecidos. Os dados das variáveis no *baseline* e ao final da intervenção foram registrados em planilha no programa Excel®.

Avaliação da qualidade metodológica dos artigos

A qualidade metodológica dos artigos incluídos nesta revisão foi avaliada de acordo com *checklist* de Downs and Black³¹ adaptado. Esse *checklist* avalia critérios como descrição das informações nos estudos, itens para analisar validade externa itens referentes a participantes, intervenção e testes estatísticos, além da validade interna, fatores de confundimento e possíveis vieses de seleção e o poder dos estudos.

Os artigos foram avaliados com base nos seguintes critérios: (1) definição dos objetivos/hipótese; (2) descrição dos resultados; (3) caracterização dos participantes

incluídos no estudo; (4) descrição da exposição; (5) qualidade da descrição dos principais resultados; (6) relatos dos intervalos de confiança de 95% e/ou p valor para os principais desfechos; (7) representatividade dos indivíduos convidados a participar do estudo; (8) representatividade dos indivíduos incluídos na investigação; (9) clareza se algum dos estudos foi baseado em *post hoc*; (10) uso apropriado de testes estatísticos utilizados para avaliar os principais resultados; (11) validade e confiabilidade das medidas dos principais desfechos; (12) se a análise estatística inclui ajuste adequado para as principais variáveis de confusão.

Os ensaios clínicos também foram avaliados de acordo com os seguintes itens: (1) as informações sobre as características da perda de seguimento; (2) análise ajustada para diferentes tempos de seguimento; (3) se os participantes dos grupos de intervenção e controle foram recrutados da mesma população; (4) se os participantes dos grupos intervenção e controle foram recrutados no mesmo período de tempo; (5) relato de cegamento da intervenção para participantes e avaliadores; e (6) se as perdas de seguimento foram consideradas.

Para avaliar a qualidade estabeleceu-se resposta dicotômica “sim” com pontuação 1 ou “não” com pontuação 0 para cada item do *checklist*. Ao final foi realizado um somatório da pontuação e calculado percentual para cada publicação. Considerou-se como percentual de qualidade metodológica ideal valor igual ou superior a 80%, de acordo com Downs and Black³¹.

O risco de viés dos estudos foi avaliado de acordo com os critérios da Colaboração Cochrane para desenvolvimento de revisões sistemáticas de intervenção³². Não foi possível avaliar viés de publicação pelo gráfico *Funnel plot* e testar sua assimetria pelo teste de Egger's devido ao reduzido número de estudos incluídos.

Análise estatística

Para o processo de extração dos dados, os artigos elegíveis foram lidos na íntegra e utilizou-se uma ficha clínica padronizada para cada artigo, com todos os critérios de seleção estabelecidos. Os dados referentes às medidas descritivas das variáveis desfecho *no baseline* e ao final da intervenção foram registrados em planilha do Excel®.

A medida sumária utilizada nesta metanálise foi a diferença de médias padronizadas entre os grupos para cada indicador avaliado (ALT, AST e γ GT) e seus respectivos intervalos de confiança, que foram apresentados em gráficos *Forest plot*. Calculou-se a diferença de médias padronizadas globais usando modelo de efeitos aleatórios em função da elevada heterogeneidade dos estudos. O pressuposto da homogeneidade dos estudos foi testado por meio da extensão da heterogeneidade interpretado pela porcentagem total de variação entre os estudos analisados com a estatística I^2 (teste de inconsistência de Higgins). Esse teste de inconsistência maior que 50% foi usado como indicador de heterogeneidade moderada³³.

Também foram realizadas análises de subgrupos de acordo com tipo de intervenção (silimarina isolada ou silimarina associada a nutrientes) e tempo de intervenção (≥ 6 meses ou < 6 meses) para identificar possíveis diferenças. A heterogeneidade da metanálise foi avaliada por metaregressão e a influência das variáveis: tamanho da amostra, tempo de tratamento e tipo de intervenção foram testadas. Em todas as análises, foi considerado significativo um p valor inferior a 0,05.

A análise estatística foi realizada utilizando o programa de MAC STATA 12 (Stata Corp. College Station, TX, USA).

RESULTADOS

Seleção dos estudos

A busca eletrônica identificou 10.904 publicações, sendo excluídas 207 duplicatas e 10.413 artigos pela leitura do título e dos resumos, totalizando 284 estudos elegíveis para análise aprofundada. Foram excluídos 267 artigos devido a questões como: impossibilidade de acesso ao artigo na íntegra (n=68), não aleatorização (n=104), ensaios clínicos não controlados (n=80), desenho *crossover* (n=1), uso de silimarina intravenosa (n=4), população pediátrica (n= 1), intervenção associada a medicamentos (n=4), ausência de valores dos marcadores bioquímicos (AST, ALT e γ GT) após intervenção (n=2) e ausência de dados do grupo controle (n= 3). Assim, a revisão sistemática foi realizada com 17 publicações e destas, apenas 6 foram incluídas na metanálise (figura 1), uma vez que 5 delas usaram mediana

como medida descritiva e 6 tinham ausência de dados descritivos necessários à análise.

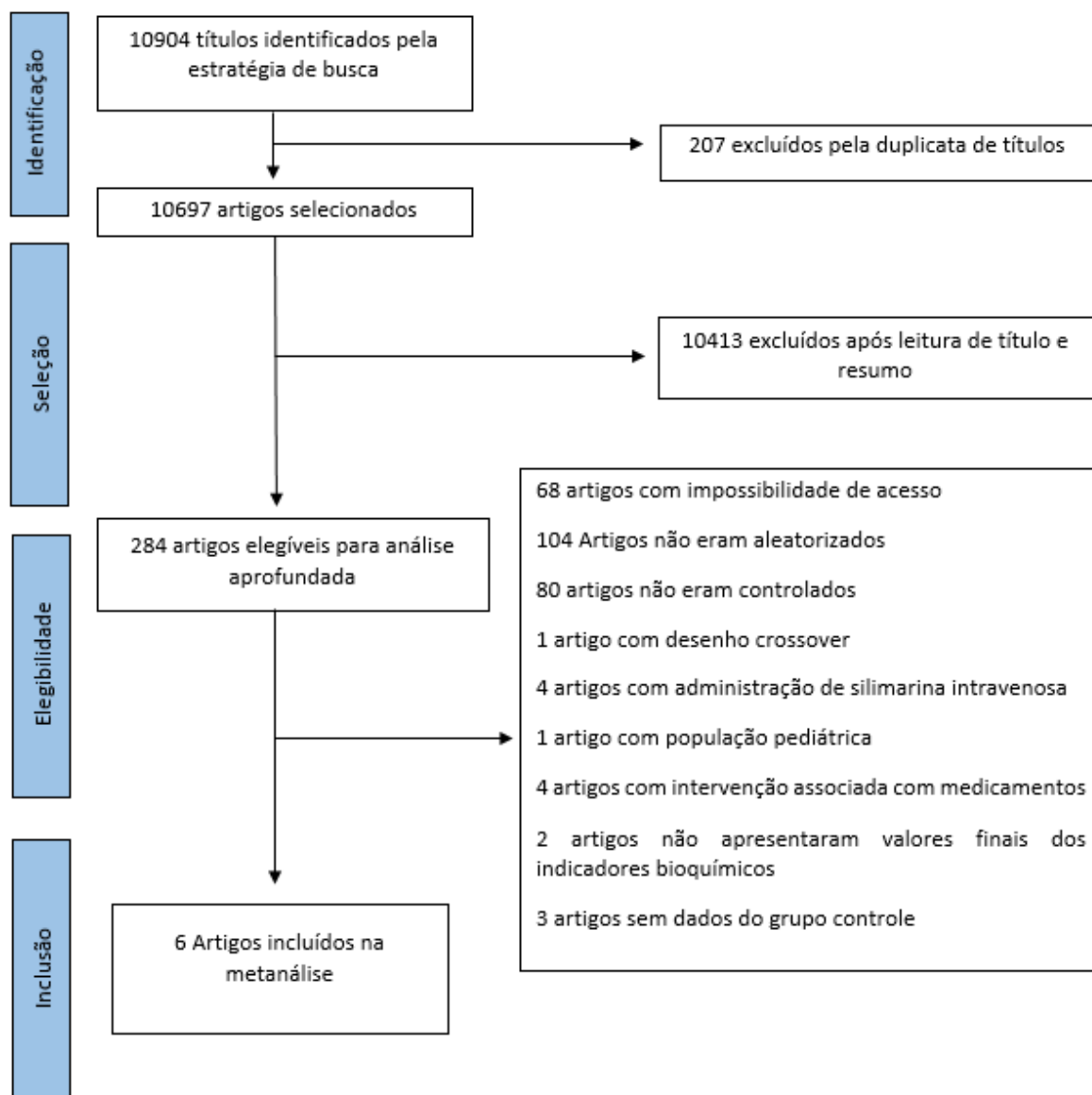


Figura 1: Fluxograma de seleção dos artigos incluídos na metanálise.

