



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

VICENTE HIDALGO RODRIGUES FERNANDES

AVALIAÇÃO OFTALMOLÓGICA DO EFEITO DAS TERAPIAS COM
DAPAGLIFLOZINA OU GLIBENCLAMIDA EM PACIENTES COM DIABETES TIPO
2: ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO E CONTROLADO

CAMPINAS
2023

VICENTE HIDALGO RODRIGUES FERNANDES

AVALIAÇÃO OFTALMOLÓGICA DO EFEITO DAS TERAPIAS COM
DAPAGLIFLOZINA OU GLIBENCLAMIDA EM PACIENTES COM DIABETES TIPO
2: ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO E CONTROLADO

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Médicas da
Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos
exigidos para a obtenção do título de Mestre em Ciências

ORIENTADOR: PROF. DR. ANDREI CARVALHO SPOSITO

ESTE TRABALHO CORRESPONDE À VERSÃO FINAL
DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PELO ALUNO
VICENTE HIDALGO RODRIGUES FERNANDES,
E ORIENTADA PELO PROF. DR. ANDREI CARVALHO SPOSITO

CAMPINAS
2023

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Ciências Médicas
Maristella Soares dos Santos - CRB 8/8402

F391a Fernandes, Vicente Hidalgo Rodrigues, 1986-
Avaliação oftalmológica do efeito das terapias com dapagliflozina ou glibenclamida em pacientes com diabetes tipo 2 : ensaio clínico randomizado e controlado / Vicente Hidalgo Rodrigues Fernandes. – Campinas, SP : [s.n.], 2023.

Orientador: Andrei Carvalho Sposito.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Retinopatia diabética. 2. Diabetes mellitus tipo 2. 3. Tomografia de coerência óptica. 4. Hipoglicemiantes. 5. Inibidores do transportador 2 de sódio-glucose. I. Sposito, Andrei Carvalho, 1967-. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Informações Complementares

Título em outro idioma: Ophthalmological evaluation of the effect of therapies with dapagliflozin or glibenclamide in patients with type 2 diabetes : randomized and controlled clinical trial

Palavras-chave em inglês:

Diabetic Retinopathy
Type 2 diabetes mellitus
Optical coherence tomography
Hypoglycemic agents
Sodium-glucose transporter 2 inhibitors

Área de concentração: Fisiopatologia Médica

Titulação: Mestre em Ciências

Banca examinadora:

Andrei Carvalho Sposito [Orientador]
José Paulo Cabral de Vasconcellos
Rodrigo de Oliveira Moreira

Data de defesa: 16-08-2023

Programa de Pós-Graduação: Fisiopatologia Médica

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)
- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0003-2602-7925>
- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/50111986867909520>

COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE MESTRADO

VICENTE HIDALGO RODRIGUES FERNANDES

ORIENTADOR: PROF. DR. ANDREI CARVALHO SPOSITO

MEMBROS TITULARES:

- 1. PROF. DR. ANDREI CARVALHO SPOSITO**
- 2. PROF. DR. JOSÉ PAULO CABRAL DE VASCONCELLOS**
- 3. PROF. DR. RODRIGO DE OLIVEIRA MOREIRA**

Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

A ata de defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da FCM.

Data de Defesa: 16/08/2023

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família, minha fonte de paz, que me acompanha com ternura e paciência na jornada da vida.

A Deus, pelos incontáveis dons fornecidos e por me permitir participar da Sua Obra Criadora.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao constante apoio e compreensão da minha esposa, Sarah Maria, minha leal e eterna companheira. Tantas foram as vezes que se doou por nossa família e ajudou para que eu tivesse a energia e o tempo necessários para concretizar esse projeto.

Ao estímulo e exemplo de trabalho e dedicação dos meus pais, Vicente Abdias e Enízia Maria. Sempre foram meu alicerce, confiando em mim, torcendo e me aconselhando em todos os momentos.

Ao meu orientador, Andrei Carvalho Sposito, por todos seus ensinamentos científicos, éticos e profissionais. Sua inesgotável paciência e disponibilidade foram essenciais para esta obra e para minha vida.

A todos que compõem o Departamento de Oftalmologia da Universidade Estadual de Campinas, em especial aos colegas do Setor de Retina.

Aos amigos do Centro de Pesquisa Clínica, aos membros da Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas e a todos aqueles que, de alguma forma, testemunharam essa caminhada.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

A despeito do avanço tecnológico, a Retinopatia Diabética (RD) continua tendo forte impacto a níveis individual e populacional, com projeções de aumento nas próximas décadas. Estudos clássicos indicaram que o controle dos níveis de glicose pode reduzir a progressão das complicações secundárias do diabetes mellitus (DM), no entanto, no contexto clínico, o controle glicêmico não é facilmente alcançado em uma parcela considerável de pacientes.

O potencial farmacológico dos antidiabéticos nas células retinianas ainda é um campo a ser explorado. Até o momento, além do controle do DM, não há nenhum tratamento farmacológico com ação direta nas células retinianas comprovadamente eficaz para as fases precoces da RD que consiga impedir sua evolução natural.

Dados na literatura mostram o potencial benefício dos inibidores do cotransportador sódio-glicose-2 (SGLT2/iSGLT2) em portadores de doença ocular diabética, especialmente em fases precoces. No entanto, grandes estudos de segurança que estudaram os efeitos sistêmicos de tais medicações não avaliaram sistemicamente a retina.

A Tomografia de Coerência Óptica de Domínio Espectral (SD-OCT) possibilita a segmentação *in vivo* das camadas da retina, com adequada detecção de edema macular diabético e a adoção de terapia específica. Vários estudos mostraram alterações em camadas retinianas em etapas pré-clínicas de RD. Em pacientes com diabetes mellitus tipo 2 (DM2), um afinamento progressivo na espessura central da retina (CRT) está relacionado principalmente à degeneração neuroretiniana e ocorre antes do declínio da acuidade visual ou de alterações detectadas através do exame clínico.

Nós investigamos a mudança na CRT medida através de SD-OCT em pacientes com DM2 após 12 semanas de tratamento com dapagliflozina *versus* glibenclamida. Noventa e sete pacientes (57 ± 7 anos) com DM2 e aterosclerose clínica ou subclínica foram randomizados 1:1 para dapagliflozina (10 mg/dia) ou glibenclamida (5 mg/dia) em adição à metformina XR 1,5 g/dia. As imagens de SD-OCT foram obtidas em todos os pacientes incluídos estudados, tanto no momento da randomização quanto no final do estudo.

Os valores basais e pós-tratamento de glicose em jejum e hemoglobina glicada foram equivalentes nos dois braços. Não houve diferença em relação ao estado da retinopatia diabética após a terapia. A espessura do subcampo central mudou em +2 (6) μm no grupo dapagliflozina e em -1 (7) μm no grupo glibenclamida ($P = 0,001$).

Conclui-se, portanto, que um tratamento de curto prazo com dapagliflozina pode aumentar a CRT em comparação com o equivalente glicêmico, o que pode embasar estudos futuros e contribuir para o controle das RD em fases mais precoces.

Palavras-chave: Retinopatia diabética; Diabetes mellitus tipo 2; Tomografia de coerência óptica; Antidiabéticos orais; Inibidor de SGLT2.

ABSTRACT

Despite technological advances, Diabetic Retinopathy (DR) continues to have a strong impact at the individual and population levels, with projections of an increase in the coming decades. Classical studies have indicated that the control of glucose levels can reduce the progression of diabetic complications, however, in the clinical context, glycemic control is not easily achieved in a considerable number of patients.

The pharmacological potential of antidiabetics in retinal cells is still a field to be explored. So far, in addition to the control of diabetes mellitus (DM), there is no pharmacological treatment with direct action on retinal cells that has been proven effective for the early stages of DR that can prevent its natural evolution.

Data in the literature show the potential benefit of sodium-glucose cotransporter-2 (SGLT2/iSGLT2) inhibitors in patients with diabetic eye disease, especially in the early stages. However, large safety studies that studied the systemic effects of such medications did not systemically assess the retina.

Spectral Domain Optical Coherence Tomography (SD-OCT) allows the in vivo segmentation of retinal layers, with adequate detection of diabetic macular edema and the adoption of specific therapy. Several studies have shown changes in retinal layers in preclinical stages of DR. In patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM), a progressive thinning in the central retinal thickness (CRT) is primarily related to neuroretinal degeneration and occurs before visual acuity decline or changes detected by clinical examination.

We investigated the change in CRT measured by SD-OCT in T2DM patients after 12 weeks of treatment with dapagliflozin versus glibenclamide. Ninety-seven patients (57 ± 7 years) with T2DM and clinical or subclinical atherosclerosis were randomized 1:1 to dapagliflozin (10 mg/day) or glibenclamide (5 mg/day) in addition to metformin XR 1.5 g/day. SD-OCT images were obtained in all patients included in the study, both at the time of randomization and at the end of the study.

Baseline and posttreatment values for fasting glucose and glycated hemoglobin were equivalent in both arms. There was no difference regarding diabetic

retinopathy status after therapy. Central subfield thickness changed by +2 (6) μm in the dapagliflozin group and by -1 (7) μm in the glibenclamide group ($P = 0.001$).

It is concluded, therefore, that a short-term treatment with dapagliflozin can increase CRT compared to the glyceamic equivalent, which may support future studies and contribute to the control of DR in earlier stages.

Keywords: Diabetic retinopathy; Type 2 diabetes mellitus; Optical coherence tomography; Oral antidiabetics; SGLT2 inhibitor.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

	página
Figura 1	Sinais clínicos de retinopatia diabética no exame de fundoscopia.....19
Figura 2	Imagem da região macular adquirida pelo SD-OCT com segmentação das camadas retinianas..... 21
Figura 3	Imagem de SD-OCT demonstrando achados de edema macular diabético..... 22
Figura 4	Absorção renal de glicose de acordo com a ausência ou presença do inibidor de SGLT2..... 25
Figura 5	Função do receptor SGLT2 no pericito retiniano e sua possível contribuição para o desenvolvimento da retinopatia diabética..... 27
Figura 6	Diagrama de Fluxo do Estudo ADDENDA-BHS2..... 33
Figura 7	Imagens de retinografia colorida centradas na fóvea e no disco óptico..... 35
Figura 8	Imagem de OCT demonstrando a área macular, com suas divisões central e parafoveais, e exemplo de valores de espessura retiniana nas diversas regiões da mácula..... 36

LISTA DE QUADROS E TABELAS

	página
Quadro 1	Classificação de Retinopatia e Maculopatia Diabética..... 20
Tabela 1	Características basais demográficas e clínicas..... 38
Tabela 2	Avaliação da acuidade visual..... 39
Tabela 3	Características clínicas da retina..... 40
Tabela 4	Características basais do OCT..... 41
Tabela 5	Características do OCT ao final do estudo..... 41

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACCORD	<i>Action to Control Cardiac Risk in Diabetes</i>
ADA	<i>American Diabetes Association</i>
ADDENDA-BHS2	<i>The Assessment of Dapagliflozin effect on Diabetic Endothelial Dysfunction of brachial Artery - Brazilian Heart Study 2</i>
Angio-OCT	Angiografia associada a OCT
Anti-VEGF	Inibidores do fator de crescimento vascular endotelial, do inglês, <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
arGLP-1	Agonistas dos receptores de glucagon-like peptídeo 1
BCVA	Melhor acuidade visual corrigida - do inglês, <i>Best Corrected Visual Acuity</i>
CST	Espessura Retiniana no 1mm central - do inglês, <i>Central Subfield Thickness</i>
DAPA	Dapagliflozina
DCCT	<i>Diabetes Control and Complications Trial</i>
DM	Diabetes mellitus
DRD	Doença diabética da retina
eGFR	Taxa de filtração glomerular estimada – do inglês, <i>Estimated Glomerular Filtration Rate</i>

EMD	Edema macular diabético
EMPA-REG Outcome	<i>Empaglifozin Cardiovascular Outcome Event Trial in Type 2 Diabetes Mellitus Patients</i>
FIELD	<i>Fenofibrate Intervention and Event Lowering in Diabetes</i>
FMD	<i>Flow-mediated dilatation</i>
GCL	Camada de células ganglionares – do inglês, <i>Ganglion Cell Layer</i>
GLIB	Glibenclamida
HbA1c	Hemoglobina glicosilada
iDPP-4	Inibidores da dipeptidil peptidase 4
IIQ	Intervalo interquartil
IMC	Índice de massa corpórea
INL	Camada nuclear interna - do inglês, <i>Inner Nuclear Layer</i>
IPL	Camada plexiforme interna - do inglês, <i>Inner Plexiform Layer</i>
iSGLT2	Inibidores do cotransportador sódio-glicose-2 - do inglês, <i>Sodium-Glucose Cotransporter-2 Inhibitors</i>
NHE-1	Trocador sódio-hidrogênio-1 – do inglês, <i>Sodium-Hydrogen Exchanger-1</i>

OCT	Tomografia de Coerência Óptica – do inglês, <i>Optical Coherence Tomography</i>
PA	Pressão arterial
RD	Retinopatia diabética
RDNP	Retinopatia diabética não-proliferativa
RNFL	Camada de fibras nervosas retinianas – do inglês, <i>Retinal Nerve Fiber Layer</i>
RPE	Epitélio pigmentado de retina – do inglês, <i>Retinal Pigment Epithelium</i>
RT-PCR	Transcrição reversa seguida de reação em cadeia de polimerase – do inglês, <i>Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction</i>
SD-OCT	Tomografia de Coerência Óptica de Domínio Espectral – do inglês, <i>Spectral-Domain Optical Coherence Tomography</i>
SGLT2	Cotransportador sódio-glicose-2 – do inglês, <i>Sodium-Glucose Cotransporter-2</i>
SLDF	<i>Scanning Laser Doppler Flowmetry</i>
ONL	Camada nuclear externa – do inglês, <i>Outer Nuclear Layer</i>
OPL	Camada plexiforme externa – do inglês, <i>Outer Plexiform Layer</i>
UKPDS	<i>United Kingdom Prospective Diabetes Study</i>

TCLE

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

SUMÁRIO

	página
Introdução	18
Objetivos	30
Materiais e Métodos	31
Resultados	38
Discussão	43
Conclusão	49
Referências	50
Anexos	68

INTRODUÇÃO

Sobre a Retinopatia Diabética

Um desafio comum a oftalmologistas e diabetologistas é o difícil controle da incidência e progressão da Retinopatia Diabética (RD). É pouco provável que tais profissionais não se lembrem de algum paciente que apresentou desfecho visual insatisfatório e conviveu ao longo de anos com limitações em suas atividades de vida diária.

Tal cenário é ainda mais simbólico quando nos deparamos com todo o aparato tecnológico que alcançou a área da oftalmologia nas últimas décadas. Até mesmo a terapia intravítrea, com inibidores do fator de crescimento vascular endotelial (Anti-VEGF), que revolucionou o manejo dos pacientes portadores de RD, tem várias limitações. Dados de estudos multicêntricos consideram que em torno de 50% dos pacientes em uso dessa terapia não obtêm uma melhora visual considerável mesmo após dois anos de terapia. (1)

Quando se direciona a visão do nível individual para o populacional, o problema se expande de forma ainda mais alarmante. Dados recentes estimam que 537 milhões de adultos ao redor do mundo vivem com diabetes mellitus (DM), com expectativa de aumentar em 46% até 2045.(2) Esse número torna-se ainda mais impactante quando se considera que 81% desses indivíduos estão em países de baixa ou média renda(2) e que aproximadamente 240 milhões dos doentes não tem conhecimento do seu diagnóstico.(3)

Considerando dados provenientes de estudos clássicos (4-6) e projeções recentes, em 2045, o mundo terá 103,12 milhões de adultos com algum grau de RD. (7) Pacientes com formas graves de RD podem apresentar uma importante perda da qualidade de vida, impacto no bem-estar físico e emocional, além de uso acentuado dos recursos de saúde.(8)

Tal impacto se contrasta com as limitações de recursos humanos e materiais para atuar efetivamente diante de tal problema, especialmente em países com o sistema universal de saúde.

A RD já é a principal causa de cegueira evitável em adultos no Brasil e no mundo (9, 10) e muito disso se deve ao curso assintomático nas fases iniciais e intermediárias da doença. Preocupações adicionais em saúde pública se devem ao fato de os tratamentos oftalmológicos disponíveis na atualidade serem caros e reservados para fases avançadas da doença.(11)

A despeito da multiplicidade de achados histopatológicos e acometimento de múltiplas linhagens celulares, o estadiamento da RD classicamente leva em consideração as alterações vasculares detectadas clinicamente através do exame de fundoscopia ou da retinografia colorida.(12, 13)

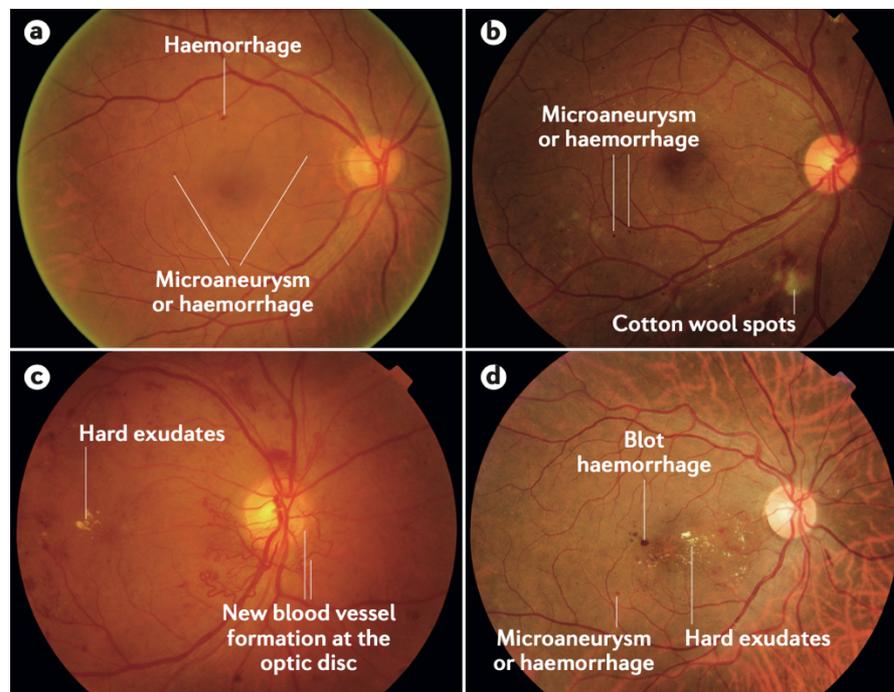


Figura 1. Sinais clínicos de retinopatia diabética no exame de fundoscopia. a) Demonstração do estágio não proliferativo leve a moderado, apresentando microaneurismas e microhemorragias. b) Evolução do estágio não proliferativo, com associação de exsudatos algodonosos e maior evidência de alterações vasculares. c) Estágio proliferativo demonstrando neovasos no disco óptico. d) Edema macular diabético com exsudatos duros no centro foveal.

