



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
FARMACÊUTICAS**

**AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO ACOMPANHAMENTO  
FARMACOTERAPÊUTICO E DA TERAPIA INSULÍNICA SOBRE A  
QUALIDADE DE VIDA, ADESÃO AO TRATAMENTO E ESTRESSE  
OXIDATIVO EM PACIENTES COM DIABETES MELLITUS TIPO 2**

**ANGÉLICA MARCHESI LIRA MERIGUETE**

**VITÓRIA  
2018**



**Angélica Marchesi Lira Meriguete**

**AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO ACOMPANHAMENTO  
FARMACOTERAPÊUTICO E DA TERAPIA INSULÍNICA SOBRE A  
QUALIDADE DE VIDA, ADESÃO AO TRATAMENTO E ESTRESSE  
OXIDATIVO EM PACIENTES COM DIABETES MELLITUS TIPO 2**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal do Espírito  
Santo, como requisito parcial para a  
obtenção do título de Mestre em  
Ciências Farmacêuticas, do  
Programa de Pós-Graduação em  
Ciências Farmacêuticas

Orientadora: Rita de Cássia Ribeiro Gonçalves  
Coorientadora: Daniela Amorim Melgaço Guimarães do Bem

VITÓRIA  
2018

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo amor incondicional, por tantas graças a mim concedidas e por me permitir realizar mais esta conquista.

Aos meus pais, Ádil e Glória, ao e meu irmão, Gabriel, pelo amor e por sempre terem sido minha base e meu suporte. Ao meu esposo, João Paulo, meu eterno incentivador, pelo cuidado e companheirismo. Por compreender os momentos difíceis e por sempre estar ao meu lado.

À minha orientadora, professora Rita de Cássia Ribeiro Gonçalves, por sempre estimular meu crescimento profissional e por compartilhar seu conhecimento com tanta dedicação. Professora, obrigada por me acompanhar por tantos anos, por me ensinar a trabalhar com respeito e ética, pelo suporte durante as fases menos fáceis e pela sabedoria. Todas as habilidades que desenvolvi são fruto desse aprendizado. Muito obrigada pela amizade e carinho!

À minha coorientadora, professora Daniela Amorim M. Guimarães do Bem, por contribuir com seu conhecimento na elaboração do projeto, além de aconselhar e conduzir esse período com paciência e doçura.

À professora Lorena Rocha Ayres, por contribuir sempre com muita gentileza com suas experiências em Atenção Farmacêutica;

Às farmacêuticas Nadmy Zavaris e Viviam Viana, exemplos de profissionais, que dividiram o conhecimento e experiência sobre a aplicação das técnicas de atenção farmacêutica, por darem suporte e incentivarem a realização deste estudo.

À professora Lívia Melo, pela disponibilidade e entusiasmo em contribuir com o suporte técnico para a realização de ensaios de estresse oxidativo e por acompanhar cada etapa conquistada.

À Mayara Paes, por dividir todos os momentos da pós-graduação, pelo companheirismo e pela disposição em ajudar no que fosse necessário para que esse projeto acontecesse.

Às amigas Brena Ramos, Juliana Ardisson e Kainá Kiffer, por compartilhar tantos momentos felizes durante a realização desse estudo, por tornar os dias mais leves e divertidos.

A todos os colegas do Laboratório de Triagem Biológica de Produtos Naturais e do Laboratório de Biologia Molecular e Bioquímica Clínica, por compartilhar seus saberes e pelo auxílio na realização de técnicas de bancada, especialmente à Francine Guimarães pelo companheirismo e responsabilidade.

À toda minha família e a todos os meus verdadeiros amigos, que sempre estiverem comigo, torcendo por mim e entendendo minha ausência nestes dois anos tão atribulados.

À Prefeitura Municipal de Vitória, pela aceitação do projeto, pela confiança e estrutura concedidas.

A todos os funcionários das Unidades Básicas de Saúde de Maruípe e Itararé que foram essenciais para a realização deste projeto;

Aos professores do Departamento de Farmácia, pela dedicação e pelo incentivo para a formação de excelentes profissionais;

Ao Laboratório de Histologia Molecular e Imunohistoquímica (LHMI), pela permissão para utilização do laboratório e auxílio gentil na análise microscópica;

À FAPES, pela bolsa de estudos a mim concedida.

Aos que fizeram parte da realização deste sonho.  
Muito obrigada!

## RESUMO

As práticas de Atenção Farmacêutica no Brasil estão estruturadas de forma a promover a adesão à terapia e qualidade de vida, especialmente relevantes no contexto do diabetes mellitus tipo 2 (DM2), que representa um crescente problema de saúde pública mundial. Trata-se de uma desordem metabólica crônica caracterizada pelo aumento no estresse oxidativo, que é relacionado ao aparecimento das suas principais complicações. O DM2 está relacionado à tratamentos longos e complexos, que somado a presença de comorbidades e complicações interferem negativamente sobre a capacidade de cumprimento da terapia. Há relatos na literatura de que a aplicação dos serviços de atenção farmacêutica trouxe benefícios sobre o controle metabólico e melhora da adesão à terapia de indivíduos com diabetes tipo 2. Neste trabalho foi avaliado se o acompanhamento farmacoterapêutico realizado por seis meses em pacientes com diabetes mellitus tipo 2 interfere no controle metabólico, adesão ao tratamento, qualidade de vida e em níveis de espécies pró e antioxidantes, além da influência da terapia com insulina sobre esses parâmetros. A coleta dos dados foi realizada antes e após os seis meses de acompanhamento. 75 pacientes completaram o estudo, 44 indivíduos no grupo sem insulino terapia e 31 no grupo em utilização de insulina. Após o acompanhamento, foi observada uma melhora significativa da adesão ao tratamento nos dois grupos avaliados. De forma semelhante, houve incremento estatisticamente significativo nas pontuações dos domínios de qualidade de vida, exceto para o domínio físico do grupo com insulino terapia. Nos parâmetros de estresse oxidativo avaliados, houve uma diminuição dos níveis de óxido nítrico em ambos grupos e aumento da concentração de superóxido dismutase para o grupo com insulino terapia. Estes resultados mostram que o acompanhamento farmacoterapêutico proposto influenciou positivamente na adesão à terapia, qualidade de vida e nos níveis de estresse oxidativo e, portanto, pode contribuir para postergar o aparecimento das principais complicações crônicas da doença.

Palavras-chave: Atenção farmacêutica, adesão medicamentosa, qualidade de vida, óxido nítrico, superóxido dismutase.

## **ABSTRACT**

The practices of Pharmaceutical Care in Brazil are structured to promote medication adherence and quality of life, especially relevant in the context of type 2 diabetes mellitus (T2DM), which represents a growing problem of global health. It is a chronic metabolic disorder characterized by an increase in oxidative stress, which is related to the appearance of its main complications. T2DM is related to long and complex treatments, presence of comorbidities and complications which, together interfere negatively in the adherence to therapy. There are reports in the literature that the application of pharmaceutical care services has brought benefits on metabolic control and improved medication adherence of individuals with type 2 diabetes. In this study, it was evaluated if the pharmacotherapeutic follow-up performed for six months in patients with type 2 diabetes mellitus interferes in metabolic control, treatment adherence, quality of life and levels of pro and antioxidant species, besides the influence of insulin therapy on these parameters. Data collection was conducted before and after the six months of follow-up. 75 patients completed the study, 44 in the non-insulin therapy group and 31 in the insulin therapy group. After follow-up, an improvement in medication adherence was observed in the two groups with difference. Similarly, there was a significant increase in the quality of life scores, except for the physical domain in insulin therapy group. In the oxidative stress parameters evaluated, there was a decrease in nitric oxide levels in both groups and an increase in superoxide dismutase concentration for the group with insulin therapy. These results show that the proposed pharmacotherapeutic follow-up positively influenced on the medication adherence, quality of life and oxidative stress levels, and therefore, may contribute to delay the onset of the main chronic complications of the disease.

Key words: Pharmaceutical care, medication adherence, quality of life, nitric oxide, superoxide dismutase.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADA	<i>American Diabetes Association</i>
AGE	<i>Advanced Glycation Endproducts</i>
ANOVA	Análise de variância
AOPP	Produtos avançados de oxidação protéica
DAG	Diacilglicerol
DCCT	<i>The Diabetes Control and Complications Trial Research Group</i>
DM	Diabetes mellitus
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
EASD	<i>European Association for the Study of Diabetes</i>
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
ERO	Espécies reativas de oxigênio
ERN	Espécies reativas de nitrogênio
GJ	Glicemia de jejum
GLP-1	Glucagon <i>like</i> peptídeo-1
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HbA1c	Hemoglobina glicada
IDF	<i>International Diabetes Federation</i>
MDA	Malondialdeído
NADH	Dinucleotídeo de adenina e nicotinamida
NADPH	Fosfato de dinucleotídeo de adenina e nicotinamida
NO	Óxido nítrico
NOS	Óxido nítrico sintase
RAGE	<i>Receptor for advanced glycation end products</i>
RI	Resistência à insulina
SBD	Sociedade Brasileira de Diabetes
SOD	Superóxido dismutase
UDP	Uridina difosfato
UKPDS	<i>United Kingdom Prospective Diabetes Study</i>
USF	Unidade de Saúde da Família
WHO	<i>World Health Organization</i>

## SUMÁRIO

I. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	9
REFERÊNCIAS.....	22
ARTIGO.....	26
Comprovante de submissão de artigo a periódico indexado.....	27
Abstract.....	28
1. Introduction .....	30
2. Methods .....	31
2.1 Study design and population .....	31
2.2 Pharmacotherapeutic follow-up instrument and data collection .....	32
2.2.1 Medication adherence .....	33
2.2.2 Quality of life .....	33
2.2.3 Anthropometric and biochemical parameters .....	33
2.3 Oxidative stress analysis.....	34
2.3.1 Determination of nitric oxide (NO).....	34
2.3.2 Determination of superoxide dismutase (SOD).....	34
2.3.3 Determination of lipid peroxidation (TBARS) .....	34
2.3.4 Determination of Advanced Oxidation Proteins Products (AOPP) .....	35
2.4 Statistical analysis.....	35
3. Results .....	35
4. Discussion.....	41
ANEXO 01.....	52
ANEXO 02.....	57
ANEXO 03.....	58

## I. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O farmacêutico tem experimentado grandes mudanças no perfil de sua atuação. Nos estabelecimentos conhecidos como boticas, este profissional era responsável pela manipulação de medicamentos e cosméticos, e reconhecido pela população por seus conhecimentos sobre a produção e utilização desses produtos (SATURNINO et al., 2012). A partir da década de 1930, a intensificação da industrialização do setor diminuiu o espaço do exercício dessas atividades, com o afastamento da relação entre o farmacêutico e o paciente fazendo crescer a ideia dos medicamentos como um produto simbólico de saúde (BRASIL, 2014).

Após um período de incerteza do papel do farmacêutico como profissional de saúde, viu-se a necessidade dessa atuação com o objetivo de assegurar o uso racional de medicamentos nesse novo cenário. Na busca de direcionar a nova prática, foi-se desenvolvendo novas correntes de pensamentos, que passaram a ser conhecidas no Brasil como Atenção Farmacêutica.

A construção da atuação do profissional nesta área é recente e as primeiras mudanças foram iniciadas em 1960, devido à necessidade de aperfeiçoar a farmacoterapia no âmbito hospitalar, levando a uma primeira aproximação do farmacêutico com a equipe de saúde. Nos anos seguintes foi sendo estruturado o conceito de Atenção Farmacêutica, com o objetivo de estender o exercício a todos os níveis de atenção. Este termo foi traduzido da expressão em inglês “Pharmaceutical Care”, utilizado pela primeira vez em 1990 pelos autores Hepler e Strand, os quais classicamente a definem (PEREIRA; FREITAS, 2008).

A Atenção Farmacêutica em seu conceito mais estruturado é tida como a provisão responsável do tratamento medicamentoso com o objetivo de alcançar resultados satisfatórios que melhorem a qualidade de vida dos pacientes (HEPLER; STRAND, 1990). Neste campo, o farmacêutico assume seu papel como profissional da saúde com responsabilidades de ação integrada com a equipe de saúde, centrada no usuário, para a prevenção, promoção e a recuperação da saúde e seus agravos (BRASIL, 2014).

A nova orientação da atuação do farmacêutico como profissional de saúde é reconhecida por importantes documentos frutos de reuniões promovidas pela Organização Mundial da Saúde (OMS), realizadas em Nova Deli (1988) e em Tóquio (1993), onde ficaram ratificadas a importância do farmacêutico no uso racional e seguro do medicamento e suas responsabilidades diante das necessidades de atenção à saúde de usuários e da comunidade (ANGONESI; SEVALHO, 2010).

No Brasil, em 2001 foi realizado o Consenso Brasileiro de Atenção Farmacêutica, com o objetivo de definir e adotar um modelo de conceitos e estratégias para a prática da Atenção Farmacêutica. Neste documento foi afirmado que a atenção farmacêutica faz parte do contexto da assistência farmacêutica, que está relacionada aos processos que se iniciam com o abastecimento de medicamentos até sua utilização (OPAS, 2002). Foram definidos ainda macrocomponentes que dão estrutura a esta prática, e incluem:

1. Educação em saúde (incluindo promoção do uso racional de medicamentos);
2. Orientação farmacêutica;
3. Dispensação;
4. Atendimento Farmacêutico;
5. Acompanhamento/seguimento farmacoterapêutico;
6. Registro sistemático das atividades, mensuração e avaliação dos resultados.