Características dos estudos

A tabela 1 apresenta as principais características dos estudos e pacientes incluídos na revisão sistemática. Sete estudos^{8,19,26,34,35,36,37} foram realizados na Europa, seis^{27,28,38,39,40,41} na Ásia, três^{42,43,44} na África e um na América⁴⁵ e o ano de publicação variou de 1994 a 2016. O tamanho amostral dos artigos variou de 30 a 370 indivíduos, totalizando 1558 adultos e idosos, de ambos os sexos. Os estudos

avaliaram injúria hepática induzida por drogas^{8,40,41}, portadores do vírus C^{43,44,45}, indivíduos com hepatite aguda⁴² e DHGNA, sendo que destes estudos, três^{28,38,39} artigos incluíram pacientes com diagnóstico de NASH e um³⁵ avaliou indivíduos com DHGNA e Síndrome Metabólica (SM), sendo um artigo piloto¹⁹. O trabalho de Loguercio *et al.*¹⁹ apresentava um subgrupo com pacientes portadores do vírus da hepatite C, mas optou-se por não incluir este subgrupo nas análises, por ser considerado inviável analisar esse pequeno número de pacientes. A duração do *follow up* (seguimento) variou de 4 semanas a 12 meses, a dose de silimarina oral utilizada foi de 210mg a 700mg e frequência de ingestão de duas a cinco vezes ao dia. Quatro trabalhos^{8,39,40,45} relataram cegamento, descrevendo desenho metodológico como duplo-cego. Doze estudos^{8,26,27,28,38,39,40,41,42,43,44,45} utilizaram apenas extrato seco de *Silybum marianum*, que contém a silimarina ou a silimarina isolada, dois^{34,35} utilizaram a silimarina associada a vitamina E e três^{19,36,37} estudos usaram silibina com vitamina E e fosfatidilcolina. Todos artigos avaliaram ALT, entretanto o estudo de Velussi *et al.*²⁶ só avaliou enzimas hepáticas no *baseline*, quatro^{16,45,43,44} não avaliaram AST e oito^{28,27,29,36,39,42,43,44} não avaliaram γ GT. Seis^{26,27,28,39,36,37} estudos não relataram dados sobre efeitos adversos, seis^{8,19,34,35,41,45} não identificaram nenhum desses efeitos, quatro^{40,41,42,43} realizaram avaliação específica e apenas um³⁹ descreveu que eventos adversos graves não foram observados e que efeitos colaterais foram similares em frequência e incomuns em ambos os grupos avaliados.

Tabela 1: Sumário das características dos ensaios clínicos

ESTUDO	ANO	ORIGEM	POPULAÇÃO	DOSE SILIMARINA	INTEVENÇÃO	CRITERIOS DE INCLUSAO	FOLLOW UP	DESFECHOS
Loguercio et al.¹⁹	2007	Itália	59 pacientes adultos com DHGNA	4 x 94 mg silibina +194 mg de fosfatidilcolina + 90mg de vitamina E (Reasil®) ao dia	Silimarina Controle não tratados (dieta + atividade física)	DHGNA sem doença crônica do fígado	6 meses e 12 meses	ALT, γ GT, insulina e HOMA
Hashemi et al.³⁸	2009	Iran	100 pacientes adultos com DHGNA (NASH)	2 x 140mg de silimarina (Livergol®) ao dia	Silimarina Controle	USG evidenciando esteatose, elevação de ALT em mais de 1,2 do valor normal, exclusão de doenças cônicas do fígado, evidência histológica de NASH ou presença de fator de risco como DM ou obesidade	6 meses	ALT, AST, γ GT, FA, Glicemia, triglicérides e colesterol
Massodi et al.³⁹	2013	Iran	100 pacientes adultos com DHGNA (NASH)	2 x silimarina com 140 mg ao dia	Silimarina Controle	NASH confirmada por USG e níveis elevados de AST e ALT	3 meses	AST e ALT
Solhi et al.²⁸	2014	Iran	64 pacientes adultos com DHGNA (NASH)	3x 70mg de silimarina (Livergol®) ao dia	Silimarina Controle	NASH confirmada por USG abdominal e elevação persistente de AST e ALT mais de 1,2 acima do valor normal nos últimos 6 meses	8 semanas	ALT e AST
Aller et al.³⁴	2015	Espanha	36 pacientes adultos com DHGNA	2 x <i>Silybum marianum</i> 540,3mg + vitamina E – 36mg (Eurosil 85®) ao dia	Silimarina Controle não tratados (dieta + atividade física)	DHGNA confirmada por biópsia hepática	3 meses	Glicemia, triglicérides, AST, ALT, γ GT e HOMA IR
Sorrentino et al.³⁵	2015	Itália	78 adultos com SM e DHGNA	2 x silimarina 210mg+ 30UI vitamina E (Eurosil 85®) ao dia	Silimarina Controle não tratados (dieta)	SM e DHGNA confirmada por USG	3 meses	Esteatose hepática, índice de acúmulo de lipídeos, ALT, AST, γ GT, Triglicérides, colesterol, LDL, HDL, Hb glicada e Glicemia

Continuação. **Tabela 1:** Sumário das características dos ensaios clínicos

ESTUDO	ANO	ORIGEM	POPULAÇÃO	DOSE SILIMARINA	INTEVENÇÃO	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	FOLLOW UP	DESFECHOS
Abenavoli <i>et al</i> ⁶⁸	2015	Itália	30 adultos caucasianos com sobrepeso e DHGNA	2x Silibina 94mg+fosfatidilcolina 194mg + vitamina E 89,28mg ao dia	Grupo A:Dieta hipoclorica Grupo B:Dieta +silimarina Grupo C: controle	Sobrepeso e DHGNA confirmada por USG	6 meses	IMC, peso, circunferência da cintura, pressão arterial, AST, ALT, γ GT, bilirrubina, glicemia, HOMA-IR, insulina, Triglicérides, colesterol total, HDL, LDL, creatinina, azotemia, índice de esteatose hepática
Luangchosi <i>ri et al</i> ⁶⁰	2015	Tailândia	55 adultos e idosos com tuberculose pulmonar	3x silimarina 140mg ao dia	Silimarina Controle	Diagnóstico de tuberculose pulmonar, >18 anos, tratamento com drogas anti-tuberculose	4 semanas	ALT, AST, fosfatase alcalina, γ GT, proteínas totais, albumina, bilirrubinas, SOD, glutatona, malonildialdeído, risco de injúria hepática por droga anti-tuberculose, eventos adversos
El-Kamary <i>et al</i> ⁴²	2009	Egito	105 adultos com hepatite aguda de etiologias variadas	3x silimarina 140mg ao dia (Legalon®)	Silimarina Controle (polivitaminico)	ALT>100UI/L com icterícia e 3 ou mais sintomas de hepatite aguda	8 semanas	ALT, AST, bilirrubinas, sintomas de hepatite aguda, eventos adversos
Fried <i>et al</i> ⁴⁶	2012	EUA	154 adultos com HCV	5 x silimarina 140mg ao dia (Legalon®) – 700mg 3x silimarina 140mg ao dia (Legalon®) – 420mg	Grupo1:silimarina 420mg Grupo2:silimarina 700mg Grupo3: controle	HCV e ALT>65U/L ou pacientes sem sucesso na terapia com interferon	24 semanas	ALT, RNA HCV
Hajaghama <i>hammad et al</i> ⁶⁷	2008	Iran	50 adultos com DHGNA	1x 140mg de silimarina (Livergol®) ao dia		DHGNA confirmada por USG e níveis elevados de ALT e AST.	2 meses	Peso, IMC, AST, ALT

Continuação. **Tabela 1:** Sumário das características dos ensaios clínicos

ESTUDO	ANO	ORIGEM	POPULAÇÃO	DOSE SILIMARINA	INTEVENÇÃO	CRITERIOS DE INCLUSAO	FOLLOW UP	DESFECHOS
<i>Stiuso et al</i> ³⁷	2014	Itália	30 adultos com NASH	2 x 94 mg silibina +194 mg de fosfatidilcolina + 89,28mg de vitamina E (Reasil®) ao dia	Silimarina Controle	NASH confirmada histologicamente	12 meses	Níveis de substâncias que reagem com ácido tiobarbitúrico, óxido nítrico, SOD, catalase, IMC, glicemia, insulina, HOMA, AST, ALT, γ GT, escore para DHGNA
<i>Velussi et al</i> ²⁶	1997	Itália	60 adultos e idosos diabéticos com cirrose alcoólica	600mg silimarina ao dia	Silimarina Controle	Diabéticos tratados com insulina com cirrose alcoólica (biópsia), idade entre 45 e 70 anos	12 meses	Glicemia, glicemia pós-prandial, hemoglobina glicada e malonildialdeído
<i>Yakoot et al</i> ⁴³	2012	Egito	66 pacientes adultos e idosos com HCV genótipo 4	3x silimarina 140mg ao dia	Grupo1:espirulina 500mg Grupo2: silimarina Grupo3:controle	HCV genótipo 4, enzimas hepáticas elevadas, virgem de terapia antiviral	6 meses	Resposta virológica, ALT, escore de qualidade de vida, eventos adversos
<i>Zhang et al</i> ⁴¹	2015	China	370 pacientes adultos com tuberculose em terapia anti-tuberculose	2x <i>S. marianum</i> 200mg	Silimarina Controle	>12 anos com tuberculose e em terapia anti-tuberculose	8 semanas	ALT, AST, bilirrubinas, γ GT, fosfatase alcalina
<i>Tanamly et al</i> ⁴⁴	2004	Egito	141adultos e idosos com HCV	3x silimarina 140mg ao dia (Legalon®)	Silimarina Controle(polivitaminico)	HCV	12 meses	RNA HCV, ALT, fibrose, eventos adversos
<i>Palasciano et al</i> ⁶	1994	Itália	60 mulheres adultas em uso de drogas psicóticas	2x 400mg silimarina ao dia	Grupo1A:drogas +silimarina Grupo1B: drogas+controle Grupo2A:sem drogas e com silimarina Grupo2B: sem drogas e com controle	Mulheres entre 40 e 60 anos, tratados com fenotiazinas e/ou butifenonas por pelo menos 5 anos, AST ou ALT com valores 2x acima do normal	3 meses	AST, ALT, γ GT, malonildialdeído, bilirrubinas