Fonte: Wong TY et al. Diabetic retinopathy. Nat Rev Dis Primers. 2016;2:16012.(13)

O gradual surgimento dessas anormalidades condiciona o curso clínico e a classificação da doença. Outra importante manifestação ocular no paciente diabético é o Edema Macular Diabético (EMD), sendo classificado de forma separada da RD, pois podem ter cursos independentes.(12)

Quadro 1. Classificação de Retinopatia e Maculopatia Diabética

Estágio	Achados do exame de fundoscopia
Retinopatia Diabética	
Ausência de retinopatia	Sem anormalidades
Retinopatia diabética não proliferativa leve	Somente microaneurismas
Retinopatia diabética não proliferativa moderada	Microaneurismas + outras alterações (hemorragia em chama de vela, exsudatos duros ou algodinosos), desde que não caracterizem retinopatia grave
Retinopatia diabética não proliferativa grave	RDNP moderada com qualquer um dos achados: (i) hemorragias intrarretinianas nos quatro quadrantes, (ii) ingurgitamento venoso em dois quadrantes ou (iii) anormalidade microvasculares intrarretinianas em um quadrante. Sem achados de neovascularização.
Retinopatia diabética proliferativa	Presença de neovascularização ou hemorragia vítrea/pré-retiniana
Edema Macular Diabético	
Sem EMD	Sem espessamento retiniano ou exsudatos duros na mácula
EMD sem envolvimento central	Espessamento retiniano macular não envolve o 1mm central
EMD com envolvimento central	Espessamento retiniano macular envolve o 1mm central

Fonte: Wilkinson CP et al. Proposed international clinical diabetic retinopathy and diabetic macular edema disease severity scales. *Ophthalmology*. 2003;110(9):1677-82.(12)

Essa classificação tradicional, no entanto, já não reflete os atuais conhecimentos a respeito da fisiopatologia da doença. As disfunções metabólicas

induzidas pela hiperglicemia relacionam-se com conceitos de inflamação, disfunção endotelial e neurodegeneração, numa convergência complexa e multifatorial de diversos mecanismos.(14) Inúmeros dados sugerem que pode haver na retina degeneração de células neurosensoriais, gliose retiniana e inflamação antes mesmo de anomalias vasculares visíveis.(15)

Levando-se em consideração marcadores multimodais, como os achados da Tomografia de Coerência Óptica (OCT), alguns autores têm preferido utilizar o termo “Doença Diabética da Retina” (DRD), que seria entendida com uma neuropatia sensorial ou degeneração neurovascular.(16, 17)

De fato, a introdução da Tomografia de Coerência Óptica de Domínio Espectral (SD-OCT) possibilitou a segmentação *in vivo* das camadas da retina (figura 2), com correspondência histológica(18) e permitiu a quantificação da espessura retiniana, o aprimoramento da detecção de edema macular diabético e a adoção de terapia específica para essa condição.(19)

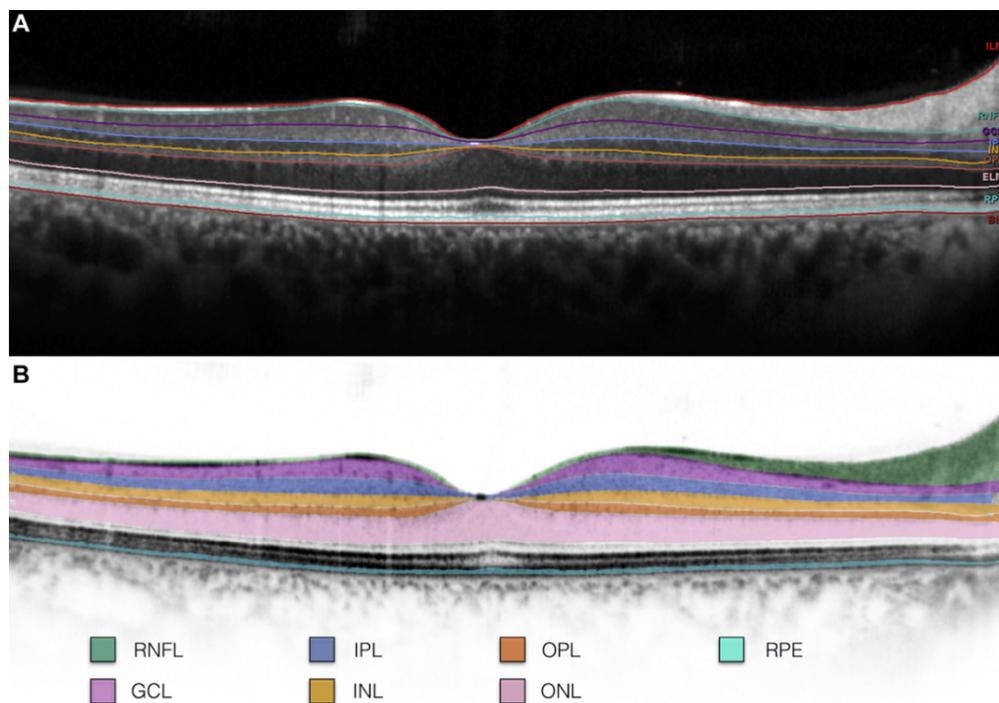


Figura 2. Imagem da região macular adquirida pelo SD-OCT com segmentação das camadas retinianas. RNFL: Camada de fibras nervosas retinianas. GCL: Camada de células ganglionares IPL: Camada plexiforme interna. INL: Camada nuclear interna.

OPL: Camada plexiforme externa. ONL: Camada nuclear externa. RPE: Epitélio pigmentado de retina.

Fonte: Invernizzi et al. Normative Data for Retinal-Layer Thickness Maps Generated by Spectral-Domain OCT in a White Population. *Ophthalmol Retina*. 2018;2(8):808-15 (20)

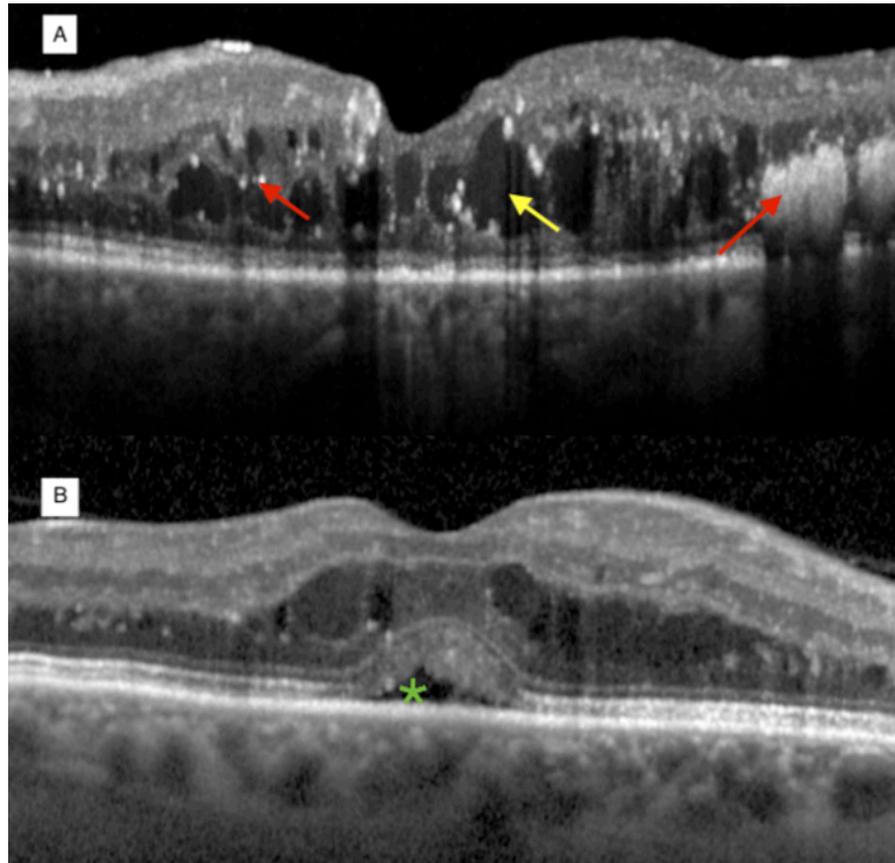


Figura 3. Imagem de SD-OCT demonstrando achados de edema macular diabético. a) Cistos e exsudatos intrarretinianos (setas amarela e vermelha, respectivamente) b) Fluido subretiniano (asterisco verde).

Fonte: Adaptado de Daruich A et al. Mechanisms of macular edema: Beyond the surface. *Prog Retin Eye Res*. 2018;63:20-68 (21)

Utilizando esse método, vários estudos transversais mostraram o afinamento das camadas retinianas (em especial as camadas internas) em etapas pré-clínicas de RD.(22-24) A tendência de afinamento progressivo apareceu em

estudos longitudinais, tanto retrospectivamente (25), como de forma prospectiva.(26, 27)

Esse cenário baseou a Declaração de Posição da *American Diabetes Association* (ADA), que considerou a RD “uma complicação neurovascular altamente específica do diabetes tipo 1 e tipo 2” (28) e tem sido um norteador na busca de novos tratamentos que possam atuar em fases mais precoces da doença.(29)

Essa demanda por terapias em estágios incipientes estimulou diversos pesquisadores ao redor do mundo. O potencial farmacológico nas células retinianas tem sido alvo de vários estudos moleculares e clínicos ao longo dos anos. Até o momento, no entanto, além do controle do DM, não há nenhum tratamento farmacológico com ação direta nas células retinianas comprovadamente eficaz para as fases precoces da RD que consiga impedir sua evolução natural.

Retinopatia Diabética e Terapia Sistêmica

A respeito das terapias para prevenção e controle dos fatores de risco relacionados à RD, estudos clássicos como o *Diabetes Control and Complications Trial* (DCCT) e o *United Kingdom Prospective Diabetes Study* (UKPDS) indicaram que o controle dos níveis de glicose pode reduzir a progressão das complicações diabéticas.(30, 31)

No entanto, no contexto clínico, a normalização da glicemia não é facilmente alcançada em uma parcela considerável de pacientes. Além disso, a relação entre o controle glicêmico e RD é complexa. Por exemplo, sabe-se que pode haver a progressão rápida da retinopatia diabética (e conseqüentemente um pior prognóstico oftalmológico) com uma variação brusca da glicemia proporcionada pelo controle intensivo do diabetes.(32, 33)

O controle da pressão arterial (PA) também está associado com a diminuição progressão da RD.(34) Estudos como o *Fenofibrate Intervention and Event Lowering in Diabetes* (FIELD) (35) e o *Action to Control Cardiac Risk in Diabetes* (ACCORD) (36) demonstraram o benefício do fenofibrato oral no tratamento de

pacientes com DM2 e retinopatia diabética. Em tais estudos, porém, a retinopatia não foi o desfecho primário e isso pode explicar, pelo menos em parte, o pouco uso dessa medicação em casos de RD em pacientes sem dislipidemia.(37)

Uma dúvida pertinente é se existe um antidiabético ideal para indivíduo. Por exemplo, estudos como o *Quebec Cardiovascular Study* (38) e o *Helsinki Policemen Study*(39) descobriram que níveis elevados de insulina são preditores independentes de eventos vasculares. Essa descoberta levou a discussão se a insulina é de fato indutora de alterações vasculares crônicas, com potenciais danos endoteliais.(40) Quando se leva em consideração exclusivamente a parte oftalmológica, uma metanálise de estudos observacionais demonstrou que o uso de insulina é um fator de risco para o edema macular diabético.(41)

Diante do exposto, apresentam-se alguns problemas:

(i) Em relação aos antidiabéticos sistêmicos, o controle glicêmico adequado seria o único fator que modificaria a evolução natural da RD?

(ii) As terapias sistêmicas conseguem influenciar diretamente a fisiopatologia e o curso natural da RD?

(iii) Existem efeitos pleiotrópicos nesses medicamentos que vão além da queda glicêmica e que podem atuar como um fator de risco ou de proteção em determinado perfil de paciente?

Uma recente metanálise sugeriu que as sulfoniureias podem estar associadas ao aumento do risco de RD(42), embora outros estudos sugiram seu potencial efeito neuroprotetor.(43, 44) Alguns estudos demonstraram um efeito positivo da metformina na retina, com inibição da angiogênese e redução da inflamação.(45, 46)

Novos antidiabéticos orais como os inibidores da dipeptidil peptidase 4 (iDPP-4) e os agonistas dos receptores de glucagon-like peptídeo 1 (arGLP-1) também já foram associados com ações positivas na microvasculatura(47-50), embora o risco de queda rápida dos níveis glicêmicos proporcionados por esta última classe tenha sido associado a piora da RD.(51)

Terapias tópicas locais também são hipóteses exploradas no controle de estágio precoces de RD e neuroproteção. Exemplos são estudos experimentais

recentes que utilizaram a administração tópica de iDPP-4 e arGLP-1 e encontraram resultados favoráveis para a neuroproteção retiniana e mudança no curso da RD.(52-54)

Interesse especial tem surgido para os inibidores do cotransportador sódio-glicose-2 (SGLT2/iSGLT2). Este receptor expressa o conceito de um transporte ativo secundário que pode catalisar o movimento de um substrato contra um gradiente eletroquímico, aproveitando a energia de outro substrato acoplado, e faz parte da família de genes humanos SLC5, sendo o SGLT1 o primeiro da classe a ser clonado, em 1987. (55, 56)

Enquanto os SGLT1 são responsáveis pela maior parte da captação da glicose dietética no intestino, os SGLT2 se encarregam da reabsorção de aproximadamente 90% da glicose filtrada pelos rins.(57, 58) A perda de glicose na urina reduz o nível de glicose no sangue e resulta em redução de peso devido à perda calórica. (59)

A inibição farmacológica dos cotransportadores de SGLT2 reduz a hiperglicemia ao diminuir o limiar de glicose renal e, conseqüentemente, aumentar a sua excreção urinária(60), num mecanismo independente de insulina (reduzindo a possibilidade de hipoglicemia).(61, 62)

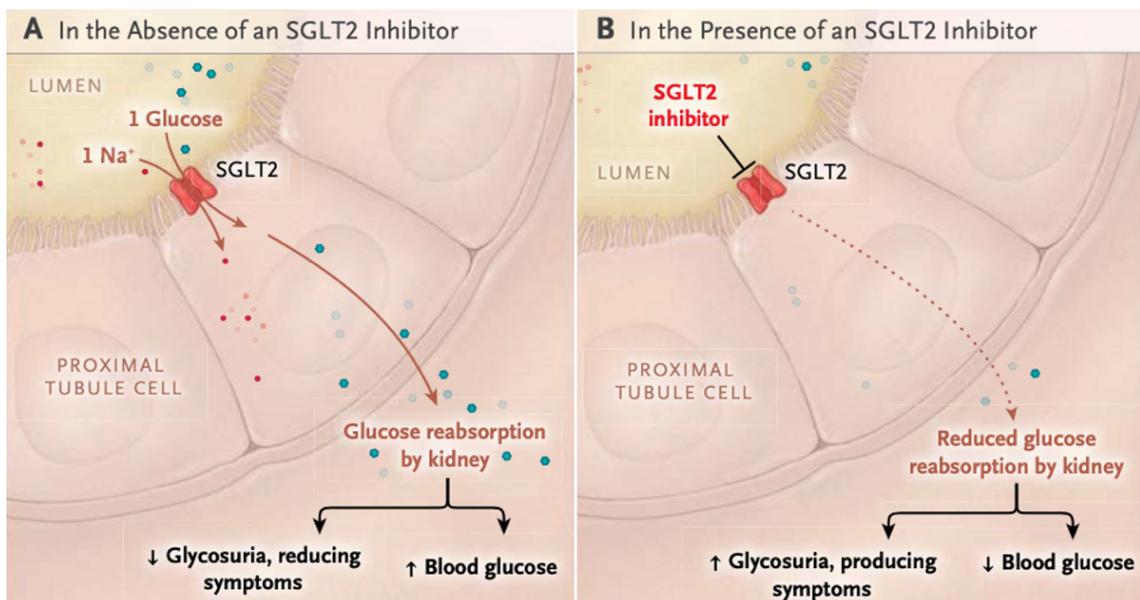


Figura 4. Absorção renal de glicose de acordo com a ausência ou presença do inibidor de SGLT2. a) O SGLT2 tem ações na célula do túbulo proximal renal. b) Na célula do

túbulo proximal renal, a inibição do SGLT2 resulta na redução da reabsorção de glicose pelo rim, o que aumenta a glicosúria e reduz a concentração de glicose no sangue.

Fonte: Adaptado de Hattersley AT, Thorens B. Type 2 Diabetes, SGLT2 Inhibitors, and Glucose Secretion. N Engl J Med. 2015;373(10):974-6.(59)

Dapagliflozina, empagliflozina, canagliflozina, sotagliflozina, ertugliflozina e tofogliflozina são exemplos de princípios ativos comercialmente disponíveis com essa ação.

