



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Carolina Ferreira Simões

EFEITOS DE AGENTES ANTIDIABÉTICOS EM MARCADORES VASCULARES
E INFLAMATÓRIOS EM INDIVÍDUOS COM DIABETES *MELLITUS* TIPO 2

REVISÃO SISTEMÁTICA E META-ANÁLISE

Dissertação no âmbito do Mestrado em Farmacologia Aplicada
orientada pelo Professor Doutor Diogo André Afonso da Fonseca
e Professor Doutor Eduardo Leitão Costa apresentada à
Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra.

Setembro de 2022



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Carolina Ferreira Simões

**EFEITOS DE AGENTES ANTIDIABÉTICOS EM MARCA-
DORES VASCULARES E INFLAMATÓRIOS EM INDIVÍ-
DUOS COM DIABETES *MELLITUS* TIPO 2
REVISÃO SISTEMÁTICA E META-ANÁLISE**

Dissertação no âmbito do Mestrado em Farmacologia Aplicada orientada pelo Professor Doutor Diogo André Afonso da Fonseca e Professor Doutor Eduardo Leitão Costa apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra.

Setembro de 2022

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Doutor Diogo, meu orientador, pelo auxílio prestado, pela oportunidade, pelos ensinamentos e aprendizagens, pela disponibilidade, pelo apreço e por toda a confiança.

Ao Professor Doutor Eduardo, pela coorientação, disponibilidade, incentivo e ajuda dada ao longo deste processo.

Aos meus amigos de Coimbra, Bárbara, Cindy, Daniel, Daniela, Gonçalo, Inês, Joana e Márcia, pelo carinho e amizade. O meu percurso em Coimbra não teria sido o mesmo sem vocês.

Aos meus amigos de Pombal, Ana Carolina, Ana Rita, Filipa, Isabel, Jéssica, Nuno e Rodrigo, pelo apoio, paciência e amor.

À minha equipa e amigos do Kickboxing, por toda a paciência para os meus desabafos.

Aos meus tios, tias, primos e primas, pelo suporte incondicional e por todo o encorajamento.

À minha avó Cecília, pelas velas que acende por mim.

Aos meus avós, Manuel e Gracinda, que apesar de não estarem cá para presenciar estes bons momentos, sempre me apoiaram na minha vida pessoal e académica, depositando sempre a maior fé em mim. Isto é para vocês.

Ao meu irmão, pelo amor, motivação e carinho.

Aos meus pais, que sempre estiveram presentes e me têm apoiado e amado incondicionalmente ao longo de toda a minha vida. Sem vocês nada disto seria possível.

A todos,

O meu mais sincero e sentido agradecimento.

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS	VII
ÍNDICE DE TABELAS.....	VII
RESUMO.....	IX
ABSTRACT	XI
ABREVIATURAS E SIGLAS	XIII
I. INTRODUÇÃO	I
I.1. Epidemiologia – Prevalência e Incidência	4
I.2. Homeostasia da Glicose.....	5
I.2.1. Pâncreas.....	5
I.2.2. Secreção da Insulina.....	6
I.3. Fisiopatologia da DMT2	7
I.3.1. Hiperglicemia e Disfunção das Células β Pancreáticas	7
I.3.2. Insulinorresistência.....	8
I.4. Disfunções vasculares associadas à diabetes	8
I.4.1. Disfunção no Endotélio Vascular.....	9
I.4.2. Disfunção no Músculo Liso Vascular	10
I.4.3. Disfunção associada à inflamação	11
I.4.4. Alterações estruturais.....	12
I.5. Terapêutica	13
I.5.1. Metformina.....	14
I.5.2. Insulinoterapia	14
I.5.3. Tiazolidinedionas	15
I.5.4. Inibidores do SGLT2.....	16
I.5.5. Agonista do recetor do GLP-1	17
I.5.6. Inibidores da DPP-4.....	18
2. OBJETIVOS.....	21
3. MÉTODOS.....	25
3.1. Questão de investigação e Critérios de Elegibilidade.....	27
3.2. Estratégia de pesquisa	28
3.3. Colheita de dados	32
3.4. Risco de viés	32
3.5. Análise dos Dados.....	33
3.6. Meta-análise	34
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	37

4.1. Seleção de Estudos Completos	39
4.2. Caracterização de Estudos.....	41
4.3. Risco de Viés.....	45
4.4. Análise comparativa	46
4.4.1. Metformina versus Insulinoterapia.....	46
4.4.2. Metformina versus Tiazolidinedionas.....	49
4.4.3. Metformina versus iSGLT2.....	55
4.4.4. Metformina versus arGLP-I.....	55
4.4.5. Metformina versus iDPP-4.....	55
4.4.6. Insulinoterapia versus TZDs.....	58
4.4.7. Insulinoterapia versus arGLP-I.....	58
4.4.8. TZDs versus iDPP-4.....	60
4.4.9. arGLP-I versus iDPP-4.....	60
4.4.10. Outros <i>outcomes</i> e comparações.....	61
4.5. Análise Global	63
5. CONCLUSÃO.....	69
6. BIBLIOGRAFIA	73
ANEXOS.....	85

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma ilustrativo do processo de seleção de estudos.	40
Figura 2. Gráfico relativo ao risco de viés dos 22 estudos usados na dissertação.	45
Figura 3. Gráfico Forest Plot de MET vs IT para os outcomes hsCRP (A) e IL-6 (B).....	47
Figura 4. Gráfico Forest Plot de MET vs PIO para o outcome hsCRP.	52
Figura 5. Gráfico Forest Plot de MET vs RSG para os outcomes hsCRP (A), TNF- α (B) e IL-6 (C).....	53

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Estratégia PICO utilizada para avaliação da literatura.	27
Tabela 2. Estratégia de pesquisa em ClinicalTrials.gov.	32
Tabela 3. Domínios estudados para avaliar o risco de viés.....	33
Tabela 4. Síntese dos estudos utilizados no trabalho (dados organizados por combinações terapêuticas).....	41
Tabela 5. Síntese dos outcomes avaliados em cada estudo (dados organizados por combinações terapêuticas e ordem alfabética de autor).	42
Tabela 6. Resultados dos marcadores inflamatórios medidos nos estudos que comparam MET vs IT (organizado por ordem alfabética de autor).....	48
Tabela 7. Resultados dos marcadores de aterosclerose subclínica e de rigidez arterial medidos nos estudos que comparam MET vs TZDs (organizado por ordem alfabética de autor).....	50
Tabela 8. Resultados dos marcadores vasculares medidos nos estudos que comparam MET vs TZDs (organizado por ordem alfabética de autor).....	50
Tabela 9. Resultados dos marcadores inflamatórios medidos nos estudos que comparam MET vs TZDs (organizado por ordem alfabética de autor e por combinações).	54
Tabela 10. Resultados dos marcadores inflamatórios medidos nos estudos que comparam MET vs iSGLT2.	57
Tabela 11. Resultados dos marcadores de ativação endotelial medidos nos estudos que comparam MET vs arGLPI.....	57
Tabela 12. Resultados dos marcadores medidos nos estudos que comparam MET vs iDPP-4 (organizado por ordem alfabética de autor).....	57
Tabela 13. Resultados dos marcadores inflamatórios medidos nos estudos que comparam IT vs TZDs (organizado por ordem alfabética de autor).....	59

Tabela 14. Resultados dos marcadores de função vascular e inflamatórios medidos nos estudos que comparam IT vs arGLP-I (organizado por ordem alfabética de autor).....	59
Tabela 15. Resultados dos marcadores medidos nos estudos que comparam TZDs vs iDPP-4 (organizado por ordem alfabética de autor).	62
Tabela 16. Resultados dos marcadores inflamatórios medidos nos estudos que comparam arGLP-I vs iDPP-4 (organizado por ordem alfabética de autor).....	62
Tabela 17. Efeitos dos fármacos nos marcadores vasculares e inflamatórios.	64

RESUMO

Introdução – Há várias opções terapêuticas para tratar a Diabetes *Mellitus* Tipo 2 (DMT2), que é um problema de saúde pública. Quando esta doença não está devidamente controlada, surgem complicações micro- e macrovasculares que têm um grande impacto no dia-a-dia do doente.

Objetivos – Comparar os efeitos da metformina (MET), da insulinoterapia (IT), das tiazolidinedionas (TZDs), dos agonistas dos recetores GLP-1 (arGLP-1), dos inibidores do SGLT2 (iSGLT2) e inibidores da DPP-4 (iDPP-4) na saúde vascular de doentes com DMT2, em revisão sistemática e meta-análise de ensaios clínicos previamente selecionados.

Métodos – Foi elaborada uma revisão sistemática com meta-análise, quando possível, em que foram considerados os seguintes tratamentos da DMT2: MET, IT, TZDs, arGLP-1, iSGLT2 e iDPP-4. Foram avaliados marcadores de aterosclerose subclínica (cIMT e ScCA), marcadores de rigidez arterial (PWV), marcadores de função vascular (FMD, ACh e NPS), marcadores de função endotelial (VCAM-1 e ICAM-1) e marcadores inflamatórios (hsCRP, TNF- α , IL-6 e IL-1 β). As pesquisas na literatura decorreram entre janeiro e maio de 2022. O presente trabalho encontra-se registado no PROSPERO com o identificador CRD42022347313.

Resultados e Discussão – Foram encontrados 8251 resultados, dos quais 4222 foram revistos. Foi avaliada a elegibilidade de 68 artigos potencialmente relevantes, o que resultou de uma amostra final de 22 estudos incluídos na dissertação. No geral, os fármacos levaram a uma melhoria da inflamação, da rigidez arterial e da aterosclerose. No que se refere à função endotelial, os resultados obtidos não são concordantes com o que seria de esperar. Quando possível, foi feita a meta-análise, no entanto não foram registados efeitos a nível global, uma vez que as amostras dos estudos são pequenas, assim como o número de estudos.

Conclusão – Conclui-se que não existem muitos estudos relacionados com esta temática. Para tratar as disfunções micro- e macrovasculares associadas à DMT2, seria importante explorar os efeitos dos diversos agentes antidiabéticos ao nível dos marcadores referidos, pois a DMT2 é uma doença de grande escala a nível mundial.

Palavras-chave: Diabetes *Mellitus* Tipo 2; Agentes Antidiabéticos; Marcadores Vasculares e Inflamatórios; Revisão Sistemática; Meta-análise.

ABSTRACT

Introduction – There are many therapeutic options to treat Type 2 Diabetes *Mellitus* (T2DM), which is a public health problem. When this disease is not properly controlled, there are micro- and macrovascular complications that have a great impact on the patient's daily life.

Objectives – To compare the effects of metformin (MET), insulin therapy (IT), thiazolidinediones (TZDs), glucagon-like peptide-1 receptor agonists (GLP-1RA), SGLT2 inhibitors (iSGLT2) and DPP-4 inhibitors (iDPP-4) on vascular health in patients with T2DM in a systematic review and a meta-analysis of previously selected clinical trials.

Methods – A systematic review with meta-analysis, when possible, was carried out in which the following treatments for T2DM were considered: MET, IT, TZDs, GLP-1 RA, iSGLT2 and iDPP-4. Subclinical atherosclerosis markers (cIMT and ScCA), arterial stiffness markers (PWV), vascular function markers (FMD, ACh and NPS), endothelial function markers (VCAM-1 and ICAM-1) and inflammatory markers (hsCRP, TNF- α , IL-6 and IL-1 β) were evaluated. Literature searches were performed between January and May 2022. The present work is registered in PROSPERO with the identifier CRD42022347313.

Results and Discussion – A total of 8251 results were found, of which 4222 were screened. The eligibility of 68 potentially relevant full-text studies was assessed, which resulted from a final sample of 22 studies included in the dissertation. Overall, the drugs led to an improvement in inflammation, arterial stiffness, and atherosclerosis. Regarding endothelial function, the results obtained are not in agreement with what would be expected. When possible, a meta-analysis was performed, however global effects were not recorded, as the study samples are small, as is the number of studies.

Conclusion – It is concluded that there are not many studies related to this topic. To treat the micro- and macrovascular dysfunctions associated with T2DM, it would be important to explore the effects of different antidiabetic agents at the level of these markers, as T2DM is a large-scale disease worldwide.

Keywords: Type 2 Diabetes *Mellitus*; Antidiabetic Agents; Vascular and Inflammatory Markers; Systematic Review; Meta-analysis.

ABREVIATURAS E SIGLAS

%	Porcentagem
95% CI	Intervalo De Confiança
ACh	Acetilcolina
arGLP-1	Agonistas Do Recetor <i>Glucagon-Like Peptide-1</i>
AVC	Acidente Vascular Cerebral
Ca²⁺	Íon Cálcio
CE	Células Endoteliais
cIMT	Espessura Da Camada Íntima-Média Da Carótida
DAPA	Dapagliflozina
DG	Diabetes Gestacional
DM	Diabetes <i>Mellitus</i>
DMT1	Diabetes <i>Mellitus</i> Tipo 1
DMT2	Diabetes <i>Mellitus</i> Tipo 2
DPP-4	Dipeptidil Peptidase-4
DRC	Doença Renal Crónica
eNOS	Sintase Endotelial De Óxido Nítrico
EPCs	Células Progenitoras Endoteliais
EXE	Exenatido
FMD	Dilatação Mediada Por Fluxo
GLP-1	<i>Glucagon-Like Peptide-1</i>
GLUT-2	Proteína Insulinodependente Transportadora De Glicose 2
GLUT-4	Proteína Insulinodependente Transportadora De Glicose 4
hsCRP	Proteína C- Reativa Altamente Sensível
ICAM-1	Molécula De Adesão Intercelular - 1
IDF	Federação Internacional De Diabetes
iDPP-4	Inibidores Da Dipeptidil Peptidase 4
IL-1β	Interleucina-1 beta
IL-6	Interleucina-6
IRS	Substrato Recetor De Insulina
iSGLT2	Inibidores Do Co-Transportador Tipo 2 De Sódio E Glicose
IT	Insulinoterapia
K⁺	Íon Potássio
LINA	Linagliptina
LIRA	Liraglutido

MACE	<i>Major Adverse Cardiovascular Events</i>
MET	Metformina
mg/L	Miligrama Por Litro
mL/min	Mililitro Por Minuto
mL/min/dL	Mililitro Por Minuto Por Decilitro
Mm	Milímetros
n/s	Não Especificado
ng/mL	Nanograma Por Mililitro
NO	Óxido Nítrico
NPH	<i>Neutral Protamine Hagedorn</i>
NPS	Nitroprussiato De Sódio
OMS	Organização Mundial De Saúde
pg/mL	Picogramas Por Mililitro
PIO	Pioglitazona
PWV	Velocidade De Onda De Pulso
RSG	Rosiglitazona
ScCA	Score De Cálcio Coronário Arterial
SD	Desvio Padrão
SE	Erro Padrão
SGLT2	Co-Transportador Tipo 2 de Sódio e Glicose
SITA	Sitagliptina
TFG	Taxa De Filtração Glomerular
TNF-α	Fator De Necrose Tumoral - Alfa
TRO	Troglitazona
TZD	Tiazolidinedionas
VCAM-I	Molécula De Adesão Vascular – I
VILDA	Vildagliptina
VSCM	Células Do Músculo Liso Vascular

I. INTRODUÇÃO

I. INTRODUÇÃO

A Diabetes Mellitus (DM) é uma doença crónica que ocorre quando o pâncreas não produz insulina suficiente ou quando o corpo não consegue usar a insulina produzida de forma eficiente. Sendo a insulina a hormona que tem como função controlar os níveis de glicose no sangue, pois é essencial no seu transporte, a falha na produção desta hormona ou a incapacidade de não resposta das células à produção de insulina, promove um aumento de glicose no sangue. Este nível de glicose anormalmente elevado no sangue, ou seja, a hiperglicémia, é o principal indicador clínico da DM (International Diabetes Federation, 2021; WHO, 2016).

Existem vários tipos de diabetes, destacando-se a diabetes tipo 1 (DMT1), a diabetes tipo 2 (DMT2) e a diabetes gestacional (DG).

A DMT1 é caracterizada pela deficiência da produção de insulina, sendo necessária a administração diária de insulina, de forma a regular a glicémia. A DMT1 é mais frequente em crianças. Os principais sintomas são caracterizados por uma poliúria e polidipsia, fome constante, alterações de peso e na visão (International Diabetes Federation, 2021; WHO, 2016).

Na DMT2, apesar de haver produção de insulina, o corpo não consegue usar de maneira efetiva. A este fenómeno chama-se insulinoresistência. Este tipo de diabetes resulta do excesso de peso e de inatividade física, sendo mais comum em adultos. Apesar de os sintomas serem similares aos da DMT1, são menos severos ou até mesmo ausentes. Desta forma, a doença poderá ser não diagnosticada por vários anos, resultando em complicações severas (International Diabetes Federation, 2021; WHO, 2016).

A diabetes gestacional (DG) desenvolve-se durante a gravidez, sendo caracterizada por uma hiperglicémia, com os níveis de glicose no sangue acima do normal, mas abaixo dos valores de diagnóstico de diabetes. As mulheres com DG têm um risco aumentado de sofrer complicações durante a gravidez e parto, assim como os seus filhos. Esta doença é diagnosticada através de exames pré-natais (International Diabetes Federation, 2021; WHO, 2016).