Avaliação da qualidade metodológica dos estudos incluídos na metanálise

Dentre os 6 estudos incluídos nesta metanálise apenas um³⁹ foi duplo-cego e relatava o método de aleatorização utilizado. Não foram descritas análises de intenção de tratamento nos estudos avaliados. Apenas um estudo³⁹ apresentou adequação metodológica (92,5%), superior, portanto, a 80% conforme pontuação do *checklist* adaptado de Downs and Black³¹. As principais limitações observadas nos estudos foram: (1) ausência na descrição da caracterização dos participantes com perda de seguimento^{19,34,35}; (2) falta de relato do cegamento para intervenção dos participantes e avaliadores^{19,28,34,35,38}; (3) não houve realização de análises ajustadas para diferentes tempos de seguimento^{19,25,28,34,35,38}; (4) a randomização não foi oculta para pacientes e equipe até recrutamento completo^{19,28,34,35,38}; e (5) ausência de ajustes adequados para fatores de confusão nas análises das quais os principais achados foram retirados^{19,28,34,35,38,39}.

Análise de Risco de Viés

Não foram realizadas análises do gráfico de funil (*funel plot*) e do teste de Egger pois estas são recomendadas para metanálises com pelo menos 10 estudos, não sendo indicado para este trabalho³².

Realizou-se uma avaliação do risco de viés de ensaios clínicos randomizados de acordo com os critérios da Colaboração Cochrane³² para desenvolvimento de revisões sistemáticas de intervenção (figura 1). Observou-se alto de risco de viés em relação ao cegamento dos participantes e pesquisador, uma vez que apenas um estudo era duplo cego³⁹, além disso, relatos sobre a alocação, cegamento da avaliação dos resultados e outros vieses potenciais não ficaram bem esclarecidos nos estudos avaliados. Observou-se baixo risco de viés para informações seletivas^{28,38,39} e sobre geração de sequencia aleatória em metade dos estudos analisados^{28,34,39} (figura 1). Apenas os estudos de Massodi *et al.*³⁹ e Solhi *et al.*²⁸, apresentaram metade dos itens avaliados como baixo risco para viés (figura 1).

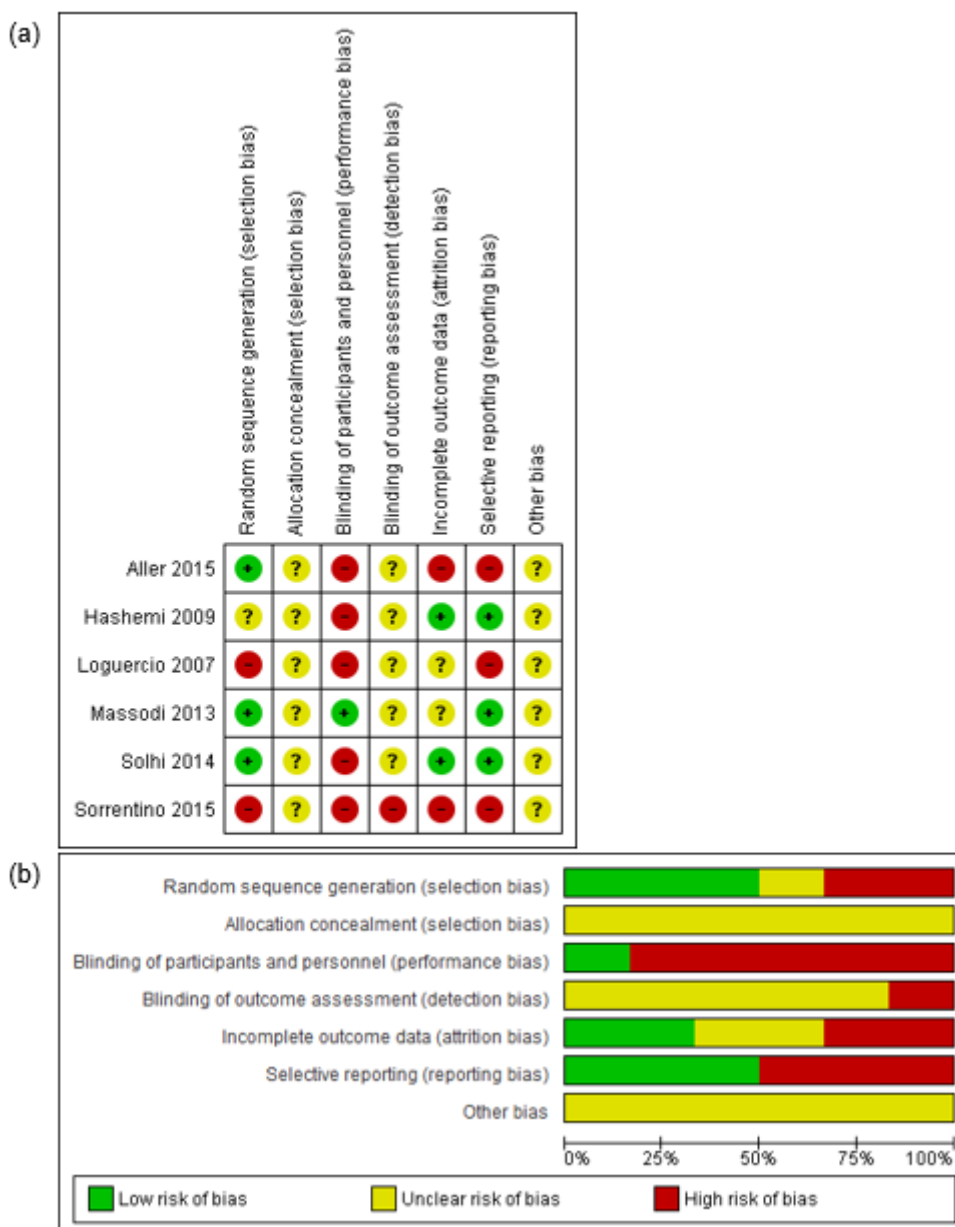


Figura 2: Avaliação do risco de viés. (a) Sumário do risco de viés: revisão da avaliação dos autores sobre cada item do risco de viés para cada estudo incluído. (b) Gráfico do risco de viés: revisão da avaliação dos autores sobre cada item do risco de viés apresentados em % para todos os estudos incluídos.

Resultados da Metanálise

Os resultados da metanálise estão apresentados na tabela 2, figura 3a, 3b, 3c e 4a, 4b e 4c. Esta metanálise incluiu um total de 437 indivíduos. Todos os artigos avaliaram níveis de ALT, um¹⁹ trabalho não tinha mensurações dos níveis de AST e apenas três^{19,34,35} tinham dosagens de γ GT. Os trabalhos incluídos avaliaram apenas

pacientes portadores de DHGNA e as publicações que avaliaram outras doenças hepáticas foram excluídas naturalmente nas etapas de triagem e confirmação dos artigos elegíveis. Entretanto, o trabalho de Loguercio *et al.*¹⁹ apresentava um subgrupo com pacientes portadores de VHC, mas optou-se por não incluir estes pacientes nessa metanálise. Nos grupos tratados com silimarina quatro estudos^{19,28,38,39} observaram redução significativa dos níveis séricos de ALT, três^{28,38,39} demonstraram redução significativa de AST e apenas um¹⁹ observou diminuição significativa dos níveis séricos de γ GT.

Assim, quando comparados os grupos intervenção com os grupos controle de todos os estudos incluídos na metanálise, observou-se uma redução de 0,26UI/mL (IC 95%: -0.46, -0.07) na média dos valores séricos de ALT do grupo tratamento, quando comparado ao grupo controle (figura 3a) e, redução de 0.53UI/mL (IC 95%: -0.74, -0.32) na média dos valores séricos de AST do grupo tratado, comparando-se ao grupo controle (figura 3b), sendo ambas estatisticamente significativas. Nenhuma alteração significativa nos níveis de Gama γ GT foi identificada (figura 3c).

Foi realizada ainda uma análise de subgrupos para identificar possíveis diferenças em relação a características da intervenção. Considerou-se como subgrupos diferentes os estudos que realizaram intervenção com silimarina isolada^{28,38,39} ou silimarina associada a outros nutrientes^{19,34,35}, assim como os estudos que apresentaram tempo de seguimento (*follow up*) diferentes (igual ou superior a 6 meses e menor que 6 meses) tanto para os níveis séricos de ALT como AST (figura 4a, 4b e 4c). Não foi possível considerar esses subgrupos para avaliação de γ GT e para os níveis de AST referentes ao tempo de intervenção devido ao número insuficiente de estudos para possibilitar a realização dessas análises.

Ao comparar grupo controle e tratamento, identificou-se uma tendência de redução de 0.59UI/mL (IC 95%:-0.83, -0.34) na média dos valores séricos de ALT dos indivíduos tratados apenas com silimarina e de 0.23UI/mL nesse mesmo marcador (IC 95%:-0.08, 0.53), naqueles tratados com silimarina associada a outros nutrientes. No entanto, não houve significância estatística (figura 4a). Não sendo observada, portanto, diferenças significantes quanto a essas formas de intervenção (silimarina isolada ou associada).