Em estudos exigidos por órgãos reguladores, além do perfil de segurança da medicação, foram identificados, inesperadamente, benefícios não justificados pelos efeitos metabólicos mais conhecidos, como a queda da glicose (aproximadamente 0,5% a 1% de redução na hemoglobina glicosilada [HbA1c]), redução do peso corporal (2 a 3 kg) e diminuição da pressão arterial sistólica (3 a 5 mm Hg).(63)

Por exemplo, vários estudos conseguiram demonstrar o impacto positivo no desfecho cardiovascular de pacientes portadores de DM2 que foram tratados com iSGLT2. (64-66) Quando se leva em consideração desfechos na microvasculatura, já estão bem estabelecidos os benefícios renais(67-69), no entanto faltam maiores estudos para fornecer dados para uma análise quantitativa sobre neuropatia e retinopatia.(70, 71)

Esses achados levaram, em parte, a um crescente reconhecimento de potenciais ações metabólicas pleiotrópicas dos iSGLT2, além da redução glicêmica. Embora os exatos mecanismos de tais efeitos não sejam totalmente compreendidos, o provável aspecto multifatorial abriu um campo de estudos envolvendo diversas especialidades que cuidam do paciente portador de DM.(72, 73)

A relação entre oftalmologia e tais medicações, no entanto, ainda requer esclarecimento. O espectro completo da expressão de SGLT2 e seu papel no olho é pouco compreendido. Estudos histológicos formais avaliando a presença deste receptor em retinas humanas não são amplamente relatados.(74)

Pesquisas demonstraram a presença do receptor SGLT2 em pericitos retinianos(75), um tipo específico de célula que atua no controle da microcirculação e

na integridade vascular local.(76) Essas células parecem atuar como um sensor de glicose que controla o tônus celular em resposta a mudanças nas concentrações de glicose extracelular.(77, 78) A entrada excessiva de glicose e sódio nos pericitos retinianos via SGLT2 parece agir como um gatilho para o desenvolvimento de retinopatia diabética.(79)

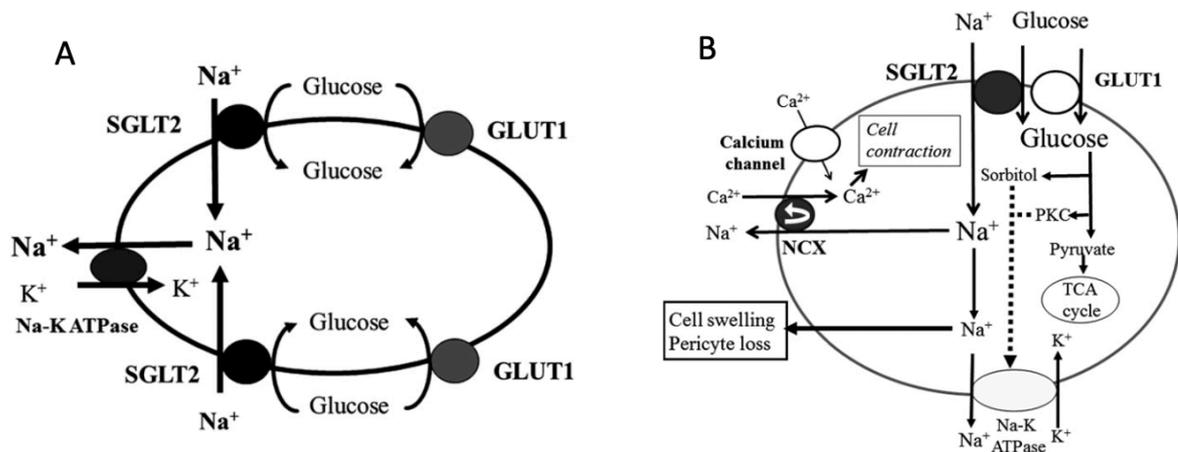


Figura 5. Função do receptor SGLT2 no pericito retiniano (a) e sua possível contribuição para o desenvolvimento da retinopatia diabética (b).

Fonte: Adaptado de Wakisaka M, Nagao T. Sodium glucose cotransporter 2 in mesangial cells and retinal pericytes and its implications for diabetic nephropathy and retinopathy. *Glycobiology*. 2017;27(8):691-5.(79)

Foi demonstrado também um aumento significativo nos níveis de mRNA de SGLT2 na retina de camundongos diabéticos com base na RT-PCR quantitativa.(80) Usando uma combinação de RT-PCR, western-blotting e imuno-histoquímica, foi encontrada uma expressão restrita deste transportador em regiões específicas do cristalino de ratos.(81)

Há registros mostrando o potencial benefício dessa classe de medicações em portadores de doença ocular diabética. Relatos de casos demonstraram a melhora do edema macular diabético crônico após o início do iSGLT2(82, 83), incluindo em pacientes previamente submetidos a cirurgia vitreoretiniana.(84)

Um estudo caso-controle retrospectivo também indicou uma redução de edema retiniano dos pacientes que usaram iSGLT2 em comparação aos que não

usaram tal medicação.(85) Estudos de projeção e coortes retrospectivas convergem ao mesmo cenário.(86, 87)

A despeito de tais achados, grandes ensaios clínicos não demonstraram evidente efeito protetor na retinopatia. Algumas considerações, no entanto, são importantes.

Os principais ensaios clínicos de segurança relacionados aos iSGLT2 abrangeram as variáveis oftalmológicas como eventos adversos a serem reportados, limitando tentativas de metanálise.(42, 88) Destes, apenas o EMPA-REG Outcome considerou a retinopatia como um desfecho clínico microvascular pré-especificado, em associação com a análise de nefropatia.(67) Embora a análise *post hoc* deste estudo não tenha demonstrado diferença do risco de retinopatia quando comparada a empaglifozina *versus* placebo, não houve uma avaliação sistematizada dos pacientes quanto à presença de retinopatia no início do estudo.(89)

Essa decorrente lacuna do conhecimento motivou a realização de estudos ao redor do mundo a fim de compreender a relação entre o SGLT2 e a retina, bem como os potenciais efeitos protetores oculares dos iSGLT2.

Um ensaio clínico realizado com 59 pacientes estudou o fluxo retiniano em pacientes que usaram dapagliflozina *versus* placebo. Os resultados demonstraram que essa droga foi capaz de reduzir a hiperperfusão dos capilares da retina e a remodelação das arteríolas, fatores que contribuem para a progressão da retinopatia diabética. (90)

Evidências em outros estudos sugerem que o iSGLT2 pode conferir efeitos de proteção retiniana por meio de alguns dos mesmos mecanismos evidenciados e estudados através dos ensaios cardiorrenais.(74, 91)

Redução do estresse oxidativo(92, 93), alívio da inflamação(94, 95), modulação do sistema nervoso simpático(96, 97), ação adicional de inibição do trocador sódio-hidrogênio-1 (NHE-1)(98-100), otimização dos combustíveis retinianos induzidos pelo aumento das cetonas(101), redução da apoptose induzida pelo DM(102), são alguns dos possíveis mecanismos de ação adicionais proporcionados pelos iSGLT2, além da redução glicêmica.

Várias dessas ações, inclusive, apoiam estratégias de neuroproteção(103, 104) e sugere o potencial dessas medicações para atuarem em fases precoces

da retinopatia diabética.(105) Esses dados podem explicar, pelo menos em parte, o achado de uma metanálise recente que demonstrou a associação entre o uso de iSGLT2 e redução da incidência de RD em pacientes portadores de DM com duração de doença inferior a 10 anos.(106)

Com tantas lacunas a respeito da ação de iSGLT2 nas células retinianas, fica claro que a análise de características oftalmológicas estudadas em pacientes submetidos à tal terapia durante a realização de um ensaio clínico controlado pode fornecer informações valiosas para, num futuro próximo, auxiliar profissionais e pesquisadores que lidam com pacientes portadores de DM.

OBJETIVOS

Objetivo Geral

O presente trabalho teve o propósito de avaliar as diferenças apresentadas em variáveis oftalmológicas entre os pacientes portadores de diabetes mellitus, participantes de um ensaio clínico duplo-cego e randomizado, submetidos ao tratamento com dapagliflozina *versus* glibenclamida ao final de doze semanas.

Objetivos Específicos

Primário

Avaliar os efeitos do tratamento com dapagliflozina *versus* glibenclamida na espessura retiniana central medida através da Tomografia de Coerência Óptica.

Secundário

Verificar os efeitos do tratamento com dapagliflozina *versus* glibenclamida sobre a acuidade visual e características clínicas retinianas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Desenho, Aspectos Éticos e População

Este estudo traz a análise oftalmológica do ensaio clínico fase 4 de centro único, randomizado, aberto, prospectivo, duplo-cego e ativo-controlado denominado “*The Assessment of Dapaglifozin effect on Diabetic Endothelial Dysfunction of Brachial Artery - Brazilian Heart Study 2 (ADDENDA-BHS2)*”, registrado na plataforma ClinicalTrials.gov em 29 de setembro de 2016, sob NTC 02919345.

Foram seguidas as recomendações CONSORT (Padrões Consolidados para Relatar Ensaios, em tradução livre). O estudo seguiu os princípios éticos da Declaração de Helsinki (107) e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UNICAMP, com o registro de apreciação de parecer CAAE 41618915.1.0000.5404. (Anexo 1)

Os sujeitos da pesquisa participaram de forma voluntária, sendo recrutados através de anúncios em rádio, jornais e televisão entre setembro de 2016 e dezembro de 2018. Após explicação detalhada, todos assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

O estudo foi realizado nas dependências da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). As avaliações clínicas e laboratoriais foram feitas no Centro de Pesquisa Clínica (CRC), no Laboratório de Aterosclerose e Biologia Vascular (AtheroLab) e no Hospital de Clínicas da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP.

O estudo foi desenhado primariamente para comparar o *flow-mediated dilatation* (FMD) em repouso e após a indução de isquemia entre um período de 12 semanas de terapia com dapaglifozina ou glibenclamida em pacientes usando metformina. Portanto, os critérios de seleção e o tamanho da amostra foram calculados com base nesse critério (com um total de 44 pacientes por braço) acrescido de 5 pacientes em cada braço (total de 49 pacientes) devido o grande número de desfechos secundários. Todas as avaliações foram realizadas antes da randomização e após o término da intervenção.

Seleção dos pacientes elegíveis

Critérios de inclusão:

- Paciente com diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2, em uso de até duas medicações orais;
- Idade entre 40 e 70 anos;
- Hemoglobina glicada maior que 7%;
- Alto risco cardiovascular, definido por doença arterial coronariana estável (infarto do miocárdio prévio pelo menos 6 meses antes da inclusão ou angiografia mostrando estenose >70% em pelo menos uma artéria coronária) ou doença aterosclerótica carotídea (identificada por ultrassom carotídeo, de acordo com critérios de distribuição na população brasileira).

Critérios de Exclusão:

- Contraindicações ao uso de metformina (taxa de filtração glomerular estimada [eGFR] calculada por CKD-EPI <45 ml/min, AST ou ALT >3x limite superior de referência);
- Hemoglobina glicada menor que 7% ou maior que 9%;
- Uso de insulina;
- Síndrome coronariana aguda, acidente vascular cerebral ou revascularização coronariana nos seis meses anteriores à randomização
- Triglicérides plasmático > 500mg/dl;
- Fibrilação atrial;
- Poliúria, polidipsia, perda de peso ou outros sinais clínicos de depleção de volume;
- Fumante atual;
- Gestação em curso ou mulheres em idade reprodutiva
- Recusa ou incapacidade cognitiva da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Fase *Run-In* e Randomização

Os pacientes elegíveis foram submetidos à avaliação clínica e laboratorial preliminar. Aqueles que não apresentaram níveis de pressão arterial (PA) $\leq 130 \times 80$ ou hemoglobina glicada (Hb1AC) entre 7 e 9% foram submetidos a fase denominada *run-in*, cujo objetivo foi obter controle equivalente de glicemia e PA antes da randomização.

Nesta etapa, foram administradas metformina de liberação prolongada e losartana. Quando necessário, foram associados hidroclorotiazida e/ou atenolol. Os pacientes que não atingiram os níveis de glicemia e PA descritos após 12 semanas não foram randomizados.

Ao final desta etapa, os primeiros 98 pacientes elegíveis foram aleatoriamente randomizados na proporção de 1:1, estratificados de acordo com o sexo, níveis de Hb1Ac (7-7,9% ou 8-9%) e índice de massa corpórea (IMC abaixo ou acima de 30kg/m^2). Um grupo recebeu dapagliflozina 10mg/dia e o outro glibenclamida 5mg/dia, além da metformina que já faziam uso. O resumo do fluxo é descrito na figura 6.

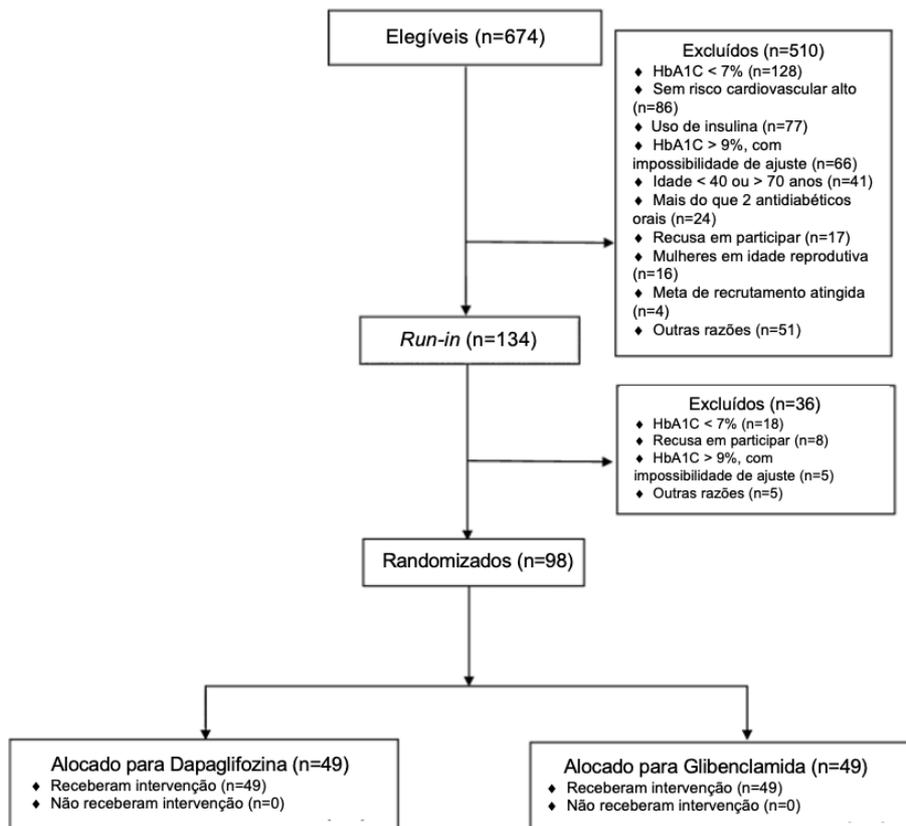


Figura 6. Diagrama de fluxo do estudo ADDENDA-BHS2

Fonte: Adaptado de ADDENDA-BHS2 trial investigators. Assessment of dapagliflozin effect on diabetic endothelial dysfunction of brachial artery (ADDENDA-BHS2 trial): rationale, design, and baseline characteristics of a randomized controlled trial. *Diabetol Metab Syndr.* 2019(108)

Endpoints Oftalmológicos

Os desfechos oftalmológicos testados entre os grupos foram: variações da espessura retiniana do milímetro central da fóvea e na região parafoveal, variações na melhor acuidade visual corrigida (BCVA) e presença e progressão da retinopatia diabética ou edema macular diabético.

A espessura retiniana foi considerada desfecho secundário do estudo. No entanto, dados obtidos em pacientes com RD tratados por três meses com dapagliflozina indicaram uma variação de 500 μ m para 410 μ m (IIQ=63).(84) Assim, em pacientes com RD grave seria necessário dois grupos de cinco pacientes. Nosso estudo arrolou pacientes com estágios pré-clínicos e mais leves de RD. Nesse contexto, não havia dados disponíveis para um cálculo amostral na época do início do estudo.

Avaliação Oftalmológica dos Pacientes

A avaliação oftalmológica foi realizada por médicos oftalmologistas do setor de Retina e Vítreo do Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas.

Após coleta da anamnese, a melhor acuidade visual corrigida (BCVA) foi obtida através da tabela de Snellen adaptada para 4 metros, de acordo com o protocolo do ETDRS (*Early Treatment Diabetic Retinopathy Study*).(109)

O segmento anterior foi avaliado através da lâmpada de fenda e os pacientes foram submetidos a dilatação pupilar com colírios de Tropicamida e Fenilefrina. Todos foram avaliados quanto ao status do cristalino e classificados seguindo os critérios estabelecidos pelo LOCS III.(110) A retina do paciente foi examinada através da biomicroscopia de fundo com auxílio da lente Volk 78D (Volk

Optical, Inc., Mentor, OH) e subsequentemente realizadas duas retinografias de polo posterior, uma centrada na fóvea e outra no disco óptico, com auxílio do aparelho VISUCAM (NM/FA Carl Zeiss, USA).



Figura 7. Imagens de retinografia colorida centradas na fóvea (a) e no disco óptico (b).

Fonte: Arquivo pessoal de Vicente Hidalgo Rodrigues Fernandes

Após, os pacientes foram classificados em relação à presença ou ausência de retinopatia diabética e edema macular diabético seguindo a Classificação Internacional de Retinopatia Diabética e Edema Macular, proposta por Wilkinson et al(12) e aceita pelas diretrizes do Conselho Internacional de Oftalmologia.(111)

Finalmente, todos os pacientes foram submetidos ao exame de Tomografia de Coerência Óptica (OCT) da região macular através do aparelho Spectralis SD-OCT (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany).

O protocolo de aquisição consistiu na aquisição de imagens da área macular, com tamanho 6 x 6mm e centro na fóvea. A variável estudada foi a Espessura Retiniana no 1mm central (CST) e nos 3mm parafoveais superior, inferior, nasal e temporal (figura 7 – A).

O valor da espessura de cada região foi fornecido com uma média pelo próprio software do equipamento (figura 7 – B). Imagens com qualidade prejudicada ou com dados não fornecidos pelo software tiveram seus valores excluídos da análise.