Quando não existe o devido controlo da DM, podem surgir complicações com um impacto direto na qualidade de vida do doente, havendo, assim um aumento da morbilidade e da mortalidade associadas a esta doença. A diabetes pode provocar danos ao nível de diversos órgãos e sistemas, nomeadamente coração, vasos sanguíneos, olho, rim e sistema nervoso. Assim, os doentes com diabetes apresentam maior risco de enfarte do miocárdio ou acidente vascular cerebral (AVC), assim como de neuropatias. Neste caso e também devido a alterações na cicatrização e na vascularização, poderá haver risco de úlceras, infeções e até mesmo

amputações se, por exemplo, a neuropatia se manifestar ao nível do membro inferior. Por outro lado, existe ainda o risco de insuficiência renal, tal como retinopatia diabética, que por sua vez pode levar a cegueira. Em suma, as complicações microvasculares e macrovasculares associadas à diabetes, mencionadas anteriormente, são cada vez mais prevalentes, levando a um aumento significativo de mortalidade e morbidade devido a esta doença (International Diabetes Federation, 2021; WHO, 2016).

A presente dissertação foca-se na DMT2.

1.1. Epidemiologia – Prevalência e Incidência

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), a DM é um problema de saúde pública. Segundo os dados OMS (2016), a prevalência é de 422 milhões de pessoas a nível mundial, ou seja, em cada 11 pessoas, uma é diabética. Em 2019, estima-se uma mortalidade de 1,5 milhões de pessoas devido à diabetes e cerca de 3,7 milhões de pessoas devido à diabetes e hiperglicémia.

Por outro lado, estimativas mais recentes da *International Diabetes Federation (IDF)* (2021), indicam uma prevalência de 537 milhões de adultos entre os 20 e 79 anos, o que representa 10,5% da população mundial nesta faixa etária. É expectável que, nos próximos 25 anos, a prevalência siga uma tendência crescente, prevendo-se que em 2045, cerca de 12,2 milhões da população não tenha a DMT2 diagnosticada.

Estima-se também que cerca de 240 milhões de pessoas não sabem que têm esta doença, uma vez que não foram diagnosticadas, ou seja, em cada duas pessoas, uma não sabe que tem DM. Cerca de 90% deste grupo, vive em países de médio/baixo grau de desenvolvimento (International Diabetes Federation, 2021).

De acordo com os dados da IDF para 2021, no que se refere à distribuição por idade, sabe-se que adultos entre os 20 e 24 anos têm uma menor prevalência da doença (2,2%), comparando com os adultos entre os 70 e os 79 anos (24,0%). O grupo de idades com maior prevalência (cerca de 18%) é em adultos entre os 55 e 59 anos de idade (International Diabetes Federation, 2021).

Relativamente ao género, estima-se que a prevalência da diabetes em mulheres entre os 20 e 79 anos seja ligeiramente menor do que em homens (10,2% vs 10,8%, respetivamente, em 2021) (International Diabetes Federation, 2021).

1.2. Homeostasia da Glicose

1.2.1. Pâncreas

De forma que o organismo se mantenha funcional, é necessário que os níveis de glicose no sangue se mantenham regulados. Tal é devido à ação de várias hormonas e neuropeptídeos libertados por alguns órgãos, incluindo o pâncreas.

O pâncreas tem um papel importante no que se refere à regulação da digestão de macronutrientes e promove a homeostasia através da libertação de hormonas pancreáticas e de enzimas digestivas. Além disso, é considerado um órgão com funções endócrinas e exócrinas (Röder *et al.*, 2016).

Este órgão, de forma exócrina, segrega suco pancreático contendo enzimas digestivas, como a amilase, a lipase pancreática e o tripsinogénio. Estas são importantes no processo de digestão. Por outro lado, as hormonas pancreáticas são libertadas de forma endócrina e a sua secreção é feita diretamente para a corrente sanguínea. Estas células endócrinas formam ilhéus de Langerhans que são estruturas pequenas e correspondem a cerca de 1-2% do pâncreas (Röder *et al.*, 2016).

Existem cinco tipos de células diferentes que libertam hormonas a partir do sistema endócrino. As células α são produtoras de glucagon e as células β são responsáveis pela produção de insulina, amilina e peptídeo-C. Além destas, ainda existem as células ϵ que produzem grelina, as células γ que produzem o polipeptídeo pancreático e, ainda, as células δ que são responsáveis pela produção de somatostatina (Röder *et al.*, 2016).

Todas as hormonas libertadas pelas células acima mencionadas têm funções diferentes e necessárias ao bom funcionamento do organismo. O glucagon promove um aumento da glicémia, enquanto a insulina promove a sua diminuição. A somatostatina inibe a libertação de glucagon e insulina e o polipeptídeo pancreático regula a função endócrina e exócrina do pâncreas. As hormonas referidas, juntas, regulam a homeostasia da glicose (Röder *et al.*, 2016).

O glucagon e a insulina são as principais hormonas no que se refere à manutenção dos valores ideais de glicémia. Há uma oposição equilibrada das ações de ambas as hormonas. Aquando de um decréscimo de glicémia, por exemplo durante o sono ou entre refeições, o glucagon é libertado pelas células α , promovendo uma gliconeogénese hepática e, em consequência, um aumento de glicémia. Em contraste, aquando de um aumento dos níveis de glicose no sangue, por exemplo após as refeições, a insulina é segregada pelas células β , pois estas recebem um estímulo da glicose. Depois da hormona se ligar ao recetor no tecido, a insulina

promove uma captação de glicose para os tecidos, especificamente fígado, músculo esquelético e o tecido adiposo, reduzindo os níveis de glicose na corrente sanguínea (Röder *et al.*, 2016).

1.2.2. Secreção da Insulina

A insulina é uma hormona constituída por duas cadeias polipeptídicas, as cadeias α e β , que estão ligadas por pontes dissulfito. É sintetizada como pré-hormona no retículo endoplasmático e armazenada no aparelho de Golgi, sendo posteriormente hidrolisada a insulina e peptídeo C.

É uma hormona que, conforme referido anteriormente, regula a glicémia. Além disso, esta hormona estimula também a diferenciação e crescimento de células e promove o armazenamento de substratos no fígado e músculo através da estimulação da lipólise (Saltiel e Kahn, 2001).

A secreção desta hormona é influenciada por alterações na sua síntese, desde ao nível da transcrição de genes assim como na modificação pós-transcrição no aparelho de Golgi. Os aumentos dos níveis de glicose induzem a primeira fase de secreção de insulina a partir das células β . Nestas células estão presentes transportadores que detetam e captam a glicose, os GLUT-2. Com a entrada da glicose nas células β , dá-se uma alteração de conformação dos transportadores e surge o processo de glicólise. Assim, dessa forma é produzido ATP. Por sua vez, os canais de K^+ dependentes de ATP fecham e dá-se uma despolarização da membrana e consequente ativação dos canais de Ca^{2+} dependentes da voltagem, havendo um posterior aumento da concentração deste ião. Com esta variação da concentração de Ca^{2+} , dá-se uma estimulação da secreção de insulina armazenada no aparelho de Golgi. Desta forma, a insulina é libertada para a corrente sanguínea (Wilcox, 2005).

A secreção da insulina é bifásica. Inicialmente é libertada rapidamente, havendo, posteriormente, uma redução da secreção de insulina. Na DM2, a primeira fase encontra-se comprometida e, de forma a compensar a hiperglicémia resultante, a segunda fase surge de forma desregulada (Wilcox, 2005).

Depois de libertada, a insulina exerce a sua ação em tecidos insulino-dependentes para que haja captação de glicose. Desta forma, a hormona liga-se ao seu recetor que pertence a uma subfamília dos recetores tirosina cinase e que contém uma subunidade α e uma subunidade β . Aquando da ligação da insulina à subunidade α , a atividade tirosina cinase da subunidade β é

inibida, levando a alterações conformacionais. Consequentemente, dá-se uma sequência de fosforilações que originam substratos do recetor de insulina, como o substrato recetor de insulina (IRS), levando a novas e distintas vias de sinalização, como é o caso da via de sinalização PI(3)K (Saltiel e Kahn, 2001).

O PI(3)K tem um papel fundamental nas ações metabólicas da insulina. Consiste numa subunidade catalítica de p110 e uma subunidade de p85, que interage com os resíduos de tirosina do IRS fosforilados previamente. A ativação da via PI(3)K pode transmitir múltiplos sinais, levando à estimulação de Akt. Por sua vez, esta promove uma ativação e translocação dos transportadores de glicose GLUT-4 (proteína insulino dependente transportadora de glicose) para a superfície da célula, levando à captação de glicose para o seu interior (Saltiel e Kahn, 2001; Wilcox, 2005).

1.3. Fisiopatologia da DMT2

A DMT2 é o tipo de DM mais frequente (cerca de 90%) na população diabética do mundo. (International Diabetes Federation, 2021). Tal como referido anteriormente, o estilo de vida e a obesidade são as principais causas para o surgimento da doença.

Em termos fisiopatológicos, a DMT2 é caracterizada por uma insulinoresistência, um estado de hiperglicémia e uma disfunção das células β pancreáticas, os quais promovem o desenvolvimento de complicações associadas à DMT2.

1.3.1. Hiperglicémia e Disfunção das Células β Pancreáticas

Esta disfunção das células β pancreáticas é um componente crítico para a patogénese da DMT2.

Quando a ação da insulina diminui, por exemplo, aquando da obesidade, o sistema vai compensar com o aumento da função das células β pancreáticas. No entanto, ao mesmo tempo, as concentrações de glicose no sangue vão aumentar ligeiramente. Este aumento, apesar de ser pequeno, com o tempo vai acabar por provocar danos, devido à toxicidade da glicose. Desta forma, dá-se uma disfunção ao nível das células β pancreáticas (Stumvoll, Goldstein e Haefliger, Van, 2005).

1.3.2. Insulinorresistência

A insulinorresistência é o fator mais preponderante da DM2. Dá-se quando os níveis de insulina normais ou elevados promovem uma resposta biológica, que, por sua vez, se refere à diminuição da eliminação da glicose mediada pela insulina (Wilcox, 2005).

Está presente quando os efeitos biológicos da insulina são menores do que o esperado tanto na eliminação da glicose do músculo esquelético, como na supressão da produção endógena de glicose, principalmente pelo fígado (Saini, 2010; Stumvoll, Goldstein e Haeften, Van, 2005).

Não há uma causa subjacente que explique este fator, no entanto é possível identificar algumas anomalias que promovem a DM2.

- Fosforilação dos resíduos de Serina dos substratos IRS: este fator pode reduzir a capacidade das proteínas IRS para atrair a PI(3)K, minimizando a sua ativação e aumentando a degradação do substrato. Portanto não se dá um transporte correto da glicose (Saini, 2010).

- Papel dos adipócitos e da inflamação: o aumento das concentrações dos ácidos gordos não esterificados (AGNE) e de citocinas inflamatórias, como o fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α), afetam a cascata da insulina. Os AGNE inibem o metabolismo da glicose estimulado pela insulina no músculo esquelético e estimulam a gluconeogénese, não ocorrendo a fosforilação do IRS-1. Além disso, o TNF- α libertado promove efeitos negativos nas vias de sinalização da insulina, enquanto a interleucina 6 (IL-6) inibe também o sinal da insulina (Saini, 2010; Stumvoll, Goldstein e Haeften, Van, 2005).

- Metabolismo mitocondrial: havendo uma perda de função mitocondrial, que se reflete na diminuição da fosforilação oxidativa, pode conduzir a uma acumulação intracelular de lípidos, levando à insulinorresistência (Stumvoll, Goldstein e Haeften, Van, 2005).

- Outros, como alterações do PI(3)K, a adiponectina e a atividade do NF- κ B.

1.4. **Disfunções vasculares associadas à diabetes**

Tal como referido anteriormente, a DM pode promover complicações micro- e macrovasculares. Este tipo de complicações inclui alterações ao nível vascular, envolvendo principalmente o endotélio vascular e as células do músculo liso vascular (VSMC). Por outro lado, é também sabido que a disfunção vascular associada à hiperglicémia requer condições pró-inflamatórias (Lafuente *et al.*, 2008).

Nos pontos seguintes, serão discutidos alguns dos mecanismos pelos quais surgem as disfunções vasculares acima referidas.

1.4.1. Disfunção no Endotélio Vascular

O endotélio vascular é formado por uma única camada de células, sendo classificado histologicamente como um epitélio pavimentoso simples. Está localizado entre a parede muscular vascular e a circulação sanguínea e seus componentes (Lerman e Zeiher, 2005).

Anteriormente, o endotélio vascular era apenas considerado uma barreira biológica, mas, hoje em dia, sabe-se que existem múltiplas funções associadas a este órgão, nomeadamente metabólicas, neuroendócrinas, imunológicas e proliferativas. Além destas, o endotélio vascular apresenta também a capacidade de regular o tónus vascular, bem como de modular a inflamação e a coagulação (Britten, Zeiher e Schächinger, 1999). Por outro lado, sabe-se que as células endoteliais libertam substâncias vasodilatadoras, como óxido nítrico (NO), e substâncias vasoconstritoras, como a endotelina (Vanhoutte, 1991).

Nas últimas décadas, o endotélio vascular tem sido alvo de grande importância e estudo, uma vez que aquando do aparecimento de uma doença metabólica, como é o caso da DM2, surgem disfunções estruturais e funcionais neste órgão.

A disfunção endotelial é um tipo de doença que afeta os vasos sanguíneos. Reflete um desequilíbrio entre a libertação de fatores vasodilatadores e vasoconstritores derivados do endotélio.

No que se refere à disfunção endotelial associada à diabetes, existem vários mecanismos subjacentes, nomeadamente, (a) redução da biodisponibilidade de NO, por diminuição da sua produção ao nível da sintase endotelial de óxido nítrico (eNOS) ou por subregulação da via Akt; (b) aumento da produção de moléculas de adesão, como a endotelina-1, a molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1) e molécula de adesão vascular-1 (VCAM-1); e (c) outros mecanismos independentes de NO, como a hiperglicémia (Assar, Angulo e Rodríguez-Mañas, 2016; Fonseca, Antunes e Cotrim, 2014).

Esta disfunção endotelial pode ser avaliada clinicamente usando a dilatação mediada por fluxo (FMD), que confere uma boa determinação da função endotelial, ou examinando a resposta do fluxo sanguíneo no antebraço à infusão intra-arterial de acetilcolina (ACh) e de nitróprussiato de sódio (NPS) (Fonseca, Antunes e Cotrim, 2014; Thijssen, Carter e Green,

2016). A ACh é um vasodilatador dependente de endotélio e o NPS é um vasodilatador independente de endotélio. Em 2000, foi demonstrado, por Vriese (2000) num artigo de revisão, que a função endotelial é afetada, nomeadamente ao nível do FMD, ACh e NPS, cujos valores, no geral, diminuem na população diabética (Vriese, De *et al.*, 2000).

1.4.2. Disfunção no Músculo Liso Vascular

O músculo liso vascular (VSM) é um tipo de músculo não estriado e que faz parte da maioria das paredes dos vasos sanguíneos. Está sob o controlo do sistema nervoso autónomo através dos recetores adrenérgicos e é essencial para a manutenção da pressão sanguínea, através da sua contração e relaxação em oposição ao coração (Durham *et al.*, 2018).

A contração deste músculo é regulada maioritariamente pelos canais iónicos, incluindo os canais de potássio (K^+) e os canais de cálcio (Ca^{2+}). Numa pessoa saudável, a contração das células do músculo liso vascular (VSMCs) é regulada por recetores e pela ativação das proteínas actina e miosina (Webb, 2003).

Num indivíduo saudável, a contração do músculo é iniciada com a contração celular de Ca^{2+} quer seja através da despolarização da membrana intracelular ou através da abertura dos canais de Ca^{2+} dependentes da voltagem, que por sua vez levam à libertação de Ca^{2+} , havendo um aumento da sua concentração na célula (Amberg e Navedo, 2013). Por sua vez, os canais de K^+ vão regular o potencial da membrana do músculo liso vascular, havendo também impacto ao nível do controlo da concentração de Ca^{2+} . A ativação dos canais de K^+ vai promover a relaxação do músculo, no entanto, a inibição destes canais leva à contração muscular (Durham *et al.*, 2018).

Com o passar dos anos, Durham *et al.* (2018) provou que uma doença metabólica, como a hiperglicémia, promove uma disfunção ao nível do VSM. Tal acontece devido às alterações na expressão dos canais iónicos, induzindo assim danos funcionais no músculo liso vascular.

Ao nível dos canais de Ca^{2+} , a hiperglicémia promove um aumento da atividade destes canais, levando ao aumento de concentração iónica, por sua vez, a uma maior contração muscular. Por outro lado, ao nível dos canais de K^+ , dá-se uma diminuição da sua atividade, o que se correlaciona com a despolarização do VSM e com um aumento da vasoconstrição (Nieves-Cintrón *et al.*, 2021).

A hiperglicémia além de promover a disfunção endotelial como falado anteriormente, promove também a formação de lesões ateroscleróticas. Num adulto saudável, as VSMCs

possuem um fenótipo contrátil, ou seja, as células proliferam lentamente e são funcionalmente contráteis. Além disso, respondem a sinais como a ACh ou a noradrenalina e expressam proteínas contráteis, como actina e miosina. No entanto, quando ocorrem lesões, as VSMCs alteram o seu fenótipo de contrátil para proliferativo. Neste caso, há uma *down-regulation* das proteínas contráteis e aumento da proliferação celular. Esta transição é considerada um passo-chave na formação de lesões da camada íntima, uma característica central do desenvolvimento de lesões ateroscleróticas (Durham *et al.*, 2018).