A análise da média dos valores séricos de AST demonstrou redução de 0.86UI/mL (IC 95%:-1.12, -0.61; $p=0.003$) nos indivíduos tratados apenas com silimarina isolada (figura 4b). Esses resultados também não apresentaram

diferenças significativas entre os tipos de intervenção, semelhante a análise referente aos níveis de ALT. Da mesma forma, a avaliação dos subgrupos de tempo de intervenção e níveis de ALT não apresentaram diferenças significativas entre si (figura 4c).

Tabela 2: Resultados dos estudos selecionados para metanálise.

ESTUDO	INDICADORES UTILIZADOS	RESULTADOS
Loguercio et al., 2007¹⁹	ALT, γ GT	Não houve nenhum evento adverso em ambos os grupos. Grupo intervenção apresentou redução significativa da esteatose hepática no score da ultrassonografia (mudança de 2-3 para 1-2) após 6 e 12 meses ($p<0,01$). Redução significativa de ALT e γ GT após 6 e 12 meses apenas no grupo intervenção ($p<0,01$). Tratamento afetou os níveis de ALT e Gama GT independente de mudanças no IMC dos participantes. Não foram avaliados dados do grupo com portadores de VHC.
Hashemi et al., 2009²⁸	ALT, AST	Houve redução significativa nas médias dos níveis de ALT apenas no grupo intervenção (113,54 vs 73,14UI/mL) ($p<0,001$). O % de pacientes com normalização (ALT<40) foi de 32% após 3meses e 52% após 6meses no grupo intervenção e a diferença nesses % entre grupo controle e intervenção foi significativa ($p=0,001$). Também houve redução significativa nas médias de AST apenas no grupo intervenção (71,42 vs 49,66 UI/mL) ($p=0,006$). O % de pacientes com normalização (AST<40) foi 46% após 3meses e 62% após 6meses no grupo intervenção e a diferença nesses % entre grupo controle e intervenção também foi significativa ($p=0,0001$).
Massodi et al., 2013³⁰	ALT, AST	Não houve nenhum evento adverso grave e os efeitos colaterais foram similares em frequência e incomuns em ambos os grupos. Houve redução significativa nas médias dos níveis de ALT apenas no grupo intervenção (84,06 vs 68,54UI/mL) ($p<0,001$) e nas médias dos níveis de AST também apenas no grupo intervenção (71,94 vs 54,70UI/mL) ($p<0,001$).
Solhi et al., 2014²⁵	ALT, AST	Houve diferença significativa nas médias dos níveis de ALT apenas no grupo intervenção (91,3 vs 38,4UI/mL) ($p=0,026$) e nos níveis de AST também apenas no grupo intervenção (62,8 vs 30,5UI/mL) ($p=0,038$).
Aller et al., 2015²⁹	ALT, AST, γ GT	Não houve eventos adversos nos dois grupos. Houve melhora significativa no score de fibrose em ambos os grupos ($p<0,05$). Houve diferença significativa na redução da média dos níveis de γ GT (81,5 vs 46,2UI/L) ($p<0,05$) no grupo intervenção e também no grupo controle (80,5 vs 50,3UI/L) ($p<0,05$). Houve redução significativa apenas na média dos níveis de ALT (70,8 vs 54,7UI/L) ($p<0,05$) e AST (41,6 vs 36UI/L) ($p<0,05$) no grupo controle.
Sorrentino et al., 2015³¹	ALT, AST, γ GT	Não foram relatados eventos adversos em ambos os grupos. Níveis médios de ALT, AST e γ GT estavam dentro do limite da normalidade no <i>baseline</i> . Houve redução significativa apenas nas médias de medidas do tamanho do lobo direito do fígado pelo USG (17,24 vs -0,96cm) ($p=0,044$).

Estudo	Silimarina			Controle			Peso	Diferença de médias (95%IC)	Diferença de médias (95% IC)
	Média	DP	N	Média	DP	N			
Hashemi <i>et al.</i> , 2009	73.1	62.4	50	89.9	41.8	50	23.79%	-0,32 [-0.71, 0.08]	
Aller <i>et al.</i> , 2015	52.7	26.0	18	54.7	18.0	18	8.66%	-0,09 [-0.74, 0.56]	
Loguercio <i>et al.</i> , 2007	59.0	20.0	39	45.2	34.0	20	12.32%	0.54 [-0,01, 1.09]	
Solhi <i>et al.</i> , 2014	38.4	11.8	33	52.3	29.9	31	14.68%	-0.62 [-1.12, -0.12]	
Massodi <i>et al.</i> , 2013	68.5	5,5	50	73.3	5.6	50	22.02%	-0.86 [-1.27, -0.45]	
Sorrentino <i>et al.</i> , 2015	28.0	22.3	43	24.8	14.6	35	18.53%	0.17 [-0.28, 0.62]	
Total (95%IC)			233			204	100%	-0.26 [-0.46, -0.07]	

Heterogeneidade: $\chi^2=22.26$, g.l.=5 (p=0.000) $I^2=77.5\%$
 Teste DM=0 z=2.70 p=0.007

Figura 3a: Níveis de ALT

Estudo	Silimarina			Controle			Peso	Diferença de médias (95%IC)	Diferença de médias (95% IC)
	Média	DP	N	Média	DP	N			
Hashemi <i>et al.</i> , 2009	49.7	33.3	50	66.2	27.4	50	27.66%	-0.55 [-0.95, -0.15]	
Aller <i>et al.</i> , 2015	41.6	20.0	18	36.0	11.8	18	10.18%	0.34 [-0.32, 1.00]	
Solhi <i>et al.</i> , 2014	30.5	8.2	33	36.2	12.4	31	17.69%	-0.55 [-1.05, -0.05]	
Massodi <i>et al.</i> , 2013	54.7	5.5	50	61.6	3.4	50	22.32%	-1.50 [-1.94, -1.05]	
Sorrentino <i>et al.</i> , 2015	22.5	12.4	43	21.4	11.3	35	22.15%	0.09 [-0.35, 0.54]	
Total (95%IC)			194			184	100%	-0.53 [-0.74, -0.32]	

Heterogeneidade: $\chi^2=32.50$, g.l.=4 (p=0.000) $I^2=87.7\%$
 Teste DM=0 z=4.93 p=0.000