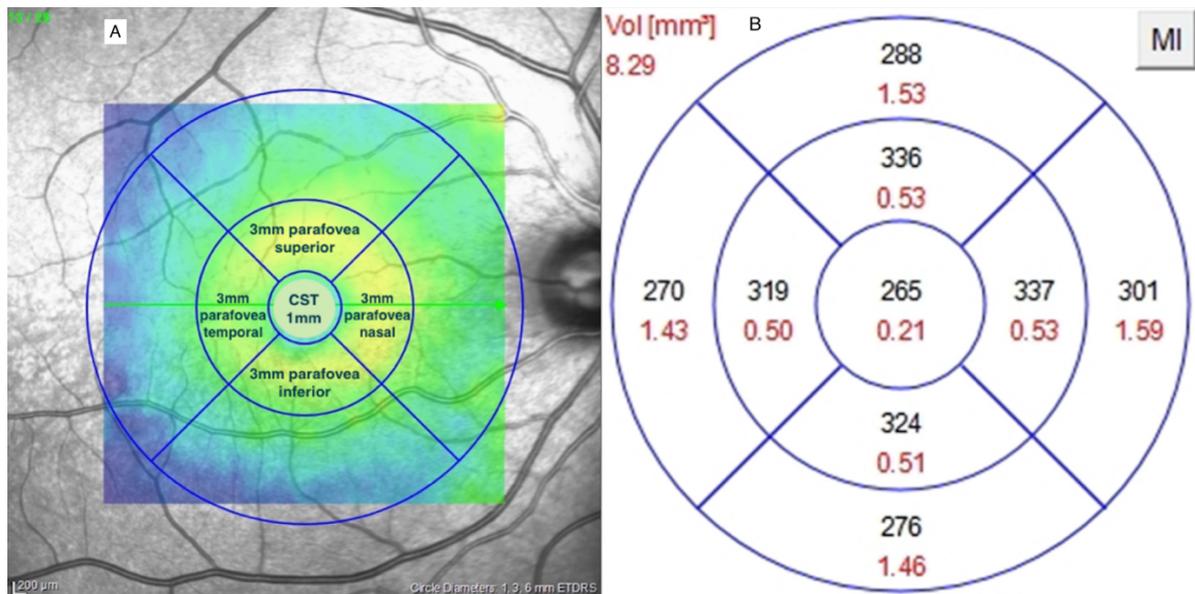


Figura 8. Imagem de OCT demonstrando a área macular, com suas divisões central e parafoveais (a), e exemplo de valores de espessura retiniana nas diversas regiões da mácula (b).

Fonte: Arquivo pessoal de Vicente Hidalgo Rodrigues Fernandes

Sistema de Coleta de Dados

O registro dos dados obtidos foi realizado através do Sistema RedCap (Vanderbilt, EUA), sendo preenchidos na plataforma específica criada enviados ao banco de dados via Internet.

Análise Estatística

A análise dos dados foi realizada usando SPSS v.25 para Mac (IBM Corp., Armonk, NY, EUA).

Devido à falta de distribuição normal, as variáveis contínuas foram expressas na forma de mediana (faixa interquartil [IQR]). As diferenças nas características basais dos dois grupos foram analisadas usando o teste de Mann-

Whitney ou o teste qui-quadrado. As correlações foram investigadas pelo teste de Spearman.

As alterações da linha de base foram comparadas entre os braços do estudo por análise de classificação de covariância (RANCOVA) ajustada para os valores da linha de base.

Classificamos todas as variáveis e comparamos os braços do estudo por análise de covariância. Os pontos finais foram sistematicamente ajustados para os valores basais devido à sua grande variação. A significância estatística foi admitida quando $p < 0,05$.

RESULTADOS

Características Demográficas e Clínicas

Os 98 pacientes selecionados foram randomizados em dois grupos (Dapagliflozina/DAPA x Glibenclamida/GLIB) de 49 indivíduos cada. Um paciente no braço DAPA decidiu interromper o estudo antes da avaliação final. As características basais dos participantes estão apresentadas na tabela 1.

Tabela 1. Características basais demográficas e clínicas			
Variável	Dapagliflozina	Glibenclamida	p
Sexo masculino, %	60	61	1,0
Idade, anos	57 ±7	58 ±7	0,4
Tempo de Doença, anos	9±7	10±7	0,28
HbA1c, %	7,9±0,9	7,9±14	0,74
Glicemia capilar, mg/dl	174±43	174±57	0,99
Hipertensão, %	83	76	0,45
PA sistólica ambulatorial, mmHg	136±12	138±15	0,67
PA diastólica ambulatorial, mmHg	81±9	83±9	0,4
PA sistólica 24h, mmHg	124±10	127±11	0,1
PA diastólica 24h, mmHg	73±20	72±21	0,88
Frequência Cardíaca, bpm	71±10	73±10	0,28
Tabagismo	44	38	0,5
Sedentarismo, %	54	65	0,3
Índice de Massa Corpórea, kg/m ²	31±4	30±5	0,76
Taxa de Filtração Glomerular, mL/min	95±20	92±19	0,39
Polineuropatia Distal, %	42	41	1,0

Trata-se de uma população com média de idade de 57 anos, maioria do sexo masculino (61%) e cerca de 10 anos de DM2 (mediana 8 e intervalo interquartil de 10 anos).

As pressões arteriais sistólica e diastólica aferidas no consultório foram em média 137 e 82 mmHg, respectivamente, e 79% dos participantes (77) estavam em uso de medicação anti-hipertensiva. A pressão arterial sistólica e diastólica média obtida durante a monitorização ambulatorial de 24 horas foi de 126 e 77 mmHg, respectivamente.

Embora nenhum paciente inscrito no estudo fosse fumante ativo, cerca de 42% fumaram no passado e pararam há 19 ± 9 anos. Consistente com um controle metabólico rígido, a maioria (98%) teve eGFR > 60 ml/min/1,73 m² (57 a 142 ml/min/1,73 m²).

Não houve diferença entre os grupos na duração do DM2, HbA1c ou pressão arterial durante o monitoramento ambulatorial da pressão arterial de 24 horas, tanto na randomização quanto no final do estudo. Durante o estudo, a diminuição mediana da HbA1c foi de -0,8 (0,7)% e -0,7 (0,95)% para os grupos DAPA e GLIB, respectivamente.

Características Oftalmológicas

O resultado obtido na acuidade visual através da tabela de Snellen foi convertido a LogMar para melhor comparação estatística. Conforme demonstrado na tabela 2, a melhor acuidade visual corrigida foi equivalente na randomização e ao final do estudo.

Tabela 2. Avaliação da acuidade visual			
	Dapagliflozina	Glibenclamida	p
Pacientes	48	49	
Acuidade visual corrigida inicial, LogMAR	0,11 (0,18)	0,13 (0,25)	0,62
Varição absoluta da acuidade visual após 12 semanas	+ 0,0085 (0,20)	- 0,0012 (0,14)	0,802

As variáveis “Retinopatia Diabética” e “Presença de Edema Macular” foram determinadas de acordo com a avaliação clínica e de retinografia. Para os dados apresentados nas características “Espessura Foveal e Parafoveal” (obtidas através da análise das imagens do OCT) foi levada em consideração a quantidade total de olhos.

Conforme demonstrado na tabela 3, a maioria dos indivíduos não apresentava sinais de retinopatia diabética. Não houve diferença na linha de base ou na mudança do estado de RD ou edema macular entre os dois grupos. Edema macular diabético (EMD) foi observado em cinco olhos no grupo DAPA e 11 olhos no grupo GLIB. Como não foi observado envolvimento central grave naqueles pacientes com EMD, nenhum deles foi submetido à terapia anti-VEGF.

Tabela 3. Características clínicas da retina			
	Dapagliflozina	Glibenclamida	p
Pacientes	48	49	
Retinopatia Diabética, número de pacientes (%)			0,24
Ausência	41 (85,4)	35(72)	
RDNP leve	5(10,4)	6(12)	
RDNP moderada	1(2,1)	5(10)	
RDNP grave	0	0	
Proliferativa	1(2,1)	3(6)	
Presença de Edema Macular	5(10,4)	11(22,5)	0,40

RDNP: Retinopatia diabética não proliferativa

Características da Tomografia de Coerência Óptica

Conforme exposto na tabela 4, na linha de base, a avaliação das características do OCT não revelou diferença entre os grupos.

Com 12 semanas, houve um aumento na mediana absoluta do valor da espessura do subcampo central no braço DAPA e uma diminuição no braço GLIB, como demonstrado na tabela 5.

Tabela 4. Características basais do OCT

Olhos (x2)			
Espessura Retiniana Média pelo OCT, micra	Dapagliflozina	Glibenclamida	p
1mm foveal	277(32)	270(21)	0,13
3mm parafoveal superior	339 (17)	338(30)	0,96
3mm parafoveal inferior	336(16,4)	336(27)	0,98
3mm parafoveal nasal	341(15,9)	338(22)	0,49
3mm parafoveal temporal	328(16,1)	327(26)	0,64

Tabela 5. Características do OCT ao final do estudo

Varição média na espessura retiniana após a terapia, micra	Dapagliflozina	Glibenclamida	p
1mm foveal	2(6)	-1(7)	0,001
3mm parafoveal superior	4(8)	4(18)	0,68
3mm parafoveal inferior	1(9)	1(19)	0,87
3mm parafoveal nasal	2(5)	2(6)	0,44
3mm parafoveal temporal	1(4)	1(5)	0,55

Esta análise permaneceu significativa mesmo após o ajuste para a mudança de HbA1c (**p = 0,002**). Em termos de mudança relativa, houve aumento de 0,7(2)% na espessura do subcampo central no grupo DAPA e -0,3(3)% no grupo GLIB.

Repetimos a análise excluindo olhos com RD proliferativa ou não proliferativa grave, bem como aqueles com EMD e ainda encontramos um aumento no valor absoluto mediano da espessura do subcampo central no braço da DAPA e uma diminuição no braço GLIB [+1,3(6) vs -0,8(7); **p = 0,004**].

Os valores medianos basais da espessura foveal do 1mm central após a exclusão de olhos com RD proliferativa ou não proliferativa grave foram 267(23) μm e 272(29) μm para os grupos DAPA e GLIB, respectivamente ($p = 0,06$).

A alteração na espessura foveal do 1mm central não foi associada à alteração na função endotelial conforme estimado pelo protocolo de dilatação mediada por fluxo (*endpoint* primário do ensaio clínico) nem com as alterações nos níveis de glicemia.

DISCUSSÃO

Vários ensaios clínicos de larga escala forneceram evidências de que os iSGLT2 reduzem eventos cardiovasculares, previnem hospitalizações por insuficiência cardíaca e são nefroprotetores.(69) No entanto, até o início deste estudo, havia poucas evidências acerca de características oftalmológicas relacionadas a esta medicação, o que nos fez inclui-las nos desfechos do ensaio clínico.

As opções terapêuticas para RD são limitadas, com aquelas atualmente disponíveis apenas para estágios avançados da doença. Revisando possíveis mecanismos de ação dos iSGLT2, hipotetizamos que a medicação poderia atuar em fases precoces da disfunção microvascular(112) e percebemos a lacuna na literatura de estudos clínicos com avaliações retinianas sistemáticas.(113)

Quanto a possíveis efeitos microvasculares, Sabaner et al, utilizando marcadores de angiografia associada a OCT (Angio-OCT), compararam pacientes em uso de metformina isolada em doses altas *versus* metformina em dose intermediária associada a empaglifozina.(114) Nesse estudo, os autores detectaram diferenças morfológicas microvasculares mesmo em pacientes que não apresentaram variações evidentes na avaliação fundoscópica. Foi atribuído que a empaglifozina pode ter um efeito protetor retiniano (além da redução da glicemia e efeito na perda de peso) com possível mecanismo relacionado ao pericito.

De fato, o comprometimento histológico dos pericitos já está bem estabelecido na fisiopatologia da retinopatia diabética.(115) Essas células ajudam a contrair os vasos sanguíneos da retina, contribuindo para a autorregulação do fluxo sanguíneo. Sua perda funcional ou estrutural pode desregular esse mecanismo, contribuindo para áreas de isquemia e suas consequências.(116, 117)

Curiosamente, estudos laboratoriais liderados por Wakisaka descobriram a ação do receptor SGLT2 nos pericitos retinianos.(118) A ação proporcionada pelos inibidores desse receptor proporcionaria uma redução de glicose intracelular, atenuaria o edema e a perda celular.(77, 79)

Ainda sobre microcirculação, Ott e colaboradores estudaram as diferenças na vasculatura retiniana de forma dinâmica, utilizando o método *Scanning Laser Doppler Flowmetry* (SLDF), após 6 semanas em pacientes que usaram dapagliflozina

versus placebo.(90) Embora tenha havido diferença nos *endpoints* sistêmicos, não foram encontradas alterações nas medidas de fluxo retiniano entre os dois grupos.

Diferentemente da publicação apresentada, que utilizou placebo, nossa pesquisa comparou a dapagliflozina com outro ativo que reduziu de forma similar os parâmetros sistêmicos. Outro dado comparativo é que o estudo de Ott avaliou variáveis através de um teste funcional, enquanto nossa pesquisa avaliou características estruturais.

Estudos histológicos têm demonstrado que a apoptose de células neuronais retinianas é um evento precoce e persistente no diabetes.(119, 120) Estes achados vão ao encontro do conceito de neurodegeneração, definida como uma condição patológica que afeta a estrutura ou função dos neurônios, incluindo sua morte celular acelerada.(121) A apoptose parece ser a via comum entre a hiperglicemia e a neurodegeneração. Um estudo realizado em ratos diabéticos, demonstrou que flordizina, um inibidor de SGLT1 e SGLT2, conseguiu reduzir a morte da células retinianas e a gliose reativa num mecanismo independente da insulina.(122)

A estratégia de detectar as perdas neuronais retinianas precocemente continua sendo um campo de intensa pesquisa. Como a SD-OCT tem sido uma importante ferramenta nesse campo(123), decidimos incluir este método para a avaliação sistemática do estudo, o que consideramos um diferencial em nossa pesquisa.

Utilizando o mesmo aparelho de nosso estudo (Heidelberg SPECTRALIS – HRA), uma importante publicação forneceu dados normativos para pacientes diabéticos sem evidência de retinopatia diabética.(124) Nela, a média de espessura retiniana foi de $270 \pm 24 \mu\text{m}$. Tais dados são semelhantes ao que encontramos no início do estudo.

Quando avaliamos o desfecho oftalmológico principal de nosso estudo, é notória a diferença estatística evidenciada entre os grupos analisados. A significância permaneceu quando excluímos os pacientes com evidência de algum grau de RD ou EMD da análise. Outro ponto que nos chamou a atenção foi o fato de as alterações encontradas ficarem restritas ao 1mm central e não serem expandidas aos 3mm parafoveais.

Em revisão de literatura, fica evidente a escassez de outros ensaios clínicos utilizando a mesma metodologia. No entanto, algumas características que correlacionam a fisiopatologia da RD e mecanismos de ação dos iSGLT2 são de pertinente discussão.

Anatomicamente, sabe-se que no 1mm central é onde está a maior concentração de fotorreceptores. Curiosamente, a maioria das análises de pacientes diabéticos topografam a alteração do paciente diabético detectada através do SD-OCT nas camadas internas, não parecendo haver alteração nos fotorreceptores nas fases precoces.(125, 126) Uma metanálise recente encontrou diferenças estatísticas no estudo da região macular restrita nas camadas de células ganglionares, plexiforme interna e de fibras nervosas.(127)

No entanto, há inúmeras evidências sugerindo que os fotorreceptores apresentam um papel no desenvolvimento nos estágios iniciais da RD.(128, 129) Sabe-se que a retina é um tecido do corpo humano que tem uma das maiores demandas metabólicas, sendo as células fotorreceptoras as responsáveis pela maior parte do consumo de energia da retina.(130) Altos níveis de superóxido são naturalmente gerados durante o metabolismo.

O estresse oxidativo potencializado pelo diabetes a nível celular pode acarretar disfunção mitocondrial e consequente morte celular.(131-133) Essa evidente susceptibilidade dos fotorreceptores associada a quebra da homeostase secundário ao diabetes poderiam desencadear a degeneração de fotorreceptores, podendo inclusive ser responsável pela posterior disfunção vascular.(134)

Park e colaboradores, utilizando modelos animais, demonstraram a evidência de apoptose de fotorreceptores e afinamento da camada nuclear externa em modelos de ratos diabéticos.(135) Um estudo com material humano *ex vivo* também demonstrou a relação entre degeneração de fotorreceptores e marcadores de apoptose neural retiniana.(136)

Um estudo transversal utilizando SD-OCT em pacientes diabéticos demonstrou que o afinamento das camadas dos fotorreceptores no centro da fóvea estavam relacionadas com sinais de retinopatia diabética.(137) Outras análises quantitativas de dados obtidos no SD-OCT também relacionam alterações degenerativas nas camadas externas com estágios precoces de RD.(138, 139)

Algumas evidências sugerem até que a camada de fotorreceptores pode apresentar afinamento evidente ao OCT antes do início da hiperglicemia em pacientes portadores de síndrome metabólica. Tal achado levanta a possibilidade de que a resistência à insulina ou citocinas inflamatórias derivadas do tecido adiposo possam ter um efeito adverso nessas células, independentemente da hiperglicemia.(140)

Um mecanismo alternativo que pode justificar o desfecho demonstrando em nossa pesquisa relaciona-se com o benefício gerado pela hipercetonemia crônica de baixo grau e o uso dos inibidores de SGLT2.(101, 141)

O fundamento desta hipótese está na característica do alto uso de glicose no metabolismo retiniano.(142) Sabe-se que glicose é o substrato primário para o metabolismo energético na retina, gerando ATP via glicólise no citosol (aproximadamente 80% desta produção) ou via fosforilação oxidativa nas mitocôndrias (20% restante).(143)

No contexto do paciente diabético, mesmo com a hiperglicemia, a utilização da glicose a nível tecidual é reduzida devido à resistência à insulina, numa espécie de “fome em meio à abundância”, aumentando vias alternativas de produção energética, como a dos ácidos graxos livres e da oxidação de gorduras. Acontece que essa mudança é energeticamente ineficiente devido à maior necessidade de oxigênio durante a oxidação da gordura (em comparação com a via glicolítica).(141)

As cetonas também podem servir como combustível durante condições de privação nutricional, com uma eficiência maior quando comparada à gordura.(144) Os iSGLT2 aumentam a produção de cetona através de vários mecanismos.(145) Essa hipercetonemia crônica de baixo grau pode influenciar favoravelmente o curso da RD através de melhoria energética da retina, com menor estresse oxidativo e potenciais efeitos anti-inflamatórios.(145)

Nessa linha, é importante ressaltar sobre o papel do β -hidroxibutirato, um dos metabólitos oriundos da degradação cetônica e sua relação com apoptose mediada pela inflamação (ou piroptose).