1.4.3. Disfunção associada à inflamação

Embora sejam conhecidos diversos mecanismos pelos quais a hiperglicémia pode induzir disfunção vascular, como descritos anteriormente, estudos anteriores demonstram que a disfunção vascular associada à hiperglicémia requer a presença de condições pró-inflamatórias (Lafuente *et al.*, 2008).

Os mecanismos inflamatórios subjacentes à disfunção vascular associada à hiperglicémia são sobretudo o aumento de citocinas pró-inflamatórias, como a interleucina-1 β (IL-1 β), interleucina -6 (IL-6), o fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e proteína C reativa de alta sensibilidade (hsCRP). Este aumento da concentração de marcadores inflamatórios promove também uma redução da vasodilatação endotelial, uma vez que há uma diminuição da biodisponibilidade de NO, um potente vasodilatador (Assar, Angulo e Rodríguez-Mañas, 2016).

Além do aumento destes fatores inflamatórios, dá-se uma hiperativação do fator nuclear κ B (NF- κ B), induzida pela formação de espécies reativas de oxigénio (ROS) nas células endoteliais. Esta ativação do NF- κ B em doentes com DMT2 está relacionada com o aumento dos níveis de IL-6 e VCAM-1. Por outro lado, há também um aumento da expressão de cicloxigenases (COX), da sintase indutível de óxido nítrico (iNOS) e uma diminuição dos níveis de adiponectina, uma adipocina anti-inflamatória, e stress oxidativo (Assar, Angulo e Rodríguez-Mañas, 2016).

As citocinas pró-inflamatórias, faladas anteriormente, promovem um aumento da concentração de moléculas de adesão, tal como ICAM-1 e VCAM-1. Ambas as moléculas de adesão regulam a migração dos leucócitos. A ICAM-1 é altamente expressa em células endoteliais e em baixos níveis, no tecido saudável. Por sua vez, a VCAM-1 não é expressa no endotélio saudável, resultando a sua expressão da ativação endotelial (Storch *et al.*, 2017). Estudos demonstram que o aumento das concentrações de ICAM-1 e VCAM-1 refletem o grau de danos

ao nível endotelial e a progressão da nefropatia diabética em doentes com DMT2 (Ruszkowska-Ciastek *et al.*, 2015). As flutuações das concentrações destas moléculas são importantes preditores para o desenvolvimento das placas ateroscleróticas, por exemplo, uma vez que a adesão dos leucócitos ao endotélio é facilitada (Ruszkowska-Ciastek *et al.*, 2015).

Através da concentração sérica de todos estes marcadores inflamatórios e de ativação endotelial (IL-1 β , IL-6, TNF- α , hsCRP, VCAM-1 e ICAM-1) é possível ter-se refletida a saúde vascular.

1.4.4. Alterações estruturais

As alterações fisiológicas descritas anteriormente, quer ao nível do endotélio vascular quer ao nível do músculo liso vascular, podem conduzir a alterações estruturais ao nível vascular também.

Com a DMT2, a probabilidade de se desenvolver aterosclerose num doente, é elevada. Por um lado, a aterosclerose pode estar associada à inflamação. Quando citocinas pró-inflamatórias são ativadas, as células endoteliais podem expressar VCAM-1, por exemplo, que vão promover uma aderência dos monócitos e linfócitos na lâmina endotelial. Estas citocinas podem levar à migração dos leucócitos para a camada íntima. Já na camada íntima, são formados macrófagos contendo colesterol, levando à formação de placas ateroscleróticas, que por sua vez, conduzem à aterosclerose. Por outro lado, VSMCs, que estão localizadas na camada média, podem penetrar a camada íntima, juntando-se às VSMCs residentes, promovendo assim uma acumulação na matriz extracelular, expandindo a camada íntima (Libby, 2021).

Além disso, a disfunção endotelial ocorre previamente ao desenvolvimento de alterações ateroscleróticas, com alterações na camada íntima-média da carótida (cIMT), que constitui um marcador de aterosclerose. Este fator é indicativo de que os danos ao nível da função do endotélio vascular são cruciais para o desenvolvimento de lesões ateroscleróticas. Tal acontece, pois há uma redução da disponibilidade de NO e um aumento da atividade de vasoconstritores, como a endotelina-1. Desta forma, e ao contrário do que acontece, por exemplo, com o FMD, ACh e NPS, a cIMT está aumentada em doentes com DMT2 (Gajdova *et al.*, 2017; Wang *et al.*, 2019).

Por outro lado, a calcificação vascular está aumentada em doentes com DMT2. A calcificação vascular, ou seja, a deposição de cálcio nas paredes arteriais, está associada a um aumento do risco cardiovascular e à rutura de placas ateroscleróticas. A calcificação vascular envolve

também a expressão de citocinas inflamatórias, como a IL-6 e TNF- α , e pode ocorrer tanto na camada íntima como na média. No caso de a calcificação ocorrer na camada íntima, poderá dar-se uma obstrução arterial e ruptura das placas ateroscleróticas. Em contraste, se a calcificação ocorrer na camada média, poderá conduzir a uma rigidez arterial (Durham *et al.*, 2018).

Num doente com DMT2, a elasticidade vascular é afetada, havendo uma diminuição da mesma, traduzindo-se assim numa rigidez arterial. Desta forma, dá-se um aumento da pressão arterial sistólica uma vez que o sistema arterial é mais rígido e o sangue é bombeado diretamente para esse sistema. Tudo isto conduz a um aumento do risco cardiovascular (Gajdova *et al.*, 2017; Christen *et al.*, 2010).

Por fim, existem também marcadores de rigidez arterial, nomeadamente a velocidade da onda de pulso ou *pulse wave velocity* (PWV). A PWV pode ser definida como sendo a rapidez com que a onda (de pressão, distensão ou fluxo) é transmitida desde a aorta através da árvore vascular (Christen *et al.*, 2010). Este marcador, em doentes com DMT2, está significativamente elevado. Tal acontece aquando de um estado de metabolismo da glicose diminuído, ou seja, quando há uma diminuição de tolerância à glicose, havendo um estado de hiperglicémia. Além disso, também com o aumento do marcador inflamatório hsCRP, o PWV também aumenta. Tal demonstra que o processo inflamatório contribui diretamente para o aumento da rigidez arterial (Gajdova *et al.*, 2017).

1.5. Terapêutica

Após o diagnóstico da DM deve iniciar-se o tratamento de forma a atrasar a progressão da doença e oferecer ao doente uma maior qualidade de vida. O objetivo da terapêutica da DM é regular a glicémia e promover a ação da insulina produzida pelo pâncreas. Além do tratamento farmacológico, torna-se igualmente importante incutir aos doentes um estilo de vida mais saudável, o qual inclui uma dieta saudável, atividade física regular, cessação tabágica e manutenção do peso corporal (International Diabetes Federation, 2021).

Nesta dissertação serão abordadas algumas classes farmacológicas, como biguanidas, nomeadamente a metformina, tiazolidinedionas, insulinoaterapia, agonista do recetor GLP-1, inibidores da dipeptidil peptidase-4 (DPP-4) e inibidores do co-transportador tipo 2 de sódio e glicose (SGLT2). No entanto, além destas classes farmacológicas, existem outras terapêuticas para a DM, tais como sulfuniloreias, glinidas e inibidores da α -glucosidase.

1.5.1. Metformina

A metformina (MET) pertence à classe farmacológica das biguanidas. Este fármaco oral, com atividade hipoglicemiante, é um dos mais populares na maioria dos países, sendo usado como uma das primeiras terapêuticas em indivíduos recentemente diagnosticados com DMT2 (Sanchez-Rangel e Inzucchi, 2017).

A MET foi primeiramente sintetizada em 1921, a partir de um derivado de guanidina, por dois investigadores irlandeses, Emil Werner e James Bell. No entanto, a molécula foi abandonada e apenas 30 anos depois, é que um médico francês, Jean Stern, se dedicou às propriedades anti-hiperglicémicas da MET. Posteriormente, face às evidências das propriedades nas pessoas com DMT2, em 1957, a MET foi introduzida como fármaco em alguns países da Europa e, em 1994, foi aprovada nos USA (Sanchez-Rangel e Inzucchi, 2017).

A ação hipoglicemiante da MET é exercida por variados mecanismos, sendo que os mesmos não estão totalmente estabelecidos. Um dos principais mecanismos relatados é o efeito ao nível hepático, atuando, sobretudo, na moderação da gluconeogénese. Além disso promove a redução da glicogenólise. A MET também aumenta a captação da glicose ao nível muscular e tecido adiposo e induz um atraso no consumo da glicose ao nível intestinal. Por fim, demonstrou-se que este fármaco aumenta os níveis circulantes e a sensibilidade à ação do *glucagon-like peptide-1* (GLP1) e contraria diretamente a sinalização do glucagon (Nunes, 2014).

Apesar de ser um fármaco com mais de 50 anos de prática clínica, a eficácia da MET tem sido demonstrada tanto em regime de monoterapia como combinada com outras classes farmacológicas para o DMT2. A MET tem grande efetividade no que se refere a promover uma descida da glicémia, sendo um fármaco relativamente barato, tendo, ainda, um bom perfil de segurança e um efeito cardioprotetor (Sanchez-Rangel e Inzucchi, 2017).

Além destes efeitos, sabe-se também que a MET através da inibição da via PKC, reduz o stress oxidativo e tem efeitos antiproliferativos nas VSMCs, reduzindo a formação de placas ateroscleróticas. Por outro lado, também promove uma melhoria da função endotelial. Também ao nível dos marcadores inflamatórios, como é o caso de hsCRP, a MET tem efeitos favoráveis (Molavi *et al.*, 2007).

1.5.2. Insulinoterapia

A insulinoterapia (IT) é uma das principais terapêuticas da DMT2. É considerada uma opção quando a terapêutica não farmacológica, como a dieta e o exercício físico, não é suficiente.

Pode ser usada em monoterapia ou combinada com antidiabéticos orais (Direção Geral da Saúde, 2011).

A insulina foi descoberta há cerca de 100 anos atrás, sendo, na altura o único fármaco disponível para o tratamento da DM. Assim que foi descoberta, a IT passou a estar largamente disponível para os doentes diabéticos, como forma de manutenção do controlo metabólico, promovendo uma vida dita normal (Moghissi, 2013).

Estudos têm mostrado que glicotoxicidade leva a uma diminuição da função das células β pancreáticas, assim como a perda da sua massa, desta forma, a IT tem sido considerada um tratamento para a DMT2. Assim, é necessário atuar cedo, de forma a que a produção de insulina seja preservada, permitindo ao doente uma menor exposição a níveis de glicémia elevados, que, por sua vez, poderão agravar o risco de complicações (Melo e Medina, 2009).

A IT também tem ação na disfunção endotelial. Através do aumento da produção de NO via PI(3)K, dá-se uma melhoria do FMD e da resposta à ACh (Hamilton, Chew e Watts, 2007).

1.5.3. Tiazolidinedionas

As tiazolidinedionas (TZDs) ou glitazonas são agonistas seletivos do recetor gama ativados por proliferador de peroxissomas (PPAR- γ). São consideradas o tratamento de segunda linha da DMT2 quando a prioridade de tratamento é diminuir o risco de hipoglicemia (Hurren e Dunham, 2021).

Os recetores acima referidos modulam a transcrição de diversos genes que estão envolvidos no metabolismo da glicose e dos lípidos. A estimulação dos PPAR- γ leva a uma diminuição da glicose através do aumento da sensibilidade à insulina. Além desta função, a ativação dos PPAR- γ nos adipócitos leva a uma diminuição dos níveis de citocinas inflamatórias, como o TNF- α e hsCRP, e dos ácidos gordos, assim como o aumento da adiponectina. Todos estes efeitos das TZDs melhoram a sensibilidade à insulina (Hurren e Dunham, 2021).

As TZDs, particularmente a pioglitazona, melhoram a função endotelial, nomeadamente ao nível da % de FMD. Além disso, este fármaco conduz a uma redução da expressão de VCAM-1, o que pode levar à prevenção de formação de placas (Molavi *et al.*, 2007).

Em 1975, no Japão, foram sintetizados análogos de clorfibrato, de forma a descobrir mais fármacos potencialmente hipoglicemiantes. No ano de 1982, foi desenvolvida a primeira TZD,

a ciglitazona. A esta classe de fármacos pertencem a pioglitazona (PIO), rosiglitazona (RSG) e a troglitazona (TRO), por exemplo (Nanjan *et al.*, 2018).

A TRO foi retirada do mercado em 2000, pela FDA, devido a hepatotoxicidade grave. Entretanto, foram aprovados dois novos sensibilizadores de insulina, a PIO e a RSG. Constatou-se que o seu uso era seguro para o sistema hepático. No entanto, em 2001, foram reportadas algumas preocupações em relação à RSG, nomeadamente a indução de enfartes do miocárdio devido à retenção de líquidos, sendo que, em 2011, a sua suspensão foi recomendada. Por sua vez, relativamente à PIO, foi relatado que este fármaco tem um efeito cardioprotetor modesto. No entanto, apresenta algum risco de desenvolvimento de cancro da bexiga (Nanjan *et al.*, 2018).

1.5.4. Inibidores do SGLT2

Os inibidores SGLT2 (iSGLT2) são uma das classes farmacológicas mais recentes no tratamento da DM.

A florizina, que surgiu em 1835, foi o primeiro inibidor natural SGLT que tinha uma alta afinidade e uma atividade inibitória competitiva para SGLT1 e SGLT2. Inicialmente este composto apenas era usado para o tratamento de febre, malária e outras infeções, descobrindo-se também que a florizina causava glicosúria. Ao longo dos tempos, foram desenvolvidos análogos de florizina com diferente seletividade para SGLT. Nos dias de hoje, existem quatro análogos, aprovados pela FDA e pela EMA, com maior seletividade para o SGLT2 do que para SGLT1, nomeadamente a canagliflozina (CANA), dapagliflozina (DAPA), empagliflozina (EMPA) e a ertugliflozina (ERTU) (Tentolouris *et al.*, 2019).

Os iSGLT2 bloqueiam a absorção de glicose através do filtrado glomerular no tubo contornado proximal. Esta absorção de glicose, neste local, é mediada pelo SGLT2 (Duarte, Melo e Silva Nunes, 2018). Havendo uma diminuição da glicémia, dá-se uma melhoria do estado de glucotoxicidade presente na DM2, que, conseqüentemente, melhora a função das células β e aumenta a sensibilidade à insulina. Além disso, estes fármacos promovem uma supressão de transporte de sódio, havendo assim uma redução da pressão arterial (DeFronzo *et al.*, 2015).

Estes fármacos têm outros efeitos para além dos mencionados anteriormente, como promover uma melhoria do grau de inflamação promovida pela DM2, através da diminuição

dos níveis de TNF- α e da IL-6. Além disso, também os iSGLT2 têm efeitos ao nível da rigidez arterial e na função endotelial, melhorando ambas (Scheen, 2020; Tentolouris *et al.*, 2019).

1.5.5. Agonista do recetor do GLP-1

Tal como os iSGLT2, também o agonista do recetor do GLP-1 (arGLP-1) são das classes farmacológicas mais recentes para o tratamento da DM.

As moléculas que deram origem a este fármaco foram desenvolvidas tendo por base a estrutura de um peptídeo salivar, o GLP-1 humano, cujas propriedades biológicas refletem as modificações estruturais principais na sequência de aminoácidos. Estas alterações conferem resistência à degradação do GLP-1 provocada pela enzima DPP-4 aumentando o tempo de meia-vida, que, por sua vez, varia entre as 2-3 horas e vários dias (Brown *et al.*, 2021; Carvalho *et al.*, 2016).

Dentro desta classe farmacológica, arGLP-1, existem os fármacos de curta e longa duração. Os de curta duração, exenatido (EXE) e lixisenatido, foram aprovados pela FDA em 2005 e 2016, respetivamente. Os de longa duração, liraglutido (LIRA), exenatido de libertação prolongada, dulaglutido e semaglutido, foram aprovados pela FDA em 2010, 2012, 2014 e 2017, respetivamente. Todos estes fármacos estão disponíveis sob a forma de administração injetável subcutânea, embora tenha sido aprovada, em 2019, uma formulação oral do semaglutido (Brunton e Wysham, 2020; Duarte, Melo e Silva Nunes, 2018).

Os arGLP-1 mimetizam os efeitos do GLP-1, estimulando o recetor do GLP-1. Desta forma, há um aumento da secreção de insulina pelas células β pancreáticas em resposta ao aumento das concentrações de glicose, há também uma preservação da função das células β e a estimulação da sua neogénese. Por outro lado, dá-se também uma inibição da secreção de glucagon produzido pelas células α pancreáticas, promovendo assim a homeostase no controlo glicémico (Brown *et al.*, 2021; Carvalho *et al.*, 2016; DeFronzo *et al.*, 2014).

Como dito anteriormente, esta classe farmacológica pode ser classificada em agentes de curta duração ou longa duração. Os agentes de curta duração reduzem a glicose pós-prandial através do atraso do esvaziamento gástrico, enquanto os agentes de longa duração são mais vantajosos que os anteriores no que se refere às flutuações da concentração de fármaco no plasma, à tolerabilidade intestinal e à posologia (Brunton e Wysham, 2020).

Além disso, há também efeitos cardiovasculares provocados por estes fármacos, tais como a redução da pressão arterial e efeitos anti-ateroscleróticos (Carvalho *et al.*, 2016).