Figura 3b: Níveis de AST

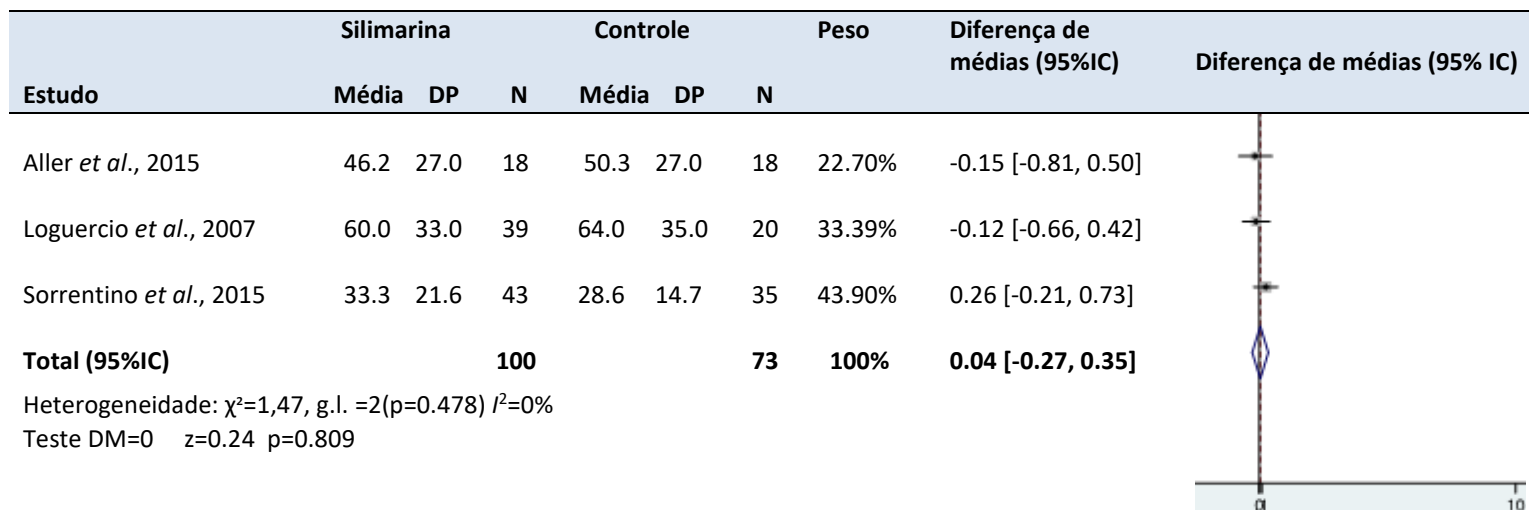


Figura 3c: Níveis de γ GT

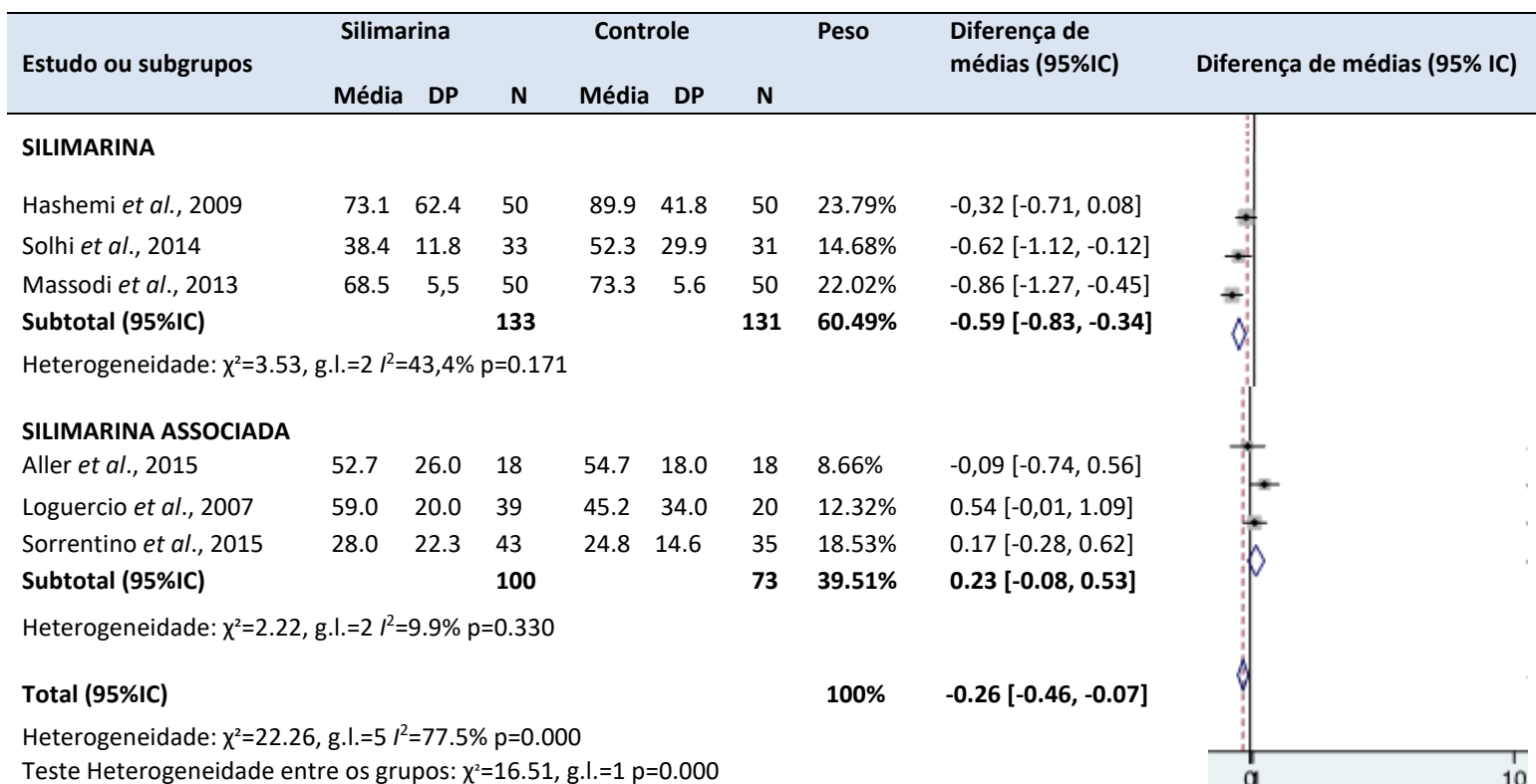


Figura 4a: Níveis de ALT segundo tipo de produto utilizado na intervenção.

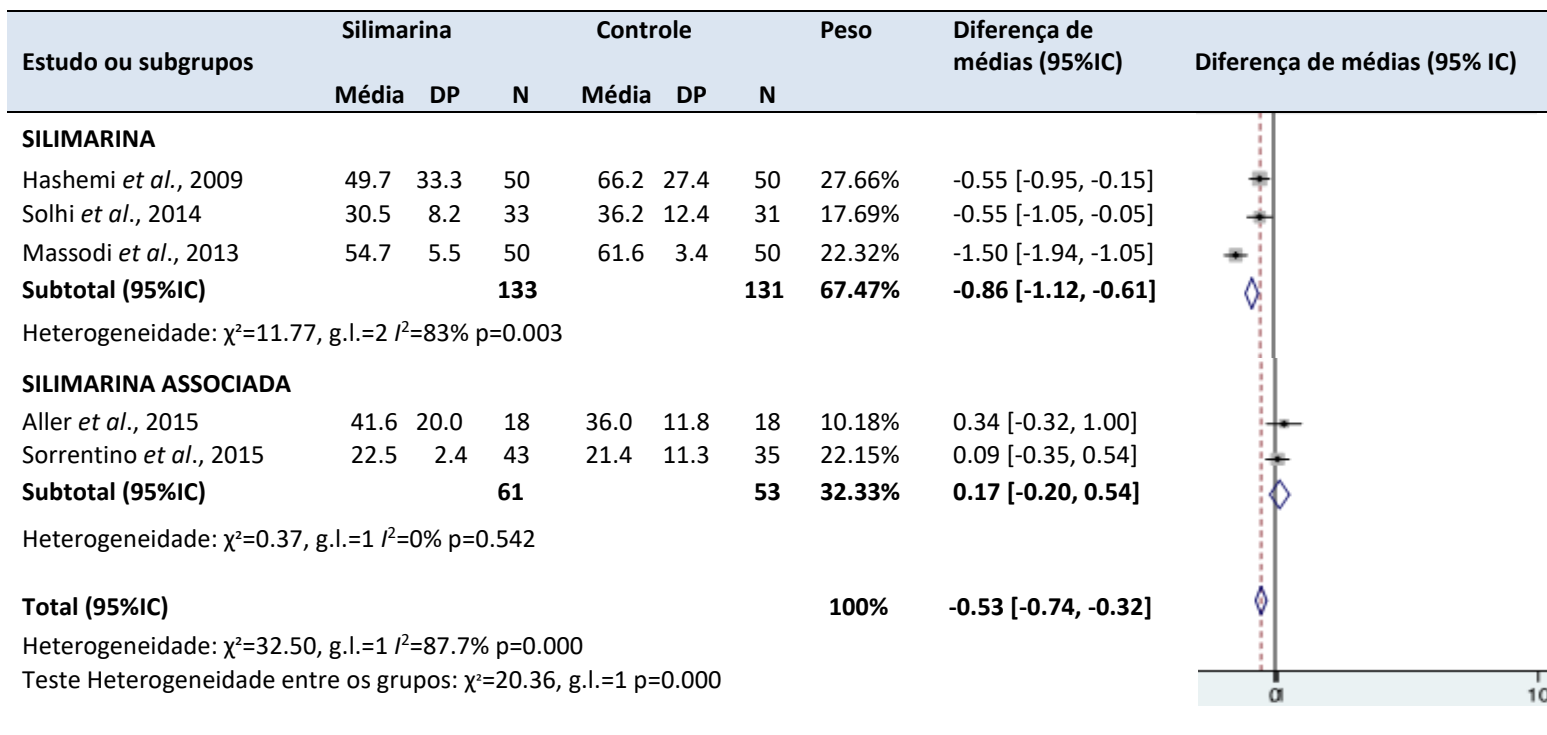


Figura 4b: Níveis de AST segundo tipo de produto utilizado na intervenção.