A implantação da Atenção Farmacêutica no atendimento básico de saúde assegura o uso racional de medicamentos e a melhora da adesão ao tratamento, pela utilização de ferramentas como a anamnese farmacológica, avaliação da prescrição em relação à farmacocinética e farmacodinâmica, e identificação de problemas relacionados à farmacoterapia do usuário. A associação da promoção do uso racional e melhora da adesão, busca em um contexto geral, melhora da qualidade de vida dos usuários, uma vez que torna possível a identificação de possíveis erros de administração, automedicação, equívocos de prescrição e eventos adversos. As ferramentas de avaliação da adesão e qualidade de vida assumem importante papel neste contexto

principalmente no manejo das doenças crônicas, que são marcadas pela polimedicação em tratamentos contínuos.

Entre os grupos de doenças crônicas mais prevalentes, destaca-se o diabetes mellitus (DM), que representa atualmente um dos problemas mais significativos de saúde pública mundial, devido ao crescente número de novos casos. Estudos que avaliaram programas de cuidado farmacêutico em indivíduos diagnosticados com diabetes mellitus tipo 2 conduzidos no Brasil, entre pacientes assistidos pelo sistema público de saúde, mostram significativa redução de índices glicêmicos (BORGES et al., 2010), ilustrando a importante atuação deste profissional para o controle da doença e prevenção de suas principais complicações. Neto et al., (2011), através da realização de acompanhamento farmacoterapêutico por um período de 36 meses, realizado através de consultas farmacêuticas com pacientes idosos hipertensos e/ou diabéticos, revelaram uma redução no risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares, melhorando de forma indireta a qualidade de vida desses indivíduos.

Desta maneira, o farmacêutico se mostra como um profissional chave no processo do tratamento do diabetes devido ao seu potencial em contribuir para melhores resultados do esquema terapêutico. O componente diferencial do seguimento farmacoterapêutico é a associação dos resultados clínicos com o processo de utilização de medicamentos, tornando possível a identificação de possíveis causas de resultados clínicos negativos (CORRER et al., 2011).

Um estudo de prevalência de base nacional realizado no Brasil revelou um pobre controle glicêmico entre indivíduos com diabetes tipo 2, com 73% dos indivíduos com níveis de hemoglobina glicada superiores ao preconizado para controle da doença (valor desejável  $\leq 7\%$ ) (MENDES et al., 2010), mostrando a necessidade da investigação de possíveis entraves para o êxito da terapia.

Dados epidemiológicos do diabetes mellitus mostram que prevalência global dobrou quando comparada à de 1980, crescendo de 4,7% para 8,5%, entre a população adulta, em 2014. Para o mesmo ano, estima-se que a população mundial de doentes era de 422 milhões (WHO, 2016a), sendo 16,8 milhões no

Brasil (WHO, 2016b). Em 2012, aproximadamente 1,5 milhão de pessoas morreu em consequência direta do diabetes, sendo os níveis hiperglicêmicos associados a outros 2,2 milhões de mortes, por aumentar o risco para doenças cardiovasculares e para outras doenças (WHO, 2016b).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), o DM é definido como uma síndrome de etiologia múltipla, decorrente da falta e/ou incapacidade da insulina exercer suas ações de maneira adequada. É caracterizada pela hiperglicemia crônica e alterações no metabolismo dos carboidratos, lipídeos e proteínas (ALBERTI; ZIMMET, 1998).

Os tipos mais frequentes de diabetes são o diabetes tipo 1 (DM1), correspondendo a aproximadamente 8% dos casos e o diabetes tipo 2 (DM2) que abrange cerca de 90% dos casos. O DM1 é resultado da destruição das células beta pancreáticas, por causa imunológica ou idiopática, resultando na deficiência de insulina. O DM2 é proveniente de causas genéticas e ambientais que têm como resultado a resistência à insulina e o comprometimento da função secretora da célula beta pancreática, sendo que uma ou ambas podem estar presentes quando a doença é identificada. Neste caso, a maioria dos indivíduos é diagnosticada após os 40 anos e a ocorrência de DM2 está associada à má alimentação, envelhecimento e sedentarismo (CAROLINO et al., 2008).

Falhas na ação e secreção da insulina evoluem de forma progressiva, passando por estágios intermediários, com glicemia de jejum alterada e diminuição de tolerância à glicose. O declínio progressivo da função desta célula que ocorre com a evolução da doença pode ser acelerado por uma terapia ou estilo de vida não adequados, e em um período de tempo variável estabelecem o diagnóstico de DM2 (SBD, 2017).

As complicações do DM são classificadas em agudas e crônicas. Entre as complicações agudas estão a hipoglicemia, cetoacidose e coma hiperosmolar (TIWARI et al., 2013). As complicações crônicas podem ser macrovasculares (doença cardíaca coronariana, doença vascular periférica e doença cerebrovascular), e microvasculares, referidas como específicas do DM, que

são a retinopatia, nefropatia e neuropatia diabética (ASMAT; ABAD; ISMAIL, 2015). Pelo risco de desenvolvimento dessas complicações, o risco de morte por problemas cardiovasculares aumenta duas a seis vezes, além de incrementar outros incidentes macrovasculares, como o acidente vascular cerebral e amputações (BUYSSCHAERT; HERMANS, 2014).

Em virtude disso, o DM representa um considerável encargo econômico para o indivíduo e para a sociedade, especialmente quando mal controlado, sendo a maior parte dos custos diretos de seu tratamento relacionado às suas complicações, que comprometem a produtividade, a qualidade de vida e a sobrevivência dos indivíduos (MCLELLAN et al., 2006, 2007). Essa doença é a principal causa de amputação de membros inferiores (MOHAMMEDI et al., 2016), de cegueira, e cerca de 26% dos pacientes que ingressam em programas de diálise são diabéticos (BRUNO; GROSS, 2000; MOHAMMEDI et al., 2016).

O tratamento do diabetes requer mudança no estilo de vida, educação em saúde e está associada à atenção primária recebida, relacionando-se ao papel ativo da estratégia multiprofissional na promoção do controle do DM2 (CAMERON, 2006). As intervenções recomendadas pela Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD) são baseadas em algoritmos de importantes associações envolvidas no estudo do diabetes, como da “American Diabetes Association” (ADA) e da “European Association for the Study of Diabetes” (EASD). A instituição brasileira adota metas mais rígidas de controle glicêmico e considera um adequado controle glicêmico, para aqueles com DM2, quando os níveis de glicemia de jejum são abaixo de 100 mg/dL, pré-prandial menor que 100 mg/dL, pós-prandial até 600 mg/dL e hemoglobina glicada de 7% para adultos, e entre 7,5 e 8,5% para idosos.

As abordagens terapêuticas incluem medidas não farmacológicas e farmacológicas, conforme o quadro clínico apresentado pelo indivíduo. A primeira medida consiste na adoção de uma alimentação adequada e na prática de atividades físicas regulares, contribuindo para a melhora da sensibilidade à insulina, diminuição de glicemia e perfil lipídico, importantes para retardar a doença cardiovascular e outras complicações do DM2

(BUYSSCHAERT; HERMANS, 2014). Usualmente, os recursos medicamentosos são empregados em um segundo momento da terapêutica, diante da incapacidade de controlar os níveis glicêmicos pela adoção das medidas não farmacológicas. Neste modo, a utilização de medicamentos isoladamente ou em associação tem como objetivo alcançar normoglicemia, sem o excessivo risco de hipoglicemia.

Os agentes antidiabéticos orais são divididos em classes, conforme seu mecanismo de ação, e incluem: os que aumentam a secreção de insulina (hipoglicemiantes); os que não a aumentam (anti-hiperglicemiantes); os que aumentam a secreção de insulina de maneira dependente de glicose, além de promover a supressão do glucagon; e os que promovem glicosúria (sem relação com a secreção de insulina) (SBD, 2016).

#### 1. Agentes hipoglicemiantes:

Compreendem as sulfonilureias (clorpropamida, glibenclamida, gliclazida, glipizida e glimepirida) e metiglinidas (nateglinida e repaglinida), que promovem redução de hemoglobina glicada em até 2% e estão associadas ao desenvolvimento de hipoglicemia.

#### 2. Agentes que não aumentam a liberação de insulina:

Seus efeitos no decréscimo da glicemia estão associados de maneira geral, à diminuição da absorção e produção de glicose e ação sensibilizadora periférica. São exemplos, o inibidor da alfa-glicosidase (acarbose), as biguanidas (metformina) e a glitazona (pioglitazona). Produzem um baixo risco de hipoglicemia, e por isso são medicamentos de primeira escolha para o tratamento de DM2.

#### 3. Agentes que aumentam a produção de insulina dependente de glicose e diminuem a secreção de glucagon:

Essas ações envolvem o peptídeo semelhante a glucagon (GLP-1), estabilizando-o (gliptinas), como efeito mimético (exenatida), ou como seus análogos (liraglutida e a lixisenatida). O GLP-1 diminui a secreção de

glucagon, aumenta a secreção e a sensibilidade à insulina. Esses medicamentos podem ser utilizados em associação com outros agentes antidiabéticos, como as sulfonilureias, biguanida ou glitazonas.

#### 4. Agentes que aumentam a glicosúria:

Medicamentos desta classe impedem a reabsorção de glicose nos túbulos renais proximais, com baixo risco de hipoglicemia, redução da pressão arterial sistêmica e perda de peso. São exemplos, a dapagliflozina, empagliflozina e anagliflozina.

Durante o avanço da doença, a diminuição da função da célula beta 1 torna difícil a manutenção de níveis adequados de hemoglobina glicada apenas pela utilização de medicamentos orais, tornando necessária a utilização de insulina. A terapêutica com este hormônio deve ser iniciada quando, após o consumo de doses máximas de dois ou três fármacos orais em alguns meses, o paciente mantiver níveis de HbA1c > 7% ou > 8%. O manejo da insulino terapia ocorre de acordo com a situação clínica do paciente, com a finalidade de mimetizar a sua secreção fisiológica (SBD, 2016).

A característica progressiva natural do DM2 promove o aparecimento de suas principais consequências crônicas, que estão, entre outras causas, relacionadas ao desequilíbrio oxidativo. Este se relaciona com o diabetes modulando o aparecimento das principais complicações vasculares da doença, incluindo neuropatia, nefropatia, retinopatia e doença coronariana (DCCT RESEARCH GROUP, 1993; NIEDOWICZ; DALEKE, 2005). O dano endotelial, por constituir etapa fundamental no desenvolvimento de lesões ateroscleróticas e nas alterações micro e macrovasculares do diabetes, é objeto de estudo constante.

O ponto inicial, no qual a hiperglicemia altera a função vascular é no desbalanço entre a biodisponibilidade do óxido nítrico (NO) e o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ERO), levando a lesão tecidual (CREAGER et al., 2003). Estas mudanças estão relacionadas ao tempo prolongado de

exposição à hiperglicemia, somados a hipertensão arterial, dislipidemia e susceptibilidade genética (PANENI et al., 2013).

O termo espécies reativas é utilizado para representar espécies químicas compostas por radicais livres ou por moléculas capazes de gerar estes radicais. A maioria das moléculas reativas está dividida entre espécies reativas de oxigênio (ERO) e de nitrogênio (ERN). Dentre as mais comuns, estão inclusos o radical superóxido ( $O^{2-}$ ) e o óxido nítrico ( $NO^*$ ), que dão origem a radicais com grande potencial danoso como o radical hidroxil ( $HO^*$ ), radical alcoxil ( $RO^*$ ) e peroxil ( $ROO^*$ ). Muitos desses radicais são convertidos em moléculas oxidantes, como o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), peroxinitrito ( $OONO^-$ ) e ácido hipocloroso ( $HOCl$ ) (KUNWAR; PRIYADARSINI, 2011).

Em condições fisiológicas, aproximadamente 2% do total de oxigênio consumido pelo organismo é convertido em radical superóxido através da cadeia respiratória e fagocitose, e este é um elemento crucial para a formação dos demais radicais. A quantidade deste radical se eleva durante infecções, exercício físico, exposição a poluição, luz UV e radiação ionizante (KUNWAR; PRIYADARSINI, 2011).

Em baixas concentrações, as espécies reativas estão ligadas a funções fisiológicas essenciais via modificações oxidativas reversíveis, como na expressão gênica, crescimento celular e na resposta imune (KUNWAR; PRIYADARSINI, 2011), sendo também importantes para manutenção do tônus vascular e na ação hormonal. A passagem da atuação benéfica para a prejudicial envolve a estreita regulação da produção dessas espécies (PITOCCO et al., 2013), e desencadeia um processo denominado estresse oxidativo.

O estresse oxidativo se estabelece quando há um desequilíbrio entre a produção de moléculas oxidantes e mecanismos de defesa antioxidantes (LOPES; OLIVEIRA; FORTUNATO, 2008). Desta forma, pode ocorrer devido ao aumento da produção de moléculas reativas, da depressão do sistema antioxidante, ou de ambos. A interação das espécies reativas com DNA, lipídios e proteínas em um processo patológico, ocorre geralmente com

modificações irreversíveis. O resultado desta condição é o acúmulo de biomoléculas modificadas irreversivelmente e dano tecidual associado (PENNATHUR; HEINECKE, 2007).

As implicações patológicas das espécies reativas dependem de diversos fatores, como do sítio de geração e da natureza do substrato (KUNWAR; PRIYADARSINI, 2011), e estão relacionadas a diversas doenças como câncer, doenças neurodegenerativas, doenças inflamatórias crônicas, cardiovasculares e diabetes mellitus (PITOCCO et al., 2010).