No que se refere ao endotélio vascular, os arGLP-I são efetivos na redução da expressão de moléculas de adesão (VCAM-I) e têm uma atividade anti-inflamatória, havendo uma redução de marcadores inflamatórios, como a hsCRP. Além disso, também demonstram uma melhoria significativa da % de FMD. No que se refere à cIMT, os arGLP-I demonstram atenuar a aterosclerose (Seufert e Gallwitz, 2014).

1.5.6. Inibidores da DPP-4

Os inibidores da DPP-4 são uma classe farmacológica relativamente recente, tendo sido descoberta em 1996. Sabe-se que o GLP-I é um substrato da enzima DPP-4 e que, tanto a nível endógeno como exógeno, este peptídeo é degradado em poucos minutos pela enzima referida. Desta forma, percebeu-se que era necessária uma intervenção que levasse a uma diminuição da degradação do GLP-I, que, por sua vez, conduz a um melhor controlo glicémico. Logo se percebeu que a solução estaria em inibir a DPP-4, surgindo assim os iDPP-4 (Deacon, 2020).

Por si, os iDPP-4 não têm um efeito direto na diminuição dos níveis de glicose. O principal alvo desta classe farmacológica, tal como o nome indica, é a enzima DPP-4. Com a inibição desta enzima, dá-se uma maior potenciação do peptídeo GLP-I. Desta forma, dá-se uma melhoria na disfunção das células pancreáticas α , que intervêm na libertação de glucagon, e células β , envolvidas na secreção de insulina. Como resultado, há uma diminuição da produção hepática de glicose. Além disso, há uma diminuição da taxa de esvaziamento gástrico que, por sua vez, promove uma diminuição da hiperglicémia pós-prandial (Deacon, 2020; Duarte, 2017).

Com o passar do tempo, foram desenvolvidos fármacos da família da classe farmacológica em questão, como, por exemplo, a sitagliptina (SITA), vildagliptina (VILDA) e linagliptina (LINA). Estes fármacos diferem entre eles no tempo de meia-vida e biodisponibilidade, sendo que a vildagliptina é a que tem menor tempo de meia-vida (~2h) e a linagliptina menor biodisponibilidade (~30%) (Deacon, 2020).

Além das propriedades mencionadas acima, os iDPP-4 promovem uma diminuição da progressão da cIMT, melhoram a disfunção endotelial através da estimulação de produção de NO. Por outro lado, a expressão de moléculas de adesão, como VCAM-I e ICAM-I, também

é inibida, assim como os níveis dos marcadores inflamatórios IL-6, TNF- α e hsCRP, demonstrando a atividade anti-inflamatória dos iDPP-4 (Liu *et al.*, 2020).

2. OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

Tal como mencionado anteriormente, a DMT2 encontra-se associada a complicações macro- e microvasculares resultantes de alterações funcionais e estruturais ao nível dos vasos sanguíneos. Além da avaliação do efeito benéfico dos agentes terapêuticos a nível do controlo glicémico, torna-se também importante avaliar o seu benefício do ponto de vista vascular, de forma a prever a incidência de complicações vasculares, as quais se correlacionam com eventos cardiovasculares. Neste contexto, as recomendações terapêuticas mais recentes (Duarte, Melo e Silva Nunes, 2018) incluíram um algoritmo distinto para indivíduos diabéticos com doença aterosclerótica, doença renal crónica ou insuficiência cardíaca concomitante, evidenciando a importância de considerar a componente vascular na abordagem terapêutica.

Assim, o objetivo primordial deste trabalho é o de realizar uma revisão sistemática e meta-análise comparativa dos efeitos dos diversos agentes terapêuticos já abordados (MET, IT, TZDs, iSGLT2, arGLP-1 e iDPP-4) em regime de monoterapia na saúde vascular de doentes com DMT2. Na ausência de um parâmetro clínico único validado e indicativo da saúde vascular, optámos pela inclusão de diversos marcadores vasculares e inflamatórios com vista a obter uma perspetiva mais completa.

3. MÉTODOS

3. MÉTODOS

A presente revisão sistemática e meta-análise foi realizada de acordo com as orientações *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) 2020* (Page et al., 2021), tendo sido registada no PROSPERO com o identificador CRD42022347313. Todas as linhas orientadoras foram seguidas e os resultados foram apresentados de acordo com os pressupostos da declaração PRISMA, a qual consiste numa lista de verificação constituída por 27 itens e por um diagrama de fluxo (Page et al., 2021). Neste trabalho, incluímos análises comparativas entre os diversos agentes terapêuticos (antidiabéticos orais e insulina), sendo a metodologia de meta-análise utilizada sempre que possível.

3.1. Questão de investigação e Critérios de Elegibilidade

Considerando os objetivos do trabalho e de acordo com a estratégia PICO (População, Intervenção, Comparador e Resultado ou *Outcome*) formulámos a seguinte questão de investigação: qual o benefício do ponto de vista vascular, medido em termos de marcadores vasculares e inflamatórios, dos agentes antidiabéticos orais e insulina em indivíduos diabéticos tipo 2 (Tabela 1).

Tabela 1. Estratégia PICO utilizada para avaliação da literatura.

Parâmetro	Avaliação
População (P)	Doentes com DMT2 ou síndrome metabólico
Intervenção (I)	MET vs IT; MET vs TZD; MET vs iSGLT2; MET vs arGLP-1; MET vs iDPP-4; IT vs TZD; IT vs iSGLT2; IT vs arGLP-1; IT vs iDPP-4; TZD vs iSGLT2; TZD vs arGLP-1; TZD vs iDPP-4; iSGLT2 vs arGLP-1; iSGLT2 vs iDPP-4 e arGLP-1 vs iDPP-4
Comparador (C)	Outros fármacos
Outcomes (O)	Marcadores de função vascular (FMD, NPS, ACh), marcadores de aterosclerose subclínica (cIMT, ScCA), marcadores de rigidez arterial (PWV), marcadores de ativação endotelial (ICAM-1 e VCAM-1) e marcadores inflamatórios (hsCRP, TNF- α , IL-6, IL-1 β)

Assim foram aplicados os seguintes critérios de elegibilidade:

Critérios de inclusão:

- estudos cuja população corresponde a doentes com DMT2 ou síndrome metabólico (SM);
- estudos que avaliam a intervenção em regime de monoterapia de MET vs IT; MET vs TZD; MET vs iSGLT2; MET vs arGLP-1; MET vs iDPP-4; IT vs TZD; IT vs iSGLT2; IT vs

arGLP-1; IT vs iDPP-4; TZD vs iSGLT2; TZD vs arGLP-1; TZD vs iDPP-4; iSGLT2 vs arGLP-1; iSGLT2 vs iDPP-4 e arGLP-1 vs iDPP-4;

- estudos que avaliam os efeitos ao nível de marcadores de função vascular (FMD, NPS, ACh), ao nível dos marcadores de aterosclerose subclínica (cIMT, Score De Cálcio Coronário Arterial - ScCA) ao nível de marcadores de rigidez arterial (PWV), de marcadores de ativação endotelial (ICAM-1 e VCAM-1) e de marcadores inflamatórios (hsCRP, TNF- α , IL-6, IL-1 β);
- Ensaio clínico prospectivo com desenho paralelo ou fatorial que permita a comparação direta entre dois agentes antidiabéticos isolados.

Crítérios de exclusão:

- estudos cuja população não corresponda apenas a doentes com DMT2 ou SM, de forma a homogeneizar a população incluída;
- estudos que apenas incluam marcadores de risco cardiovascular, como pressão arterial, colesterol total, HDL e LDL, tabagismo, etc, pois o nosso estudo foca-se no efeito ao nível de marcadores vasculares e inflamatórios específicos;
- estudos que apenas contenham *outcomes* relacionados com avaliação da diabetes;
- estudos que não avaliam comparativamente os fármacos em causa ou avaliam o efeito apenas da terapêutica combinada (exemplo: metformina+insulina ou metformina+glitazonas);
- estudos cuja apresentação de resultados seja incompleta (exemplo: dados apenas apresentados sob a forma de gráfico, não indicação de unidades de grandeza), não permitindo a quantificação do efeito;
- estudos que contenham comparações por género, pois pretende-se efetuar uma comparação global;
- estudos cujo artigo completo não foi possível ser obtido;
- artigos não escritos em língua portuguesa ou língua inglesa.

3.2. Estratégia de pesquisa

A pesquisa bibliográfica foi realizada entre dezembro de 2021 e maio de 2022. Para o efeito, foram consultadas as seguintes bases de dados: MEDLINE via Pubmed (pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/), Science Direct (www.sciencedirect.com/) e ClinicalTrials.gov (clinicaltrials.gov/). A elegibilidade dos estudos foi avaliada por dois revisores independentes,

tendo sido consultado um terceiro revisor em caso de incertezas ou discordâncias, sendo tomada uma decisão por consenso.

Os estudos foram inicialmente selecionados com base no título e resumo e de acordo com o objetivo (comparação do efeito de agentes antidiabéticos em marcadores vasculares e inflamatórios em indivíduos com DM2) e tipo de publicação (ensaios clínicos randomizados). Realizou-se ainda uma pesquisa manual com base na lista de bibliografia de estudos considerados relevantes. A gestão bibliográfica foi realizada com recurso ao Mendeley[®] v.1.19.8 (Mendeley Ltd, Londres, Reino Unido).

A pesquisa bibliográfica foi feita tendo em conta diversos termos, desde os nomes dos fármacos bem como a combinação de termos MeSH e termos livres para diversas bases de dados já enunciadas. Tendo em conta as especificidades de cada base de dados, apresentam-se de seguida as estratégias de pesquisa utilizadas.

Relativamente à MEDLINE via PubMed, foi utilizada a seguinte equação de pesquisa:

((("Metformin"[Mesh] AND "Insulin"[Mesh]) OR ("Metformin"[Mesh] AND "Thiazolidinediones"[Mesh]) OR ("Thiazolidinediones"[Mesh] AND "Insulin"[Mesh]) OR ("Thiazolidinediones"[Mesh] AND "Dipeptidyl-Peptidase IV Inhibitors"[Mesh]) OR ("Metformin"[Mesh] AND "Sodium-Glucose Transporter 2 Inhibitors"[Mesh]) OR ("Metformin"[Mesh] AND "Glucagon-Like Peptide 1"[Mesh]) OR ("Metformin"[Mesh] AND "Dipeptidyl-Peptidase IV Inhibitors"[Mesh]) OR ("Insulin"[Mesh] AND "Sodium-Glucose Transporter 2 Inhibitors"[Mesh]) OR ("Insulin"[Mesh] AND "Dipeptidyl-Peptidase IV Inhibitors"[Mesh]) OR ("Insulin"[Mesh] AND "Glucagon-Like Peptide 1"[Mesh]) OR ("Thiazolidinediones"[Mesh] AND "Sodium-Glucose Transporter 2 Inhibitors"[Mesh]) OR ("Thiazolidinediones"[Mesh] AND "Glucagon-Like Peptide 1"[Mesh]) OR ("Dipeptidyl-Peptidase IV Inhibitors"[Mesh] AND "Glucagon-Like Peptide 1"[Mesh]) OR ("Sodium-Glucose Transporter 2 Inhibitors"[Mesh] AND "Glucagon-Like Peptide 1"[Mesh]) OR ("Sodium-Glucose Transporter 2 Inhibitors"[Mesh] AND "Dipeptidyl-Peptidase IV Inhibitors"[Mesh])) AND ("Diabetes Mellitus, Type 2"[Mesh]) AND ("Vasodilation"[Mesh] OR "Endothelial Function" OR "Acetylcholine-Induced Relaxation" OR "Flow-Mediated Vasodilation" OR "Carotid Intima-Media Thickness" OR "Nitroprusside"[Mesh] OR "Tumor Necrosis Factor-Alpha"[Mesh] OR "Endothelial Progenitor Cells"[Mesh] OR "Interleukin-6"[Mesh] OR "C-Reactive Protein"[Mesh] OR "Cell Adhesion Molecules"[Mesh] OR "Carotid-Femoral Pulse Wave Velocity"[Mesh] OR "Coronary Artery Calcium Score").

A estratégia de pesquisa na base de dados ScienceDirect encontra-se detalhada nas seguintes equações. As equações de pesquisa foram divididas por comparação de classes farmacológicas, visto que na base de dados em causa, apenas é permitido o uso de 8 operadores booleanos. Além disso, os resultados foram filtrados tendo em conta apenas os “Research Articles”.

1. ((Metformin AND Thiazolidinediones) AND diabetes *Mellitus* type 2) AND (Endothelial function OR flow-mediated vasodilation OR carotid intima-media thickness OR inflammation OR Carotid-Femoral Pulse Wave Velocity OR Coronary Artery Calcium Score).
2. ((Metformin AND Insulin) AND diabetes *Mellitus* type 2) AND (Endothelial function OR flow-mediated vasodilation OR carotid intima-media thickness OR inflammation OR Carotid-Femoral Pulse Wave Velocity OR Coronary Artery Calcium Score).
3. ((Metformin AND Sodium-Glucose Transporter 2 Inhibitors) AND diabetes *Mellitus* type 2) AND (Endothelial function OR flow-mediated vasodilation OR carotid intima-media thickness OR inflammation OR Carotid-Femoral Pulse Wave Velocity OR Coronary Artery Calcium Score).
4. ((Metformin AND Glucagon-Like Peptide 1) AND diabetes *Mellitus* type 2) AND (Endothelial function OR flow-mediated vasodilation OR carotid intima-media thickness OR inflammation OR Carotid-Femoral Pulse Wave Velocity OR Coronary Artery Calcium Score).
5. ((Metformin AND Dipeptidyl-Peptidase IV Inhibitors) AND diabetes *Mellitus* type 2) AND (Endothelial function OR flow-mediated vasodilation OR carotid intima-media thickness OR inflammation OR Carotid-Femoral Pulse Wave Velocity OR Coronary Artery Calcium Score).
6. ((Insulin AND Thiazolidinediones) AND diabetes *Mellitus* type 2) AND (Endothelial function OR flow-mediated vasodilation OR carotid intima-media thickness OR inflammation OR Carotid-Femoral Pulse Wave Velocity OR Coronary Artery Calcium Score).
7. ((Insulin AND Sodium-Glucose Transporter 2 Inhibitors) AND diabetes *Mellitus* type 2) AND (Endothelial function OR flow-mediated vasodilation OR carotid intima-media thickness OR inflammation OR Carotid-Femoral Pulse Wave Velocity OR Coronary Artery Calcium Score).
8. ((Insulin AND Glucagon-Like Peptide 1) AND diabetes *Mellitus* type 2) AND (Endothelial function OR flow-mediated vasodilation OR carotid intima-media thickness OR

- inflammation OR Carotid-Femoral Pulse Wave Velocity OR Coronary Artery Calcium Score).
9. ((Insulin AND Dipeptidyl-Peptidase IV Inhibitors) AND diabetes *Mellitus* type 2) AND (Endothelial function OR flow-mediated vasodilation OR carotid intima-media thickness OR inflammation OR Carotid-Femoral Pulse Wave Velocity OR Coronary Artery Calcium Score).
 10. ((Thiazolidinediones AND Sodium-Glucose Transporter 2 Inhibitors) AND diabetes *Mellitus* type 2) AND (Endothelial function OR flow-mediated vasodilation OR carotid intima-media thickness OR inflammation OR Carotid-Femoral Pulse Wave Velocity OR Coronary Artery Calcium Score).
 11. ((Thiazolidinediones AND Glucagon-Like Peptide 1) AND diabetes *Mellitus* type 2) AND (Endothelial function OR flow-mediated vasodilation OR carotid intima-media thickness OR inflammation OR Carotid-Femoral Pulse Wave Velocity OR Coronary Artery Calcium Score).
 12. ((Thiazolidinediones AND Dipeptidyl-Peptidase IV Inhibitors) AND diabetes *Mellitus* type 2) AND (Endothelial function OR flow-mediated vasodilation OR carotid intima-media thickness OR inflammation OR Carotid-Femoral Pulse Wave Velocity OR Coronary Artery Calcium Score).
 13. ((Sodium-Glucose Transporter 2 Inhibitors AND Glucagon-Like Peptide 1) AND diabetes *Mellitus* type 2) AND (Endothelial function OR flow-mediated vasodilation OR carotid intima-media thickness OR inflammation OR Carotid-Femoral Pulse Wave Velocity OR Coronary Artery Calcium Score).
 14. ((Sodium-Glucose Transporter 2 Inhibitors AND Dipeptidyl-Peptidase IV Inhibitors) AND diabetes *Mellitus* type 2) AND (Endothelial function OR flow-mediated vasodilation OR carotid intima-media thickness OR inflammation OR Carotid-Femoral Pulse Wave Velocity OR Coronary Artery Calcium Score).
 15. ((Glucagon-Like Peptide 1 AND Dipeptidyl-Peptidase IV Inhibitors) AND diabetes *Mellitus* type 2) AND (Endothelial function OR flow-mediated vasodilation OR carotid intima-media thickness OR inflammation OR Carotid-Femoral Pulse Wave Velocity OR Coronary Artery Calcium Score).

Por fim, a estratégia de pesquisa utilizada no ClinicalTrials.gov encontra-se detalhada na seguinte tabela, tendo os resultados sido filtrados por “Completed”.

Tabela 2. Estratégia de pesquisa em ClinicalTrials.gov.