A piroptose foi recentemente estabelecida como um termo de morte celular inflamatória programada e vários estudos relatam que a ativação do inflamassoma NLRP3 desempenha um papel significativo no desencadeamento da morte celular mediada por piroptose e promove a patogênese da RD.(146)

Há descrição da expressão constitucional do HCA2 (ou GPR109A), um receptor β -hidroxibutirato, na retina humana.(147) Em modelos animais e olhos humanos doados *postmortem*, Gambhir e colaboradores observaram o aumento da expressão deste receptor na retina de indivíduos diabéticos, além do provável efeito anti-inflamatório relacionado com sua ativação.(148)

Trotta e colaboradores exploraram esse mecanismo e utilizando modelos animais diabéticos encontraram menores níveis retinianos do inflamassoma NLRP3, dos marcadores de apoptose ASC e caspase-1 e de citocinas inflamatórias IL-1 β e IL-18 naqueles tratados com β -hidroxibutirato.(149)

Um ensaio clínico duplo-cego e randomizado comparou marcadores da ativação do NLRP3 em pacientes diabéticos que usaram inibidor de SGLT2 (empaglifozina) *versus* sulfoniureia (glimpirida).(150) Nesse estudo, os autores encontraram uma maior redução na secreção de IL-1 β em comparação com a sulfonilureia acompanhada de aumento do β -hidroxibutirato sérico e diminuição da insulina sérica, mesmo com uma redução semelhantes de glicose. Eles concluíram que o inibidor de SGLT2 atenua a ativação do inflamassoma NLRP3, o que pode ajudar a explicar seus efeitos protetores.

Embora vários mecanismos fisiopatológicos possam estar associados com o que encontramos, reconhecemos que nosso estudo apresenta limitações quanto às explicações dos achados. Restringimo-nos a apresentar os dados e dissertar sobre as evidências atuais.

Outras limitações também precisam ser consideradas:

(i) A avaliação fundoscópica e aquisição das imagens do OCT foram realizadas por vários profissionais que, embora estivessem capacitados para tal finalidade, impede a exclusão de viés de avaliação.

(ii) O valor da espessura retiniana central (utilizado para o desfecho primário deste trabalho) é o principal marcador quantitativo do OCT (151, 152), no entanto, não podemos descartar a possibilidade de alterações em outros marcadores de OCT. (153) Além disso, sabe-se que outros exames complementares com dados objetivos podem ser utilizados para avaliação de desfecho em pesquisas de RD como o Eletrorretinograma Multifocal e a Angio-OCT(154), no entanto a indisponibilidade em nosso centro limitou a utilização de tais métodos no protocolo do estudo.

(iii) Como o presente estudo incluiu pacientes principalmente em estágios iniciais de RD, os achados não podem ser extrapolados para estágios mais avançados da doença.

(iv) Finalmente, o estudo avaliou o efeito de um tratamento de 12 semanas. Embora tenha sido possível enxergar a precocidade, com mudança de parâmetro estrutural em três meses, esse efeito não pode ser extrapolado para períodos de acompanhamentos mais longos.

Ainda assim, pela revisão da literatura atual, o estudo traz à tona, de forma original e inédita, o efeito estrutural do tratamento com iSGLT2 na retina de pacientes com DM2. Esses achados abrem uma perspectiva para estudos de fisiopatologia e podem estar relacionados com a ação protetora dos iSGLT2 na retina.

CONCLUSÃO

Considerando o tratamento comparativo entre dapagliflozina *versus* glibenclamida, nos pacientes portadores de DM2 estudados, com redução semelhante dos níveis glicêmicos, a avaliação oftalmológica basal e ao final de doze semanas demonstrou:

(i) Não haver diferenças de acuidade visual e dados obtidos através do exame clínico entre os dois grupos.

(ii) Haver diferença estatística significativa na espessura retiniana central medida através do SD-OCT entre os dois grupos.

Em resumo, um tratamento de curto prazo com dapagliflozina pode aumentar a espessura retiniana central, em comparação com a terapia com glibenclamida, independente do controle glicêmico. Essa alteração estrutural é compatível com a atenuação da progressão do afinamento retiniano típico da RD e reforça a hipótese de que os iSGLT2 têm efeito benéfico nessa doença.

REFERÊNCIAS

1. Bressler NM, Beaulieu WT, Maguire MG, Glassman AR, Blinder KJ, Bressler SB, et al. Early Response to Anti-Vascular Endothelial Growth Factor and Two-Year Outcomes Among Eyes With Diabetic Macular Edema in Protocol T. *Am J Ophthalmol.* 2018;195:93-100.
2. Sun H, Saeedi P, Karuranga S, Pinkepank M, Ogurtsova K, Duncan BB, et al. IDF diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045. *Diabetes Res Clin Pract.* 2021:109119.
3. Ogurtsova K, Guariguata L, Barengo NC, Ruiz PL, Sacre JW, Karuranga S, et al. IDF diabetes Atlas: Global estimates of undiagnosed diabetes in adults for 2021. *Diabetes Res Clin Pract.* 2021:109118.
4. Wong TY, Klein R, Islam FM, Cotch MF, Folsom AR, Klein BE, et al. Diabetic retinopathy in a multi-ethnic cohort in the United States. *Am J Ophthalmol.* 2006;141(3):446-55.
5. Zhang X, Saaddine JB, Chou CF, Cotch MF, Cheng YJ, Geiss LS, et al. Prevalence of diabetic retinopathy in the United States, 2005-2008. *JAMA.* 2010;304(6):649-56.
6. Yau JW, Rogers SL, Kawasaki R, Lamoureux EL, Kowalski JW, Bek T, et al. Global prevalence and major risk factors of diabetic retinopathy. *Diabetes Care.* 2012;35(3):556-64.
7. Teo ZL, Tham YC, Yu M, Chee ML, Rim TH, Cheung N, et al. Global Prevalence of Diabetic Retinopathy and Projection of Burden through 2045: Systematic Review and Meta-analysis. *Ophthalmology.* 2021;128(11):1580-91.
8. Fenwick EK, Pesudovs K, Rees G, Dirani M, Kawasaki R, Wong TY, et al. The impact of diabetic retinopathy: understanding the patient's perspective. *Br J Ophthalmol.* 2011;95(6):774-82.

9. Cheung N, Mitchell P, Wong TY. Diabetic retinopathy. *Lancet*. 2010;376(9735):124-36.
10. Bertoldi AD, Kanavos P, Franca GV, Carraro A, Tejada CA, Hallal PC, et al. Epidemiology, management, complications and costs associated with type 2 diabetes in Brazil: a comprehensive literature review. *Global Health*. 2013;9:62.
11. Tan GS, Cheung N, Simo R, Cheung GC, Wong TY. Diabetic macular oedema. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2017;5(2):143-55.
12. Wilkinson CP, Ferris FL, 3rd, Klein RE, Lee PP, Agardh CD, Davis M, et al. Proposed international clinical diabetic retinopathy and diabetic macular edema disease severity scales. *Ophthalmology*. 2003;110(9):1677-82.
13. Wong TY, Cheung CM, Larsen M, Sharma S, Simo R. Diabetic retinopathy. *Nat Rev Dis Primers*. 2016;2:16012.
14. Antonetti DA, Silva PS, Stitt AW. Current understanding of the molecular and cellular pathology of diabetic retinopathy. *Nat Rev Endocrinol*. 2021;17(4):195-206.
15. Abcouwer SF, Gardner TW. Diabetic retinopathy: loss of neuroretinal adaptation to the diabetic metabolic environment. *Ann N Y Acad Sci*. 2014;1311:174-90.
16. Abramoff MD, Fort PE, Han IC, Jayasundera KT, Sohn EH, Gardner TW. Approach for a Clinically Useful Comprehensive Classification of Vascular and Neural Aspects of Diabetic Retinal Disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2018;59(1):519-27.
17. Simo R, Stitt AW, Gardner TW. Neurodegeneration in diabetic retinopathy: does it really matter? *Diabetologia*. 2018;61(9):1902-12.
18. Staurenghi G, Sadda S, Chakravarthy U, Spaide RF, International Nomenclature for Optical Coherence Tomography P. Proposed lexicon for anatomic landmarks in normal posterior segment spectral-domain optical coherence tomography: the IN*OCT consensus. *Ophthalmology*. 2014;121(8):1572-8.

19. Virgili G, Menchini F, Casazza G, Hogg R, Das RR, Wang X, et al. Optical coherence tomography (OCT) for detection of macular oedema in patients with diabetic retinopathy. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015;1:CD008081.
20. Invernizzi A, Pellegrini M, Acquistapace A, Benatti E, Erba S, Cozzi M, et al. Normative Data for Retinal-Layer Thickness Maps Generated by Spectral-Domain OCT in a White Population. *Ophthalmol Retina.* 2018;2(8):808-15 e1.
21. Daruich A, Matet A, Moulin A, Kowalczyk L, Nicolas M, Sellam A, et al. Mechanisms of macular edema: Beyond the surface. *Prog Retin Eye Res.* 2018;63:20-68.
22. Chhablani J, Sharma A, Goud A, Peguda HK, Rao HL, Begum VU, et al. Neurodegeneration in Type 2 Diabetes: Evidence From Spectral-Domain Optical Coherence Tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2015;56(11):6333-8.
23. van Dijk HW, Verbraak FD, Kok PH, Stehouwer M, Garvin MK, Sonka M, et al. Early neurodegeneration in the retina of type 2 diabetic patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2012;53(6):2715-9.
24. Carpineto P, Toto L, Aloia R, Ciciarelli V, Borrelli E, Vitacolonna E, et al. Neuroretinal alterations in the early stages of diabetic retinopathy in patients with type 2 diabetes mellitus. *Eye (Lond).* 2016;30(5):673-9.
25. Kim K, Kim ES, Yu SY. Longitudinal Relationship Between Retinal Diabetic Neurodegeneration and Progression of Diabetic Retinopathy in Patients With Type 2 Diabetes. *Am J Ophthalmol.* 2018;196:165-72.
26. Sohn EH, van Dijk HW, Jiao C, Kok PH, Jeong W, Demirkaya N, et al. Retinal neurodegeneration may precede microvascular changes characteristic of diabetic retinopathy in diabetes mellitus. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2016;113(19):E2655-64.
27. Tavares Ferreira J, Proenca R, Alves M, Dias-Santos A, Santos BO, Cunha JP, et al. Retina and Choroid of Diabetic Patients Without Observed Retinal Vascular Changes: A Longitudinal Study. *Am J Ophthalmol.* 2017;176:15-25.

28. Solomon SD, Chew E, Duh EJ, Sobrin L, Sun JK, VanderBeek BL, et al. Diabetic Retinopathy: A Position Statement by the American Diabetes Association. *Diabetes Care*. 2017;40(3):412-8.
29. Barber AJ, Baccouche B. Neurodegeneration in diabetic retinopathy: Potential for novel therapies. *Vision Res*. 2017;139:82-92.
30. Diabetes C, Complications Trial Research G, Nathan DM, Genuth S, Lachin J, Cleary P, et al. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 1993;329(14):977-86.
31. Stratton IM, Adler AI, Neil HA, Matthews DR, Manley SE, Cull CA, et al. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BMJ*. 2000;321(7258):405-12.
32. Lim SW, van Wijngaarden P, Harper CA, Al-Qureshi SH. Early worsening of diabetic retinopathy due to intensive glycaemic control. *Clin Exp Ophthalmol*. 2019;47(2):265-73.
33. Akil H, Burgess J, Nevitt S, Harding SP, Alam U, Burgess P. Early Worsening of Retinopathy in Type 1 and Type 2 Diabetes After Rapid Improvement in Glycaemic Control: A Systematic Review. *Diabetes Ther*. 2022;13(1):1-23.
34. American Diabetes Association Professional Practice C, Draznin B, Aroda VR, Bakris G, Benson G, Brown FM, et al. 12. Retinopathy, Neuropathy, and Foot Care: Standards of Medical Care in Diabetes-2022. *Diabetes Care*. 2022;45(Suppl 1):S185-S94.
35. Keech AC, Mitchell P, Summanen PA, O'Day J, Davis TM, Moffitt MS, et al. Effect of fenofibrate on the need for laser treatment for diabetic retinopathy (FIELD study): a randomised controlled trial. *Lancet*. 2007;370(9600):1687-97.

36. Group AS, Group AES, Chew EY, Ambrosius WT, Davis MD, Danis RP, et al. Effects of medical therapies on retinopathy progression in type 2 diabetes. *N Engl J Med*. 2010;363(3):233-44.
37. Stewart S, Lois N. Fenofibrate for Diabetic Retinopathy. *Asia Pac J Ophthalmol (Phila)*. 2018;7(6):422-6.
38. Dagenais GR, Ahmed Z, Robitaille NM, Gingras S, Lupien PJ, Christen A, et al. Total and coronary heart disease mortality in relation to major risk factors--Quebec cardiovascular study. *Can J Cardiol*. 1990;6(2):59-65.
39. Pyorala M, Miettinen H, Laakso M, Pyorala K. Plasma insulin and all-cause, cardiovascular, and noncardiovascular mortality: the 22-year follow-up results of the Helsinki Policemen Study. *Diabetes Care*. 2000;23(8):1097-102.
40. Fonseca VA. The effects of insulin on the endothelium. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2007;36 Suppl 2:20-6.
41. Zhang J, Ma J, Zhou N, Zhang B, An J. Insulin use and risk of diabetic macular edema in diabetes mellitus: a systemic review and meta-analysis of observational studies. *Med Sci Monit*. 2015;21:929-36.
42. Tang H, Li G, Zhao Y, Wang F, Gower EW, Shi L, et al. Comparisons of diabetic retinopathy events associated with glucose-lowering drugs in patients with type 2 diabetes mellitus: A network meta-analysis. *Diabetes Obes Metab*. 2018;20(5):1262-79.
43. Berdugo M, Delaunay K, Naud MC, Guegan J, Moulin A, Savoldelli M, et al. The antidiabetic drug glibenclamide exerts direct retinal neuroprotection. *Transl Res*. 2021;229:83-99.
44. Berdugo M, Delaunay K, Lebon C, Naud MC, Radet L, Zennaro L, et al. Long-Term Oral Treatment with Non-Hypoglycemic Dose of Glibenclamide Reduces Diabetic Retinopathy Damage in the Goto-KakizakiRat Model. *Pharmaceutics*. 2021;13(7).

45. Han J, Li Y, Liu X, Zhou T, Sun H, Edwards P, et al. Metformin suppresses retinal angiogenesis and inflammation in vitro and in vivo. *PLoS One*. 2018;13(3):e0193031.
46. Yi QY, Deng G, Chen N, Bai ZS, Yuan JS, Wu GH, et al. Metformin inhibits development of diabetic retinopathy through inducing alternative splicing of VEGF-A. *Am J Transl Res*. 2016;8(9):3947-54.
47. Matuszewski W, Baranowska-Jurkun A, Stefanowicz-Rutkowska MM, Gontarz-Nowak K, Gatarska E, Bandurska-Stankiewicz E. The Safety of Pharmacological and Surgical Treatment of Diabetes in Patients with Diabetic Retinopathy-A Review. *J Clin Med*. 2021;10(4).
48. Ott C, Raff U, Schmidt S, Kistner I, Friedrich S, Bramlage P, et al. Effects of saxagliptin on early microvascular changes in patients with type 2 diabetes. *Cardiovasc Diabetol*. 2014;13:19.
49. Maeda S, Yamagishi S, Matsui T, Nakashima S, Ojima A, Maeda S, et al. Beneficial effects of vildagliptin on retinal injury in obese type 2 diabetic rats. *Ophthalmic Res*. 2013;50(4):221-6.
50. Dicembrini I, Nreu B, Scatena A, Andreozzi F, Sesti G, Mannucci E, et al. Microvascular effects of glucagon-like peptide-1 receptor agonists in type 2 diabetes: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Acta Diabetol*. 2017;54(10):933-41.
51. Marso SP, Bain SC, Consoli A, Eliaschewitz FG, Jodar E, Leiter LA, et al. Semaglutide and Cardiovascular Outcomes in Patients with Type 2 Diabetes. *N Engl J Med*. 2016;375(19):1834-44.
52. Bogdanov P, Ramos H, Valeri M, Deas-Just A, Huerta J, Simo R, et al. Minimum Effective Dose of DPP-4 Inhibitors for Treating Early Stages of Diabetic Retinopathy in an Experimental Model. *Biomedicines*. 2022;10(2).

53. Hernandez C, Bogdanov P, Sola-Adell C, Sampedro J, Valeri M, Genis X, et al. Topical administration of DPP-IV inhibitors prevents retinal neurodegeneration in experimental diabetes. *Diabetologia*. 2017;60(11):2285-98.
54. Hernandez C, Bogdanov P, Corraliza L, Garcia-Ramirez M, Sola-Adell C, Arranz JA, et al. Topical Administration of GLP-1 Receptor Agonists Prevents Retinal Neurodegeneration in Experimental Diabetes. *Diabetes*. 2016;65(1):172-87.
55. Wright EM, Loo DD, Hirayama BA. Biology of human sodium glucose transporters. *Physiol Rev*. 2011;91(2):733-94.
56. Han L, Qu Q, Aydin D, Panova O, Robertson MJ, Xu Y, et al. Structure and mechanism of the SGLT family of glucose transporters. *Nature*. 2022;601(7892):274-9.
57. Rieg T, Vallon V. Development of SGLT1 and SGLT2 inhibitors. *Diabetologia*. 2018;61(10):2079-86.
58. Scheen AJ. Pharmacodynamics, efficacy and safety of sodium-glucose co-transporter type 2 (SGLT2) inhibitors for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Drugs*. 2015;75(1):33-59.
59. Hattersley AT, Thorens B. Type 2 Diabetes, SGLT2 Inhibitors, and Glucose Secretion. *N Engl J Med*. 2015;373(10):974-6.
60. Tahrani AA, Barnett AH, Bailey CJ. SGLT inhibitors in management of diabetes. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2013;1(2):140-51.
61. Vasilakou D, Karagiannis T, Athanasiadou E, Mainou M, Liakos A, Bekiari E, et al. Sodium-glucose cotransporter 2 inhibitors for type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Ann Intern Med*. 2013;159(4):262-74.
62. Abdul-Ghani MA, Norton L, DeFronzo RA. Role of sodium-glucose cotransporter 2 (SGLT 2) inhibitors in the treatment of type 2 diabetes. *Endocr Rev*. 2011;32(4):515-31.