Os eventos centrais da fisiopatologia do DM2, a resistência insulínica e a disfunção da célula beta pancreática, ocorrem diante do desequilíbrio de oxidação-redução, assim como o desenvolvimento das principais complicações da doença (TIWARI et al., 2013). Em um ambiente hiperglicêmico, a maioria das células é capaz de limitar a entrada de glicose, portanto, a concentração de glicose intracelular permanece constante. Entretanto, as células que sofrem com a hiperglicemia são aquelas que não conseguem limitar essa entrada de maneira eficiente, resultando em altas concentrações intracelulares de glicose. As células beta pancreáticas também sofrem com maior intensidade os efeitos da hiperglicemia, já que como característica são umas das células que possuem os menores níveis de defesa antioxidantes (TANGVARASITTICHAJ, 2015).

Muitas vias bioquímicas são afetadas por esta condição, sendo que elas convergem para a produção de espécies reativas e a instalação do estresse oxidativo. Essas vias incluem o aumento do fluxo de glicose e outros açúcares pela via dos polióis, aumento da formação intracelular de produtos finais de glicação avançada (AGEs), ativação das isoformas da proteína kinase C (PKC) e aumento da atividade da via das hexosaminas (BROWNLEE, 2001, 2005) (figura 1).

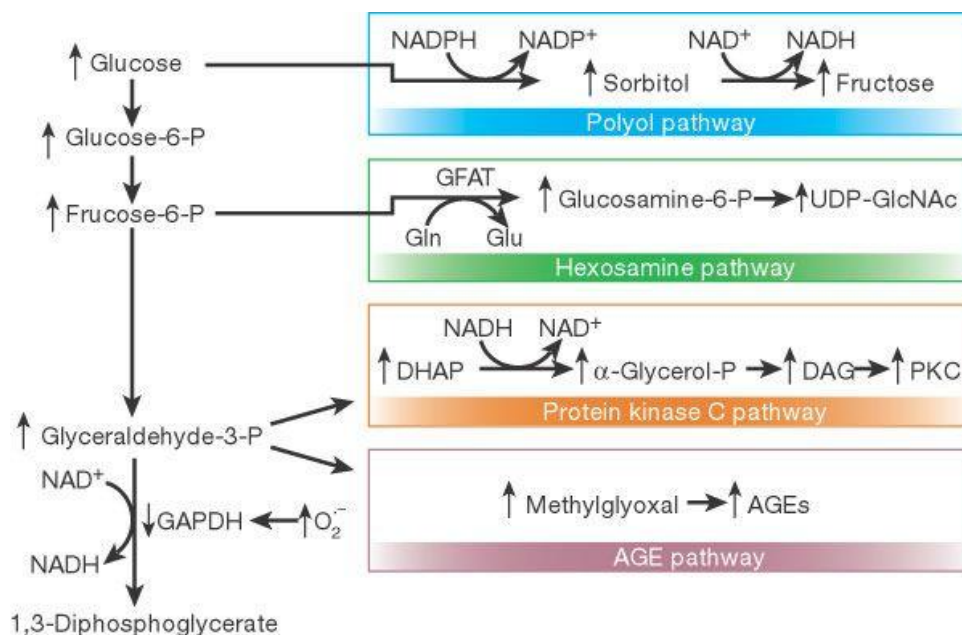


Figura 1 – Potencial mecanismo de vias bioquímicas mitocondriais envolvidas no aumento do estresse oxidativo induzido pela hiperglicemia. Fonte: BROWNLEE, M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*, v. 414, n. December, p. 813–820, 2001.

O primeiro mecanismo descoberto foi o aumento do fluxo pela via dos polióis. A via dos polióis é baseada na família da enzima aldose redutase, que é encontrada em tecidos como neurônios, retina, glomérulos renais e células vasculares, onde a concentração de glicose acompanha a glicemia. A enzima tem a função de reduzir aldeídos tóxicos a álcoois inativos, entretanto quando a concentração intracelular se eleva, a enzima também faz a conversão de glicose a sorbitol, às custas de NADPH. Após a formação do sorbitol, esta molécula é oxidada a frutose, pela enzima sorbitol desidrogenase, utilizando o NAD<sup>+</sup> como co-fator (BROWNLEE, 2005). O mecanismo de dano envolvido nesta via decorrente do estresse oxidativo está relacionado à depleção de NADPH, já que é um co-fator necessário para regenerar a glutatona reduzida, uma molécula antioxidante importante. Reduzindo a disponibilidade de glutatona reduzida, o aumento do fluxo pela via dos polióis aumenta a suscetibilidade ao estresse oxidativo intracelular (GIACCO; BROWNLEE, 2010).

Os produtos finais da glicação avançada (AGEs) são proteínas ou lipídios que se tornam glicosados após a exposição a açúcares oxidados, com modificações

estruturais biológicas importantes. Os AGEs são formados por auto-oxidação da glicose para glioxal, decomposição de produtos de amadori em 3-deoxiglucosona ou fragmentação do gliceraldeído-3-fosfato em metilglioxal (FOLLI, 2011). Estes produtos podem provocar danos celulares através da alteração de proteínas intracelulares, pela modificação de moléculas da matriz extracelular, e difundindo-se para o meio extracelular, são capazes de modificar proteínas do plasma, como a albumina (BROWNLEE, 2005). Além disso, a interação dos AGEs com seus receptores (RAGEs) promove a ativação de NADPH oxidase, induzindo a formação intracelular de ERO. O aumento dos níveis de ERO, por sua vez, leva à formação dos AGEs, ocasionando os danos celulares citados. Do mesmo modo, a interação favorece a ativação do fator de transcrição NF- $\kappa$ B, modulando o equilíbrio de óxido-redução, apoptose e circulação de células progenitoras endoteliais (FOLLI, 2011; GIACCO; BROWNLEE, 2010; NOWOTNY et al., 2015).

Em condições de hiperglicemia crônica, o aumento da síntese de novo do diacilglicerol (DAG) promove a ativação por fosforilação da maioria das isoformas da proteína quinase C (PKC) (GIACCO; BROWNLEE, 2010). Essa enzima está envolvida em eventos de transdução de sinais e que atua catalisando a transferência de um grupo fosfato do ATP a várias proteínas (BROWNLEE, 2001). A ativação excessiva e persistente das isoformas da PKC ilustra a terceira via comum de indução do estresse oxidativo devido à hiperglicemia no DM2.

A ativação anormal da PKC promove uma série de respostas metabólicas deletérias ao organismo, como a indução de anormalidades do fluxo sanguíneo, angiogênese, expressão de genes pró-inflamatórios e aumento da produção de ERO. Neste último caso, o estado de estresse oxidativo está relacionado à ativação da enzima NADPH oxidase (RAINS; JAIN, 2011). Em células endoteliais vasculares, a ativação da PKC induzida pela hiperglicemia eleva a produção do ânion superóxido via produção de NADPH oxidase. Recentemente alguns estudos mostraram que a ativação de uma das isoformas da PKC é capaz de fosforilar a proteína adaptadora p66Shc, que funciona como uma enzima redox implicada na diminuição da expressão de

enzimas antioxidantes, aumento da produção de NADPH oxidase em membranas celulares e na geração de ERO mitocondrial, que promove a tradução de sinais oxidativos para a apoptose (PANENI et al., 2013; MAGENTA et al., 2014).

O quarto mecanismo pelo qual a hiperglicemia interfere sobre o estresse oxidativo ocorre pela via das hexosaminas. Diante da alta produção de frutose-6-fosfato em condições de hiperglicemia, este produto metabólico pode seguir as demais etapas da via da glicólise ou ser dirigida para a via das hexosaminas até seu o produto final, a UDP (uridina difosfato) N-acetil glucosamina. Esta molécula é capaz de modificar fatores de transcrição resultando em mudanças patológicas na expressão gênica, com importantes implicações vasculares, além de interferir na desregulação da enzima óxido nítrico sintase (FOLLI, 2011; GIACCO; BROWNLEE, 2010).

Embora seja controverso, muitos estudos também reportam que no diabetes tipo 2 há concentrações diminuídas de antioxidantes, como da superóxido dismutase, glutathione, do ácido ascórbico e do tocoferol, no plasma e em diversos tecidos (EVANS et al., 2002). Na ausência de uma compensação apropriada de defesa antioxidante, o estresse oxidativo aumentado ativa vias sensíveis e induz a formação de produtos danosos à célula, contribuindo para as complicações tardias do diabetes (CERIELLO, 2003).

A relação entre o diabetes e estresse oxidativo pode ser determinada pela presença de diversos marcadores. Entre os marcadores do status oxidativo tem-se a mensuração das espécies reativas, a avaliação de agentes antioxidantes e de produtos da interação das ER com lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos.

Há certa dificuldade de mensuração das espécies reativas devido ao curto tempo de meia-vida dessas moléculas. Essa determinação geralmente ocorre por meio de técnicas indiretas, como no caso da avaliação do óxido nítrico (NO<sup>•</sup>). O NO<sup>•</sup> é um radical livre, sintetizado fisiologicamente pela enzima óxido nítrico sintase (NOS) via oxidação da L-arginina. Sabe-se que em processos não patológicos o NO<sup>•</sup> tem importante papel na neurotransmissão, resposta

imune e na regulação da pressão sanguínea. O evento celular dominante que reduz a biodisponibilidade do NO<sup>•</sup> é o aumento do O<sup>2-</sup> pela mitocôndria, cuja atividade está aumentada na hiperglicemia, levando a um desequilíbrio da homeostase vascular, pelo aumento da vasoconstrição e diminuição do relaxamento, constituindo o principal mecanismo de disfunção endotelial (TATSCH, 2016).

Dependendo de sua natureza, as reações de ERO com biomoléculas, como lipídios e proteínas, produzem diferentes tipos de radicais secundários como radicais lipídicos e radicais de aminoácidos. (KUNWAR; PRIYADARSINI, 2011). A peroxidação lipídica faz parte de reações em cadeia mediada por radicais livres composta por três etapas principais - iniciação, propagação e terminação. O principal alvo das EROs são os lipídios de membrana, que provocam dano celular e formação de produtos tóxicos (MIMICA-DUKIĆ et al., 2012). Um biomarcador crítico da peroxidação lipídica se baseia na determinação de malondialdeído (MDA) que pode ser usado para avaliar os peróxidos lipídicos após a reação com ácido tiobarbitúrico (ASMAT; ABAD; ISMAIL, 2015).

A reação de ERO com proteínas acontece em grande intensidade, possivelmente como consequência de sua alta abundância nos sistemas biológicos e de suas rápidas taxas de reação com muitos oxidantes (TATSCH, 2016). Os produtos proteicos de oxidação avançada (AOPP), formados principalmente pela reação de oxidantes clorados com proteínas plasmáticas, são frequentemente utilizados como marcadores dessas macromoléculas. Seus níveis aumentados são observados durante o DM2 e tem sido relatada uma associação positiva significativa entre os níveis plasmáticos de AOPPs e TBARS durante o diabetes (TIWARI et al., 2013).

As enzimas antioxidantes superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase servem como linha primária de defesa na inativação dos radicais livres, sendo responsáveis pela inativação de ERO produzidas durante a respiração celular. A superóxido dismutase (SOD) catalisa a dismutação do radical superóxido, a primeira ERO proveniente do metabolismo do oxigênio, em peróxido hidrogênio, um composto de menor toxicidade (ASMAT; ABAD;

ISMAIL, 2015). A SOD possui importante papel fisiológico, uma vez que inativando o ânion superóxido, impede sua interação com o óxido nítrico e conseqüentemente a formação do radical peroxinitrito, um radical de alto poder danoso (TIWARI et al., 2013). Alguns estudos mostram que indivíduos com DM2 apresentaram declínio nos níveis séricos desse antioxidante (HOLY; NGOYE, 2016).

Sabendo que o tratamento do DM2 tem como característica a associação de medicamentos de utilização contínua, a melhora da adesão à terapia proposta pela realização do acompanhamento farmacoterapêutico, promove a melhora do controle glicêmico, influenciando positivamente sobre equilíbrio de óxido-redução, diminuindo a evolução das principais complicações da doença.

Nesse contexto, diante do crescente número de diabéticos tipo 2 e dos impactos das principais complicações, espera-se conhecer as características da doença e do tratamento dos pacientes com DM2 cadastrados da Unidade de Saúde da Família (USF) do território Itararé e Maruípe, contribuir para elucidação de mecanismos de estresse oxidativo, e que o acompanhamento farmacoterapêutico possua influência positiva sobre esses parâmetros.

## REFERÊNCIAS

ALBERTI, K. G.; ZIMMET, P. Z. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. **Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association**, v. 15, n. 7, p. 539–553, 1998.

ANGONESI, D.; SEVALHO, G. Atenção Farmacêutica: fundamentação conceitual e crítica para um modelo brasileiro Pharmaceutical Care : conceptual and critical basis to a Brazilian model. **Ciências e Saúde Coletiva**, v. 15, n. 3, p. 3603–3614, 2010.

ASMAT, U.; ABAD, K.; ISMAIL, K. Diabetes mellitus and oxidative stress-A concise review. **Saudi Pharmaceutical Journal**, 2015.

BORGES, A. P. D. S. et al. The pharmaceutical care of patients with type 2 diabetes mellitus. **Pharmacy world & science : PWS**, v. 32, n. 6, p. 730–6, 2010.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE CIÊNCIA, T. E I. E. D. DE A. E I. E. **CUIDADO FARMACÊUTICO NA ATENÇÃO BÁSICA. CADERNO 1: Serviços Farmacêuticos na Atenção Básica à Saúde.** 1ª edição. ed. Brasília: [s.n.].

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

BROWNLEE, M. The pathobiology of diabetic complications: A unifying mechanism. **Diabetes**, v. 54, n. 6, p. 1615–1625, 2005.

BRUNO, R. M.; GROSS, J. L. Prognostic factors in Brazilian diabetic patients starting dialysis A 3 . 6-year follow-up study. **Diabetes Care**, v. 14, p. 266–271, 2000.