Condition or disease	Diabetes <i>Mellitus</i> , Type 2
Other terms	Vasodilation OR Endothelial function OR acetylcholine-induced relaxation OR flow-mediated vasodilation OR carotid intima-media thickness OR Nitroprusside OR Tumor Necrosis Factor-alpha OR Endothelial Progenitor Cells OR Interleukin-6 OR C-Reactive Protein OR Cell Adhesion Molecules OR Carotid-Femoral Pulse Wave Velocity OR Coronary Artery Calcium Score
Intervention	Metformin OR Insulin OR Thiazolidinediones OR Sodium-Glucose Transporter 2 Inhibitors OR Glucagon-Like Peptide I OR Dipeptidyl-Peptidase IV Inhibitors

3.3. Colheita de dados

Após a avaliação da elegibilidade, foram colhidos os seguintes dados de cada estudo incluído:

- Referência bibliográfica e ano de publicação;
- Tipo de estudo;
- Tipo de população, que inclui a doença da população em estudo, o tempo desde o diagnóstico e se a população fora sujeita a tratamento prévio;
- Duração do estudo;
- Dados sobre o período de *run-in* (medidas farmacológicas e não farmacológicas implementadas e duração);
- Intervenção, que inclui a comparação entre os fármacos acima mencionados;
- *Outcomes*:
 - Marcadores de função vascular: ACh (mL/min/dL); NPS (mL/min/dL); FMD (%);
 - Marcadores de aterosclerose subclínica: cIMT (mm); ScCA (%);
 - Marcadores de rigidez arterial: PWV (m/s);
 - Marcadores de ativação endotelial: VCAM-1 (ng/mL) e ICAM-1 (ng/mL);
 - Marcadores Inflamatórios: hsCRP (mg/L); TNF- α (pg/mL); IL-6 (pg/mL) e IL-1 β (pg/mL).

3.4. Risco de viés

De cada vez que a pesquisa na literatura publicada não apresenta a totalidade dos estudos concluídos, está-se perante um viés de publicação. Este tem um destaque na revisão sistemática e meta-análise, uma vez que, no caso da amostra ser tendenciosa, a validade dos resultados é posta em causa (Rothstein, Sutton e Borenstein, 2006). Para a análise do risco de viés, foi

utilizada a ferramenta *Risk of Bias tool (Rob 2) for Parallel- Randomized trials*, que se pode encontrar no seguinte URL: <https://www.riskofbias.info/welcome/rob-2-0-tool>.

Para se estudar o risco de viés dos estudos presentes na dissertação, foram avaliados vários domínios, como se pode observar na Tabela 3 (Sterne et al., 2019).

Tabela 3. Domínios estudados para avaliar o risco de viés.

Domínio	Descrição
Natureza do efeito de interesse	Existem duas opções neste domínio, a intenção de tratar ou o efeito protocolo. Nesta dissertação, foi considerada a intenção de tratar.
Viés devido ao processo de aleatorização	No caso da aleatorização ser feita de forma correta, a influência de fatores de prognóstico conhecidos ou desconhecidos, tais como fatores preditores da gravidade da doença ou da presença de comorbidades associadas, é evitada. Se estes fatores promoverem uma influência os grupos de intervenção, o efeito que é estimado, poderá ser alterado. Isto é uma das principais causas de potenciais viés.
Viés devido a desvios das intervenções pretendidas	Este domínio relaciona-se com os vieses que surgem quando de desvios da intervenção que se pretende, tais como administrações das intervenções inconsistentes com o protocolo do estudo, falhas nas implementações das intervenções ou a não adesão dos participantes.
Viés devido a dados de <i>outcomes</i> ausentes	Com a aleatorização, há uma comparação justa entre os grupos de intervenção, equilibrando, assim, a distribuição dos fatores de prognóstico conhecidos e desconhecidos. No caso de haver desistências ou medições ausentes nos estudos, poderá surgir um viés na estimativa do efeito da intervenção.
Viés na medição do <i>outcome</i>	Quando existem erros na medição dos <i>outcomes</i> em estudo, ou seja, quando os valores medidos não são iguais aos valores verdadeiros, as estimativas do efeito da intervenção de um estudo randomizado poderão ser influenciadas.
Viés na seleção do resultado obtido	Este domínio refere-se ao viés que surge quando o resultado é selecionado de entre as várias estimativas do efeito da intervenção calculadas pelos investigadores.
Viés global	Após a avaliação de todos os domínios acima descritos, é feito um julgamento de risco de viés, que ser classificado como viés “risco baixo”, “risco alto” ou com “algumas preocupações”.

3.5. Análise dos Dados

Todos os valores dos *outcomes*, referidos no subcapítulo 3.4., foram expressos na forma de média \pm desvio padrão (SD). No caso dos valores fornecidos pelos estudos, usados na elaboração desta dissertação, não estarem expressos na forma pretendida, foram efetuadas conversões, tendo em conta os preceitos estabelecidos no livro *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* consultado em https://handbook-5-1.cochrane.org/front_page.htm.

Em vários casos, os resultados estavam expressos na forma de média \pm SE, sendo SE o erro padrão. O SD pôde, então, ser obtido a partir do erro padrão (SE), através da seguinte fórmula: $SD = SE \times \sqrt{N}$, sendo N o número de indivíduos.

Por outro lado, valores de intervalo de confiança (95% CI) de médias também foram convertidos a SD. Nestes intervalos de confiança está presente um limite superior e inferior. O SD pode ser obtido utilizando a fórmula $SD = \frac{\text{Limite superior} - \text{Limite inferior}}{3.92} \times \sqrt{N}$. Com recurso a estas formas de conversão, foi possível expressar todos os resultados na forma de média \pm SD.

3.6. Meta-análise

A meta-análise é uma técnica analítica que têm como principal objetivo combinar resultados dos estudos em questão, de forma quantitativa, numa estimativa numérica. Esta resume todos os resultados individuais dos estudos (Harrer *et al.*, 2021).

Para se proceder a uma meta-análise é necessário encontrar um *effect size* que possa estar presente ao longo de todos os estudos. Este é definido como sendo uma métrica ou resultado quantitativo da relação entre duas entidades, tendo em conta a magnitude e direção da relação entre as entidades. Este *effect size* deve ser comparável e interpretável (Harrer *et al.*, 2021).

Existem dois modelos estatísticos para conjugar os dados de uma meta-análise, o modelo dos efeitos fixos (*fixed effects*) e dos efeitos aleatórios (*random effects*). Por um lado, o modelo dos efeitos fixos assume que há um *effect size* comum nos estudos em causa e as diferenças devem-se apenas a erros das amostras, ignorando-se assim a heterogeneidade entre os estudos. Por outro lado, o modelo dos efeitos aleatórios assume que não existe um *effect size* de interesse comum em todos os estudos, mas sim uma distribuição específica. Neste caso, são criados resultados combinados com um maior intervalo de confiança. Este modelo é utilizado quando a diversidade e a heterogeneidade estão presentes, distribuindo-se assim o peso de forma uniforme (Harrer *et al.*, 2021; Santos e Cunha, 2013). Este último modelo foi o utilizado na meta-análise da presente dissertação.

Conforme mencionado anteriormente, o modelo dos efeitos aleatórios permite calcular a distribuição do *effect size*, mesmo que os estudos apresentem heterogeneidade. Desta forma, uma meta-análise deve ter sempre em conta a variação da análise dos estudos, quantificando-se assim a heterogeneidade (Harrer *et al.*, 2021). Um dos testes para determinar a heterogeneidade é a estatística de I^2 de Higgins e Thompson. Este teste é definido como sendo a

percentagem de variabilidade no *effect size*. Quando o valor de I^2 é 0% significa que não existe heterogeneidade entre os estudos, por outro lado, no caso do valor de I^2 se aproximar de 50%, significa que cerca de metade das variações é devido à heterogeneidade de grupo. De uma forma geral, pode-se considerar que quando I^2 é de 25%, a heterogeneidade é baixa; I^2 é de 50%, a heterogeneidade é moderada e, por fim, I^2 é de 75%, a heterogeneidade é alta (Harrer et al., 2021).

É também necessário uniformizar os dados na mesma escala antes de serem combinados e, para tal, é usada a diferença de média padronizada (SMD). Esta é definida como sendo a diferença em termos de média, entre dois grupos. Expressa o tamanho do efeito de intervenção em cada estudo relativamente à variabilidade observada no estudo (Harrer et al., 2021).

Numa meta-análise, os resultados são apresentados sob a forma de um gráfico de floresta, *forest plot*. Este tipo de gráfico resume numa só figura todas as informações individuais dos estudos incluídos, nomeadamente as informações que se referem ao efeito/precisão do tratamento e a contribuição de cada estudo para a análise em causa. As linhas horizontais do gráfico representam o CI de um estudo primário que cumpriu os critérios definidos na revisão sistemática. Por outro lado, as linhas verticais marcam um efeito nulo. Os pontos que se encontram sobre as linhas horizontais representam o *odds ratio* (ou outra medida de associação) de cada estudo e o tamanho é proporcional ao peso individual do estudo. Quando ambas as linhas se cruzam, o 95% CI contém o valor 1, o que permite concluir que no estudo em causa o efeito do tratamento sobre a ocorrência do evento não é significativo (Santos e Cunha, 2013). Os dados, num gráfico de floresta, são organizados de acordo com o tratamento de efeito, ou seja, dos que apresentam uma SMD negativa para uma SMD positiva. Além disso, os gráficos de floresta também apresentam a heterogeneidade medida por I^2 , o peso e 95% CI.

Para efeitos de meta-análise, apenas foram incluídos estudos cuja informação estava completa, ou seja, onde foi possível a obtenção dos resultados expressos em média \pm SD e o número da amostra (N).

A meta-análise foi feita de acordo com as orientações do livro *Doing Meta-Analysis in R: A Hands-on Guide* (Harrer et al., 2021), disponível no seguinte URL: https://bookdown.org/MathiasHarrer/Doing_Meta_Analysis_in_R/ . O *software* usado foi o RStudio, versão Desktop 2022.07.1+554, disponível em <https://www.rstudio.com/>.

4. RESULTADOS E 8 = GCUSSÃO

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Seleção de Estudos Completos

Tal como ilustrado na Figura 1, após a pesquisa na base de dados PubMed, foram obtidos 238 artigos, a que se somaram 135 e 7878 resultados provenientes das bases de pesquisa ClinicalTrials.gov e ScienceDirect, respetivamente. Foram identificados um total de 8251 artigos, sendo removidos 4029 resultados duplicados. Desta forma, restou uma amostra de 4222 artigos potencialmente relevantes.

Após a colheita desta amostra, submeteu-se a mesma a um processo de revisão de títulos e resumos, tendo sido excluídos 4161 estudos. Foi feita a exclusão destes artigos, uma vez que os mesmos não correspondem à questão de pesquisa desta dissertação, não preenchendo, desta forma, os critérios de inclusão mencionados anteriormente.

Seguidamente, estes 61 estudos foram avaliados integralmente, tendo sido excluídos 33 artigos tendo por base os seguintes critérios: inclui outras doenças, para além de DMT2 e SM (n=1); não há comparação entre fármacos (n=3); a comparação é feita com tratamentos não incluídos na revisão sistemática (n = 4); tem em conta os valores de prevenção cardiovascular (n=4), como o HDL, LDL, perímetro da cintura; terapias combinadas (n=11), como é o caso da avaliação da terapia de metformina juntamente com pioglitazona; artigos de Revisão (n=6); não apresenta os *outcomes* pretendidos (n=4); comparação por género (n=1), apesar de haver uma avaliação dos marcadores em estudo e uma comparação destes marcadores tendo em conta o tratamento, é tida em conta a questão do género, ponto este que não é debatido nesta dissertação e dados incompletos no estudo (n=5). Excluídos então 39 artigos, foram utilizados 21 resultados para prosseguir com o estudo pretendido.

Acresce referir que após leitura integral dos 61 artigos, foram identificados 13 estudos, sendo que 6 deles foram excluídos devido a duplicação. Posteriormente, os títulos e resumos dos 7 estudos sobrantes foram avaliados. Da leitura integral, resultou 1 artigo, sendo que 6 dos resultados foram excluídos pelos mesmos motivos mencionados anteriormente e por dados incompletos.

Foram, por fim, selecionados e incluídos 22 estudos nesta dissertação, como ilustrado na Figura 1.

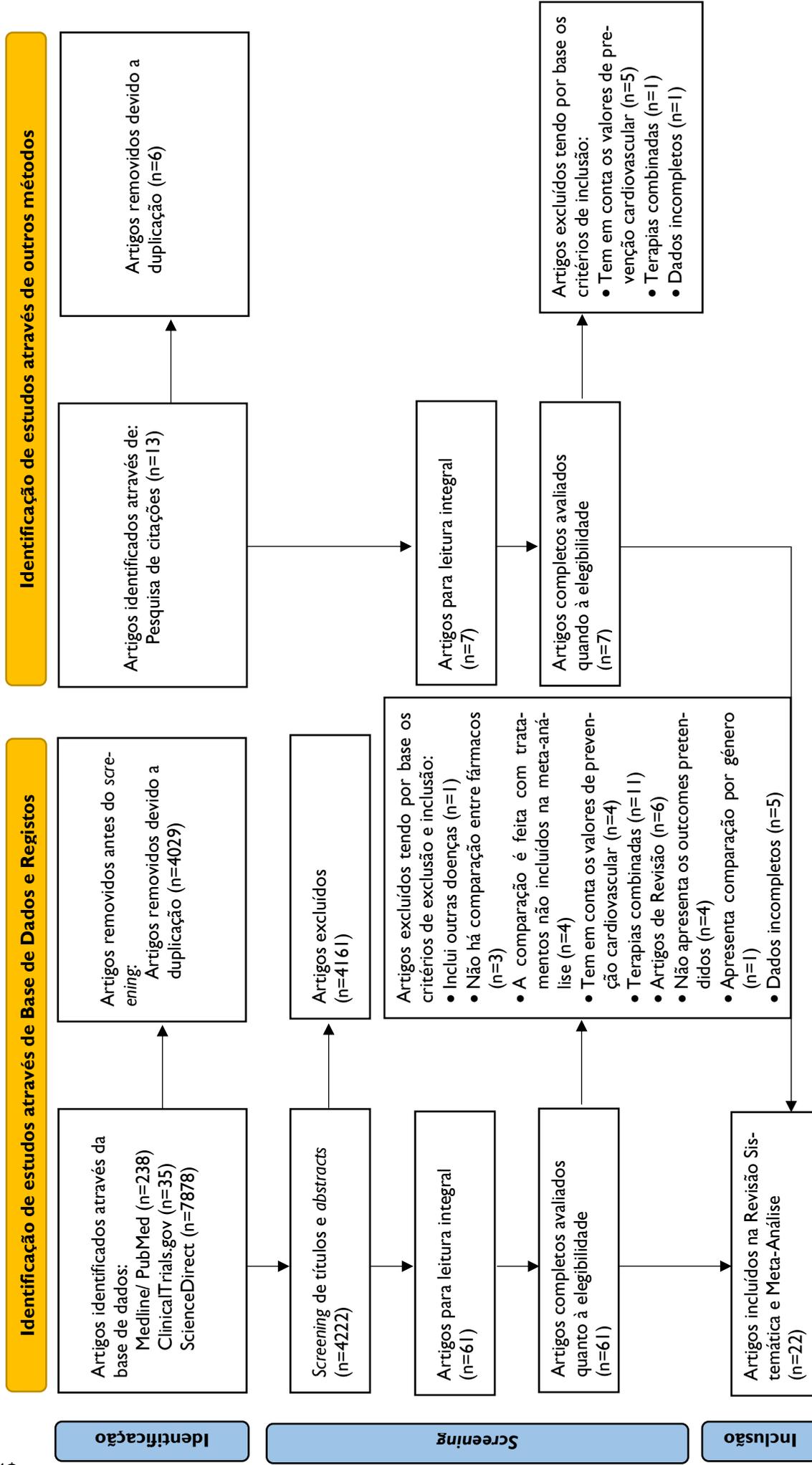


Figura 1. Fluxograma ilustrativo do processo de seleção de estudos.

4.2. Caracterização de Estudos

A amostra incluída, nesta dissertação, divide-se tendo em conta a comparação entre fármacos (Tabela 4). Como se pode observar, foram avaliadas diversas combinações de fármacos antidiabéticos, sendo que um dos estudos (Liu *et al.*, 2017) avaliou 3 intervenções (MET, PIO e SITA).

Tabela 4. Síntese dos estudos utilizados no trabalho (dados organizados por combinações terapêuticas).