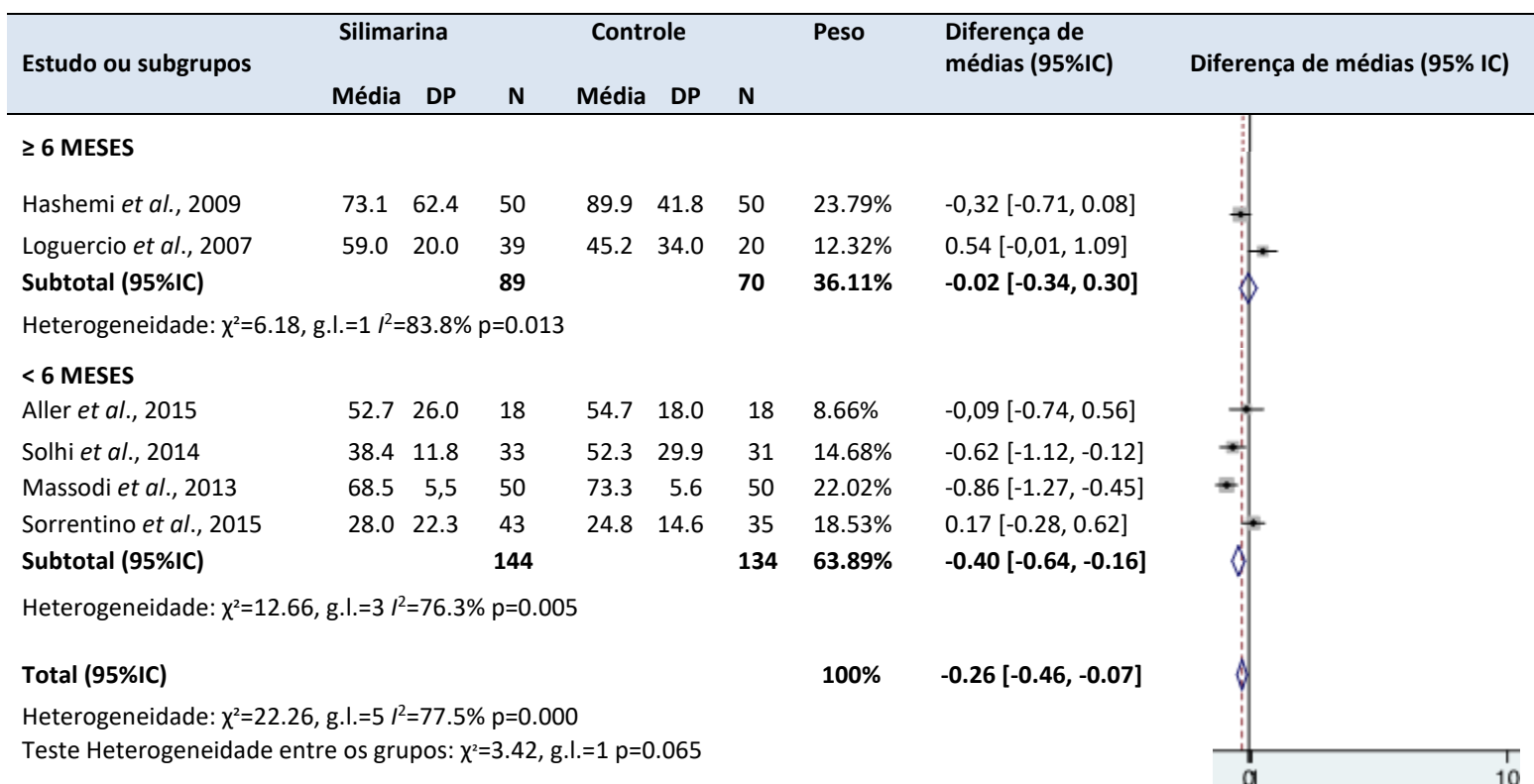


Figura 4c: Níveis de ALT segundo tempo de intervenção.

Heterogeneidade e meta-regressão

A presente análise observou que os estudos avaliados apresentaram alto grau de heterogeneidade, com teste de inconsistência (I^2) maior que 50%. Foram realizadas duas meta-regressões uma tendo a ALT como desfecho e outra para a AST. Não foi possível realizar meta-regressão para γ GT, considerando-se o reduzido número de estudos. Na primeira meta-regressão, constatou-se que o tamanho da amostra ($p=0,901$), o tempo de tratamento ($p=0,233$) e tipo de intervenção (silimarina isolada e silimarina associada) ($p=0,143$) não explicaram a heterogeneidade entre os estudos. Da mesma forma, na segunda meta-regressão verificou-se que o tamanho da amostra ($p=0,941$), o tempo de tratamento ($p=0,163$) e tipo de intervenção ($p=0,089$) também não conseguiram explicar a heterogeneidade dos estudos (dados não apresentados em tabelas).

DISCUSSÃO

Nesta revisão, alguns estudos de intervenção observaram melhora dos indicadores bioquímicos e clínicos avaliados em pacientes portadores de doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA), incluindo esteatose hepática e NASH, após uso de silimarina. Apesar dos resultados da metanálise indicarem que o uso de silimarina está associado a redução dos níveis séricos de ALT e AST, os valores encontrados não apresentam relevância clínica. Os estudos^{19,34,35,39} também mostraram limitados efeitos adversos e boa tolerância ao uso da silimarina como relatado em outros trabalhos^{10,11,12}.

Alguns estudos relatam que a silimarina é capaz de melhorar indicadores bioquímicos em pacientes portadores de doenças hepáticas de etiologias diversas^{40,46,47,48,49,50}, além da redução dos níveis de ALT e AST serem comumente descritas em outros estudos^{48,49,51,52}. A hipótese descrita pelos pesquisadores é que as propriedades antioxidantes da silimarina são capazes de reduzir espécies reativas de oxigênio, inibindo, portanto, danos celulares⁵³. Além da melhora no sistema antioxidante, observado em estudos experimentais, devido ao aumento de enzimas como glutatona redutase, glutatona peroxidase, superóxido dismutase e catalase, todas com função antioxidante^{13,54,55} e de antioxidantes não enzimáticos, por meio da modulação de vias de fatores de transcrição gênica associadas^{56,57}. Por outro

lado, há relato de estudos similares que, apesar de demonstrarem diferenças nos valores desses indicadores, essas não foram estatisticamente significantes^{45,58}.

É importante ressaltar que existe um número reduzido de *trials* com metodologias rigorosas que considerem questões importantes como uso de produtos bem caracterizados, avaliação em doenças hepáticas específicas, tamanho amostral adequado, representatividade da população estudada, tempo de intervenção adequado e realização de análises estatísticas apropriadas. Esses fatores são bastante divergentes entre os estudos, o que pode interferir diretamente tanto nos resultados positivos, como nos achados controversos, representando uma importante limitação para conclusões sobre esse tema.

Identificou-se nesta metanálise que um ensaio clínico³⁵ que encontrou valores normais de ALT, AST e γ GT no baseline, achado que não surpreende, visto que alguns pacientes podem ser portadores de DHGNA e não apresentarem alterações nos níveis de enzimas hepáticas^{59,60,61}. Assim, no referido estudo³⁵ não houve relevância nos resultados desses marcadores após intervenção, uma vez que no baseline, os pacientes já não apresentavam alteração nestes marcadores. Verificou-se também que outro ensaio clínico³⁴ incluído nesta análise demonstrou redução significativa de γ GT no grupo controle e intervenção, devido provavelmente às diferenças do desenho metodológico utilizado. Neste estudo, ambos os grupos apresentavam prescrição de dieta hipocalórica e atividade física, o que provavelmente influenciou os parâmetros clínicos e bioquímicos dos pacientes com DHGNA.

Estudos tem associado níveis elevados de ALT ou a razão AST:ALT>1 em pacientes portadores de DHGNA com progressão da doença e presença de fibrose hepatocelular^{62,63,64}. Em várias publicações^{65,66,67} tem sido considerado a mudança de estilo de vida com intervenção dietética e prática de atividade física, como estratégias com impacto na melhora de marcadores e função hepática para indivíduos com DHGNA. Apesar disso, observou-se que ainda são necessários mais dados disponíveis na literatura referentes ao padrão de adesão desse perfil de pacientes à mudança de estilo de vida e orientações nutricionais fornecidas por profissionais da saúde. É importante considerar também, o crescente aumento da prevalência da DHGNA nos últimos anos, sendo inclusive considerada como problema de saúde pública mundial^{1,2,3}. Diante desse cenário, pesquisadores têm investigado estratégias terapêuticas coadjuvantes, como a fitoterapia, e considerado

o uso da silimarina como uma possibilidade para melhorar indicadores bioquímicos desses pacientes^{28,38,39}. Porém, os estudos disponíveis são de baixa qualidade metodológica, além dos resultados positivos encontrados não apresentarem relevância clínica, como encontrado nesta metanálise. Por isso, ainda não há evidências científicas suficientes para recomendação da silimarina como possibilidade de alternativas terapêuticas coadjuvantes para redução de indicadores bioquímicos em pacientes portadores de Doença Hepática.

Importante destacar que os testes de inconsistência realizado nesta metanálise, demonstraram que os estudos avaliados apresentaram alto grau de heterogeneidade, geralmente presente em metanálises envolvendo ensaios clínicos³⁰, principalmente quando se avalia temas tão específicos e que apresentam poucos estudos com desenhos metodológicos bem adequados, como é o caso da fitoterapia e especificamente, do uso da silimarina. Além disso, detalhamento da intervenção, cegamento, seleção e recrutamento da população e ausência de ajustes nas análises estatísticas podem ser fatores que interferem nos resultados finais, bem como o alto e médio risco de viés observados nos estudos.

Nesta metanálise, identificaram-se ensaios com amostras pequenas e, portanto, pouca representatividade da população, o que pode ter favorecido a elevada heterogeneidade, uma vez que estudos com amostras maiores fornecem maior precisão na associação. Ausência de análises referentes a intenção de tratar nos estudos também podem ser considerados fatores que interferiram nos resultados e conclusões finais. Outro fator metodológico relevante refere-se ao cegamento dos estudos avaliados, apenas um é duplo-cego, representando mais uma inconsistência dos trabalhos avaliados. Apesar da metaregressão realizada não ter identificado interferência do tamanho da amostra, tempo de tratamento e tipo de intervenção nos resultados, considera-se que esses resultados possam ter sofrido forte influência da baixa qualidade metodológica, observada em todos os estudos, de forma geral, conforme avaliação feita pelos métodos utilizados.

Em conclusão, os resultados dessa metanálise demonstram que o uso da silimarina reduziu minimamente, mas sem relevância clínica, os níveis séricos de ALT e AST em pacientes com doença hepática gordurosa não alcoólica. Apesar das reduções observadas não traduzirem uma relevância clínica, podem sinalizar para uma possível estratégia terapêutica adicional no controle de DHGNA. Ao se discutir

os dados encontrados, é importante considerar a grande variabilidade e fragilidade metodológica desses estudos, achado bastante comum em publicações que avaliam fitoterápicos. Portanto, percebe-se a necessidade da realização de novos estudos com desenhos metodológicos mais adequados, com atenção especial na realização das etapas de planejamento e execução dos ensaios clínicos. Isso proporcionará evidências científicas mais consolidadas, podendo contribuir para uma maior segurança na indicação ou não de doses de silimarina a serem prescritas pelos profissionais de saúde habilitados.