BUYSSCHAERT, M.; HERMANS, M. P. NON-PHARMACOLOGICAL MANAGEMENT OF TYPE 2 DIABETES NON-PHARMACOLOGICAL MANAGEMENT OF TYPE 2 DIABETES. **International Journal of Clinical and Laboratory Medicine**, v. 3286, n. May, p. 14–19, 2014.

CAMERON, F. Teenagers with diabetes--management challenges. **Australian family physician.**, v. 35, n. 6, p. 386–390, 2006.

CAROLINO, I. D. R. et al. Fatores de risco em pacientes com diabetes mellitus tipo 2. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v. 16, n. 2, 2008.

CERIELLO, A. New insights on oxidative stress and diabetic complications may lead to a “causal” antioxidant therapy. **Diabetes Care**, v. 26, n. 5, p. 1589–1596, 2003.

CORRER, C. J. et al. Effects of a pharmacotherapy follow-up in community pharmacies on type 2 diabetes patients in Brazil. **International Journal of Clinical Pharmacy**, v. 33, n. 2, p. 273–280, 2011.

CREAGER, M. A. et al. Diabetes and vascular disease. Pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: Part I. **Circulation**, v. 108, n. 12, p. 1527–1532, 2003.

DCCT RESEARCH GROUP. THE EFFECT OF INTENSIVE TREATMENT OF DIABETES ON THE DEVELOPMENT AND PROGRESSION OF LONG-TERM COMPLICATIONS IN INSULIN-DEPENDENT DIABETES MELLITUS. **The New England Journal of Medicine**, v. 329, n. 14, p. 977–986, 1993.

EVANS, J. L. et al. Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: A unifying hypothesis of type 2 diabetes. **Endocrine Reviews**, v. 23, n. 5, p. 599–622, 2002.

FOLLI, F. The Role of Oxidative Stress in the Pathogenesis of Type 2 Diabetes Mellitus Micro- and Macrovascular Complications: Avenues for a Mechanistic-Based Therapeutic Approach. **Current Diabetes Reviews**, v. 7, n. 4, p. 313–324, 2011.

GIACCO, F.; BROWNLEE, M. Oxidative stress and diabetic complications. **Circulation Research**, v. 107, n. 9, p. 1058–1070, 2010.

HEPLER, C. D.; STRAND, L. M. Opportunities and Responsibilities in Pharmaceutical Care. **American Journal of Hospital Pharmacy**, v. 47, n. 3, p. 533–542, 1990.

HOLY, B.; NGOYE, B. O. Clinical Relevance of Superoxide Dismutase and Glutathione Peroxidase Levels in Management of Diabetes Type2. **Internation Journal of Contemporary Medical Research**, v. 3, n. 5, p. 1380–1382, 2016.

KUNWAR, A.; PRIYADARSINI, K. . Free radicals, oxidative stress and importance of antioxidants in human health. **Journal of Medical and Allied Sciences**, v. 1, n. 2, p. 53–60, 2011.

LOPES, J. P.; OLIVEIRA, S. M.; SOARES FORTUNATO, J. Stress oxidativo e seus efeitos na insulino-resistência e disfunção das células  $\beta$ -pancreáticas: Relação com as complicações da diabetes mellitus tipo 2. **Acta Medica Portuguesa**, v. 21, n. 1–3, p. 293–302, 2008.

MAGENTA, A. et al. Nitric Oxide , Oxidative Stress , and p66 Shc Interplay in Diabetic Endothelial Dysfunction. v. 2014, 2014.

MCLELLAN, K. C. P. et al. Custo do Atendimento Ambulatorial e Gasto Hospitalar do Diabetes mellitus tipo 2. **Saúde em Revista**, v. 8, n. 20, p. 37–45, 2006.

MCLELLAN, K. C. P. et al. Diabetes mellitus do tipo 2 , síndrome metabólica e modificação no estilo de vida. **Revista de Nutrição**, v. 20, n. 5, p. 515–524, 2007.

MENDES, A. B. V et al. Prevalence and correlates of inadequate glycaemic control: Results from a nationwide survey in 6,671 adults with diabetes in Brazil. **Acta Diabetologica**, v. 47, n. 2, p. 137–145, 2010.

MIMICA-DUKIĆ, N. et al. The Effect of Plant Secondary Metabolites on Lipid Peroxidation and Eicosanoid Pathway. In: **Lipid Peroxidation**. [s.l: s.n.].

MOHAMMEDI, K. et al. Absence of Peripheral Pulses and Risk of Major Vascular Outcomes in Patients With Type 2 Diabetes. **Diabetes Care**, v. 39, n. 12, p. 2270–2277, 2016.

NETO, P. R. O. et al. Effect of a 36-month pharmaceutical care program on the coronary heart disease risk in elderly diabetic and hypertensive patients. **Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 14, n. 2, p. 249–63, 2011.

NIEDOWICZ, D. M.; DALEKE, D. L. The role of oxidative stress in diabetic complications. **Cell biochemistry and biophysics**, v. 43, p. 289–330, 2005.

NOWOTNY, K. et al. Advanced Glycation End Products and Oxidative Stress in Type 2 Diabetes Mellitus. **Biomolecules**, v. 5, n. 1, p. 194–222, 2015.

OPAS. Consenso Brasileiro de Atenção Farmacêutica. 2002.

PANENI, F. et al. **Diabetes and vascular disease: Pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: Part I** *European Heart Journal*, 2013.

PENNATHUR, S.; HEINECKE, J. W. Mechanisms for oxidative stress in diabetic cardiovascular disease. **Antioxidants & redox signaling**, v. 9, n. 7, p. 955–69, 2007.

PEREIRA, L. R. L.; FREITAS, O. DE. A evolução da Atenção Farmacêutica e a perspectiva para o Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 4, p. 601–612, 2008.

PITOCCO, D. et al. Oxidative stress, nitric oxide, and diabetes. **Review of Diabetic Studies**, v. 7, n. 1, p. 15–25, 2010.

PITOCCO, D. et al. Oxidative stress in diabetes: Implications for vascular and other complications. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 11, p. 21525–21550, 2013.

RAINS, J. L.; JAIN, S. K. Oxidative stress, insulin signaling, and diabetes. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 50, n. 5, p. 567–575, 2011.

SATURNINO, L. T. M. et al. Farmacêutico : um profissional em busca de sua identidade. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 93, n. 1, p. 10–16, 2012.

SBD. **Diretrizes- Sociedade Brasileira de Diabetes 2017-2018**. [s.l: s.n.].

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. Conduta Terapêutica no Diabetes Tipo 2 : Algoritmo SBD 2015. **Posicionamento oficial SBD nº02**, p. 1–36, 2015.

TANGVARASITTICHAJ, S. Oxidative stress, insulin resistance, dyslipidemia and type 2 diabetes mellitus. **World journal of diabetes**, v. 6, n. 3, p. 456–80, 2015.

TATSCH, E. **DANO AO DNA NO DIABETES TIPO 2 E SUA ASSOCIAÇÃO COM INFLAMAÇÃO , ESTRESSE OXIDATIVO , DISFUNÇÃO ENDOTELIAL , CRÔNICAS MICROVASCULARES**. [s.l: s.n.].

TIWARI, B. K. et al. Markers of Oxidative Stress during Diabetes Mellitus. **Journal of biomarkers**, v. 2013, p. 378790, 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **GLOBAL REPORT ON DIABETES**. Geneva, 2016a. Acesso em: 15 de maio de 2018. Disponível em: <[http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/204871/1/9789241565257\\_eng.pdf?ua=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/204871/1/9789241565257_eng.pdf?ua=1)>

\_\_\_\_\_. **Country profiles**. 2016b. Acesso em: 15 de maio de 2018. Disponível em: <[http://www.who.int/diabetes/country-profiles/bra\\_en.pdf?ua=1](http://www.who.int/diabetes/country-profiles/bra_en.pdf?ua=1)>

## **ARTIGO**

**Pharmaceutical care improves medication adherence and quality of life and decreases the oxidative stress in type 2 diabetes mellitus**

Comprovante de submissão de artigo a periódico indexado

## Original article

Pharmaceutical care improves medication adherence and quality of life and decreases the oxidative stress in type 2 diabetes mellitus

### *Abstract*

Type 2 diabetes mellitus (T2DM) is a chronic metabolic disorder characterized by an increase in oxidative stress, which is related to appearance of its main chronic complications. Nevertheless, quality of life and medication adherence, especially relevant in the context of T2DM, can be improved through Pharmaceutical Care practices. Therefore, the aim of this study was to evaluate whether pharmacotherapeutic follow-up in patients with T2DM, users and non-users of insulin, interferes in the levels of oxidative stress, metabolic control, medication adherence and quality of life. After the follow-up, there was an improvement in treatment adherence and a significant increase in quality of life scores, except for the physical domain in the insulin therapy group. There was a decrease in nitric oxide levels and an increase in superoxide dismutase concentration for the group with insulin therapy. Accordingly, these results show that the proposed pharmacotherapeutic follow-up positively influenced on the adherence to therapy, quality of life and oxidative stress levels, and therefore, may contribute to delay the onset of the main chronic complications of the disease.

**Key words:** Pharmaceutical care, medication adherence, quality of life, nitric oxide, superoxide dismutase.

Original article

Pharmaceutical care improves medication adherence and quality of life and decreases the oxidative stress in type 2 diabetes mellitus

Angélica Marchesi Lira-Meriguete<sup>1</sup>, Mayara Paes Santos<sup>1</sup>, Viviam Cerqueira de Souza Viana<sup>2</sup>, Nadmy Arrivabene Zavaris Gonçalves<sup>2</sup>, Francine Costa Guimarães<sup>1</sup>, Lorena Rocha Ayres<sup>3</sup>, Daniela Amorim Melgaço Guimarães do Bem<sup>1,3</sup>, Rita de Cássia Ribeiro Gonçalves<sup>1,3</sup>.

<sup>1</sup>Graduate Program in Pharmaceutical Sciences, Federal University of Espírito Santo, Vitória, Brazil.

<sup>2</sup>Municipal Secretary of Health, City Hall Vitória of Espírito Santo, Brazil.

<sup>3</sup>Department of Pharmaceutical Sciences, Federal University of Espírito Santo, Vitória, Brazil.

\*Corresponding author: Rita de Cássia Ribeiro Gonçalves  
Department of Pharmaceutical Sciences, Federal University of Espírito Santo,  
Av Marechal Campos, 1468, CEP 29043-900, Maruípe/ES, Brazil;  
E-mail address: rita.goncalves@ufes.br

## 1. Introduction

Type 2 diabetes mellitus (T2DM) is one of the four most prevalent chronic noncommunicable diseases (NCDs), responsible for 70% of all deaths worldwide (Malta et al., 2017). The central events of the T2DM pathophysiology, insulin resistance and pancreatic beta cell dysfunction occur due to the imbalance between oxidative and antioxidative systems (Tiwari et al., 2013). There is evidence that several biochemical pathways associated with the formation of reactive oxygen species (ROS) are affected by hyperglycemia (Giacco and Brownlee, 2010), inducing the increase production of the mitochondrial ROS (Brownlee, 2005).

Many studies report that there are decreased concentrations of antioxidants in T2DM, such as superoxide dismutase and glutathione (Goodarzi et al., 2008; Gupta and Chari, 2006; Said et al., 2013). Due to lack of adequate antioxidant compensation, oxidative stress induces the formation of cell damaging products, contributing to the onset of late complications of diabetes (macro and microvascular) (Ceriello, 2003) which compromise the productivity, quality of life and survival of individuals (McLellan et al., 2007, 2006).

In order to achieve adequate glycemic control, non-pharmacological and pharmacological measures are adopted, including oral antidiabetic agents and the use of insulin, according to the decline in beta cell type 1 function (Borges et al., 2010). One study showed that after 6 years of diagnosing diabetes, more than 50% of patients will need to add insulin to therapy (Wright et al., 2002). The current recommendations of the Brazilian Society of Diabetes (SBD, 2017) suggest that the introduction of insulin therapy occur after the failure of using maximum doses of at least two oral drugs or in cases when patients have symptoms secondary to hyperglycemia, insulin therapy may already be recommended.

However, often the insulin therapy start is delayed. On average, HbA<sub>1c</sub> levels remain elevated to about 8% for approximately 5 years before insulin onset, when vascular complications have already established (Nichols et al., 2007). Due to the possibility of developing these complications, the risk of death from cardiovascular events in T2DM reaches 65% (Riddle et al., 2016).

Data from literature show that the delay to start insulin therapy may be related to the patient's perception that the need of insulin is associated with personal failure and the addition of the hormone represents a worsening of T2DM (Brod et al., 2014). Therefore, good communication is required to ensure that the patient understands the natural progression of the disease and that pharmacotherapy review and treatment adjustment is intrinsic to T2DM therapy (Reach et al., 2017).

As a strategy to overcome these barriers, pharmaceutical care services can be applied. Pharmaceutical care services through various tools, has the objective of promoting the rational use of drugs and medication adherence, seeking to improve the quality of life of patients (Mourão et al., 2013). The differential component of pharmacotherapeutic follow-up is the association of clinical outcomes with the process of drug use, making it possible to identify causes of negative clinical outcomes (Correr et al., 2011). Studies evaluating pharmaceutical care programs in patients with T2DM in Brazil at public health system show significant reduction of glycemic index (Borges et al., 2010), illustrating its efficiency for the control of the disease and prevention of the main complications.