Combinações de Fármacos	Número de Estudos	Referências
MET vs IT	3	Borowska <i>et al.</i> (2016); Mao <i>et al.</i> (2009); Pradhan <i>et al.</i> (2009)
MET vs TZD	10	Chu <i>et al.</i> (2002); Farah, Shurtz-Swirski e Lapin (2008); Fidan <i>et al.</i> (2011); Hanefeld <i>et al.</i> (2011); Kadoglou <i>et al.</i> (2010); Kato <i>et al.</i> (2009); Kim <i>et al.</i> (2007); Liu <i>et al.</i> (2017); Natali <i>et al.</i> (2004); Stocker <i>et al.</i> (2007)
MET vs iSGLT2	1	Cheng <i>et al.</i> (2021)
MET vs arGLP-I	1	Chen <i>et al.</i> (2018)
MET vs iDPP-4	2	Kitao <i>et al.</i> (2017); Liu <i>et al.</i> (2017)
IT vs TZD	1	Hartemann-Heurtier <i>et al.</i> (2009)
IT vs arGLP-I	2	Gurkan <i>et al.</i> (2014); Nomoto <i>et al.</i> (2015)
TZD vs iDPP-4	2	Liu <i>et al.</i> (2013); Liu <i>et al.</i> (2017)
arGLP-I vs iDPP-4	2	Ahmad <i>et al.</i> (2021); Hiramatsu <i>et al.</i> (2018)

Além de se ter tido em conta as comparações entre fármacos, foi tida em conta a avaliação dos *outcomes* de interesse nesta dissertação, nomeadamente dos marcadores de aterosclerose subclínica, marcadores de rigidez arterial, marcadores de ativação endotelial, marcadores de função vascular e, ainda, os marcadores inflamatórios. Na Tabela 5 estão apresentados os estudos e respetivos *outcomes*, e, ainda, a população, duração e intervenção dos diversos estudos.

Tabela 5. Síntese dos *outcomes* avaliados em cada estudo (dados organizados por combinações terapêuticas e ordem alfabética de autor).

Estudo	Sigla (n° de registro)	População (idade ^a)	Tratamento prévio	Tempo desde o diagnóstico	Duração da intervenção	Período <i>run-in</i> (duração)	Outcomes avaliados (método/ensaio)
Borowska et al. (2016)	-	Indivíduos caucasianos com DMT2 (35-88 anos)	Pelo menos 6 meses com MET, IT ou IT+MET	-	-	-	IL-6 e IL-1 β (citometria de fluxo)
Mao et al. (2009)	-	Indivíduos chineses com DMT2 (32-67 anos)	Sem tratamento prévio	Recente	2 meses	-	hsCRP (ensaio nefelométrico) e IL-6 (ELISA)
Pradhan et al. (2009)	LANCET (NCT00366301)	Indivíduos com DMT2, com níveis de glicemia subótimos (HbA1c: 7-10%) e hsCRP \geq 2mg/L (18-79 anos)	Não farmacológico ou sulfonilureia ou TZD isolada	-	3,5 meses	Avaliação da capacidade de medição da glicemia e de administração de insulina (2 semanas)	hsCRP (imunoturbidimetria) e IL-6 (ELISA)
MET vs TZDs							
Chu et al. (2002)	-	Indivíduos com DMT2 mal controlada, glicemia em jejum > 140mg/dL e HbA1c > 8,5% (56 \pm 2 anos)	Sulfonilureias	-	4 meses	Terapia oral existente alterada para glibenclamida 10mg 2i.d. (\geq 1 mês)	hsCRP (ensaio nefelométrico)
Farah, Shurtz-Swirski e Lapin (2008)	-	Indivíduos com DMT2 não tratada (30-65 anos)	Sem tratamento prévio	-	2 meses	-	hsCRP (ELISA)
Fidan et al., (2011)	-	Indivíduos com DMT2, glicemia em jejum > 120 mg/dL ou HbA1c > 7%	Sem tratamento prévio	-	3 meses	Otimização da dose e recomendações de dieta	ICAM-1, TNF- α e IL-6 (ELISA); hsCRP (-)
Hanefeld et al. (2011)	PIOCOMB	Indivíduos com DMT2 tratados com insulina (30-75 anos)	Tratamento com IT e com ou sem agentes orais, exceto TZDs (\geq 3 meses)	-	6 meses	Ajuste da insulina para glicemia em jejum \leq 7,8 mM e agentes orais descontinua-dos (2 semanas)	hsCRP (turbidimetria)
Kadoglou et al. (2010)	(NCT00373178)	Indivíduos com DMT2, HbA1c > 6,5% e IMC > 25kg/m ² (50-70 anos)	Tratamento com MET 850 mg/dia (\geq 4 meses)	-	3,5 meses	-	hsCRP (ensaio nefelométrico)

Kato <i>et al.</i> (2009)	-	Indivíduos japoneses com DMT2 e SM (51,4±15,2 / 58,6±12,4 anos)	-	Recente	3 meses	Dieta e atividade física (1 mês)	PWV (esfigmomanômetro eletrônico) e hsCRP (RIA)
Kim <i>et al.</i> (2007)	-	Indivíduos coreanos com DMT2 (30-70 anos)	Tratamento com sulfonilureias e/ou inibidores da α -glucosidase (≥ 3 meses)	≥ 5 anos	3 meses	Tratamentos prévios descontinuados, controle da glicemia com glibenclorida (4 semanas)	hsCRP (turbidimetria); TNF- α e IL-6 (ELISA)
Liu <i>et al.</i> (2017)	(ChiCTR-ORC-17010835)	Indivíduos com DMT2 (-)	-	1 a 5 anos	12 meses	-	cIMT (-) e IL-6 (ELISA)
Natali <i>et al.</i> (2004)	-	Indivíduos com DMT2, glicemia em jejum 7-15 mM, HbA1c $\leq 10\%$ (40-80 anos)	-	-	4 meses	Placebo (4 semanas)	Ach e NPS (pletismografia); hsCRP (turbidimetria); TNF- α e IL-6 (ELISA)
Stocker <i>et al.</i> (2007)	-	Indivíduos com DMT2, HbA1c $> 7\%$ (21-80 anos)	Dieta ou tratamento com sulfonilureia	-	6 meses	-	cIMT (ecografia) e hsCRP (turbidimetria)
MET vs iSGLT2							
Cheng <i>et al.</i> (2021)	-	Indivíduos japoneses com SM (média de aproximadamente 52 anos)	-	-	12 meses	-	hsCRP (-)
MET vs arGLP-1							
Chen <i>et al.</i> (2018)	-	Indivíduos chineses com DMT2 (33,97±5,67 anos)	-	-	2 meses	-	VCAM-1 e ICAM-1 (ELISA)
MET vs iDPP-4							
Kitao <i>et al.</i> (2017)	SAIS3	Indivíduos com DMT2, HbA1c 7-8,5% (20-75 anos)	Tratamento com MET (500-750 mg/dia, ≥ 4 semanas) em conjunto com exercício físico e dieta, com ou sem sulfonilureias ou glinidas	-	3 meses	-	FMD (ecografia) e hsCRP (ensaio nefelométrico)

Liu et al. (2017)	(ChiCTR-ORC-17010835)	Indivíduos com DMT2 (-)	-	1 a 5 anos	12 meses	-	cIMT (-) e IL-6 (ELISA)
IT vs TZDs							
Hartemann-Heurtier et al. (2009)	(NCT00159211)	Indivíduos com DMT2 mal controlada, HbA1c 7,5-9,5%, IMC ≥ 26 kg/m ² (62 \pm 10 / 58 \pm 10 anos)	Tratamento com doses estáveis e máximas de sulfonilureia e MET (≥ 6 meses)	-	6 meses	-	hsCRP (ensaio nefelométrico)
IT vs arGLP-1							
Gurkan et al. (2014)	-	Indivíduos com DMT2, HbA1c 7-9,5%, IMC 25-45 kg/m ² (40-70 anos)	Tratamento com MET 1g 2i.d. (≥ 2 meses)	-	6,5 meses	-	FMD (ecografia); hsCRP (turbidimetria); TNF- α e IL-6 (ELISA)
Nomoto et al. (2015)	SAIS2 (UMIN000005331)	Indivíduos japoneses com DMT2, HbA1c 7,4-10,5 % (60,3 \pm 10,3 anos)	O tratamento com ou sem MET, sulfonilureia e/ou iDPP-4	-	3,5 meses	-	FMD (ecografia)
TZDs vs iDPP-4							
Liu et al. (2013)	-	Indivíduos com DMT2, HbA1c 7-11% (>20 anos)	Tratamento com MET ≥ 1500 mg/dia e sulfonilureia (≥ 10 semanas)	-	6 meses	-	hsCRP (-)
Liu et al. (2017)	(ChiCTR-ORC-17010835)	Indivíduos com DMT2 (-)	-	1 a 5 anos	12 meses	-	cIMT (-) e IL-6 (ELISA)
arGLP-1 vs iDPP-4							
Ahmad et al. (2021)	LYDIA	Indivíduos com DMT2 e obesidade, IMC 35,3 \pm 6,4 kg/m ² (43,8 \pm 6,5 anos)	-	4,7 \pm 4,8/ 4,5 \pm 4,7 anos	6,5 meses	-	hsCRP, TNF- α e IL-6 (ELISA)
Hiramatsu et al. (2018)	-	Indivíduos com DMT2, controle glicêmico sub-ótimo, insuficiência renal ^b (67,8 \pm 9,6 anos)	Com ou sem tratamento com IT, inibidores de α -glucosidase ou glinidas	9,2 \pm 7,0/ 8,8 \pm 8,3/ 8,3 \pm 0,4 anos	48 meses	-	hsCRP (-)

^aidade apresentada como intervalo de idades, média de idades (\pm SD) da população do estudo ou dos grupos de participantes.

^b 30<TFG<60 mL/min/1,73 m²

Abreviaturas: -, não especificado; ELISA, ensaio de imunoabsorção enzimática; HbA1c, hemoglobina glicada; RIA, radioimunoensaio; IMC, índice de massa corporal; TFG, taxa de filtração glomerular

4.3. Risco de Viés

Após a análise do risco de viés de publicação dos 22 estudos presentes nesta dissertação, através da ferramenta RoB2, obtiveram-se os resultados apresentados na Figura 2, onde está apresentado o gráfico referente aos resultados de risco de viés. Os resultados estão expressos em percentagem por domínio, sendo que a primeira linha do gráfico representa o viés global.

É possível observar, através do gráfico que, no geral, se está perante um alto risco de viés (*high risk*). Tal acontece, porque o processo de aleatorização apresenta, por si só, um alto risco de viés (45,5%), que influenciará todos os domínios em análise. Além disso, é visível que a seleção dos resultados obtidos, a medição do *outcome* e os dados de *outcomes* ausentes têm um risco baixo de viés (100%). No Anexo I está apresentado o risco de viés por estudo.

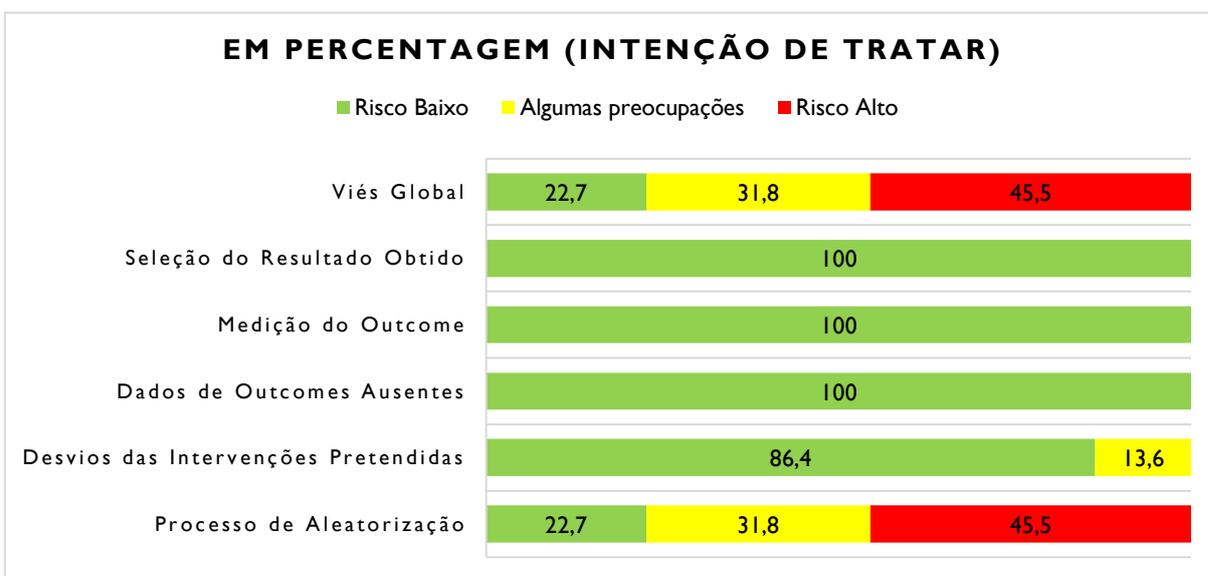


Figura 2. Gráfico relativo ao risco de viés dos 22 estudos usados na dissertação.

4.4. Análise comparativa

Tal como se pode observar, a presente revisão sistemática e meta-análise utilizou 22 estudos para comparar os efeitos das classes farmacológicas, biguanidas (metformina), insulinoterapia, glitazonas (pioglitazona, troglitazona e rosiglitazona), inibidores do SGLT2 (dapagliflozina), iDPP-4 (exenatido e liraglutido) e, ainda, arGLP-1 (sitagliptina, vildagliptina e linagliptina), ao nível dos marcadores de aterosclerose subclínica, marcadores de função vascular, marcadores de rigidez arterial, marcadores de ativação endotelial e os marcadores inflamatórios.

Os resultados dos estudos estão apresentados de acordo com as comparações entre fármacos e os *outcomes* medidos.

4.4.1. Metformina versus Insulinoterapia

A metformina foi comparada à insulinoterapia em 3 estudos. Neste caso, apenas os marcadores inflamatórios foram tidos em conta (Tabela 6).

Borowska *et al.* (2016) concluíram que a MET atenua mais facilmente o processo inflamatório associado à DM2, nomeadamente no que se refere aos níveis de IL-6 e IL-1 β , comparando com a IT. Sendo que os valores finais registados em ambos os marcadores são significativamente menores após o tratamento com MET. Apesar de não ser objeto de estudo nesta dissertação, a intervenção MET+IT também foi testada. Tal como acontece na intervenção com MET, nesta combinação também os níveis dos marcadores inflamatórios IL-6 ($4,4\pm 2,0$ pg/mL) e IL-1 β ($3,3\pm 0,8$ pg/mL) diminuem, comparando com o *baseline*, sendo os seus valores os mais baixos das 3 intervenções em causa.

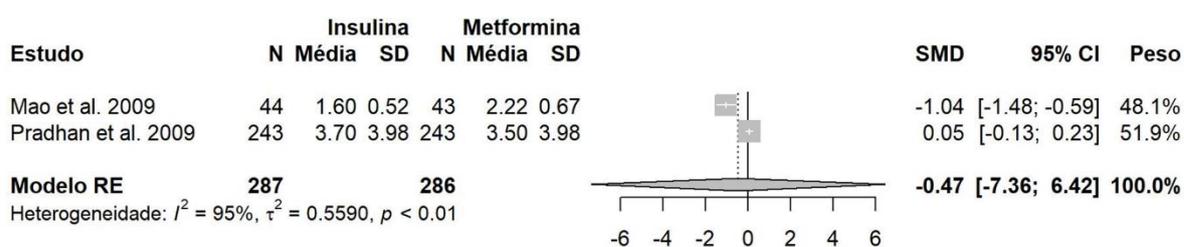
Por outro lado, Mao *et al.* (2009) registaram uma diminuição marcada dos níveis de hsCRP e de IL-6 aquando do tratamento com IT, ao contrário do que acontece com a MET, às 8 semanas. Neste caso, foi administrado ao doente, por via subcutânea, insulina regular (3 vezes por dia) e insulina NPH (*neutral protamine Hagedorn*) ao deitar.

Por sua vez, Pradhan *et al.* (2009), que apenas incluiu a medição dos níveis de hsCRP, demonstraram que após a intervenção com ambos os tratamentos, se deu uma descida dos valores do parâmetro inflamatório em causa. No entanto, os valores no grupo da MET ($3,5\pm 3,98$ mg/L) são apenas ligeiramente menores do que na IT ($3,7\pm 3,98$ mg/L), sendo que a diferença não é estatisticamente significativa. Também neste estudo, foi testada a intervenção MET+IT, havendo uma diminuição dos níveis de hsCRP ($4,1\pm 4,17$ mg/L para $3,3\pm 3,62$ mg/L), sendo que os valores desta intervenção são os mais baixos em comparação com os valores obtidos nas intervenções em monoterapia. A IT usada, neste estudo, foi a insulina glargina.

Com base nestes estudos, foi possível fazer uma análise comparativa por meta-análise, para os *outcomes* hsCRP (Mao *et al.*, 2009; Pradhan *et al.*, 2009) e IL-6 (Borowska *et al.*, 2016; Mao *et al.*, 2009), a qual é apresentada na Figura 3.

No que se refere à hsCRP (Figura 3A), não há favorecimento de nenhum dos tratamentos. Neste caso, é apresentada uma SMD negativa para o estudo de Mao *et al.* (2009) e positiva para o estudo de Pradhan *et al.* (2009), o que leva a uma elevada heterogeneidade ($I^2=95\%$). O facto de apenas serem avaliados 2 estudos, faz com que não seja possível uma observação do favorecimento.

A hsCRP



B IL-6

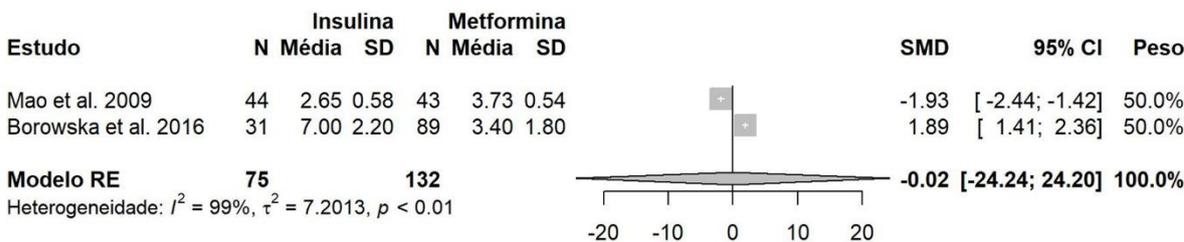


Figura 3. Gráfico *Forest Plot* de MET vs IT para os *outcomes* hsCRP (A) e IL-6 (B).