REFERÊNCIAS

1. Freitas, LAR.; Freitas, JR. Alterações Histológicas nas Doenças Crônicas do Fígado. In: Jesus, RP., Oliveira, LPM., Lyra, LGC. (Eds) *Nutrição e Hepatologia: abordagem terapêutica, clínica e cirúrgica*. Rio de Janeiro: rubbio, 2014. p. 1-17.
2. Méndez-Sánchez N, *et al.* Trends in liver disease prevalence in Mexico from 2005 to 2050 through mortality data. *Ann Hepatol.* 2005;4:52-55.
3. Roriz, AKC. *et al.* Avaliação e Diagnóstico Nutricionais das Doenças Crônicas do Fígado. In: JESUS, R.P., OLIVEIRA, L.P.M., LYRA, L.G.C. (Eds) *Nutrição e Hepatologia: abordagem terapêutica, clínica e cirúrgica*. Rio de Janeiro: rubbio, 2014. p. 93-112.
4. Passos, RP *et al.* Fitoterapia em Hepatologia. In: JESUS, R.P., OLIVEIRA, L.P.M., LYRA, L.G.C. (Eds) *Nutrição e Hepatologia: abordagem terapêutica, clínica e cirúrgica*. Rio de Janeiro: rubbio, 2014. p. 383-406.
5. Jacobs BP, Dennehy C, Ramirez G, Sapp J, Lawrence VA. Milk Thistle for the Treatment of Liver Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Am J Med* 2002; 113:506-15.
6. Schrieber SJ, Wen Z, Vourvahis M, Smith PC, Fried MW, Kashuba AD, *et al.* The Pharmacokinetics of Silymarin Is Altered in Patients With Hepatitis C Virus and Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Correlates with Plasma Caspase-3/7 Activity. *Drug Metabolism and Disposition* 2008;36(9):1909-16.
7. Tanasescu C, Petrea S, Baldescu R, Macarie E, Chiriloiu, Purice S. Use of the Romanian product silimarina in the treatment of chronic liver diseases. *Rev Roum Med.* 1988;26:311–22.
8. Palasciano G, Portincasa P, Palmieri V, Ciani D, Gianluigi V, Altomare E. The effect of silymarin on plasma levels of malon-dialdehyde in patients receiving longterm treatment with psychotropic drugs. *Curr Ther Res-Clin Exp.* 1994;55:537–45.

9. Pare´s A, Planas R, Torres M, Caballeria J, Viver JM, Acero D, et al. Effects of silymarin in alcoholic patients with cirrhosis of the liver: results of a controlled, double-blind, randomized and multicenter trial. *J Hepatol.* 1998;28:615–62.
10. Ramone F. Milk thistle. *Am. Fam. Phys* 2005;72(7):1285-88.
11. Saller R. An updated systematic review with meta analysis for the clinical evidence of silymarin. *Forsch Komplementmed* 2008;15:9-20.
12. Milosevic N, Lilanovic´M., Abenavoli L, Milic´N. Phytotherapy and NAFLD – from Goals and Challenges to Clinical Practice. *Reviews on Recent clinical Trials.* 2014;9(3):195-203.
13. Fehér J, Lang I, Nekam K, Muzes G, Déak G. Effect of free radical scavengers on superoxide dismutase (SOD) enzyme in patients with alcoholic cirrhosis. *Acta Med Hung* 1988;45(3-4): 265–76.
14. Muriel P, Mourelle M. Prevention by silymarin of membrane alterations in acute CCL4 liver damage. *J. Appl. Tox* 2006;10: 275-79.
15. Mourelle M, Muriel P, Favari L, Franco T. Prevention of CCl4-induced liver cirrhosis by silymarin. *Fundam Clin Pharmacol* 1989;3(3):183–91.
16. Pradhan SC, Girish C. Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine. *Indian J. Med. Res* 2006;124:491-504.
17. Köksal E, Gülçin I, Beyza S, Sarikaya O, Bursal E. In vitro antioxidant activity of silymarin. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem* 2009;24:395-405.
18. Dehmlow C, Erhard J, de Groot H. Inhibition of Kupffer cell functions as an explanation for the hepatoprotective properties of silibinin. *Hepatology* 1996; 23: 749-54.
19. Loguercio C, Federico A, Trappoliere M, Tuccillo C, de Sio I, Di Leva A, et al. The effect of a Silybin-vitamina E-phospholipid complexo n Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Pilot Study. *Dig Dis Sci* 2007; 52:2387-95.
20. Abenavoli L, Capasso R, Milic N, Capasso F. Milk thistle in liver diseases: past, present, future. *Phytother Res* 2010; 24:1423–32.
21. Abenavoli L. Role of silymarin to treat fibrosis development in non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatology Research* 2011;41(7):668.
22. Salamone, F. Silibinin modulates lipid homeostasis and inhibits nuclear factor kappa B activation in experimental nonalcoholic steatohepatitis. *Translational Research* 2012;159(6):477-86.
23. Tuchweber B, Sieck R, Trost W. Prevention of silybin of phalloidininduced acute hepatotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1979;51:265–75.

24. Faulstich H, Jahn W, Wieland T. Silybin inhibition of amatoxin uptake in the perfused rat liver. *Arzneimittelforschung*. 1980;30:452–454.
25. Mateen, S.; Raina, K.; Agarwal, R. Chemopreventive and anti-cancer efficacy of silibinin against growth and progression of lung cancer. *Nutr. Cancer*. 2013; 65: 3–11
26. Velussi M. Long-term (12 months) treatment with an anti-oxidant drug (silymarin) is effective on hyperinsulinemia, exogenous insulin need and malondialdehyde levels in cirrhotic diabetic patients. *J. Hepatol* 1997;26:871-79.
27. Hajaghamohammadi AA, Ziaee A, Raflei R. The efficacy of silymarin in decreasing transaminase activities in nonalcoholic fatty liver disease. A randomized controlled clinical trial. *Hepat Mon* 2008;8:191-95.
28. Solhi H, Ghahremani R, Kazemifar AM, Yazdi ZH. Silymarin in treatment of non-alcoholic steatohepatitis: A randomized clinical trial. *Caspian J Intern Med* 2014;5(1):9-12.
29. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, Prisma Group. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *Annals Intern Med* 2009;151(4):264-69.
30. Ministério de Saúde. Diretrizes metodológicas: elaboração de revisão sistêmica e metáanálise de ensaios clínicos randomizado (2012). URL http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diretrizes_metodologicas_elaboracao_sistematica.pdf (Acesso fevereiro 2016)
31. Dows SH, Black N. The feasibility of creating a checklist for the assessment of the methodological quality both of randomized and non-randomised studies of health care interventions. *Jornal Of Epidemiology and Community Health* 1998;52(6):377-84.
32. Higgins J.P.T., Green S. Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions, Version 5.1.0, The Cochrane Collaboration, 2011, <http://handbook.cochrane.org/>).
33. Higgins JP, Thompson SG. (2002) Quantifying heterogeneity in a meta-analysis. *Stat Med* 21/11:1539-58.
34. Aller R, Izaola o, Gomez S, Tafur C, Gonzalez G, Berroa E, et al. Effect of silymarin plus vitamin E with non-alcoholic fatty liver disease. A randomized clinical pilot study. *Eur Rev Med Pharma Sci* 2015;19:3118-24.
35. Sorrentino G, Crispino P, Coppola D, Stefano G. Efficacy of Lifestyle changes in subjects with non-alcoholic liver steatosis and metabolic syndrome may be improved with an antioxidant nutraceutical: A controlled clinical study. *Drugs R D* 2015;15:21-25.
36. Abenavoli I, Greco M, Nazionale I, Peta V, Milic N, Accattato F et al. Effects of Mediterranean diet supplemented with silybin-vitamin E-phospholipid complex in

overweight patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2015;9(4):519-27.

37. Stiuso P, Scognamiglio I, Murolo M, Ferranti P, Simone C, Rizzo M *et al.* serum oxidative stress Markers and Lipidomic profile to detect NASH Patients Responsive to an antioxidant Treatment: A Pilot Study. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2014, p1-8.

38. Hashemi SJ, Hajiani E, Sardabi EH. A placebo-controlled Trial of Silymarin in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Hepatitis Monthly* 2009;9(4):265-70.

39. Massodi M, Rezadoost A, Panahian M, Vojdanian M. Effects of silymarin on reducing liver aminotransferases in patients with nonalcoholic fatty liver diseases. *Govareh* 2013;18(3)181-85.

40. Luangchosiri C, Thakkinstian A, Chitphuk S, Stitchantrakul W, Petraka S, Sobhonslidsuk. A double-blinded randomized controlled trial of silymarin for the prevention of antituberculosis drug-induced liver injury. *BMC complementary & Alternative Medicine*. 2015;15(334):1-7.

41. Zhang S, Pan H, Peng X, Lu H, Fan H, Zheng X *et al.* Preventive use of a hepatoprotectant against anti-tuberculosis drug-induced liver injury: A randomized controlled trial. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2016;31:409-16.

42. El-kamary S, Shardell M, Abdel-Hamid m, Ismail S, El-Ateek M, Metwally M *et al.* A randomized controlled trial to assess the safety and efficacy of silymarin on symptoms, signs and biomarkers of acute hepatitis. *Phytomedicine*, 2009; 15:391-400.

43. yakoot m, Salem A. Spirulina platensis versus silymarin in the treatment of chronic hepatitis C virus infection. A pilot randomized, comparative clinical trial. *BMC Gastroenterology* 2012;12:32.