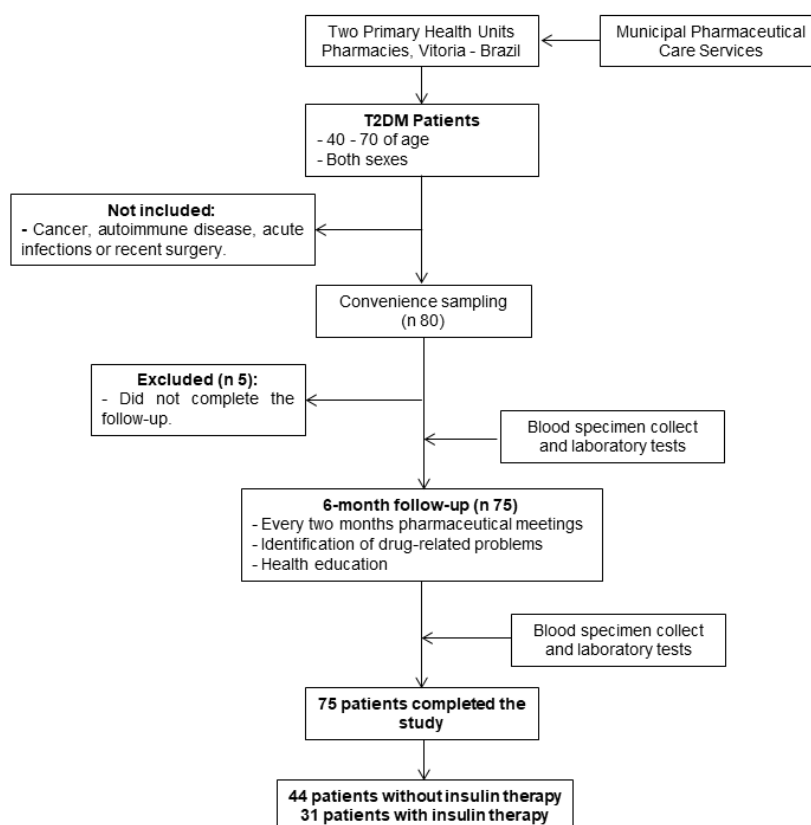
Since that the treatment of T2DM comprises the continuous use of polypharmacy as a characteristic, the aim of the present study was to investigate whether pharmacotherapeutic follow-up in patients with type 2 diabetes mellitus with and without insulin therapy interferes on medication adherence, quality of life, metabolic control and oxidative stress levels.

## *2. Methods*

### *2.1 Study design and population*

This prospective clinical study was conducted at two Primary Health Units in Vitoria, Espírito Santo, Brazil. These units cover places of social vulnerability and with difficult access, where basic sanitation, leisure and social welfare are deficient. The recruitment and data collection took place between June 2016 and January 2018. The research project was approved by the Ethics Committee of the Federal University of Espírito Santo, protocol number 722.523.

A convenience sample of 80 patients with type 2 diabetes between 40 and 70 years old was invited to participate. Patients diagnosed with cancer, autoimmune disease and acute infections or who had surgery less than six months before were not included. To investigate the influence of insulin therapy, the total sample was distributed between users and non-insulin users. From the total of 80 patients, five subjects who did not complete the follow-up were excluded. The study was concluded with 75 as shown in the following flow chart (Fig.1).



**Fig. 1.** Flow chart of the recruitment process of diabetic patients and study design.

## 2.2 Pharmacotherapeutic follow-up instrument and data collection

Pharmacotherapeutic follow-up was developed according to the model proposed by the Brazilian Ministry of Health (Brasil, 2014), performing meetings with patients every 2 months during 6 months. The model is structured in four stages, which includes: introduction; data collection and problem identification; actions and solutions and closing of the appointment. Following this this query script, at the first meeting was established a therapeutic relationship with the patient to identify the patient's needs related to the medication, investigating the

current state of each health problem, the correct use of prescribed drugs and the existence self-medication. Next, a plan of care was developed, guiding the function of each medication, health conditions and lifestyle, providing support materials such as daily dosing schedule and a daily self-monitoring book. Finally, strategies were agreed to facilitate the monitoring of the plan and space for additional doubts.

Data were analyzed as total sample and stratified according to the use of insulin therapy. The variables that could be influenced by pharmacotherapeutic follow-up were explored by comparing the results at baseline and after 6 months follow-up.

### *2.2.1 Medication adherence*

To investigate the extent to which drug administration coincides to the prescribed therapy, the Brief Medication Questionnaire (BMQ), validated and translated into Portuguese, was applied (Ben et al., 2012). The BMQ is composed of three screens that identify barriers to adherence with respect to treatment regimens, patient beliefs and patient recall of medication treatment. The participants are classified into the following categories: adherence (no positive response in any domain), probable adherence (positive response in one domain), probable low adherence (positive responses in two domains) and low adherence (positive responses in all three). To evaluate the performance of individuals in each domain, the results were transformed into dichotomous variables. In this case, the occurrence of a positive response was sufficient for classification as nonadherent.

### *2.2.2 Quality of life*

The abbreviated quality of life inventory proposed by the World Health Organization, the World Health Organization Quality of Life (WHOQOL-Bref), Portuguese version was adopted for quality of life assessment. This form is composed of 26 questions divided between the physical health, psychological health, social relationships, and environment, which follow the Likert scale (from 1 to 5, the higher the score, better the quality of life).

### *2.2.3 Anthropometric and biochemical parameters*

Some indicators were calculated from the anthropometric data to evaluate the clinical status of the users. The cardiovascular risk of patients was assessed

using the Framingham Risk Score. The biochemical parameters investigated were fasting glycemia, glycated hemoglobin, triglycerides/High-density lipoprotein cholesterol ratio and total cholesterol/High-density lipoprotein cholesterol ratio.

### 2.3 Oxidative stress analysis

#### 2.3.1 Determination of nitric oxide (NO)

Quantification of nitric oxide was performed indirectly through nitrite and nitrate measurement in the plasma by Griess reaction from Miranda, Espey, Wink (2001) adapted method. Briefly, at 100  $\mu$ L of deproteinated plasma was added 100  $\mu$ L of vanadium chloride III 8 mg/mL and 100  $\mu$ L of Griess solution and incubated for 30 minutes, at 37 °C. The chromophore compound formed was read at 540 nm. The results were expressed as the sum of the nitrate and nitrite concentration ( $\mu$ M) from the standard curve.

#### 2.3.2 Determination of superoxide dismutase (SOD)

Superoxide dismutase enzyme level in plasma was evaluated by the SOD Determination Kit (Sigma-Aldrich®). This kit uses a superoxide, xanthine and xanthine oxidase anion generation system and evaluates the ability of the test solution to inhibit the superoxide anion reaction with WST (2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-2H-5-tetrazolium). This reaction forms the formazan compound, with color intensity read at 450 nm. The results were expressed as amount of SOD (U/mL) from the standard curve.

#### 2.3.3 Determination of lipid peroxidation (TBARS)

The assay was adapted from Buege, Aust (1978) and is based on the reaction between malondialdehyde and substances derived from lipid peroxidation with thiobarbituric acid. For this assay, 80  $\mu$ L of 10% SDS, 200  $\mu$ L of plasma and 1000  $\mu$ L of color reagent (thiobarbituric acid 0.037% + trichloroacetic acid 15% + hydrochloric acid 0.25 M) was added. The solution was boiled for 15 minutes, followed by cooling for 5 minutes. After this period, the tubes were centrifuged at 3500 rpm at 4 °C, and the supernatant were placed in a 96-well microplate in duplicates and read at a 540 nm. The standard curve was performed from the TBARS Assay kit (Cayman Chemical, Michigan, USA) and the level of MDA was expressed in  $\mu$ M.

#### 2.3.4 *Determination of Advanced Oxidation Proteins Products (AOPP)*

The AOPP analysis were performed under acidic condition method by Witko-Sarsat et al. (1996), with modifications. In a 96-well microplate were added 200  $\mu\text{L}$  of plasma diluted 1:10, 10  $\mu\text{L}$  of potassium iodide 1.16 M, 20  $\mu\text{L}$  of glacial acetic acid and shaken for 6 minutes. After, the reading procedure was done at 340 nm. The final concentration of AOPP ( $\mu\text{mol}/\text{mg}$  protein) was measured through the standard chloramine-T linear curve.

#### 2.4 *Statistical analysis*

Data were analyzed with The Statistical Package for the Social Sciences (SPSS, Version 22 Inc., Chicago, IL, USA) and GraphPad Prism software version 5.0. The results were assessed using nominal/ordinal variables as frequencies (number and percentage) and continuous variables represented as mean  $\pm$  standard deviation. Nominal/ordinal variables were compared by Chi-square test or Fisher's exact test. Paired Student *t*-test was applied for intragroup analysis and unpaired Student *t*-test was applied between the groups without and with insulin therapy. *P* value  $< 0.05$  were considered statistically significant.

### 3. *Results*

The study was concluded with 75 patients with T2DM from two Primary Health Units. Individualized interventions were carried out, including home visits, health education, referral to specialized professionals, identification of adverse drug reactions, identification of the need for change in therapy or inadequate dosage, incentive for adherence and the importance of adherence non-pharmacological measures and self-monitoring. The sociodemographic information is shown in Table 1.

**Table 1**

Demographics characteristics of the T2DM patients (n=75) classified between without insulin therapy (n = 44) and with insulin therapy (n=31) groups.

Parameter	Grade	Total	Without insulin	With insulin	p
<b>Age (years)</b> (Mean ± SD)	-	58.63 ± 9.28	58.11 ± 8.11	59.35 ± 10.82	0.572 <sup>(a)</sup>
<b>Sex</b> (N, %)	Female	54 (72.00)	32 (72.73)	22 (70.97)	1.000 <sup>(b)</sup>
	Male	21 (28.00)	12 (27.27)	9 (29.03)	
<b>Occupation</b> (N, %)	Employed	26 (34.67)	16 (36.36)	10 (32.26)	0.017* <sup>(b)</sup>
	Unemployed	23 (30.67)	18 (40.91)	5 (16.13)	
	Retire	26 (34.67)	10 (22.73)	16 (51.61)	
<b>Monthly income (BRL)</b> (Mean ± SD)	-	2,567.00 ± 2,064.00	2,374.00 ± 2,025.00	2,703.00 ± 2,104.00	0.507 <sup>(a)</sup>
<b>Marital status</b> (N, %)	Single	14 (18.67)	4 (9.09)	10 (32.26)	0.092 <sup>(b)</sup>
	Married	44 (58.67)	29 (65.91)	15 (48.39)	
	Divorced	6 (8.00)	4 (9.09)	2 (6.45)	
	Widow/er	11 (14.67)	7 (15.91)	4 (12.90)	
<b>Race</b> (N, %)	Caucasian	27 (36.00)	15 (34.09)	12 (38.71)	0.393 <sup>(b)</sup>
	African american	15 (20.00)	7 (15.91)	8 (25.81)	
	Brown	33 (44.00)	22 (50.00)	11 (35.48)	
	Unlettered	2 (2.67)	1 (2.27)	1 (3.22)	
<b>Education level</b> (N, %)	Primary school	32 (42.67)	17 (38.64)	15 (48.39)	0.153 <sup>(b)</sup>
	Secondary school	36 (48.00)	25 (56.82)	11 (35.48)	
	University	5 (6.67)	1 (2.27)	4 (12.90)	

SD: Standard deviation. N: Number. %: Percentage. <sup>(a)</sup> Unpaired Student-t test. <sup>(b)</sup> X<sup>2</sup> test. \* Statistical significant difference (p<0.05) between without insulin therapy and with insulin therapy groups.

Among the distribution of risk factors and T2DM complications it is possible to observe that most individuals do not consume alcohol (72%), are nonsmokers (86.57%) and present hypertension (77.33%). Also, there was a high frequency of patients who did not practice physical activity (64.38%). The diagnose of T2DM for more than 5 years was more frequent for the insulin therapy users group (83.87%). Most patients did not have microvascular complication; these complications were more common for the group in insulin therapy (32.26%) (table 2).

**Table 2**

Distribution of risk factors and T2DM complications and a comparison between those without insulin therapy (n = 44) and with those with insulin therapy (n=31).

Parameter	Grade	Total	Without insulin	With insulin	p
<b>Alcohol consumption</b> (N, %)	Yes	21 (28.00)	11 (25.00)	10 (32.26)	0.603 <sup>(a)</sup>
	No	54 (72.00)	33 (75.00)	21 (67.74)	
<b>Cigarette consumption</b> (N, %)	Yes	10 (13.33)	7 (15.91)	3 (9.68)	0.509 <sup>(b)</sup>
	No	65 (86.67)	37 (84.09)	28 (90.32)	
<b>Hypertension</b> (N, %)	Yes	58 (77.33)	34 (72.27)	24 (77.42)	1.000 <sup>(a)</sup>
	No	17 (22.67)	10 (22.73)	7 (22.58)	
<b>Physical activity</b> (N, %)	Yes	26 (35.62)	16 (36.36)	10 (34.48)	1.000 <sup>(a)</sup>
	No	47 (64.38)	28 (63.64)	19 (65.52)	
<b>T2DM diagnostic length</b> (N, %)	< 5 years	23 (30.67)	18 (40.91)	5 (16.13)	0.025 <sup>(b)*</sup>
	≥ 5 years	52 (69.33)	26 (59.09)	26 (83.87)	
<b>Microvascular complication</b>	Yes	14 (18.67)	4 (9.09)	10 (32.26)	0.0161 <sup>(b)*</sup>
	No	61 (81.33)	40 (90.91)	21 (67.74)	

N: Number. %: Percentage. <sup>(a)</sup> X<sup>2</sup> test. <sup>(b)</sup> Fisher's exact test. T2DM: Type 2 diabetes mellitus. \*Statistical significant difference ( $p < 0.05$ ) between without insulin therapy and with insulin therapy groups.