Por outro lado, no que se refere à IL-6 (Figura 3B), é apresentada uma heterogeneidade bastante elevada ($I^2=99\%$) e uma SMD global negativa (-0,02), não havendo também um favorecimento para nenhum dos tratamentos.

As diferenças nos resultados registados entre estes 3 estudos poderão ser devidas à população em causa, nomeadamente às diferentes etnias a participar (indivíduos caucasianos e chineses), à duração de cada estudo, havendo diferença de 1,5 meses, e às dosagens e tipo de insulina de cada tratamento, diferindo mais marcadamente na IT, cujos valores das dosagens variam entre 5 e 43 U/dia.

Tabela 6. Resultados dos marcadores inflamatórios medidos nos estudos que compararam MET vs IT (organizado por ordem alfabética de autor).

Estudo	Grupos			Marcadores Inflamatórios					
	Intervenção	Dose	N	hsCRP (mg/L)		IL-6 (pg/mL)		IL-1 β (pg/mL)	
				Baseline	Após	Baseline	Após	Baseline	Após
Borowska et al. (2016)	MET	1700 mg/dia (média)	89			a	3,4 \pm 1,8	a	3,5 \pm 0,9
	IT	43 U/dia (média)	31			a	7,0 \pm 2,2*	a	5,0 \pm 1,7*
Mao et al. (2009)	MET	1000-2500 mg/dia	43	2,99 \pm 0,63	2,22 \pm 0,67 ^{†††} *	4,38 \pm 0,69	3,73 \pm 0,54 ^{†††}		
	IT	20-30 U/dia	44	2,65 \pm 0,74	1,60 \pm 0,52 ^{***}	4,40 \pm 0,68	2,32 \pm 0,51 ^{***}		
Pradhan et al. (2009)	MET	1000-2000 mg/dia	243	4,2 \pm 4,37	3,50 \pm 3,98	b	b		
	IT	5 U/dia	243	4,2 \pm 4,37	3,70 \pm 3,98	b	b		

^a Resultados não apresentados no estudo

^b Resultados expressos em gráfico, não sendo possível obter o valor numérico

*p<0,05 vs MET; *** p<0,001 vs 4 semanas; ††† p<0,001 vs IT

4.4.2. Metformina versus Tiazolidinedionas

Em 10 estudos, a MET foi comparada às TZDs, nomeadamente à PIO, TRO e RSG.

Marcadores de aterosclerose subclínica e rigidez arterial

Na Tabela 7 estão apresentados os resultados dos marcadores de aterosclerose subclínica e de rigidez arterial (cIMT e PWV, respetivamente), aquando da comparação entre MET e PIO.

No que se refere à cIMT, Liu *et al.* (2017) não observaram melhorias significativas em nenhum dos grupos a partir do *baseline*, sendo que não foram observadas diferenças entre ambos os fármacos. Por outro lado, Stocker *et al.* (2007) demonstraram uma regressão dos valores de cIMT após o tratamento com RSG, a qual é significativamente diferente do grupo da MET. Foi então detetada uma regressão da aterosclerose via cIMT, realçando as propriedades anti-ateroscleróticas da RSG comparando com a MET. A diferença de resultados entre ambos os estudos poderá dever-se à diferença da duração dos estudos (12 e 6 meses, respetivamente) e ao facto, de, de acordo com os autores Liu *et al.* (2017), a aterosclerose dos participantes do estudo ser pouco severa, tal como se pode observar nos valores do *baseline*. Por outro lado, a dosagem da PIO é muito inferior à da RSG (4 mg/dia vs 30 mg/dia), podendo influenciar os resultados.

Em relação ao marcador de rigidez arterial, PWV, Kato *et al.* (2009) demonstraram uma diminuição significativa após tratamento de 3 meses com PIO, não tendo sido observada qualquer alteração após a intervenção com MET. Tendo em conta estes resultados, a PIO parece ser mais efetiva ao nível da rigidez arterial em doentes japoneses, quando comparada com a MET. No entanto, apenas 1 estudo cumpriu os critérios de inclusão da nossa revisão sistemática, pelo que são necessários mais estudos que confirmem esta observação.

Tabela 7. Resultados dos marcadores de aterosclerose subclínica e de rigidez arterial medidos nos estudos que comparam MET vs TZDs (organizado por ordem alfabética de autor).

Estudo	Grupos			Marcadores de aterosclerose subclínica		Marcadores de rigidez arterial	
	Intervenção	Dose	N	cIMT, mm		PWV, m/s	
				Baseline	Após	Baseline	Após
Kato <i>et al.</i> (2009)	MET	500 mg/dia	25			1,55±0,36	1,55±0,28
	PIO	15 mg/dia	25			1,54±0,38	1,47±0,41**
Liu <i>et al.</i> (2017)	MET	1000-1500 mg/dia	77	1,22±0,14	1,16±0,14		
	PIO	30 mg/dia	40	1,20±0,14	1,16±0,12		
Stocker <i>et al.</i> (2007)	MET	1700 mg/dia	47	^a	0,011±0,025 ^b		
	RSG	4 mg/dia	45	^a	-0,069±0,032 ^{*b}		

^a Resultados não apresentados no estudo

^b Resultados apresentados em alteração em relação ao *baseline*

*p<0,05 vs MET; **p<0,01 vs *baseline*

Tabela 8. Resultados dos marcadores vasculares medidos nos estudos que comparam MET vs TZDs (organizado por ordem alfabética de autor).

Estudo	Grupos			Marcadores de função vascular				Marcadores de ativação endotelial	
	Intervenção	Dose	N	ACh, mL/min/dL ^a		NPS, mL/min/dL ^a		ICAM-1, ng/mL	
				Baseline	Alteração	Baseline	Alteração	Baseline	Após
Fidan <i>et al.</i> (2011)	MET	850-2550 mg/dia	20					11,1±0,2	10,9±0,2*
	RSG	4-8 mg/dia	20					11,05±0,2	11,04±0,1
Natali <i>et al.</i> (2004)	MET	1500 mg/dia	28	14,9±7,9	-1,8±1,5	14,7±6,3	1,4±1,4		
	RSG	8 mg/dia	24	13,2±5,0	2,7±1,6 ^{†††}	15,2±1,6	0,3±1,4		

^a Valores apresentados referem-se ao fluxo sanguíneo máximo no antebraço após administração de ACh ou NPS

*p<0,05 vs *baseline*; ††† p<0,005 vs MET

Marcadores de ativação endotelial e de função vascular

Na Tabela 8 estão apresentados os resultados dos marcadores de ativação endotelial e de função vascular.

Por um lado, Fidan *et al.* (2011) avaliaram os níveis de ICAM-1 após a intervenção terapêutica de 3 meses com MET ou RSG, observou-se um ligeiro decréscimo após a intervenção com MET mas não com a RSG.

Relativamente aos marcadores de função vascular, Natali *et al.* (2004) demonstraram que a RSG induziu uma melhoria significativa na vasodilatação induzida por ACh, mas não na vasodilatação induzida por NPS. Após o tratamento com MET, não foram observadas diferenças significativas em relação ao *baseline*.

Marcadores inflamatórios

Além dos marcadores acima medidos, também os marcadores inflamatórios foram medidos em 10 estudos que comparam a MET com as TZDs (Tabela 9).

De uma maneira geral, observou-se uma diminuição dos níveis de hsCRP após as intervenções farmacológicas, com TZDs ou MET. No entanto, esta redução pareceu ser mais significativa com as glitazonas. Tal efeito está em concordância com as propriedades anti-inflamatórias desta classe farmacológica, que incluem a inibição da secreção de citocinas pró-inflamatórias (Hurren e Dunham, 2021).

No que se refere aos níveis de IL-6 e TNF- α , existe igualmente uma tendência geral para a diminuição dos níveis destes marcadores com ambos os tratamentos, embora, tal como acontece na hsCRP, esta diminuição parece ser mais marcada no tratamento com TZDs.

Contudo, o estudo de Natali *et al.* (2004) representa uma exceção, na qual não foram observadas alterações significativas nos diversos marcadores (hsCRP, IL-6 e TNF- α) em nenhum dos tratamentos. De referir que esta ausência de alteração dos níveis de TNF- α no grupo da RSG foi acompanhada de uma melhoria na vasodilatação induzida por ACh, o que sugere ainda assim um efeito benéfico ao nível vascular.

No estudo de Hanefeld *et al.* (2011), apesar de não ser objeto de estudo nesta dissertação, foi testada a intervenção MET+PIO. Neste caso, a combinação das duas intervenções leva a um efeito anti-inflamatório mais marcado comparando com os regimes em monoterapia, como se pode observar a partir dos valores de *baseline* ($2,62 \pm 1,79$ mg/L) e de 6 meses após a intervenção ($1,78 \pm 1,06$ mg/L, $p < 0,0307$ para MET vs MET+PIO).

Nestes estudos, as dosagens de TZDs permanecem similares, de acordo com o fármaco em estudo. A dose de PIO varia entre 15 e 30 mg/dia, a dose de TRO é de 200 mg/dia e a dose de RSG varia entre 4-8 mg/dia. Por sua vez, a MET apresenta doses entre os 500-2550 mg/dia. Também a duração dos estudos varia entre 2 e 12 meses.

Com base nos resultados dos diversos estudos, foi realizada uma meta-análise de forma a comparar o efeito comparativo dos seguintes pares de fármacos: MET vs PIO (hsCRP, Figura 4) e MET vs RSG (hsCRP, TNF- α e IL-6, Figura 5).

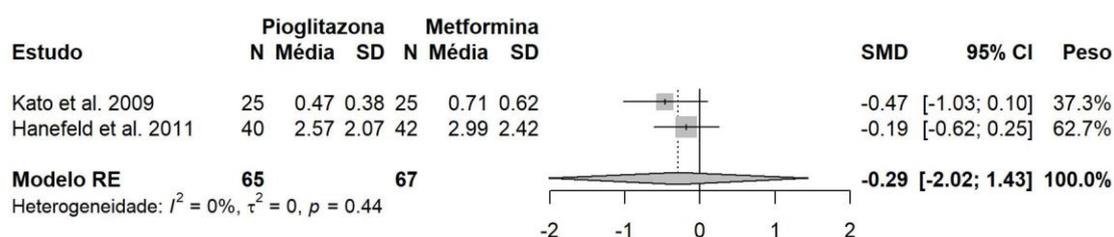


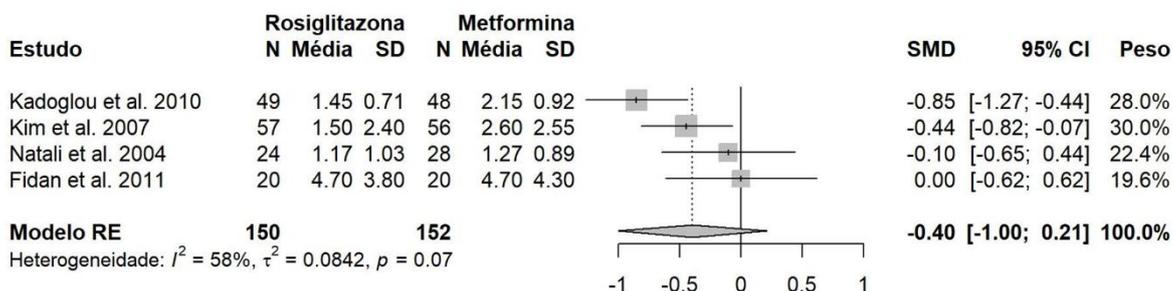
Figura 4. Gráfico *Forest Plot* de MET vs PIO para o *outcome* hsCRP.

Primeiramente, no que se refere à hsCRP, foi criado um gráfico de floresta utilizando os estudos Hanefeld *et al.* (2011) e Kato *et al.* (2009). Ambos os estudos apresentam uma SMD negativa e um valor de I^2 de 0%, o que sugere ausência de heterogeneidade. Este resultado poderá estar correlacionado com as características de cada um dos estudos, nomeadamente no que se refere ao número de pacientes a participar em cada estudo (82 e 50 indivíduos, respetivamente) e por serem apenas 2 estudos em análise não é suficiente para tirar conclusões. Também a duração dos estudos difere em 3 meses.

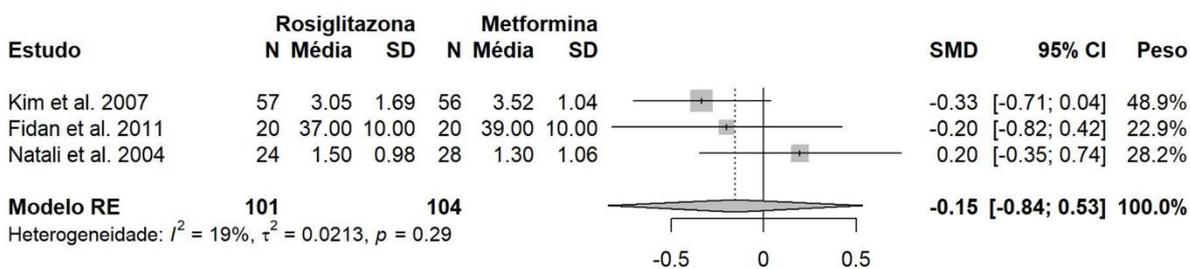
No que se refere à comparação MET vs RSG, em nenhuma das análises foi apresentado um efeito significativo a nível global. Ao nível da hsCRP, foram utilizados para análise os estudos Fidan *et al.* (2011), Kadoglou *et al.* (2010), Kim *et al.* (2007) e Natali *et al.* (2004). O estudo de Stocker *et al.* (2007) foi retirado por apresentar os resultados sob a forma de alteração. No geral, obteve-se uma SMD de -0,4 e uma heterogeneidade de $I^2=58\%$, sendo classificada como moderada. Neste caso, a heterogeneidade pode ser devida às diferentes características dos estudos em causa, nomeadamente o número de pacientes de cada intervenção ser relativamente pequeno, de em dois estudos os participantes terem sido sujeitos a tratamentos prévios e às ligeiras diferenças de tempo de estudo. Para avaliar os *outcomes* IL-6 e TNF- α , apenas foram usados 3 estudos Fidan *et al.* (2011), Kim *et al.* (2007) e Natali *et al.* (2004). Em ambos os casos, as SMD são negativas, à exceção do estudo de Natali *et al.* (2004). As

heterogeneidades são de 48% e 19%, respectivamente. Em nenhum dos casos foi notado um efeito global de alteração.

A hsCRP



B TNF- α



C IL-6

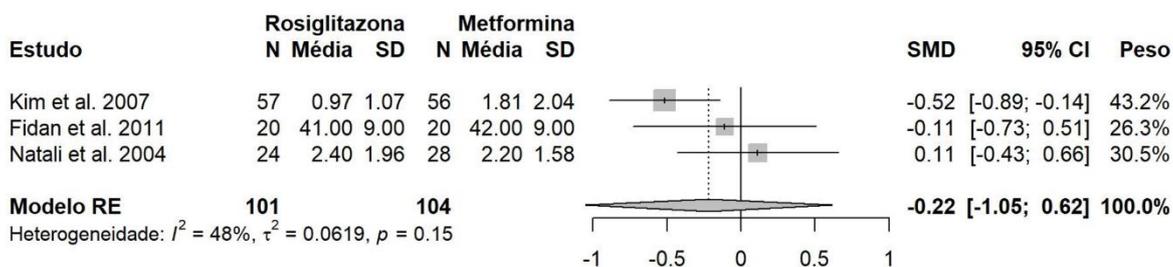


Figura 5. Gráfico *Forest Plot* de MET vs RSG para os *outcomes* hsCRP (A), TNF- α (B) e IL-6 (C).

Tabela 9. Resultados dos marcadores inflamatórios medidos nos estudos que comparam MET vs TZDs (organizado por ordem alfabética de autor e por combinações).