63. Zelniker TA, Braunwald E. Clinical Benefit of Cardiorenal Effects of Sodium-Glucose Cotransporter 2 Inhibitors: JACC State-of-the-Art Review. *J Am Coll Cardiol*. 2020;75(4):435-47.
64. Zinman B, Wanner C, Lachin JM, Fitchett D, Bluhmki E, Hantel S, et al. Empagliflozin, Cardiovascular Outcomes, and Mortality in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med*. 2015;373(22):2117-28.
65. Mahaffey KW, Neal B, Perkovic V, de Zeeuw D, Fulcher G, Erondy N, et al. Canagliflozin for Primary and Secondary Prevention of Cardiovascular Events: Results From the CANVAS Program (Canagliflozin Cardiovascular Assessment Study). *Circulation*. 2018;137(4):323-34.
66. Wiviott SD, Raz I, Bonaca MP, Mosenzon O, Kato ET, Cahn A, et al. Dapagliflozin and Cardiovascular Outcomes in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med*. 2019;380(4):347-57.
67. Wanner C, Inzucchi SE, Lachin JM, Fitchett D, von Eynatten M, Mattheus M, et al. Empagliflozin and Progression of Kidney Disease in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med*. 2016;375(4):323-34.
68. Perkovic V, Jardine MJ, Neal B, Bompoint S, Heerspink HJL, Charytan DM, et al. Canagliflozin and Renal Outcomes in Type 2 Diabetes and Nephropathy. *N Engl J Med*. 2019;380(24):2295-306.
69. Zelniker TA, Wiviott SD, Raz I, Im K, Goodrich EL, Bonaca MP, et al. SGLT2 inhibitors for primary and secondary prevention of cardiovascular and renal outcomes in type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis of cardiovascular outcome trials. *Lancet*. 2019;393(10166):31-9.
70. Dorsey-Trevino EG, Gonzalez-Gonzalez JG, Alvarez-Villalobos N, Gonzalez-Nava V, Contreras-Garza BM, Diaz Gonzalez-Colmenero A, et al. Sodium-glucose cotransporter 2 (SGLT-2) inhibitors and microvascular outcomes in patients with type 2 diabetes: systematic review and meta-analysis. *J Endocrinol Invest*. 2020;43(3):289-304.

71. El Mouhayyar C, Riachy R, Khalil AB, Eid A, Azar S. SGLT2 Inhibitors, GLP-1 Agonists, and DPP-4 Inhibitors in Diabetes and Microvascular Complications: A Review. *Int J Endocrinol*. 2020;2020:1762164.
72. Zelniker TA, Braunwald E. Mechanisms of Cardiorenal Effects of Sodium-Glucose Cotransporter 2 Inhibitors: JACC State-of-the-Art Review. *J Am Coll Cardiol*. 2020;75(4):422-34.
73. Mantsounga CS, Morrison AR. Empagliflozin and Protecting Microvascular Support of Heart Mechanics: SGLT2 Inhibition or More? *JACC Basic Transl Sci*. 2019;4(5):592-5.
74. Lahoti S, Nashawi M, Sheikh O, Massop D, Mir M, Chilton R. Sodium-glucose co-transporter 2 inhibitors and diabetic retinopathy: insights into preservation of sight and looking beyond. *Cardiovasc Endocrinol Metab*. 2021;10(1):3-13.
75. Wakisaka M, Yoshinari M, Yamamoto M, Nakamura S, Asano T, Himeno T, et al. Na⁺-dependent glucose uptake and collagen synthesis by cultured bovine retinal pericytes. *Biochim Biophys Acta*. 1997;1362(1):87-96.
76. Kelley C, D'Amore P, Hechtman HB, Shepro D. Microvascular pericyte contractility in vitro: comparison with other cells of the vascular wall. *J Cell Biol*. 1987;104(3):483-90.
77. Wakisaka M, Kitazono T, Kato M, Nakamura U, Yoshioka M, Uchizono Y, et al. Sodium-coupled glucose transporter as a functional glucose sensor of retinal microvascular circulation. *Circ Res*. 2001;88(11):1183-8.
78. Wakisaka M, Nagao T, Yoshinari M. Sodium Glucose Cotransporter 2 (SGLT2) Plays as a Physiological Glucose Sensor and Regulates Cellular Contractility in Rat Mesangial Cells. *PLoS One*. 2016;11(3):e0151585.
79. Wakisaka M, Nagao T. Sodium glucose cotransporter 2 in mesangial cells and retinal pericytes and its implications for diabetic nephropathy and retinopathy. *Glycobiology*. 2017;27(8):691-5.

80. LELEY SP, LUO Q, ALEX AL, BHATWADEKAR AD. 588-P: Diabetes Leads to Sodium-Glucose Cotransporter 2 (SGLT2) Increase in the Retina. *Diabetes*. 2019;68(Supplement_1).
81. Lim JC, Perwick RD, Li B, Donaldson PJ. Comparison of the expression and spatial localization of glucose transporters in the rat, bovine and human lens. *Exp Eye Res*. 2017;161:193-204.
82. Yoshizumi H, Ejima T, Nagao T, Wakisaka M. Recovery from Diabetic Macular Edema in a Diabetic Patient After Minimal Dose of a Sodium Glucose Co-Transporter 2 Inhibitor. *Am J Case Rep*. 2018;19:462-6.
83. Takatsuna Y, Ishibashi R, Tatsumi T, Koshizaka M, Baba T, Yamamoto S, et al. Sodium-Glucose Cotransporter 2 Inhibitors Improve Chronic Diabetic Macular Edema. *Case Rep Ophthalmol Med*. 2020;2020:8867079.
84. Mieno H, Yoneda K, Yamazaki M, Sakai R, Sotozono C, Fukui M. The Efficacy of Sodium-Glucose Cotransporter 2 (SGLT2) inhibitors for the treatment of chronic diabetic macular oedema in vitrectomised eyes: a retrospective study. *BMJ Open Ophthalmol*. 2018;3(1):e000130.
85. Tatsumi T, Oshitari T, Takatsuna Y, Ishibashi R, Koshizaka M, Shiko Y, et al. Sodium-Glucose Co-Transporter 2 Inhibitors Reduce Macular Edema in Patients with Diabetes mellitus. *Life (Basel)*. 2022;12(5).
86. Dziuba J, Alperin P, Racketa J, Iloeje U, Goswami D, Hardy E, et al. Modeling effects of SGLT-2 inhibitor dapagliflozin treatment versus standard diabetes therapy on cardiovascular and microvascular outcomes. *Diabetes Obes Metab*. 2014;16(7):628-35.
87. Chung YR, Ha KH, Lee K, Kim DJ. Effects of sodium-glucose cotransporter-2 inhibitors and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors on diabetic retinopathy and its progression: A real-world Korean study. *PLoS One*. 2019;14(10):e0224549.

88. Li C, Zhou Z, Neuen BL, Yu J, Huang Y, Young T, et al. Sodium-glucose co-transporter-2 inhibition and ocular outcomes in patients with type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Diabetes Obes Metab*. 2021;23(1):252-7.
89. Inzucchi SE, Wanner C, Hehnke U, Zwiener I, Kaspers S, Clark D, et al. Retinopathy Outcomes With Empagliflozin Versus Placebo in the EMPA-REG OUTCOME Trial. *Diabetes Care*. 2019;42(4):e53-e5.
90. Ott C, Jumar A, Striepe K, Friedrich S, Karg MV, Bramlage P, et al. A randomised study of the impact of the SGLT2 inhibitor dapagliflozin on microvascular and macrovascular circulation. *Cardiovasc Diabetol*. 2017;16(1):26.
91. Cowie MR, Fisher M. SGLT2 inhibitors: mechanisms of cardiovascular benefit beyond glycaemic control. *Nat Rev Cardiol*. 2020;17(12):761-72.
92. Calderon GD, Juarez OH, Hernandez GE, Punzo SM, De la Cruz ZD. Oxidative stress and diabetic retinopathy: development and treatment. *Eye (Lond)*. 2017;31(8):1122-30.
93. Yaribeygi H, Atkin SL, Butler AE, Sahebkar A. Sodium-glucose cotransporter inhibitors and oxidative stress: An update. *J Cell Physiol*. 2019;234(4):3231-7.
94. Rubsam A, Parikh S, Fort PE. Role of Inflammation in Diabetic Retinopathy. *Int J Mol Sci*. 2018;19(4).
95. Heerspink HJL, Perco P, Mulder S, Leierer J, Hansen MK, Heinzl A, et al. Canagliflozin reduces inflammation and fibrosis biomarkers: a potential mechanism of action for beneficial effects of SGLT2 inhibitors in diabetic kidney disease. *Diabetologia*. 2019;62(7):1154-66.
96. Herat LY, Matthews VB, Rakoczy PE, Carnagarin R, Schlaich M. Focusing on Sodium Glucose Cotransporter-2 and the Sympathetic Nervous System: Potential Impact in Diabetic Retinopathy. *Int J Endocrinol*. 2018;2018:9254126.

97. Yen CY, Chen CS, Liao KM, Fang IM. Cardiac autonomic neuropathy predicts diabetic retinopathy progression in Asian population with type 2 diabetes mellitus. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2022;260(8):2491-9.
98. Cukiernik M, Hileeto D, Downey D, Evans T, Khan ZA, Karmazyn M, et al. The role of the sodium hydrogen exchanger-1 in mediating diabetes-induced changes in the retina. *Diabetes Metab Res Rev*. 2004;20(1):61-71.
99. Lupachyk S, Stavniichuk R, Komissarenko JI, Drel VR, Obrosov AA, El-Remessy AB, et al. Na⁺/H⁺-exchanger-1 inhibition counteracts diabetic cataract formation and retinal oxidative-nitrative stress and apoptosis. *Int J Mol Med*. 2012;29(6):989-98.
100. Wichaiyo S, Saengklub N. Alterations of sodium-hydrogen exchanger 1 function in response to SGLT2 inhibitors: what is the evidence? *Heart Fail Rev*. 2022.
101. Mudaliar S, Hupfeld C, Chao DL. SGLT2 Inhibitor-Induced Low-Grade Ketonemia Ameliorates Retinal Hypoxia in Diabetic Retinopathy-A Novel Hypothesis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2021;106(5):1235-44.
102. Hu Y, Xu Q, Li H, Meng Z, Hao M, Ma X, et al. Dapagliflozin Reduces Apoptosis of Diabetic Retina and Human Retinal Microvascular Endothelial Cells Through ERK1/2/cPLA2/AA/ROS Pathway Independent of Hypoglycemic. *Front Pharmacol*. 2022;13:827896.
103. Pawlos A, Broncel M, Wozniak E, Gorzelak-Pabis P. Neuroprotective Effect of SGLT2 Inhibitors. *Molecules*. 2021;26(23).
104. Tharmaraja T, Ho JSY, Sia CH, Lim NA, Chong YF, Lim AYL, et al. Sodium-glucose cotransporter 2 inhibitors and neurological disorders: a scoping review. *Ther Adv Chronic Dis*. 2022;13:20406223221086996.
105. Matthews J, Herat L, Rooney J, Rakoczy E, Schlaich M, Matthews VB. Determining the role of SGLT2 inhibition with Empagliflozin in the development of diabetic retinopathy. *Biosci Rep*. 2022;42(3).

106. Ma Y, Lin C, Cai X, Hu S, Zhu X, Lv F, et al. The association between the use of sodium glucose cotransporter 2 inhibitor and the risk of diabetic retinopathy and other eye disorders: a systematic review and meta-analysis. *Expert Rev Clin Pharmacol*. 2022;1-10.
107. World Medical A. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA*. 2013;310(20):2191-4.
108. Cintra RMR, Soares AAS, Breder I, Munhoz DB, Barreto J, Kimura-Medorima ST, et al. Assessment of dapagliflozin effect on diabetic endothelial dysfunction of brachial artery (ADDENDA-BHS2 trial): rationale, design, and baseline characteristics of a randomized controlled trial. *Diabetol Metab Syndr*. 2019;11:62.
109. Photocoagulation for diabetic macular edema. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study report number 1. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study research group. *Arch Ophthalmol*. 1985;103(12):1796-806.
110. Chylack LT, Jr., Wolfe JK, Singer DM, Leske MC, Bullimore MA, Bailey IL, et al. The Lens Opacities Classification System III. The Longitudinal Study of Cataract Study Group. *Arch Ophthalmol*. 1993;111(6):831-6.
111. Wong TY, Sun J, Kawasaki R, Ruamviboonsuk P, Gupta N, Lansingh VC, et al. Guidelines on Diabetic Eye Care: The International Council of Ophthalmology Recommendations for Screening, Follow-up, Referral, and Treatment Based on Resource Settings. *Ophthalmology*. 2018;125(10):1608-22.
112. Oelze M, Kroller-Schon S, Welschhof P, Jansen T, Hausding M, Mikhed Y, et al. The sodium-glucose co-transporter 2 inhibitor empagliflozin improves diabetes-induced vascular dysfunction in the streptozotocin diabetes rat model by interfering with oxidative stress and glucotoxicity. *PLoS One*. 2014;9(11):e112394.
113. May M, Framke T, Junker B, Framme C, Pielen A, Schindler C. How and why SGLT2 inhibitors should be explored as potential treatment option in diabetic

retinopathy: clinical concept and methodology. *Ther Adv Endocrinol Metab.* 2019;10:2042018819891886.

114. Sabaner MC, Duman R, Dogan M, Akdogan M, Vurmaz A, Bozkurt E, et al. Do SGLT2 inhibitors prevent preclinical diabetic retinopathy? A Prospective Pilot Optical Coherence Tomography Angiography Study. *J Fr Ophtalmol.* 2021;44(8):1159-67.

115. Hammes HP, Lin J, Renner O, Shani M, Lundqvist A, Betsholtz C, et al. Pericytes and the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Diabetes.* 2002;51(10):3107-12.

116. Pfister F, Przybyt E, Harmsen MC, Hammes HP. Pericytes in the eye. *Pflugers Arch.* 2013;465(6):789-96.

117. Trost A, Bruckner D, Rivera FJ, Reitsamer HA. Pericytes in the Retina. *Adv Exp Med Biol.* 2019;1122:1-26.

118. Wakisaka M, Yoshinari M, Asano T, Iino K, Nakamura S, Takata Y, et al. Normalization of glucose entry under the high glucose condition by phlorizin attenuates the high glucose-induced morphological and functional changes of cultured bovine retinal pericytes. *Biochim Biophys Acta.* 1999;1453(1):83-91.

119. Barber AJ, Gardner TW, Abcouwer SF. The significance of vascular and neural apoptosis to the pathology of diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011;52(2):1156-63.

120. Lorenzi M, Gerhardinger C. Early cellular and molecular changes induced by diabetes in the retina. *Diabetologia.* 2001;44(7):791-804.

121. Przedborski S, Vila M, Jackson-Lewis V. Neurodegeneration: what is it and where are we? *J Clin Invest.* 2003;111(1):3-10.

122. Fort PE, Losiewicz MK, Reiter CE, Singh RS, Nakamura M, Abcouwer SF, et al. Differential roles of hyperglycemia and hypoinsulinemia in diabetes induced retinal cell death: evidence for retinal insulin resistance. *PLoS One.* 2011;6(10):e26498.

123. Santos AR, Ribeiro L, Bandello F, Lattanzio R, Egan C, Frydkjaer-Olsen U, et al. Functional and Structural Findings of Neurodegeneration in Early Stages of Diabetic Retinopathy: Cross-sectional Analyses of Baseline Data of the EUROCONDOR Project. *Diabetes*. 2017;66(9):2503-10.
124. Chalam KV, Bressler SB, Edwards AR, Berger BB, Bressler NM, Glassman AR, et al. Retinal thickness in people with diabetes and minimal or no diabetic retinopathy: Heidelberg Spectralis optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53(13):8154-61.
125. Vujosevic S, Midená E. Retinal layers changes in human preclinical and early clinical diabetic retinopathy support early retinal neuronal and Muller cells alterations. *J Diabetes Res*. 2013;2013:905058.
126. Ng DS, Chiang PP, Tan G, Cheung CG, Cheng CY, Cheung CY, et al. Retinal ganglion cell neuronal damage in diabetes and diabetic retinopathy. *Clin Exp Ophthalmol*. 2016;44(4):243-50.
127. Tang Z, Chan MY, Leung WY, Wong HY, Ng CM, Chan VTT, et al. Assessment of retinal neurodegeneration with spectral-domain optical coherence tomography: a systematic review and meta-analysis. *Eye (Lond)*. 2021;35(5):1317-25.
128. Kern TS, Berkowitz BA. Photoreceptors in diabetic retinopathy. *J Diabetes Investig*. 2015;6(4):371-80.
129. Becker S, Carroll LS, Vinberg F. Diabetic photoreceptors: Mechanisms underlying changes in structure and function. *Vis Neurosci*. 2020;37:E008.
130. Wong-Riley MT. Energy metabolism of the visual system. *Eye Brain*. 2010;2:99-116.
131. Du Y, Veenstra A, Palczewski K, Kern TS. Photoreceptor cells are major contributors to diabetes-induced oxidative stress and local inflammation in the retina. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110(41):16586-91.

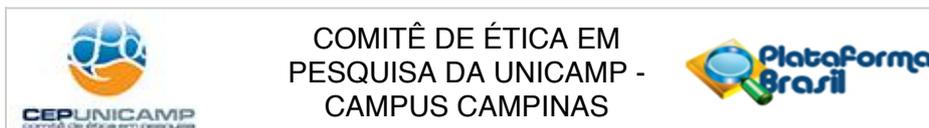
132. Narayan DS, Chidlow G, Wood JP, Casson RJ. Glucose metabolism in mammalian photoreceptor inner and outer segments. *Clin Exp Ophthalmol*. 2017;45(7):730-41.
133. Roy S, Kim D, Sankaramoorthy A. Mitochondrial Structural Changes in the Pathogenesis of Diabetic Retinopathy. *J Clin Med*. 2019;8(9).
134. Kern TS. Do photoreceptor cells cause the development of retinal vascular disease? *Vision Res*. 2017;139:65-71.
135. Park SH, Park JW, Park SJ, Kim KY, Chung JW, Chun MH, et al. Apoptotic death of photoreceptors in the streptozotocin-induced diabetic rat retina. *Diabetologia*. 2003;46(9):1260-8.
136. Garcia-Ramirez M, Hernandez C, Villarroel M, Canals F, Alonso MA, Fortuny R, et al. Interphotoreceptor retinoid-binding protein (IRBP) is downregulated at early stages of diabetic retinopathy. *Diabetologia*. 2009;52(12):2633-41.
137. Ozkaya A, Alkin Z, Karakucuk Y, Karatas G, Fazil K, Gurkan Erdogan M, et al. Thickness of the retinal photoreceptor outer segment layer in healthy volunteers and in patients with diabetes mellitus without retinopathy, diabetic retinopathy, or diabetic macular edema. *Saudi J Ophthalmol*. 2017;31(2):69-75.
138. Le D, Son T, Lim JI, Yao X. QUANTITATIVE OPTICAL COHERENCE TOMOGRAPHY REVEALS ROD PHOTORECEPTOR DEGENERATION in EARLY DIABETIC RETINOPATHY. *Retina*. 2022;42(8):1442-9.
139. Toprak I, Yildirim C, Yaylali V. Impaired photoreceptor inner segment ellipsoid layer reflectivity in mild diabetic retinopathy. *Can J Ophthalmol*. 2015;50(6):438-41.
140. Karaca C, Karaca Z. Beyond Hyperglycemia, Evidence for Retinal Neurodegeneration in Metabolic Syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2018;59(3):1360-7.