The results for the cardiovascular risk, anthropometric and biochemical parameters are organized in table 3. In the waist circumference a statistical difference was observed between the groups without insulin and with insulin at the baseline and between these groups after the follow-up for women. There was no difference in the cardiovascular risk after the pharmaceutical intervention, even being observed a higher decrease in group without insulin. Likewise, TG/HDL-c ratio and TC/HDL-c ratio measurements did not show difference, although after the intervention it is also possible to observe a large decrease in the value of TG/HDL-c for individuals who do not use insulin. The fasting blood glucose and HbA<sub>1c</sub> concentration had a small modification at the end of the appointments, without difference.

**Table 3**

Anthropometric comparison between those T2DM patients without insulin therapy (n = 44) and with those with insulin therapy (n=31) at the baseline and after 6-month follow-up.

Parameter	Without insulin		<i>p</i> <sup>(a)</sup>	With insulin		<i>p</i> <sup>(a)</sup>	<i>p</i> <sup>(b)</sup> Baseline without vs with insulin	<i>p</i> <sup>(b)</sup> After 6-month follow-up without vs with insulin
	Baseline	After 6-month follow-up		Baseline	After 6-month follow-up			
<b>Waist circumference (cm)</b> (Mean ± SD)	99.48 ± 12.02	98.45 ± 11.52	0.071	104.80 ± 12.56	106.00 ± 13.88	0.119	0.068	0.012*
<b>Female</b>	100.20 ± 12.87	99.45 ± 12.45	0.239	107.50 ± 13.49	109.20 ± 14.24	0.039*	0.0494*	0.010*
<b>Male</b>	97.58 ± 9.62	95.79 ± 8.44	0.169	98.22 ± 6.72	98.17 ± 9.66	0.956	0.867	0.555
<b>Framingham risk score (%)</b> (Mean ± SD)	24.35 ± 17.05	20.86 ± 12.05	0.071	23.35 ± 15.20	21.63 ± 14.19	0.398	0.795	0.801
<b>Fasting blood glucose (mg/dL)</b> (Mean ± SD)	148.70 ± 66.51	139.90 ± 56.10	0.098	168.90 ± 72.14	173.10 ± 73.11	0.635	0.177	0.029*
<b>HbA<sub>1c</sub> (%)</b> (Mean ± SD)	7.60 ± 2.00	7.41 ± 2.13	0.157	8.27 ± 2.11	8.24 ± 1.97	0.756	0.167	<0.0001*
<b>TG/HDL-c ratio</b> (Mean ± SD)	6.38 ± 8.69	4.36 ± 2.79	0.113	3.68 ± 3.28	3.51 ± 3.43	0.520	0.104	0.242
<b>TC/HDL-c ratio</b> (Mean ± SD)	4.78 ± 2.10	4.24 ± 1.51	0.076	3.95 ± 1.41	3.67 ± 1.50	0.109	0.056	0.108

N: Number. %: Percentage. BP: Blood pressure. BMI: Body mass index. HbA<sub>1c</sub>: Glycated hemoglobin. TG: Triglyceride. HDL-c: High-density lipoprotein cholesterol. TC: Total cholesterol. <sup>(a)</sup> Paired Student-*t* test. <sup>(b)</sup> Unpaired Student-*t* test. \* Statistical significant difference (*p*<0.05).

The evaluation of the medication adherence showed an increase in adherence for the total sample, with a difference in the pre- and post-follow-up evaluation (*p*<0.0001), with 12.00 % of the patients classified as low adherence in the final time, against 41.33 % with the same classification before the meetings. When the results are distributed according to insulin therapy use, the same behavior is verified, with statistical increase to adherence therapy in both groups (Table 4).

**Table 4**

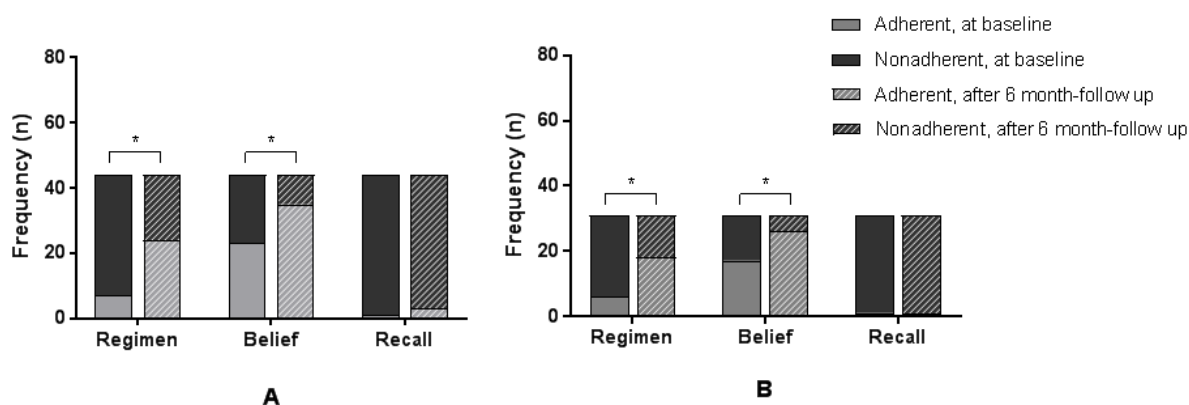
Evaluation of adherence to therapy by application of the Brief Medication Questionnaire among T2DM patients without insulin therapy (n = 44) and with those with insulin therapy (n=31) at the baseline and after 6-month follow-up.

Performance	Without insulin		<i>p</i> <sup>(a)</sup>	With insulin		<i>p</i> <sup>(a)</sup>	<i>p</i> <sup>(a)</sup> Baseline without vs with insulin	<i>p</i> <sup>(b)</sup> After 6-month follow-up without vs with insulin
	Baseline	After 6-month follow-up		Baseline	After 6-month follow-up			
<b>Adherent</b> (N, %)	0 (0.00)	2 (4.54)		0 (0.00)	1 (3.23)			
<b>Probable adherence</b> (N, %)	4 (9.09)	20 (45.45)	0.0002*	5 (16.13)	13 (41.94)	0.019*	-	0.869
<b>Probable low adherence</b> (N, %)	21 (47.73)	16 (36.36)		14 (45.16)	14 (45.16)			
<b>Low adherence</b> (N, %)	19 (43.18)	6 (13.64)		12 (38.71)	3 (9.68)			

N: Number. %: Percentage. <sup>(a)</sup> Fisher's exact test. \* Statistical significant difference (*p*<0.05).

To identify the barriers to medication treatment, BMQ domains were stratified as dichotomous variables, making it possible to observe the adherence profile

among users (Fig. 2). The regimen and belief domains had a significant increase after performing the pharmaceutical care. The recall to medication barrier treatment had the worst performance, with no difference after follow-up for both groups. The use of insulin did not significantly influence the performance of any domain.



**Fig. 2.** Dichotomous results of Brief Medication Questionnaire domains. A: Group with insulin therapy group. B: Group without insulin therapy. \*Statistical significant difference for Fisher's exact test between groups ( $p < 0.05$ ).

For the whole sample, the assessment of quality of life through the comparison between the groups before and after the follow-up showed an increase in the score for all domains. At the baseline, the physical domain was scored from  $13.46 \pm 2.36$  to  $15.39 \pm 2.32$  after follow-up ( $p < 0.0001$ ). For the psychological domain, the initial score was  $14.23 \pm 2.76$  and it increased to  $16.35 \pm 2.75$  ( $p < 0.0001$ ). The initial social relation score was  $14.63 \pm 2.66$  and the final score was  $16.83 \pm 2.90$  ( $p < 0.0001$ ). For the environmental domain at the beginning of the study, the score was  $13.78 \pm 1.88$  and after follow-up  $15.83 \pm 2.63$  ( $p < 0.0001$ ).

After the separation according to the use of insulin, an increase in the score for almost all quality of life domains was observed for both groups, except for the physical one as presented in table 5. In this domain, for patients on insulin therapy there was no statistical difference between the periods.

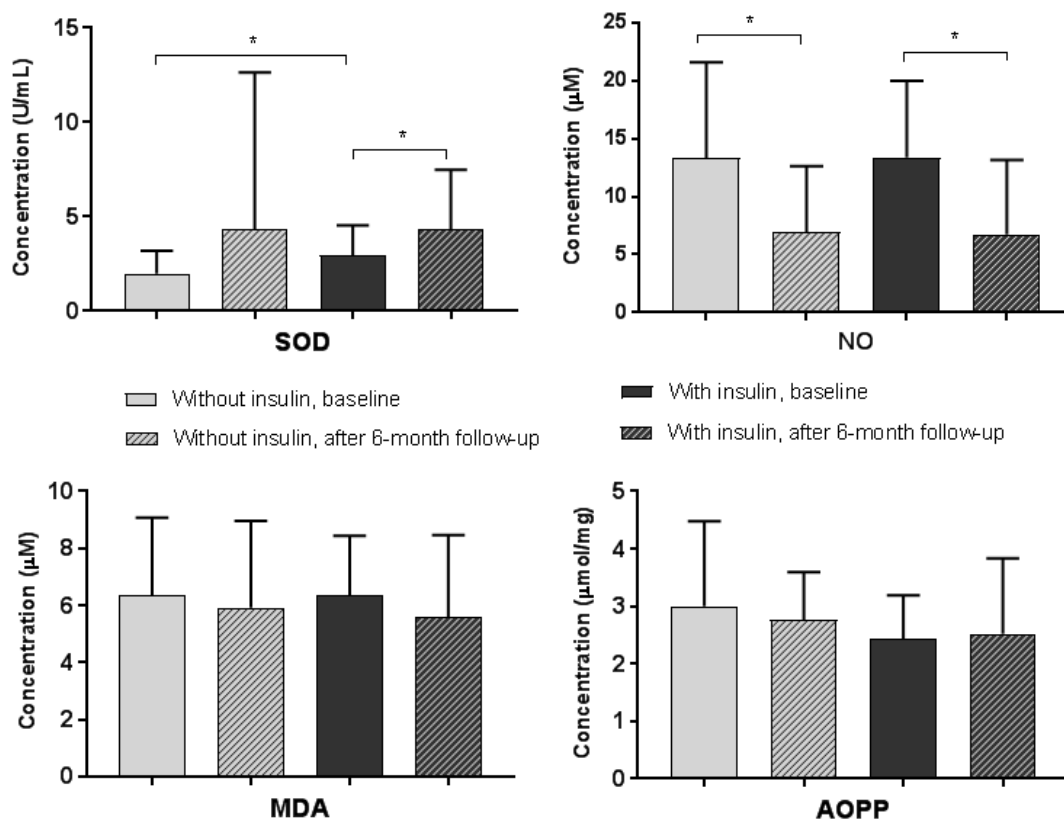
**Table 5**

Assessment of quality of life through the application of the WHOQOL - Bref questionnaire among T2DM patients without insulin therapy (n = 44) and with those with insulin therapy (n=31) at the baseline and after 6-month follow-up.

Domain	Without insulin		<i>p</i> <sup>(a)</sup>	With insulin		<i>p</i> <sup>(a)</sup>	<i>p</i> <sup>(b)</sup> Baseline without vs with insulin	<i>p</i> <sup>(b)</sup> After 6-month follow-up without vs with insulin
	Baseline	After 6-month follow-up		Baseline	After 6-month follow-up			
<b>Physical</b> (Mean ± SD)	13.55 ± 2.45	15.60 ± 2.42	0.0004*	13.39 ± 2.35	15.07 ± 2.17	0.052	0.274	0.348
<b>Psychological</b> (Mean ± SD)	14.12 ± 2.63	16.46 ± 2.88	0.0002*	14.26 ± 3.03	16.18 ± 2.58	0.028*	0.836	0.676
<b>Social</b>								
<b>Relationship</b> (Mean ± SD)	14.49 ± 2.38	16.74 ± 3.15	0.0003*	14.76 ± 3.14	16.97 ± 2.52	0.016*	0.672	0.753
<b>Enviromental</b> (Mean ± SD)	13.72 ± 1.72	15.95 ± 2.61	<0.0001*	13.98 ± 2.12	15.66 ± 2.69	0.040*	0.561	0.646

SD: Standard deviation. <sup>(a)</sup> Paired Student-*t* test. <sup>(b)</sup> Unpaired Student-*t* test. \* Statistical significant difference (*p*<0.05).

The evaluation of oxidative stress markers was performed by the determinations of nitric oxide, superoxide dismutase, lipid peroxidation and protein oxidation. For the total sample, nitric oxide levels at baseline were  $13.56 \pm 8.12$  and after follow-up decreased to  $6.86 \pm 5.93$  (*p*<0.0001). The antioxidant marker superoxide dismutase increased significantly at the follow up period for the total sample. At first, the SOD level was  $2.34 \pm 1.42$  and at the end was  $6.36 \pm 11.95$  (*p*<0.0001). The mean and standard deviation values classified according to insulin use are represented in the Fig. 3. When the insulin influence is analyzed, there is a statistical difference decrease in both groups for NO and SOD parameters. Levels of malondialdehyde and advanced oxidation protein products levels did not differ after follow-up even after the analysis according to the insulin therapy use.



**Fig. 3.** Results of the evaluation of pharmacotherapeutic follow-up on oxidative stress according to the use of insulin therapy. NO: nitric oxide. SOD: superoxide dismutase. MDA: malondialdehyde. AOPP: Advanced oxidation protein products. \*Statistical significant difference for paired Student-t test for intragroup analysis and unpaired Student-t test between groups ( $p < 0.05$ ).

#### 4. Discussion

The main findings of the study show that this pharmacotherapeutic follow up model resulted in improvements in adherence to medication, quality of life and decrease oxidative stress in patients with T2DM. The use of insulin was related to poorer metabolic control and a higher frequency complication.