44. Tanamly M, Tadros F, Labeeb S, Makld H, Shehata M, Mikhail N *et al.* Randomised double-blinded trial evaluating silymarin for chronic hepatitis C in an Egyptian village: study description and 12-month results. *Digestive and Liver Disease* 2004;36:752-59.

45. Fried MW, Navarro VJ, Afdahal N, Belle SH, Wahed AS, Hawke RL, *et al.* Effect of Silymarin (Milk Thistle) on Liver Disease in Patients with Chronic Hepatitis C Unsuccessfully treated with Interferon therapy: A randomized Controlled Trial. *JAMA* 2012;308(3):274-282.

46. Bares, J.M. Silybin Treatment is Associated with Reduction in Serum Ferritin in Patients with Chronic Hepatitis C. *J. Clin. Gastroenterol* 2008;42(8):937-44.

47. Gordon A, Hobbs DA, Bowden DS, Bailey MJ, Michell J, Francis AJP, *et al.* Effects of Silybum marianum on serum hepatitis C virus RNA, alanine aminotransferase levels and well-being in patients with chronic hepatitis C. *J Gastro and Hepatol* 2006;21:275-80.

48. Hajiaghamohammadi AA, Ziaee A, Oveisi S, Masroor H. Effects of metformin, pioglitazone, and silymarin treatment on non-alcoholic fatty disease: A randomized controlled pilot study. *Hepat Mon* 2012;12(8):e6099.
49. Kalantari H, Shahshahan Z, Hejazi SM, Ghafghazi T, Sebghatolahi V. Effects of silybum marianum on patients with chronic hepatitis C. *J. Res Med Sci* 2011;16(3):287-90.
50. Loguercio C, Andreone P, Brisc C, Brisc MC, Bugianesi E, Chiatamonte M et al. Silybin combined with phosphatidylcholine and vitamin E in patients with nonalcoholic fatty liver disease: A randomized controlled trial. *Free Radical Biology & Medicine* 2012;52:1658-65.
51. Jelodar G, Rafiee B, Moosavi SH. Silymarin extract improved plasma homocysteine, lipids and liver enzymes in hyperhomocysteinemic non-alcoholic steatohepatitis. *Physiol Pahrmacol* 2015;19:139-45.
52. Flisiak R, Prokopowicz D. One year follow-up of patients treated with mosiprostol in acute phase of viral hepatitis B. *Prostag & other Lip Mediators* 2000;60:161-65.
53. Shaker E, Mahmoud h, Mnaa S. Silymarin, the antioxidant component and Silybum marinaum extracts prevent liver damage. *Food and Chemical Toxicology* 2010;48:803-6.
54. Muriel P, Garcapiñã T, Perez-Alvarez V, Mourelle M. Silymarin protects against paracetamol-induced lipid peroxidation and liver damage. *J Appl Toxicol.* 1992;12:439–42.
55. Pradhan, S.C.; Girish, C. Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine. *Indian J. Med. Res* 2006;124:491-504.
56. Ramasamy, K.; Agarwal, R. Multitargeted therapy of cancer by silymarin. *Cancer Lett.* 2008;269: 352–62.
57. Wu YT, Wu SB, Wei YH. Metabolic reprogramming of human cells in response to oxidative stress: Implications in the pathophysiology and therapy of mitochondrial diseases. *Curr. Pharm. Des.* 2014;20: 5510–26.
58. Freedman ND, Curto TM, Morishima C, Seeff Lb, Goodman ZD, Wright EC, et al. Silymarin use and liver disease progression in the HALT-C trial. *Aliment Pharmaol Ther,* 2011; 33(1):127-137.
59. Angulo P, Keach JC, Batts KP, Lindor KD. Independent predictors of liver fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 1999;30:1356–62.
60. Ratziu V, Giral P, Charlotte F Bruckert E, Thibault V, Khalil L, et al. Liver fibrosis in overweight patients. *Gastroenterology* 2000;118:1117–23.

61. Dixon JB, Bhathal PS, O'Brien PE. Nonalcoholic fatty liver disease: predictors of nonalcoholic steatohepatitis and liver fibrosis in the severely obese. *Gastroenterology* 2001;121:91– 100.
62. Charlton M, Kasparova P, Weston S, Lindor K, Maor-Kendler Y, Wiesner RH, et al. Frequency of nonalcoholic steatohepatitis as a cause of advanced liver disease. *Liver Transpl* 2001;7:608– 14.
63. Mofrad P, Contos MJ, Haque M, Sargeant C, Fisher RA, Luketic VA, et al. Clinical and histologic spectrum of nonalcoholic fatty liver disease associated with normal ALT values. *Hepatology* 2003;37:1286– 92.
64. Ong JP, Elariny HE, Collantes R, Younoszai A, Chandhoke V, Reines HD, et al. Predictors of nonalcoholic steatohepatitis and advanced fibrosis in morbidly obese patients. *Obes Surg* 2005;15:310–5.
65. Palmer M, Schaffner F. Effect of weight reduction on hepatic abnormalities in overweight patients. *Gastroenterology* 1990;99:1408–13.
66. Andersen T, Gluud C, Franzmann MB, Christoffersen P. Hepatic effects of dietary weight loss in morbidly obese subjects. *J Hepatol* 1991;12:224–9.
67. Ueno T, Sugawara H, Sujaku K, Hashimoto O, Tsuji R, Tamaki S, et al. Therapeutic effects of restricted diet and exercise in obese patients with fatty liver. *J Hepatol* 1997;27:103–7.

ANEXO

ANEXO A**FICHA CLÍNICA PARA AVALIAÇÃO DE ELEGIBILIDADE**

**Efeito da silimarina sobre indicadores bioquímicos em pacientes portadores de Doença Hepática:
revisão sistemática com metanálise**

1. REVISOR: _____

2. IDENTIFICAÇÃO DO ARTIGO:

2.1 – Autor: _____

2.2 – Revista: _____

2.3 – Ano de publicação: _____ Volume: _____

nº da 1ª página do artigo: _____

3. CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE

3.1 – Ensaio clínico randomizado e controlado? _____

3.2 – Qual a população de estudo? _____

3.3 – Qual a doença hepática? _____

3.4 – Pacientes estavam fazendo tratamento
convencional? _____

3.5 – Qual o produto de silimarina utilizado? _____

3.6 – A silimarina está associada a outras substâncias ou
nutrientes? _____

4. CONFIRMAÇÃO DA ELEGIBILIDADE

Estudo incluído? _____

Se excluído ou não estiver claro, qual o
motivo? _____

5. OBSERVAÇÕES

ANEXO B

Checklist Dow & Black

1 : sim ; 0 : não
Critérios para avaliação de estudos observacionais adaptados a partir de Downs & Black
Dominio Relato
1. A hipótese/objetivo do estudo está claramente descrita?
2. Os desfechos a serem medidos estão claramente descritos na introdução ou na seção de métodos?
3. As características dos participantes incluídos no estudo estão claramente descritas?
4. As intervenções (exposições) estão claramente descritas?
5. A distribuição dos principais fatores de confusão nos grupos de comparação está claramente descrita?
6. Os principais resultados de estudos estão claramente descritos?
7. O estudo apresentou as estimativas de dispersão e variabilidade dos dados para os principais achados?
8. Todos os eventos adversos foram reportados?
9. As características dos pacientes com perda de seguimento foram descritas?
10. Os intervalos de confiança de 95% e/ou valores de p foram relatados para os principais desfechos, exceto quando o valor de p foi menor que 0,001?
Validade Externa
11. Os participantes convidados para participar do estudo foram representativos de toda a população de onde foram recrutados?
12. Os indivíduos incluídos no estudo são representativos da população inteira de onde foram recrutados?
13. A equipe, os lugares e as instalações onde os participantes do estudo foram tratados (exposto ou recrutados), são representativos do tratamento que a maioria dos pacientes recebe?
14. Foram feitos esforços para manter pacientes sem conhecimento sobre a exposição (cegamento não é aplicável para estudos observacionais)
15. Foram feitos esforços para manter avaliadores sem conhecimento sobre a exposição ?
16. Se algum dos resultados do estudo foi baseado em post hoc*, isto foi feito com clareza?
17. Em estudos clínicos randomizados e estudos de coorte, as análises foram ajustadas para diferentes tempo de seguimento? Ou em estudos de caso controle, o tempo entre a exposição e desfecho foi o mesmo para casos e controles?
18. Os testes estatísticos utilizados para avaliar os principais desfechos foram apropriados?
19. Houve aderência à intervenção (se aplicável)?
20. As medidas dos principais desfechos foram acuradas (válidas e confiáveis)?
Internal validity – confounding (selection bias)
21. Os pacientes em diferentes grupos de intervenção (ensaios e estudos de coorte) ou em casos-controle foram recrutados da mesma população?
22. Os pacientes em diferentes grupos de intervenção (ensaios e estudos de coorte) ou em casos-controle foram recrutados no mesmo período de tempo?
23. Os sujeitos do estudo foram randomizados para os grupos de intervenção?
24. A intervenção randomizada foi oculta para os pacientes e para a equipe até que o recrutamento estivesse completo e irrevogável?
25. Houve um ajuste adequado dos fatores de confusão nas análises a partir das quais os principais achados foram tirados?
26. As perdas dos pacientes no andamento foram levadas em conta?
Dominio Poder
27. O estudo tem poder suficiente para detectar um efeito clinicamente importante quando o valor de p ("probability value") para uma diferença que é devida ao acaso é inferior a 5%?
Total