141. Mudaliar S, Alloju S, Henry RR. Can a Shift in Fuel Energetics Explain the Beneficial Cardiorenal Outcomes in the EMPA-REG OUTCOME Study? A Unifying Hypothesis. *Diabetes Care*. 2016;39(7):1115-22.
142. Kumagai AK. Glucose transport in brain and retina: implications in the management and complications of diabetes. *Diabetes Metab Res Rev*. 1999;15(4):261-73.
143. Country MW. Retinal metabolism: A comparative look at energetics in the retina. *Brain Res*. 2017;1672:50-7.
144. Cahill GF, Jr. Fuel metabolism in starvation. *Annu Rev Nutr*. 2006;26:1-22.
145. Daniele G, Xiong J, Solis-Herrera C, Merovci A, Eldor R, Tripathy D, et al. Dapagliflozin Enhances Fat Oxidation and Ketone Production in Patients With Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*. 2016;39(11):2036-41.
146. Al Mamun A, Mimi AA, Zaeem M, Wu Y, Monalisa I, Akter A, et al. Role of pyroptosis in diabetic retinopathy and its therapeutic implications. *Eur J Pharmacol*. 2021;904:174166.
147. Yu AL, Birke K, Lorenz RL, Welge-Lussen U. Constitutive expression of HCA(2) in human retina and primary human retinal pigment epithelial cells. *Curr Eye Res*. 2014;39(5):487-92.
148. Gambhir D, Ananth S, Veeranan-Karmegam R, Elangovan S, Hester S, Jennings E, et al. GPR109A as an anti-inflammatory receptor in retinal pigment epithelial cells and its relevance to diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53(4):2208-17.
149. Trotta MC, Maisto R, Guida F, Boccella S, Luongo L, Balta C, et al. The activation of retinal HCA2 receptors by systemic beta-hydroxybutyrate inhibits diabetic retinal damage through reduction of endoplasmic reticulum stress and the NLRP3 inflammasome. *PLoS One*. 2019;14(1):e0211005.

150. Kim SR, Lee SG, Kim SH, Kim JH, Choi E, Cho W, et al. SGLT2 inhibition modulates NLRP3 inflammasome activity via ketones and insulin in diabetes with cardiovascular disease. *Nat Commun.* 2020;11(1):2127.
151. Mitchell P, Bandello F, Schmidt-Erfurth U, Lang GE, Massin P, Schlingemann RO, et al. The RESTORE study: ranibizumab monotherapy or combined with laser versus laser monotherapy for diabetic macular edema. *Ophthalmology.* 2011;118(4):615-25.
152. Nguyen QD, Brown DM, Marcus DM, Boyer DS, Patel S, Feiner L, et al. Ranibizumab for diabetic macular edema: results from 2 phase III randomized trials: RISE and RIDE. *Ophthalmology.* 2012;119(4):789-801.
153. Markan A, Agarwal A, Arora A, Bazgain K, Rana V, Gupta V. Novel imaging biomarkers in diabetic retinopathy and diabetic macular edema. *Ther Adv Ophthalmol.* 2020;12:2515841420950513.
154. Safi H, Safi S, Hafezi-Moghadam A, Ahmadi H. Early detection of diabetic retinopathy. *Surv Ophthalmol.* 2018;63(5):601-8.

ANEXOS

Anexo 1 – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Estudo comparativo do efeito da Dapagliflozina versus Glibenclamida sobre a Função Endotelial de Diabéticos com Doença Coronariana Crônica

Pesquisador: Andrei Carvalho Sposito

Área Temática:

Versão: 6

CAAE: 41618915.1.0000.5404

Instituição Proponente: Hospital de Clínicas - UNICAMP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.713.061

Apresentação do Projeto:

Recurso ao parecer de reprovação número 1.700.160 emitido em 29/08/2016 sobre o "Estudo comparativo do efeito da Dapagliflozina versus Glibenclamida sobre a Função Endotelial de Diabéticos com Doença Coronariana Crônica".

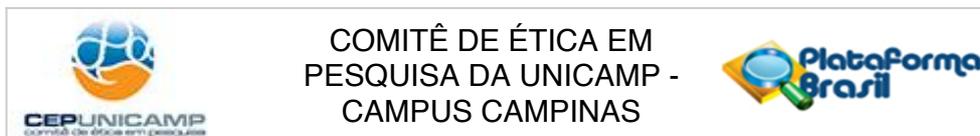
O parecer de reprovação considerou que "a nova versão do projeto inclui modificações substanciais em relação ao projeto anterior aprovado" e recomendou ao pesquisador "apresentar o projeto modificado como novo projeto."

O pesquisador presta neste recurso os seguintes esclarecimentos:

"Resumidamente, de acordo com a cronologia do estudo, foram submetidos:

- Projeto Original, aprovado em 09/03/2015, com parecer de número 977.884;
 - Emenda 1, aprovada em 08/09/2015, com parecer de número 1.218.781;
 - Emenda 2, submetida em 03/12/2015 e apreciada no parecer de número 1.392.659 de 21/01/2016, que sugeria alteração do TCLE;
 - Resposta a Pendência da Emenda 2, em 01/08/2016; Em 29/08/2016, o parecer número 1.700.160 a cerca da resposta à pendência da Emenda 2 de 01/08/2016 foi disponibilizado. (este é o parecer de reprovação)
- "Em suma, o revisor questionou acerca do recrutamento dos indivíduos e sobre o ajuste anti-

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 1.713.061

hipertensivo, ambos assuntos que já haviam sido avaliados pelo relator anterior de acordo com o parecer de 08/09/2015 (enviado junto com esse recurso sob o nome "Parecer 08/09/2015"). Portanto, todos os itens questionados pelo revisor já haviam sido aprovados pelo CEP no ano anterior. Na emenda de 03/12/2015, foram solicitadas alterações nos seguintes tópicos: "aumento do tamanho amostral, detalhamento dos desfechos utilizados, randomização dos indivíduos, aumento do financiamento pelo patrocinador, detalhamento de aspectos estatísticos, inclusão de novos pesquisadores, mudança nas datas do projeto, detalhamento de efeitos adversos e comunicação dos mesmos e aumento dos custos dos projetos". Como visto, os itens questionados pelo relator no último parecer em 29/08/2016 não constam na solicitação dessa emenda. O relatório de 21/01/2016, que versa sobre esses assuntos, sugere aprovação desses itens, recomendando apenas que houvesse alteração no TCLE – cópia de parte do relatório encontra-se abaixo e uma cópia integral está sob o nome "Parecer 21_08_2016". Em 01/08/2016, enviamos ao CEP o TCLE com essa alteração. Essa mudança estava em concordância com a solicitação de 08/09/2015, quando foi recomendada a inclusão no TCLE de um parágrafo padrão sobre contato com o CEP – a recomendação e o parágrafo estão copiados abaixo. Como essa mudança no TCLE não havia sido realizada, fomos instruídos a fazê-la e, assim o fizemos, como submetido em 01/08/2016. Nessa mesma carta, notificamos o CEP sobre o financiamento do projeto pela empresa AstraZeneca e um aumento de custos do projeto. Requisitamos, portanto, que seja reconsiderado o último parecer."

Objetivo da Pesquisa:

Inalterados em relação à versão vigente aprovada.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

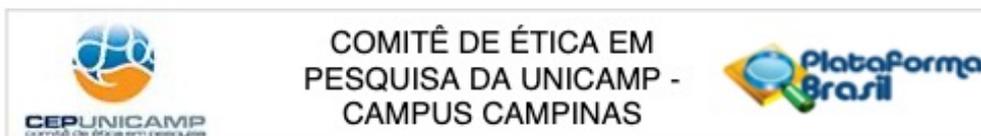
Inalterados em relação à versão vigente aprovada.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

No processo de apreciação da submissão de 01/08/2016, que tratava-se na realidade de resposta a pendência apresentada no parecer número 1.392.659 de 21/01/2016, o relator não conseguiu visualizar os pareceres anteriores e a emenda 2 e pode apenas comparar o projeto original com o projeto postado nesta submissão, o que gerou diversos mal-entendidos (assim como a impressão de que o projeto atual estaria sofrendo todas as modificações nesta submissão, sem apresentar as devidas justificativas). Após revisão orientada por este recurso, fica claro que todas as alterações em relação ao projeto original já haviam sido submetidas, apreciadas e aprovadas.

aspectos sobre o financiamento do projeto ameaçavam sua execução. Como houve um

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 1.713.061

entendimento desse item, estamos submetendo no momento o novo TCLE. Submetemos um novo TCLE em 2 versões (grifada e não grifada) e o detalhamento da classe do estudo no protocolo (acrescentando a Fase do Estudo 4).

Em resposta à pendência emitida no parecer de número 1.392.659 de 21/01/2016, o pesquisador declara que o estudo será patrocinado pela empresa ASTRAZENECA DO BRASIL LTDA., sociedade existente sob as leis do Brasil, com sede na Rodovia Raposo Tavares, Km 26.9, cidade de Cotia, Estado de São Paulo, inscrita no CNPJ sob o nº 60.318.797/0001-00. Os custos do estudo estão descritos, assim como o orçamento da pesquisa, com a discriminação das parcelas que serão pagas. Foram ainda acrescentados nesta submissão: um novo TCLE em 2 versões (grifada e não grifada), contemplando as recomendações do CEP e o detalhamento da classe do estudo no protocolo (acrescentando a Fase do Estudo 4).

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados: recurso com descrição do processo de aprovação do projeto e emendas, com todos os pareceres emitidos por este CEP, TCLE contemplando todas as recomendações do CEP, orçamento, e reclassificação do estudo para Fase 4.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Foram esclarecidas às dúvidas em relação ao projeto e emendas. Não há óbices éticos para a continuação do estudo.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Recurso do Parecer	recurso.pdf	31/08/2016 16:18:03		Aceito
Parecer Anterior	Parecer_08_09_2015.pdf	31/08/2016 16:17:49	Andrei Carvalho Sposito	Aceito
Parecer Anterior	Parecer_21_01_2016.pdf	31/08/2016 16:17:11	Andrei Carvalho Sposito	Aceito
Recurso Anexado pelo Pesquisador	Recurso_31_08.pdf	31/08/2016 16:13:12	Andrei Carvalho Sposito	Aceito

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
 Bairro: Barão Geraldo CEP: 13.083-887
 UF: SP Município: CAMPINAS
 Telefone: (19)3521-8936 Fax: (19)3521-7187 E-mail: cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 1.713.061

Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_633065E2.pdf	01/08/2016 17:43:53		Aceito
Orçamento	AZ_Sample_Budget_01_08_Traduzido.pdf	01/08/2016 17:42:35	Andrei Carvalho Sposito	Aceito
Outros	Resposta_Pendencias_DAPA_01_08.pdf	01/08/2016 17:39:52	Andrei Carvalho Sposito	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Dapa_Versao_01_08_16.pdf	01/08/2016 17:38:14	Andrei Carvalho Sposito	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Dapa_Versao_01_08_16_Destaques.pdf	01/08/2016 17:37:59	Andrei Carvalho Sposito	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Dapaglifozina_Glibenclamida_CEP_Versao_Final_01_08_2016_Destaques.pdf	01/08/2016 17:36:57	Andrei Carvalho Sposito	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Dapaglifozina_Glibenclamida_CEP_Versao_Final_01_08_2016.pdf	01/08/2016 17:36:38	Andrei Carvalho Sposito	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_Rosto_Dapaglifozina_Versao_3.pdf	01/12/2015 13:16:10	Andrei Carvalho Sposito	Aceito
Outros	Informações_Técnicas_Dapaglifozina.pdf	09/02/2015 14:20:07		Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CAMPINAS, 05 de Setembro de 2016

Assinado por:
Monica Jacques de Moraes
 (Coordenador)

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
 Bairro: Barão Geraldo CEP: 13.083-887
 UF: SP Município: CAMPINAS
 Telefone: (19)3521-8936 Fax: (19)3521-7187 E-mail: cep@fcm.unicamp.br

Anexo 2 – Artigo publicado na revista *Diabetes and Metabolism*

Diabetes and Metabolism xxx (xxxx) 101280



Contents lists available at [ScienceDirect](https://www.sciencedirect.com)

Diabetes and Metabolism

journal homepage: www.elsevier.com



Short Report

Dapagliflozin increases retinal thickness in type 2 diabetic patients as compared with glibenclamide: A randomized controlled trial

Vicente Hidalgo Rodrigues Fernandes, Fernando R.P. Chaves, Alexandre A.S. Soares, Ikaro Breder, Sheila T. Kimura-Medorima, Daniel B. Munhoz, Riobaldo M.R. Cintra, Jessica Cunha Breder, Joaquim Barreto, Wilson Nadruz, Luiz Sergio F. Carvalho, Thiago Quinaglia, Carlos E.L. Arieta, Andrei C. Sposito * ADDENDA-BHS2 trial investigators

State University of Campinas Medical School, Campinas, SP, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 10 May 2021

Received in revised form 18 August 2021

Accepted 4 September 2021

Keywords:

Diabetic retinopathy

Optical coherence tomography

SGLT2i

Type 2 diabetes mellitus

ABSTRACT

Aim: In patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM) a progressive thinning in the central retinal thickness (CRT) is mainly related to neuroretinal degeneration and occurs before the decline in visual acuity or capillary density. We investigated the change in CRT by optical coherence tomography (OCT) in T2DM patients after 12 weeks of treatment with dapagliflozin or glibenclamide.

Methods: Ninety-seven patients (57 ± 7 years) with T2DM and clinical or subclinical atherosclerosis were randomized 1:1 to dapagliflozin (10 mg/day) or glibenclamide (5 mg/day) on top of metformin XR 1.5 g/day. OCT was obtained in all patients enrolled in the study, both at the time of randomization and at the end of the study.

Results: Baseline and post-treatment values of fasting glucose and glycated hemoglobin were equivalent in the two arms. There was no difference in change in diabetic retinopathy status after therapy. The center subfield thickness changed by $+2(6)\mu\text{m}$ in the dapagliflozin group and by $-1(7)\mu\text{m}$ in the glibenclamide group ($P = 0.001$).

Conclusion: A short-term treatment with dapagliflozin may increase CRT as compared with equivalent glycemic control with glibenclamide.

© 2021

Introduction

Diabetic retinopathy (DR) affects 1 in 3 people with type 2 diabetes mellitus (T2DM) and is the main and still upscaling cause of blindness worldwide [1]. Although DR is often a late manifestation, subtle changes such as central retinal thickness (CRT) decrease can be detected early by optical coherence tomography (OCT) [2-4]. In fact, in individuals with T2DM, a progressive thinning of the retina occurs, mainly related to neuroretinal degeneration with a loss in the nerve fiber layer ($0.25 \mu\text{m}/\text{year}$) and in the ganglion cell/inner plexiform layer ($0.29 \mu\text{m}/\text{year}$) [5]. Even in T2DM patients with normal visual

acuity and capillary density of the retina, the CRT is half of that seen in individuals without T2DM [5].

In a recent post hoc analysis of the EMPAREG trial, patients using empagliflozin tended to increase their time until the onset of retinal photocoagulation and to reduce the use of intravitreal agents as well as the incidence of vitreous hemorrhage or diabetes-related blindness [6]. Altogether these mechanistic and exploratory clinical data supported the hypothesis that sodium-glucose transport inhibitors (SGLT2i) may attenuate or prevent onset of early stage DR. This study aim was to investigate this assumption.

Methods

The Assessment of Dapagliflozin Effect on Diabetic Endothelial Dysfunction of Brachial Artery-Brazilian Heart Study 2 (ADDENDA-BHS2) was a randomized, open, single-center study comparing equipotent glucose-lowering treatments with glibenclamide or dapagliflozin in patients with T2DM and established atherosclerotic cardiovascular disease. Study design and main findings of the trial are published else-

Trial registration: NCT02919345

* Corresponding author at: Atherosclerosis and Vascular Biology Laboratory (Aterolab), Cardiology Division, State University of Campinas Medical School, Rua Tessalia Vieira de Camargo 126, Cidade Universitaria Zeferino Vaz, 13084-971, Campinas, São Paulo, Brazil.

E-mail address: andreisposito@gmail.com (A.C. Sposito).

<https://doi.org/10.1016/j.diabet.2021.101280>

1262-3636/© 2021

where [7, 8]. The present study reports an analysis of pre-specified safety endpoint which considered ophthalmologic evaluations including OCT in all patients enrolled into the trial at both the time of randomization and at the end of the study. The study protocol was approved by the Institutional Ethics in Research Committee (CAAE41618915•1•0000•5404) and was registered at Clinicaltrials.gov on 29 September 2016 (NCT02919345).

Enrolled patients were between 40 and 70 years old, had T2DM and prior clinical or subclinical atherosclerosis, glomerular filtration rates > 60 mL/min, normal aspartate or alanine transaminase levels, systolic and diastolic blood pressure under control, no cardiovascular event within six months before enrolment, no clinical signs of volume depletion and no use of insulin. After a short-period of medical treatment adjustment, patients were randomized 1:1 ratio for dapagliflozin (10 mg/day) or glibenclamide (5 mg/day) on top of metformin XR 1.5 g/day. Administration of any other glucose-lowering agents was not permitted during the study period. Patients returned every 30 days for clinical evaluation and to verify adherence to the study regimen.