The results on the risk factors showed that about 77% of the patients have hypertension and most of patients do not practice physical activity, which together rises the risk for cardiovascular disease. The rate of hypertension diagnosis was similar with a study conducted in southeastern Brazil, where 81.3% T2DM participants had hypertension (Faria et al., 2013). Physical activity is an essential part of the non-pharmacological approach which is inversely related to the development of T2DM, improving glycemic control and lipid profile

(Stanford and Goodyear, 2014). A 20-year follow-up study shows that regular practice of physical activity showed capacity to reduce body weight, improve insulin sensitivity and normalize blood pressure (Li et al., 2008). Thus, it reinforces the importance of the practice of physical activity for the control of T2DM and hypertension since the presence of other comorbidities further complicates adherence, due to the increase in the number of medications and the need for patient recall.

After the intervention period no difference was observed for metabolic control and cardiovascular risk in the groups, as in other studies where there was no difference in glycated hemoglobin levels after the pharmaceutical care (Odegard et al., 2005; Simpson et al., 2011). This result may be related to the short follow-up period, in addition to the fact that the follow-up program was not linked to a multi-professional team, which could be a strategy for metabolic control since diabetes is a complex disease that involves life style changes, continuous monitoring and treatment intensification. During the follow-up, non-pharmacological practices were not deepened, such as changes in diet and physical activity that could positively influence these results.

Statistical differences were observed in the comparison between insulin treatment groups at the end of the intervention, showing a better levels of non-insulin users for glycated hemoglobin, fasting glucose and waist circumference. The use of insulin was also related to a higher occurrence of microvascular complications. According to the Brazilian Society of Diabetes (2017), insulin therapy is generally applied when hyperglycemia does not reach adequate values after the combination of at least two oral drugs. However, this is often delayed because of the "psychological resistance" of patients fed by misperceptions and myths, their view on the administration regimen is highly burdensome; and for physicians, beliefs about competence and risk of the patient are the main barriers to not initiating insulin therapy (Boels et al., 2017). Therefore, the start of use of insulin is related to the actual progression of T2DM, when there is a greater decrease in pancreatic beta cell function, which explains the worse performance in the metabolic control.

Adherence is a multidimensional phenomenon determined by the interaction of a set of factors that affect people's behavior and ability to follow treatment (Tavares et al., 2013). Frequent adherence difficulties in chronic diseases such as T2DM requiring long, complex and life-changing treatments in the general population are associated with 50% non-adherence (WHO, 2003). At the baseline 41.44 % of the patients were non-adherent similar to studies assessing adherence to treatment in T2DM patients where most of these individuals were classified as low adherence (Istilli, 2014). After follow-up, an increase in medication adherence was observed in the group of individuals with or without insulin therapy. In the same way, a study conducted in Australia showed low adherence of 41% of participants before the intervention and post intervention an decrease to 15% of non-adherents (Krass et al., 2005).

The BMQ assesses medication adherence in three domains: regimen, belief and recall, which allow the approach of factors that hinder adherence, such as the amount of medication administered daily, the occurrence of adverse effects and confidence in the practice of self-care. The dichotomous analysis showed increased adherence to the regimen and belief domains and absence of change to the recall domain at the end of the meetings. In this case, aging and the high proportion of patients with hypertension, related to polymedication, can be considered as barriers to recall to medication treatment.

Among the strategies to improve adherence are education, better treatment regimens and better communication between physicians and other health professionals with patients (Tavares et al., 2016). The strategies provided by this study support the implementation of interventions directed to the individual needs of the patients, facilitating the management by the health professional during the meetings, which may be related to the improvement of adherence to the medication. The close professional relationship built between the patient and the pharmacist must have improved communication and the desire to reciprocate with positive results. In addition, patient education is essential to achieve optimal outcome in the treatment of diabetes because it can enable patients to effectively engage in health management, promoting self-

management of their disease, and improving patient compliance, as observed by Ojieabu et al. (2017).

One of the achieved goals of pharmaceutical care, the improvement in the quality of life observed after the follow up program have been reported (Adibe et al., 2013; Correr et al., 2009; Sriram et al., 2011). The Brazilian Consensus on Pharmaceutical Care defined macrocomponents of this practice that guarantee the rational use of drugs and adherence to treatment, improving the quality of life of patients (OPAS, 2002) as found in this study. Between its individual scores the physical domain had a lower performance in both groups.

Microvascular complications include diabetic foot syndrome that has an emotional and physical impact on individuals with T2DM, which may be related to the poor performance of the physical domain (Zurita-Cruz et al., 2018). Aging is another factor that influences quality of life, particularly the physical domain due to the reduction of muscle strength, flexibility and endurance (Milanovic et al., 2013).

Souza et al., (1997) showed that the aspects of quality of life most affected by the presence of diabetes mellitus were physical capacity and family relationship, due to the presence of symptoms such as discomfort and tiredness. In the WHOQoL, the physical domain is related to aspects such as pain, fatigue, mobility and dependence of medication (Fleck et al., 2000). The lowest physical score observed in T2DM patients agrees with some data from the literature (Trikkalinou et al., 2017), and the influence of insulin therapy may be due to the worse metabolic control and the greater presence of microvascular complications.

*In vivo* studies revealed that oxidative stress due to hyperglycemia occurs before late complications become clinically evident (Chikezie et al., 2015). In the evaluation of oxidative stress, a decrease in NO levels was observed for both groups with difference at the end of the follow-up. Elevated levels of glucose may enhance NO production through increased expression of eNOS and iNOS gene and protein levels. At higher levels, NO can interact with the superoxide radical, leading to the formation of peroxynitrite, which may stimulate arachidonic acid metabolism and lipid peroxidation, contributing to

endothelial function impairment. (Adela et al., 2015). The endothelium is the major source of NO in the vasculature and its dysfunction observed in diabetic's accounts for one of the primary causes of atherosclerosis (Pitocco et al., 2010)..

The results of SOD concentration showed an increase also for both groups at the end of the intervention, but this difference was significant only in insulin therapy. It is reported that the main preventive antioxidant enzyme in the body is SOD (Tiwari et al., 2013) and its activity and expression in T2DM are decreased (Adachi et al., 2004; Feng et al., 2017), which can be associated with poor glycemic control and the development of complications, maybe due to the glycation of the enzyme (Wang et al., 2013; Zhao et al., 2018). Wang et al., (2013) state that the strategy targeted to overcome oxidative stress, of increasing antioxidant enzymes and consequently reducing ROS, has been shown to prevent diabetes mellitus, showing other positive effect of the follow up realized. The best performance observed for the insulin therapy group may be explained due to its inhibitory effect on activation of oxidative stress, a hypothesis that is in agreement with its anti-inflammatory effect during the administration of exogenous insulin (Monnier et al., 2010).

The evaluation of MDA and AOPP did not differ after the pharmaceutical care program. It has been reported that MDA rates, a by-product of lipid peroxidation, elevates directly with T2DM duration, lipid profile and ethnicity (Rkhaya et al., 2018). AOPP are formed by the action of chlorinated oxidants with plasma proteins, correlated with markers of oxidative stress in T2DM (Pan et al., 2010). Some studies have shown lipid molecules influence on the AOPP index (Taylor et al., 2015; Valli et al., 2007) as for MDA which may have influenced in the results. Also, these biomarkers are reported as early oxidative stress markers in diabetes (Tiwari et al., 2013) and other pathologies, therefore the presence of other diseases may have affected the level of these markers (Black et al., 2015; Stepniowska et al., 2015).

In the analysis of the results, it should be considered that the sample size and the 6-month period of study may not be enough to evaluate some of these variables and promote the achievement of therapeutic goals. As the prevalence of type 2 diabetes continues to increase rapidly, further studies would be useful

to know the contributions of pharmaceutical care programs to predict the long-term risk of cardiovascular events.

### *Conclusion*

In conclusion, the proposed pharmaceutical care program carried out in T2DM improved medication adherence and quality of life and reduced oxidative stress markers levels. Patients on insulin therapy had worse metabolic control that may be related to a delay on its administration when the complications have already settled. The favorable results can be attributed to the provision of proper education on pharmacological treatment and better communication with patient showing that a pharmaceutical care program in primary care may provide contributions to prevent clinical complications.

### *Acknowledgements*

The authors thanks Fundação de Amparo a Pesquisa do Espírito Santo (FAPES) for financial support and scholarship; technical support of Histology and Immunohistochemistry Laboratory (LHMI/UFES); and Vitoria City Hall for providing the structure and performance of the biochemical evaluation necessary to accomplish this work.

*Funding:* This work was supported by Fundação de Amparo a Pesquisa do Espírito Santo (FAPES), Vitoria, ES, Brazil. Grant number: [Edital FAPES/CNPq/MS-Decit/SESA nº 10/2013 - PPSUS 65823648/2014]

*Conflicts of interests:* The authors declare no conflicts of interests.

## References

- Adachi, T., Inoue, M., Hara, H., Maehata, E., Suzuki, S., 2004. Relationship of plasma extracellular-superoxide dismutase level with insulin resistance in type 2 diabetic patients. *J. Endocrinol.* 181, 413–7. <https://doi.org/10.1677/joe.0.1810413>
- Adela, R., Nethi, S.K., Bagul, P.K., Barui, A.K., Mattapally, S., Kuncha, M., Patra, C.R., Reddy, P.N.C., Banerjee, S.K., 2015. Hyperglycaemia enhances nitric oxide production in diabetes: A study from South Indian patients. *PLoS One* 10, 1–17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0125270>
- Adibe, M.O., Ukwe, C. V, Aguwa, C.N., 2013. The Impact of Pharmaceutical Care Intervention on the Quality of Life of Nigerian Patients Receiving Treatment for Type 2 Diabetes. *Value Heal. Reg. Issues* 2, 240–247. <https://doi.org/10.1016/j.vhri.2013.06.007>
- Ben, A.J., Neumann, C.R., Mengue, S.S., 2012. The brief medication questionnaire and Morisky-Green test to evaluate medication adherence. *Rev. Saude Publica* 46, 279–289. <https://doi.org/10.1590/S0034-89102012005000013>
- Black, C.N., Bot, M., Scheffer, P.G., Cuijpers, P., Penninx, B.W.J.H., 2015. Is depression associated with increased oxidative stress? A systematic review and meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology* 51, 164–175. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2014.09.025>
- Boels, A.M., Vos, R.C., Hermans, T.G.T., Zuithoff, N.P.A., Müller, N., Khunti, K., Rutten, G.E.H.M., 2017. What determines treatment satisfaction of patients with type 2 diabetes on insulin therapy? An observational study in eight European countries 1–8. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2017-016180>
- Borges, A.P.D.S., Guidoni, C.M., Ferreira, L.D., de Freitas, O., Pereira, L.R.L., 2010. The pharmaceutical care of patients with type 2 diabetes mellitus. *Pharm. World Sci.* 32, 730–6. <https://doi.org/10.1007/s11096-010-9428-3>
- Brasil., 2014. Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Estratégicos., Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos. Capacitação para implantação dos serviços de clínica farmacêutica. Brasília.
- Brod, M., Alolga, S.L., Meneghini, L., 2014. Barriers to Initiating Insulin in Type 2 Diabetes Patients : Development of a New Patient Education Tool to Address Myths , Misconceptions and Clinical Realities. *Patient* 7, 437–450. <https://doi.org/10.1007/s40271-014-0068-x>
- Brownlee, M., 2005. The pathobiology of diabetic complications: A unifying mechanism. *Diabetes* 54, 1615–1625. <https://doi.org/10.2337/diabetes.54.6.1615>
- Buege, J.A., Aust, S.D., 1978. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 52, 302–310. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(78\)52032-6](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(78)52032-6)
- Ceriello, A., 2003. New insights on oxidative stress and diabetic complications may lead to a “causal” antioxidant therapy. *Diabetes Care* 26, 1589–1596. <https://doi.org/https://doi.org/10.2337/diacare.26.5.1589>
- Chikezie, P.C., Ojiako, O.A., Ogbuji, A.C., 2015. Oxidative Stress in Diabetes Mellitus.