At randomization and the end of the trial, patients underwent ophthalmologic evaluation, described in detail elsewhere [7]. Briefly, the best-corrected visual acuity (BCVA) was scored with reference to the Logarithm of the Minimum Angle of Resolution (LogMAR). Biomicroscopy of the anterior segment of the eyes was performed and, after maximum pupillary dilation, lens and retina were evaluated. Lens opacification was classified based on Locs III. The retina was evaluated with posterior pole retinography using the VISUCAM® device (NM/FA Carl Zeiss, USA) and indirect ophthalmoscopy. Retinal examination by OCT-spectral domain (SD-OCT), with SPECTRALIS® SD-OCT (Heidelberg Engineering, Inc., USA) were performed and the following protocols were acquired: (1) posterior pole for detailed evaluation of the retinal layers, evaluation of signs of diabetic macular edema and calculation of the foveal central subfield and (2) seven lines + enhanced depth imaging (EDI) method, for assessment of central choroidal thickness. We considered each patient's eye individually.

Continuous variables are expressed as median (interquartile range [IQR]) due to the lack of normal distribution. Differences in baseline characteristics of the two groups were analyzed using the Mann-Whitney test or chi-squared test. Correlations were investigated by Spearman's test. Changes from baseline were compared between study arms by rank analysis of covariance (RANCOVA) adjusted for baseline values. For this end we ranked all variables and compared the study arms by analysis of covariance. Endpoints were systematically adjusted for baseline values due to their large variance. Data analyses were performed using SPSS v.25 for Mac (IBM Corp., Armonk, NY, USA).

Results

From 98 consecutive individuals who were randomized, one patient in the dapagliflozin arm decided to stop the study before the final evaluation. As published elsewhere [7, 8], there was no difference between groups in T2DM duration, HbA1c or blood pressure during the 24-h ambulatory blood pressure monitoring both at randomization or at the end of the study. During the trial, the median decrease in HbA1c was -0.8 (0.7)% and -0.7 (0.95)% for the dapagliflozin and glibenclamide groups, respectively

Table 1 describes baseline clinical and ophthalmologic data and its changes at the end of the trial. Best corrected visual acuity was equivalent at randomization and at the end of the study. There was no difference at baseline or in the change of DR status or macular edema between the two groups. Diabetic macular edema (DME) was observed in five eyes in the dapagliflozin group and 11 eyes in the glibenclamide group. Since severe central involvement was not observed in those patients with DME, none of them underwent anti-VEGF therapy.

At baseline, OCT evaluation revealed no difference between the groups. At 12 weeks, there was an increase in the median absolute

Table 1
Ophthalmologic characteristics.

	Dapagliflozin	Glibenclamide	Mean (95%CI of the difference)	P
N	48	49		
Number of eyes	96	98		
Gender male, %	60	61		1.0
Age, years	57 ± 7	58 ± 7	-1(-4 to 2)	0.4
T2DM duration, years	9 ± 7	10 ± 7	-1(-4 to 1)	0.28
Hypertension, %	83	76		0.45
Body Mass Index, kg/m2	31 ± 4	30 ± 5	0.3(-1.5 to 2.1)	0.76
HbA1c, %	7.9 ± 0.9	7.9 ± 0.9	-0.06(-0.43 to 0.3)	0.74
Glomerular filtration rate, mL/min	95 ± 20	92 ± 19	3.4(-4.4 to 11.2)	0.39
Distal polyneuropathy, %	42	41		1.0
Median retinal thickness by OCT of both eyes, µm				
Central Subfield thickness (1mm foveal)	277 (32)	270 (21)	5(-2 to 12)	0.13
3mm parafovea superior	339 (17)	338 (30)	1(-5 to 6)	0.96
3mm parafovea inferior	336 (16.4)	336 (27)	-1(-6 to 5)	0.98
3mm parafovea nasal	341 (15.9)	338 (22)	3(-2 to 8)	0.49
3mm parafovea temporal	328 (16.1)	327 (26)	1(-5 to 7)	0.64
Best corrected visual acuity, LogMAR	0.11 (0.18)	0.13 (0.25)	-0.02(-0.11 to 0.07)	0.62
Diabetic macular oedema, number of patients (%)				
Baseline	5(10.4)	11(22.5)		0.40
End of the trial	4(8.3)	11(22.5)		0.20
Diabetic retinopathy, number of patients (%)				0.24
Absent	41(85.4)	35(72)		
Non-proliferative mild	5(10.4)	6(12)		
Non-proliferative moderate	1(2.1)	5(10)		
Non-proliferative severe	0	0		
Proliferative	1(2.1)	3(6)		
Median change in the retinal thickness after therapy, µm				
Center total subfield thickness (1 mm foveal)	2 (6)	-1(7)	4 (2 to 7)	0.001
3 mm parafovea superior	4(8)	4(18)	-1(-6 to 4)	0.68
3 mm parafovea inferior	1(9)	1(19)	1(-3 to 5)	0.87
3 mm parafovea nasal	2(5)	2(6)	1(-2 to 4)	0.44
3 mm parafovea temporal	1(4)	1(5)	-1(-4 to 3)	0.55

Baseline data were analyzed using the Mann-Whitney test or Chi-squared test and endpoints were analyzed using RANCOVA systematically adjusted for baseline values due to their large variance.

value of the center subfield thickness in the dapagliflozin arm and a decrease in glibenclamide arm (Table 1). This analysis remained significant even after adjusting for HbA1c change during the trial ($P = 0.002$). In terms of relative change, there was 0.7(2)% increase in the center subfield thickness in the dapagliflozin group and -0.3(3)% in the glibenclamide group. We repeated the analysis excluding eyes with proliferative or severe non-proliferative DR as well as those with DME and we still found an increase in the median absolute value of the center subfield thickness in the dapagliflozin arm and a decrease in glibenclamide arm [+1.3(6) vs -0.8(7); $P = 0.004$]. The baseline median values of the CRT after excluding eyes with proliferative or severe non-proliferative DR were 267(23) µm and 272(29) µm for dapagliflozin and glibenclamide groups, respectively ($P = 0.06$).

The change in CRT was not associated with the change in endothelial function as estimated by the flow-mediated dilation protocol published elsewhere [8] nor with changes in plasma levels of nitrite, nitrate, glycemia, insulin, insulin sensitivity estimated by HOMA-IR, or plasma viscosity.

Discussion

The beneficial effects of SGLT2i have been demonstrated in preventing heart failure, macrovascular disease and kidney disease, as well as improving macro- and microvascular function [8, 9]. In this context, we hypothesized that the therapy would possibly act at the early phase of DR mitigating the gradual thinning of the CRT. We found in a randomized controlled trial using retina OCT that while dapagliflozin increased CRT, glibenclamide had the opposite effect.

Although a large body of evidence has supported the concept that DR begins with the appearance of vascular abnormalities, more recent data obtained by OCT point to the existence of earlier neuroretinal alterations [10, 11]. These changes result from internal neuroretinal degeneration with neural apoptosis, loss of ganglion cells, reactive gliosis and thinning of the inner retina [5]. Functionally, deficits in electroretinogram, dark adaptation, contrast sensitivity, color vision, and microperimetric and perimetric psychophysical tests can be observed [12]. Thus, the measurement of CRT became a sensitive marker of the evolution of DR in its earliest phase.

As mentioned above, the first indication of the potential benefit of SGLT2i in DR came from a sub-analysis of a randomized clinical trial [6]. Recently, T2DM patients without DR who tolerated metformin 2g/day were compared with others who only tolerated 1g/day and therefore also received empagliflozin 10mg/day [13]. After three months, in the high-dose metformin group, a reduction was found in superficial perifoveal and deep parafoveal macular vascular plexus densities as measured by optical coherence tomography angiography (OCTA). In the empagliflozin group the changes did not reach statistical significance. This study is naturally limited by a number of aspects including sample size and lack of randomization, but its findings reinforce the need for a well-designed clinical trial for properly evaluating the SGLT2i effect.

Due to their intense metabolic activity, cells of the retina express glucose transporters, including sodium-glucose transport protein type 1 and 2 [14]. Excessive glucose transport can lead to activation of inducible nitric oxide synthase, causing nitric oxide-dependent oxidative damage in retinal pigment epithelial cells [15]. In parallel, overexpression and activation of Na⁺/H⁺-exchanger-1 (NHE-1) in the retina have been postulated as a trigger for the onset and worsening of DR [16]. Mechanistically, NHE-1 upregulates several vasoactive modulators favoring diabetic retinal microangiopathy [16] and stimulates the oxidative-nitrative stress of the retina, favoring apoptosis [17].

Hypoxia is a potent player in DR leading to macular edema, progressive visual impairment and retinal neovascularization [18]. Laser photocoagulation attenuates hypoxia by replacing high oxygen-consuming rods with glial tissue that consumes little oxygen [18]. In this context, SGLT2i can improve retinal hypoxia by increasing the availability of ketone bodies, which are as energy efficient as glucose and produce more ATP per oxygen molecule, with less oxidative stress [18]. In parallel, the improvement in microvascular regulation was reported with these drugs via the inhibition of both SGLT2 and NHE-1 [15-17]. Hence, hypothetically, the SGLT2i-mediated bioenergetic improvement in the retina would result in less hypoxia and less inflammatory/oxidative stress.

Some limitations need to be considered for the correct understanding of this study. Firstly, retinal OCT was designed with particular interest in quantifying DME and, in this way, to investigate its diagnosis and evolution through the estimation of the CRT [19]. Hence, several randomized clinical trials have used CRT as one of the main outcomes [20-23]. Although some OCT biomarkers have already been identified from post hoc analyses of some of these trials, due to its greater acuity, CRT remains the main quantitative marker of OCT [24, 25]. Thus, the present study is not able to exclude the possibility of changes in other areas of the retina, such as the macula in the parafoveal sector. Secondly, as the present study enrolled patients mostly in early stages of DR, the

findings cannot be extrapolated to more advanced stages of the disease. Finally, the study evaluated the effect of a 12-week treatment and this effect may possibly differ in longer follow-up periods. Despite these limitations, the study brings out, in an original and unprecedented way, the structural effect of SGLT2i treatment on the retina of patients with T2DM.

In summary, a short-term treatment with dapagliflozin may increase CRT as compared with glibenclamide therapy regardless of glycemic control. This structural change is compatible with attenuation of the progression of retinal thinning typical of DR and reinforces the hypothesis that SGLT2i has a beneficial effect in this disease, which must be considered in a future larger trial.

Author's contributions

VHRF, FRPC, AASS, IB, STKM, DM, RMRC, JCB, JB collected outpatient data and contributed to the data analyses. VHRF prepared the manuscript. LSFC, WN, TQ, CELA and ACS reviewed the manuscript. ACS is the guarantor of this work, had full access to all study data, and assumed responsibility for data integrity and analytical accuracy.

Declaration of Competing Interests

None of the authors had competing interests in this trial.

Acknowledgements

Consent for publication

The BHS group has intellectual property rights over the data and the submitted manuscript. All authors read and approved the submitted version.

Availability of data and material

The principal investigators in this project and the BHS group hold intellectual property rights for the research data. The datasets generated and/or analyzed during the current study are not publicly available, as proprietary work is ongoing. However, data may be made available by the corresponding author upon reasonable request.

Funding

The study was designed and proposed by the BHS group and funded as an External Sponsored Scientific Research (ESR) by AstraZeneca do Brasil Ltda (ESR-14-10627). The BHS group assumed full legal and regulatory responsibility for planning, conducting, and managing the study in compliance with applicable Brazilian regulations and laws. Prof. Sposito was supported by a Research Career Awards grant (No. 301465/2017-7) from the Brazilian National Research Council (CNPq).

References

- [1] Wong TY, Sabanayagam C. Strategies to tackle the global burden of diabetic retinopathy: from epidemiology to artificial intelligence. *Ophthalmologica* 2020; 243:9-20.
- [2] Safi H, Safi S, Hafezi-Moghadam A, Ahmadi H. Early detection of diabetic retinopathy. *Surv Ophthalmol* 2018;63:601-8.
- [3] Chhablani J, Sharma A, Goud A, Peguda HK, Rao HL, Begum VU, et al. Neurodegeneration in type 2 diabetes: evidence from spectral-domain optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56:6333-8.
- [4] Virgili G, Menchini F, Casazza G, Hogg R, Das RR, Wang X, et al. Optical coherence tomography (OCT) for detection of macular oedema in patients with diabetic retinopathy. *Cochrane Database Syst Rev* 2015;1:CD008081.
- [5] Sohn EH, van Dijk HW, Jiao C, Kok PH, Jeong W, Demirkaya N, et al. Retinal neurodegeneration may precede microvascular changes characteristic of diabetic retinopathy in diabetes mellitus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2016;113:E2655-64.
- [6] Inzucchi SE, Wanner C, Hehnke U, Zwiener I, Kaspers S, Clark D, et al. Retinopathy outcomes with empagliflozin versus placebo in the EMPA-REG OUTCOME Trial. *Diabetes Care* 2019;42:e53-ee5.
- [7] Cintra RMR, Soares AAS, Breder I, Munhoz DB, Barreto J, Kimura-Medorima ST, et al. Assessment of dapagliflozin effect on diabetic endothelial dysfunction of brachial artery (ADDENDA-BHS2 trial): rationale, design, and baseline characteristics of a randomized controlled trial. *Diabetol Metab Syndr* 2019;11:62.

- [8] Sposito AC, Breder I, Soares AAS, Kimura-Medorima ST, Munhoz DB, Cintra RMR, et al. Dapagliflozin effect on endothelial dysfunction in diabetic patients with atherosclerotic disease: a randomized active-controlled trial. *Cardiovasc Diabetol* 2021;20:74.
- [9] Dorsey-Trevino EG, Gonzalez-Gonzalez JG, Alvarez-Villalobos N, Gonzalez-Nava V, Contreras-Garza BM, Diaz G-CA, et al. Sodium-glucose cotransporter 2 (SGLT-2) inhibitors and microvascular outcomes in patients with type 2 diabetes: systematic review and meta-analysis. *J Endocrinol Invest* 2020;43:289-304.
- [10] Verma A, Raman R, Vaitheeswaran K, Pal SS, Laxmi G, Gupta M, et al. Does neuronal damage precede vascular damage in subjects with type 2 diabetes mellitus and having no clinical diabetic retinopathy?. *Ophthalmic Res* 2012;47:202-7.
- [11] van Dijk HW, Verbraak FD, Kok PH, Stehouwer M, Garvin MK, Sonka M, et al. Early neurodegeneration in the retina of type 2 diabetic patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53:2715-9.
- [12] Stem MS, Gardner TW. Neurodegeneration in the pathogenesis of diabetic retinopathy: molecular mechanisms and therapeutic implications. *Curr Med Chem* 2013;20:3241-50.
- [13] Sabaner MC, Duman R, Dogan M, Akdogan M, Vurmaz A, Bozkurt E, et al. Do SGLT2 inhibitors prevent preclinical diabetic retinopathy? A Prospective Pilot Optical Coherence Tomography Angiography Study. *J Fr Ophtalmol* 2021. S0181-5512(21) 00308-9.
- [14] Herat LY, Matthews VB, Rakoczy PE, Carnagarin R, Schlaich M. Focusing on sodium glucose cotransporter-2 and the sympathetic nervous system: potential impact in diabetic retinopathy. *Int J Endocrinol* 2018;2018:9254126.
- [15] Yuan Z, Feng W, Hong J, Zheng Q, Shuai J, Ge Y. p38MAPK and ERK promote nitric oxide production in cultured human retinal pigmented epithelial cells induced by high concentration glucose. *Nitric Oxide* 2009;20:9-15.
- [16] Cukiernik M, Hileeto D, Downey D, Evans T, Khan ZA, Karmazyn M, et al. The role of the sodium hydrogen exchanger-1 in mediating diabetes-induced changes in the retina. *Diabetes Metab Res Rev* 2004;20:61-71.
- [17] Lupachyk S, Stavniichuk R, Komissarenko JI, Drel VR, Obrosova AA, El-Remessy AB, et al. Na⁺/H⁺-exchanger-1 inhibition counteracts diabetic cataract formation and retinal oxidative-nitrative stress and apoptosis. *Int J Mol Med* 2012;29:989-98.
- [18] Mudaliar S, Hupfeld C, Chao DL. SGLT2 Inhibitor-induced low-grade ketonemia ameliorates retinal hypoxia in diabetic retinopathy—a novel hypothesis. *J Clin Endocrinol Metab* 2021;106:1235-44.
- [19] Schmidt-Erfurth U, Garcia-Arumi J, Bandello F, Berg K, Chakravarthy U, Gerendas BS, et al. Guidelines for the management of diabetic macular edema by the European Society of Retina Specialists (EURETINA). *Ophthalmologica* 2017;237: 185-222.
- [20] Nguyen OD, Brown DM, Marcus DM, Boyer DS, Patel S, Feiner L, et al. Ranibizumab for diabetic macular edema: results from 2 phase III randomized trials: RISE and RIDE. *Ophthalmology* 2012;119:789-801.
- [21] Mitchell P, Bandello F, Schmidt-Erfurth U, Lang GE, Massin P, Schlingemann RO, et al. The RESTORE study: ranibizumab monotherapy or combined with laser versus laser monotherapy for diabetic macular edema. *Ophthalmology* 2011;118:615-25.
- [22] Lang GE, Berta A, Eldem BM, Simader C, Sharp D, Holz FG, et al. Two-year safety and efficacy of ranibizumab 0.5 mg in diabetic macular edema: interim analysis of the RESTORE extension study. *Ophthalmology* 2013;120:2004-12.
- [23] Schmidt-Erfurth U, Lang GE, Holz FG, Schlingemann RO, Lanzetta P, Massin P, et al. Three-year outcomes of individualized ranibizumab treatment in patients with diabetic macular edema: the RESTORE extension study. *Ophthalmology* 2014;121: 1045-53.
- [24] Markan A, Agarwal A, Arora A, Bazgain K, Rana V, Gupta V. Novel imaging biomarkers in diabetic retinopathy and diabetic macular edema. *Ther Adv Ophthalmol* 2020;12:2515841420950513.
- [25] Zur D, Iglicki M, Busch C, Invernizzi A, Mariuzzi M, Loewenstein A, et al. OCT biomarkers as functional outcome predictors in diabetic macular edema treated with dexamethasone implant. *Ophthalmology* 2018;125:267-75.