Int. J. Biol. Chem. 9, 92–109. <https://doi.org/10.3923/ijbc.2015.92.109>

- Correr, C.J., Melchior, A.C., Fernandez-Llimos, F., Pontarolo, R., 2011. Effects of a pharmacotherapy follow-up in community pharmacies on type 2 diabetes patients in Brazil. *Int. J. Clin. Pharm.* 33, 273–280. <https://doi.org/10.1007/s11096-011-9493-2>
- Correr, C.J., Pontarolo, R., Souza, R.A. de P. e, Venson, R., Melchior, A.C., Wiens, A., 2009. Effect of a pharmaceutical care program on quality of life and satisfaction with pharmacy services in patients with type 2 diabetes mellitus. *Braz. j. pharm. sci* 45, 809–817. <https://doi.org/10.1590/S1984-82502009000400027>
- Faria, H.T.G., Rodrigues, F.F.L., Zanetti, M.L., Araújo, M.F.M. de, Damasceno, M.M.C., 2013. Fatores associados à adesão ao tratamento de pacientes com diabetes mellitus. *Acta Paul. Enferm.* 26, 231–7. <https://doi.org/10.1590/S0103-21002013000300005>
- Feng, G., Gao, J.-L., Zhang, P., Huang, J.-J., Huang, L.-Z., Cheng, L., Pu, C., 2017. Decreased serum extracellular superoxide dismutase activity is associated with albuminuria in Chinese patients with type 2 diabetes mellitus. *Acta Diabetol.* 54, 1047–1055. <https://doi.org/10.1007/s00592-017-1048-0>
- Fleck, M.P., Louzada, S., Xavier, M., Chachamovich, E., Vieira, G., Santos, L., Pinzon, V., 2000. Application of the Portuguese version of the abbreviated instrument of quality life WHOQOL-bref. *Rev. Saude Publica* 34, 178–183. <https://doi.org/S0034-89102000000200012> [pii]
- Giacco, F., Brownlee, M., 2010. Oxidative stress and diabetic complications. *Circ. Res.* 107, 1058–1070. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.110.223545>
- Goodarzi, M.T., Varmaziar, L., Navidi, A.A., Parivar, K., 2008. Study of oxidative stress in type 2 diabetic patients and its relationship with glycated hemoglobin. *Saudi Med. J.* 29, 503–506.
- Gupta, M., Chari, S., 2006. PROXIDANT AND ANTIOXIDANT STATUS IN PATIENTS OF TYPE II DIABETES MELLITUS WITH IHD. *Indian J. Clin. Biochem.* 21, 118–122. <https://doi.org/10.1007/BF02912925>
- Istilli, P.T., 2014. Adesão ao agente antidiabético oral de pessoas com Diabetes mellitus: uso do Brief Medication Questionnaire RIBEIRÃO PRETO Adesão ao agente antidiabético oral de pessoas com Diabetes mellitus: uso do Brief Medication Questionnaire.
- Krass, I., Taylor, S.J., Smith, C., Armour, C.L., 2005. Impact on Medication Use and Adherence of Australian Pharmacists' Diabetes Care Services. *J. Am. Pharm. Assoc.* 45, 33–40. <https://doi.org/10.1331/1544345052843093>
- Li, G., Zhang, P., Wang, J., Gregg, E.W., Yang, W., Gong, Q., Li, H., Li, H., Jiang, Y., An, Y., Shuai, Y., Zhang, B., Zhang, J., Thompson, T.J., Gerzoff, R.B., Roglic, G., Hu, Y., Bennett, P.H., 2008. The long-term effect of lifestyle interventions to prevent diabetes in the China Da Qing Diabetes Prevention Study: a 20-year follow-up study. *Lancet* 371, 1783–1789. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)60766-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)60766-7)
- Malta, D. de C., Bernal, R.T.I., Lima, M.G., Araújo, S.S.C. de, Silva, A.M.A. da, Freitas,

- M.I. de F., Barros, M.B. de A., 2017. Doenças crônicas não transmissíveis e a utilização de serviços de saúde: análise da Pesquisa Nacional de Saúde no Brasil. *Rev. Saude Publica* 1–10.
- McLellan, K.C.P., Barbalho, S.M., Cattalini, M., Lerario, A.C., 2007. Diabetes mellitus do tipo 2 , síndrome metabólica e modificação no estilo de vida. *Rev. Nutr.* 20, 515–524. <https://doi.org/10.1590/S1415-52732007000500007>
- McLellan, K.C.P., Motta, D.G., Lerario, A.C., Campino, A.C.C., 2006. Custo do Atendimento Ambulatorial e Gasto Hospitalar do Diabetes mellitus tipo 2. *Saúde em Rev.* 8, 37–45.
- Milanovic, Z., Pantelic, S., Trajkovic, N., Sporis, G., Kostic, R., James, N., 2013. Age-related decrease in physical activity and functional fitness among elderly men and women. *Clin. Interv. Aging* 8, 549–556. <https://doi.org/10.2147/CIA.S44112>
- Miranda, K.M., Espey, M.G., Wink, D.A., 2001. A Rapid , Simple Spectrophotometric Method for Simultaneous Detection of Nitrate and Nitrite. *Nitric oxide* 5, 62–71. <https://doi.org/10.1006/niox.2000.0319>
- Monnier, L., Colette, C., Mas, E., Michel, F., Cristol, J.P., Boegner, C., Owens, D.R., 2010. Regulation of oxidative stress by glycaemic control: Evidence for an independent inhibitory effect of insulin therapy. *Diabetologia* 53, 562–571. <https://doi.org/10.1007/s00125-009-1574-6>
- Mourão, A.O.M., Ferreira, W.R., Martins, M.A.P., Reis, A.M.M., Carrillo, M.R.G., Guimarães, A.G., Ev, L.S., 2013. Pharmaceutical care program for type 2 diabetes patients in Brazil: A randomised controlled trial. *Int. J. Clin. Pharm.* 35, 79–86. <https://doi.org/10.1007/s11096-012-9710-7>
- Nichols, G.A., Koo, Y.H., Shah, S.N., 2007. Delay Of Insulin Addition To Oral Combination Therapy Despite Inadequate Glycemic Control Delay of Insulin Therapy. *J. Gen. Intern. Med.* 22, 453–458. <https://doi.org/10.1007/s11606-007-0139-y>
- Odegard, P.S., Goo, A., Hummel, J., Williams, K.L., Gray, S.L., 2005. Caring for poorly controlled diabetes mellitus: A randomized pharmacist intervention. *Ann. Pharmacother.* 39, 433–440. <https://doi.org/10.1345/aph.1E438>
- Ojieabu, W.A., Bello, S.I., Arute, J.E., 2017. Glucose Monitoring Technologies - Complementary or Competitive? Role of Continuous Glucose Monitoring versus Flash Glucose Monitoring versus Self-monitoring of Blood Glucose. *J. Diabetol.* 8, 61–67. <https://doi.org/10.4103/jod.jod>
- OPAS, 2002. - Organização Pan-Americana de Saúde. Consenso Brasileiro de Atenção Farmacêutica: proposta / Adriana Mitsue Ivama... [et al.], Brasília: Organização Pan-Americana da Saúde. Brasília. [https://doi.org/85-87\\_943-12-X](https://doi.org/85-87_943-12-X)
- Pan, H.Z., Zhang, L., Guo, M.Y., Sui, H., Li, H., Wu, W.H., Qu, N.Q., Liang, M.H., Chang, D., 2010. The oxidative stress status in diabetes mellitus and diabetic nephropathy. *Acta Diabetol.* 47, 71–76. <https://doi.org/10.1007/s00592-009-0128-1>
- Pitocco, D., Zaccardi, F., Di Stasio, E., Romitelli, F., Santini, S.A., Zuppi, C., Ghirlanda, G., 2010. Oxidative stress, nitric oxide, and diabetes. *Rev. Diabet. Stud.* 7, 15–25.

<https://doi.org/10.1900/RDS.2010.7.15>

- Reach, G., Pechtner, V., Gentilella, R., Corcos, A., Ceriello, A., 2017. Clinical inertia and its impact on treatment intensification in people with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Metab.* 43, 501–511. <https://doi.org/10.1016/j.diabet.2017.06.003>
- Riddle, M., Peters, A., Funnell, M., 2016. Increasing Patient Acceptance and Adherence Toward Insulin: Highlights from a CME symposium held at the Cardiometabolic Health Congress (CMHC) Sheraton Boston Hotel, Boston, MA 23 October 2015. *Postgrad. Med.* 128, 11–20. <https://doi.org/10.1080/00325481.2016.1177969>
- Rkhaya, S.A., Bulatova, N., Kasabri, V., Naffa, R., Alquoqa, R., 2018. Increased malondialdehyde vs. reduced sirtuin 1 in relation with adiposity, atherogenicity and hematological indices in metabolic syndrome patients with and without prediabetes. *Diabetes Metab. Syndr. Clin. Res. Rev.* 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2018.05.013>
- Said, N.S., Hadhoud, K.M., Nada, W.M., Tarhouny, S.A. El, 2013. Superoxide Dismutase , Glutathione Peroxidase and Vitamin E in Patients with Diabetic Retinopathy. *Life Sci. J.* 10, 1851–1856.
- SBD, 2017. Diretrizes- Sociedade Brasileira de Diabetes 2017-2018 / Organização José Egídio Paulo de Oliveira, Renan Magalhães Montenegro Junior, Sérgio Vencio. -- São Paulo.
- Simpson, S.H., Majumdar, S.R., T.Tsuyuki, R., Lewanczuk, R.Z., Spooner, R., A.Johnson, J., 2011. Effect of Adding Pharmacists to Primary Care Teams on Blood Pressure Control in Patients With Type 2 Diabetes A randomized controlled trial. *Diabetes Care* 34, 20–26. <https://doi.org/10.2337/dc10-1294>.
- Souza, T.T. de, Santini, L., Wada, S.A., Vasco, C.F., Kimura, M., 1997. Qualidade de vida da pessoa diabetica. *Rev. Esc. Enferm. USP* 31, 150–64. <https://doi.org/10.1590/S0080-62341997000100012>
- Sriram, S., Chack, L.E., Ramasamy, R., Ghasemi, A., Ravi, T.K., Sabzghabae, A.M., 2011. Impact of pharmaceutical care on quality of life in patients with type 2 diabetes mellitus. *J. Res. Med. Sci.* 16, 412–418.
- Stanford, K.I., Goodyear, L.J., 2014. Exercise and type 2 diabetes: molecular mechanisms regulating glucose uptake in skeletal muscle. *Adv. Physiol. Educ.* 38, 308–314. <https://doi.org/10.1152/advan.00080.2014>
- Stepniewska, J., Golembiewska, E., Dolegowska, B., Domanski, M., Ciechanowski, K., 2015. Oxidative Stress and Antioxidative Enzyme Activities in Chronic Kidney Disease and Different Types of Renal Replacement Therapy. *Curr. Protein Pept. Sci.* 16, 243–248. <https://doi.org/10.2174/1389203716666150224150508>
- Tavares, N.U.L., Bertoldi, A.D., Mengue, S.S., Arrais, P.S.D., Luiza, V.L., Oliveira, M.A., Ramos, L.R., Farias, M.R., Pizzol, T. da S.D., 2016. Factors associated with low adherence to medicine treatment for chronic diseases in brazil. *Rev. Saude Publica* 50. <https://doi.org/10.1590/S1518-8787.2016050006150>
- Tavares, N.U.L., Bertoldi, A.D., Thumé, E., Facchini, L.A., França, G.V.A. de, Mengue, S.S., 2013. Fatores associados à baixa adesão ao tratamento medicamentoso em

- idosos Factors associated with low adherence to medication in older adults. *Rev. Saude Publica* 47, 1092–1101. <https://doi.org/10.1590/S0034-8910.2013047004834>
- Taylor, E.L., Armstrong, K.R., Perrett, D., Hattersley, A.T., Winyard, P.G., 2015. Optimisation of an Advanced Oxidation Protein Products Assay : Its Application to Studies of Oxidative Stress in Diabetes Mellitus. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2015, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2015/496271>
- Tiwari, B.K., Pandey, K.B., Abidi, A.B., Rizvi, S.I., 2013. Markers of Oxidative Stress during Diabetes Mellitus. *J. biomarkers* 2013, 378790. <https://doi.org/10.1155/2013/378790>
- Trikkalinou, A., Papazafiropoulou, A.K., Melidonis, A., 2017. Type 2 diabetes and quality of life. *World J. Diabetes* 8, 120–171. <https://doi.org/10.4239/wjd.v8.i4.120>
- Valli, A., Suliman, M.E., Meert, N., Vanholder, R., Lindholm, B., Stenvinkel, P., Watanabe, M., Barany, P., Alvestrand, A., Anderstam, B., 2007. Overestimation of advanced oxidation protein products in uremic plasma due to presence of triglycerides and other endogenous factors. *Clin. Chim. Acta* 379, 87–94. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2006.12.026>
- Wang, Y., Xu, C., Du, L.Q., Cao, J., Liu, J.X., Su, X., Zhao, H., Fan, F.Y., Wang, B., Katsube, T., Fan, S.J., Liu, Q., 2013. Evaluation of the comet assay for assessing the dose-response relationship of DNA damage induced by ionizing radiation. *Int. J. Mol. Sci.* 14, 22449–22461. <https://doi.org/10.3390/ijms141122449>
- Witko-Sarsat, V., Friedlander, M., Capeillere-Blandin, C., Nguyen-Khoa, T., Nguyen, T., Zingraff, J., Jungers, P., Descamps-Latscha, B., 1996. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney Int.* 49, 1304–1313. <https://doi.org/10.1038/ki.1996.186>
- World Health Organization (WHO), 2003. Adherence to long-term therapies: Evidence for action. *Eur. J. Cardiovasc. Nurs.* 2, 323. [https://doi.org/10.1016/S1474-5151\(03\)00091-4](https://doi.org/10.1016/S1474-5151(03)00091-4)
- Wright, A., Burden, A.C.F., Paisey, R.B., Cull, C.A., Holman, R.R., 2002. Sulfonylurea Inadequacy. *Diabetes Care* 25, 330–336. <https://doi.org/10.2337/diacare.25.2.330>
- Zhao, J.-S., Jin, H.-X., Gao, J.-L., Pu, C., Zhang, P., Huang, J.-J., Cheng, L., Feng, G., 2018. Serum extracellular superoxide dismutase activity is associated with albuminuria in Chinese patients with type 2 diabetes mellitus. *Acta Diabetol.* 2018, 1–8. <https://doi.org/10.1007/s00592-017-1048-0>
- Zurita-Cruz, J.N., Manuel-Apolinar, L., Arellano-Flores, M.L., Gutierrez-Gonzalez, A., Najera-Ahumada, A.G., Cisneros-González, N., 2018. Health and quality of life outcomes impairment of quality of life in type 2 diabetes mellitus: A cross-sectional study. *Health Qual. Life Outcomes* 16, 1–7. <https://doi.org/10.1186/s12955-018-0906-y>

**ANEXO 01**

**ANEXO 01**

**ANEXO 01**

**ANEXO 01**

**ANEXO 01**

**ANEXO 02**

**ANEXO 03**