Estudo	Grupos			Marcadores Inflamatórios					
	Intervenção	Dose	N	hsCRP, mg/L		TNF- α , pg/mL		IL-6, pg/mL	
				Baseline	Após	Baseline	Após	Baseline	Após
MET vs PIO									
Hanefeld et al. (2011)	MET	1700 mg/dia	42	3,22 \pm 2,43	2,99 \pm 2,42				
	PIO	30 mg/dia	40	3,30 \pm 2,73	2,57 \pm 2,07*				
Kato et al. (2009)	MET	500 mg/dia	25	0,68 \pm 0,38	0,71 \pm 0,62				
	PIO	15 mg/dia	25	0,72 \pm 0,51	0,47 \pm 0,38**				
Liu et al. (2017)	MET	1000-1500 mg/dia	77					14,59 \pm 5,95	12,63 \pm 5,45*
	PIO	30 mg/dia	40					14,32 \pm 3,97	12,27 \pm 3,91*
MET vs TRO									
Chu et al. (2002)	MET	850 mg/dia	12	6 \pm 3,46	4 \pm 3,46**				
	TRO	200 mg/dia	10	8 \pm 9,48	3 \pm 3,16**				
MET vs RSG									
Farah, Shurtz-Swirski e Lapin (2008)	MET	850 mg/dia	-	8,3 \pm 1,6	5,8 \pm 1,5*				
	RSG	4 mg/dia	-	4,3 \pm 0,9	1,8 \pm 0,2*				
Fidan et al. (2011)	MET	850-2550 mg/dia	20	4,4 \pm 3,1	4,7 \pm 4,3	61 \pm 31	39 \pm 10*	75 \pm 20	42 \pm 9*
	RSG	4-8 mg/dia	20	3,8 \pm 1,3	4,7 \pm 3,8	62 \pm 19	37 \pm 10*	78 \pm 21	41 \pm 9*
Kadoglou et al. (2010)	MET	850-2550 mg/dia	48	2,36 \pm 1,02	2,15 \pm 0,92				
	RSG	8 mg/dia	49	2,4 \pm 1,39	1,45 \pm 0,71***				
Kim et al., (2007)	MET	1000 mg/dia	56	2,63 \pm 2,22	2,60 \pm 2,55	3,52 \pm 1,03	3,52 \pm 1,04	1,62 \pm 0,81	1,81 \pm 2,04
	RSG	4 mg/dia	57	2,52 \pm 2,88	1,50 \pm 2,40***	3,47 \pm 1,69	3,05 \pm 1,69**	1,63 \pm 1,65	0,97 \pm 1,07**
Natali et al. (2004)	MET	1500 mg/dia	28	1,46 \pm 1,16	1,27 \pm 0,89	1,6 \pm 1,58	1,3 \pm 1,06	2,2 \pm 1,06	2,2 \pm 1,58
	RSG	8 mg/dia	24	1,17 \pm 0,98	1,17 \pm 1,03	2,0 \pm 1,47	1,5 \pm 0,98	2,1 \pm 1,96	2,4 \pm 1,96
Stocker et al. (2007)	MET	1700 mg/dia	47	5,69 \pm 0,83	-0,2 \pm 0,5 ^a				
	RSG	4 mg/dia	45	5,99 \pm 0,88	-4,08 \pm 1,0 ^{+++ a}				

^a Resultados apresentados em alteração em relação ao *baseline*

*p < 0,05 vs *baseline*; ** p<0,01 vs *baseline*; ***p<0,001 vs *baseline*; ⁺⁺⁺ p<0,001 vs MET

4.4.3. Metformina versus iSGLT2

Apenas o estudo feito por Cheng *et al.* (2021) compara a MET à classe farmacológica iSGLT2, nomeadamente ao fármaco DAPA, tendo medido o marcador inflamatório hsCRP. Após a intervenção de 12 meses com ambos os fármacos, foi registada uma diminuição não significativa dos níveis de hsCRP, sendo os seus valores muito similares como se pode observar na Tabela 10. Neste estudo, e apesar de não estar a ser considerado nesta dissertação, foi testada a intervenção MET+DAPA, tendo sido demonstrada uma melhoria dos níveis de hsCRP (alteração de $2,5 \pm 1,0$ mg/L comparando com o valor do *baseline* $3,4 \pm 1,5$ mg/L), comparando com DAPA ou MET num regime de monoterapia, dessa forma conclui-se que é a intervenção mais efetiva no que se refere aos efeitos anti-inflamatórios.

4.4.4. Metformina versus arGLP-1

Tal como anteriormente, apenas o estudo feito por Chen *et al.* (2018) compara os fármacos MET e LIRA (arGLP-1), durante 2 meses, no que se refere aos marcadores de ativação endotelial (ICAM-1 e VCAM-1). Após o tratamento com LIRA, os níveis de VCAM-1 decresceram, sendo significativamente menores comparado com o *baseline* e com o grupo da MET (Tabela 11). No que se refere aos níveis de ICAM-1, não foram notadas diferenças significativas em nenhum dos grupos de intervenção.

4.4.5. Metformina versus iDPP-4

Dois dos estudos incluídos, comparam a MET a fármacos iDPP-4 (Tabela 12).

Kitao *et al.* (2017) compararam a MET à VILDA no que se refere ao marcador de função vascular, FMD, e ao marcador inflamatório, hsCRP. Após 3 meses de estudo, não foram observadas melhorias significativas nos valores de FMD em nenhum dos grupos. No entanto, é reportada uma melhoria da disfunção endotelial apenas com uma única administração de VILDA. Esta melhoria pode ser explicada pelo aumento da expressão de GLP-1, induzida pela VILDA, levando a uma protecção das EPCs ou pelo facto dos análogos de GLP-1 levarem à ativação de eNOS (Noguchi *et al.*, 2015). Há, também, uma controvérsia nos efeitos provocados pelos iDPP-4 no que se refere ao FMD. Estudos de longa duração demonstraram que os iDPP-4 têm efeitos anti-ateroscleróticos (Mita *et al.*, 2016), ou seja, em que se observam melhorias do FMD, o que não se sucede no estudo de Kitao *et al.* (2017). Os resultados, neste caso, podem estar relacionados com as características *baseline* dos pacientes, como a idade e o índice de massa corporal mais elevados, com a temperatura do ar, sendo o valor de FMD maior em ambientes mais quentes do que em mais frios (Iwata, Miyashita e Kumagai, 2012) ou com medicações concomitantes, como o uso de estatinas. Seria expectável que, se o tratamento

com VILDA fosse mais longo, tal correspondesse a uma melhoria do parâmetro FMD. No que se refere aos níveis de hsCRP, foi observada uma diminuição significativa após tratamento com MET em comparação com o *baseline*, ao contrário da VILDA.

Por sua vez, Liu *et al.* (2017) compararam a MET à SITA, no que se refere ao marcador de aterosclerose subclínica, cIMT. No entanto, em nenhum dos grupos houve melhorias significativas após as intervenções com MET ou SITA. Ainda assim, ambas as intervenções produziram uma diminuição do marcador inflamatório IL-6 em relação ao *baseline*, não havendo diferenças entre os grupos aos 12 meses. Neste estudo e, apesar de não estar a ser considerada nesta dissertação, foi testada a intervenção MET+SITA, tendo sido considerada a intervenção mais benéfica no que se refere à regressão da aterosclerose (medição via cIMT). Os valores de cIMT na terapia combinada (MET+SITA) foram ligeiramente mais baixos dos que os apresentados na Tabela 12 ($1,27 \pm 0,12$ mm para $1,15 \pm 0,15$ mm; $p < 0,05$ vs *baseline*). No que se refere ao IL-6, apesar da terapia combinada ser benéfica, diminuindo os níveis deste marcador inflamatório, o seu valor é superior aos valores apresentados em monoterapia ($18,70 \pm 5,28$ pg/mL para $15,18 \pm 5,18$ pg/mL; $p < 0,05$ vs *baseline*).

Tabela 10. Resultados dos marcadores inflamatórios medidos nos estudos que compararam MET vs iSGLT2.

Estudo	Grupos			Marcadores Inflamatórios		
	Intervenção	Dose	N	hsCRP, mg/L		Alteração
				Baseline	Após	
Cheng <i>et al.</i> (2021)	MET	1700 mg/dia	82	3,4±1,6		-1,2±0,8
	DAPA	10 mg/dia	89	3,2±1,1		-1,0±0,6

Tabela 11. Resultados dos marcadores de ativação endotelial medidos nos estudos que compararam MET vs arGLP I.

Estudo	Grupos			Marcadores de ativação endotelial					
	Intervenção	Dose	N	VCAM-I, ng/mL		ICAM-I, ng/mL			
				Baseline	Após	Baseline	Após	Baseline	Após
Chen <i>et al.</i> (2018)	MET	1000-2000 mg/dia	30	485±122	503±182	113±40		103±39	
	LIRA	0,6-1,2 mg/dia	30	465±136	382±131**	168±110		172±64	

**p<0,05 vs MET e baseline

Tabela 12. Resultados dos marcadores medidos nos estudos que compararam MET vs iDPP-4 (organizado por ordem alfabética de autor).

Estudo	Grupos			Marcadores de aterosclerose subclínica				Marcadores de função vascular				Marcadores inflamatórios			
	Intervenção	Dose	N	cIMT, mm		FMD, %		hs-CRP, mg/L		IL-6, pg/mL					
				Baseline	Após	Baseline	Após	Baseline	Após	Baseline	Após				
Kitao <i>et al.</i> (2017)	MET	1000-1500 mg/dia	48			6,14±2,99	5,39±2,29	0,55±0,003	0,43±0,003*						
	VILDA	100 mg/dia	48			5,48±2,03	5,14±2,27	0,76±0,004	0,72±0,004						
Liu <i>et al.</i> (2017)	MET	1000-1500 mg/dia	77	1,22±0,14	1,16±0,14					14,59±5,95	12,63±5,45*				
	SITA	100 mg/dia	31	1,18±0,16	1,15±0,10					15,82±6,20	12,78±4,30*				

*p<0,05 vs baseline

4.4.6. Insulinoterapia versus TZDs

Apenas 1 dos estudos recolhidos para esta dissertação comparam a IT às TZDs, nomeadamente à PIO, tendo sido apenas medido o marcador inflamatório hsCRP (Tabela 13).

Segundo os resultados relatados por Hartemann-Heurtier *et al.* (2009), a PIO promove uma diminuição dos níveis de hsCRP muito mais significativa do que a IT (insulina NPH). No entanto, os resultados são similares após ambas as intervenções farmacológicas. Apesar de não terem sido apresentados os valores do marcador inflamatório IL-6, sabe-se que estes níveis permanecem inalterados, assim, pensa-se que a melhoria dos níveis de hsCRP esteja associada aos efeitos hepáticos diretos ou indiretos dos medicamentos.

4.4.7. Insulinoterapia versus arGLP-1

Também a IT (insulina glargina em ambos os estudos) foi comparada a arGLP-1, nomeadamente ao EXE e LIRA, como se pode observar na Tabela 14.

Gurkan *et al.* (2014) compararam o EXE à IT, avaliando o marcador de função vascular, FMD, e os marcadores inflamatórios, hsCRP, IL-6 e TNF- α . Em termos de marcadores inflamatórios, não foram detetadas quaisquer diferenças significativas. De forma similar, não foi detetada uma diferença significativa entre os dois grupos farmacológicos em termos de FMD, embora tenha sido descrito um aumento significativo da FMD em relação ao *baseline* quer para a IT ($4,12 \pm 0,48$ cm para $4,41 \pm 0,5$ cm, $p < 0,001$) quer para o EXE ($4,06 \pm 0,33$ cm para $4,44 \pm 0,26$ cm, $p < 0,001$).

Por outro lado, Nomoto *et al.* (2015) compararam a IT com o LIRA, medindo o marcador de função vascular, FMD. Neste estudo foi demonstrado que o LIRA não teve qualquer tipo de efeito na % de FMD quando comparado com a IT, sendo os seus valores muito similares. O facto de não se dar uma alteração deste marcador de função vascular foi justificada com as condições do estudo (curto tempo de duração e amostra pequena), com as concentrações de LIRA no plasma que poderão ter sido muito baixas para promover um efeito na % de FMD e, ainda, às medicações associadas a cada doente.

Tabela 13. Resultados dos marcadores inflamatórios medidos nos estudos que compararam IT vs TZDs (organizado por ordem alfabética de autor).

Estudo	Grupos			Marcadores inflamatórios		
	Intervenção	Dose	N	hsCRP, mg/L (média ± SD)		
				Baseline	Após	Após
Hartemann-Heurtier et al. (2009)	IT	0,2 U/kg/dia	13	1,6±1,2	1,2±0,4	
	PIO	30 mg/dia	14	2,0±2,0	1,2±1,1*	

*p<0,05 vs baseline

Tabela 14. Resultados dos marcadores de função vascular e inflamatórios medidos nos estudos que compararam IT vs arGLP-1 (organizado por ordem alfabética de autor).

Estudos	Grupos			Marcadores de Função Vascular						Marcadores Inflamatórios			
	Intervenção	Dose	N	FMD, %		hs-CRP, mg/L		TNF-α, pg/mL		IL-6, pg/mL			
				Baseline	Após	Baseline	Após	Baseline	Após	Baseline	Após		
Gurkan et al. (2014)	IT	0,2 U/kg	17	a	6,38±5,66	0,49±0,42	0,44±0,47	4,72±6,62	3,67±1,82	15,77±8,17	13,91±2,53		
	EXE	10-20 µg/dia	17	a	8,62±4,68	0,87±0,89	0,52±0,47	2,77±1,04	3,75±2,1	17,49±12,42	18,5±17,52		
Nomoto et al. (2015)	IT		15		6,65±3,30								
	LIRA	0,3-0,9 mg/dia	16		6,04±2,62								

^a Resultados não apresentados no estudo

^b De acordo com a idade

4.4.8. TZDs versus iDPP-4

2 estudos compararam as TZDs (PIO) aos iDPP-4 (SITA) quantos aos marcadores de aterosclerose subclínica (cIMT) e marcadores inflamatórios (hsCRP e IL-6).

Liu *et al.* (2013) reportaram uma melhoria dos níveis de hsCRP após o tratamento com a PIO, algo que não aconteceu com a SITA. Como se pode observar na Tabela 15, os valores apresentados diferem entre si significativamente, indicando que a PIO é mais efetiva na redução da inflamação provocada por hsCRP do que a SITA.

Além de ter comparado a MET à PIO e à SITA, Liu *et al.* (2017) também compararam a PIO à SITA. Após a intervenção farmacológica com SITA ou PIO, os níveis de IL-6 diminuíram significativamente, sendo que os valores, tal como se pode observar na Tabela 15, são similares. Tudo isto indica que ambos os tratamentos são efetivos na atividade anti-inflamatória. No que se refere à cIMT, não foram observadas quaisquer alterações significativas após as intervenções. Este facto pode ser devido ao curto de tempo de duração do estudo (12 meses) ou à baixa severidade de aterosclerose da população a participar no estudo, tal como se pode observar nos valores do *baseline*.

4.4.9. arGLP-I versus iDPP-4

Além das comparações referidas nos subcapítulos acima, também os arGLP-I e iDPP-4 foram comparados, nomeadamente ao nível dos marcadores inflamatórios (Tabela 16).

Num estudo feito por Ahmad *et al.* (2021), os marcadores hsCRP, IL-6 e TNF- α não foram afetados pelo tratamento com LIRA nem com SITA. Além disso, não foram encontradas diferenças nos marcadores inflamatórios entre os dois grupos, o que poderá contradizer as propriedades anti-inflamatórias das terapias em causa, especialmente dos arGLP-I. Neste caso, este facto poderá ser explicado pelo *design* do ensaio, nomeadamente pela curta duração ou pela pequena amostra.

Por outro lado, Hiramatsu *et al.* (2018) compararam o LIRA com os iDPP-4, SITA e LINA. Os valores de hsCRP foram decrescendo ao longo do tempo. Ao fim dos 24 meses de estudo, o grupo que registou uma maior melhoria em relação ao *baseline* foi o LIRA, cujo resultado foi bastante diferente do grupo da LINA. Como se pode observar na Tabela 16, o grupo do LIRA tem os valores mais baixos e os iDPP-4 têm valores muito similares. Neste caso, é de grande importância referir que os indivíduos a participar neste estudo apresentam insuficiência renal. Desta forma, o controlo da glicémia é dificultado, uma vez que a taxa de filtração

glomerular está diminuída, promovendo uma acumulação de fármacos e dos seus metabolitos, assim a escolha dos agentes antidiabéticos a usar no tratamento está limitada.

Atualmente, existe um algoritmo próprio nas *guidelines* do tratamento da DMT2 para doentes com doença renal crónica (DRC). Os iDPP-4 (SITA e VILDA) podem ser usados quando o doente tem uma TFG diminuída, sendo necessário uma redução da dose. A LINA também pode ser usada, não sendo necessário um ajuste posológico. Por outro lado, o uso de arGLP-I é seguro, havendo um benefício renal com LIRA. Em doentes diabéticos com DRC, a opção preferencial de tratamento são os iSGLT2, apresentando benefício renal aquando de uma TFG > 60 mL/min, no entanto a sua eficácia diminui com TFG < 45-60 mL/min/1,73m². As sulfonilureias implicam o risco de hipoglicemia e a PIO, apesar de não ser eliminada por via renal, pode levar à retenção de líquidos. Além disso, é necessária uma titulação das doses de insulina e um ajuste de dose da MET (Duarte *et al.*, 2018).

As diferenças entre ambos os estudos podem ser devido às dosagens das medicações, as quais no estudo de Hiramatsu *et al.* (2018) são metade, no entanto a duração deste estudo é cerca de 7 vezes superior à duração do estudo de Ahmad *et al.* (2021). Desta forma, e uma vez que a intervenção se dá durante mais tempo, o efeito dos fármacos no estudo de Hiramatsu *et al.* (2018) é mais significativo.

4.4.10. Outros *outcomes* e comparações

Além dos *outcomes* referidos nos subcapítulos anteriores, foi também inserido na equação de pesquisa o marcador de subclínica ScCA. No entanto, nenhum resultado foi encontrado para se poder fazer referência a ScCA.

Todas as combinações possíveis de fármacos foram inseridas nas equações de pesquisa, mas nas bases de dados não foram encontradas comparações entre as seguintes classes farmacológicas: IT vs iSGLT2; IT vs iDPP-4; TZD vs iSGLT2; TZD vs arGLP-I; iSGLT2 vs arGLP-I, iSGLT2 vs iDPP-4 e arGLP-I vs iDPP-4.

Tabela 15. Resultados dos marcadores medidos nos estudos que comparam TZDs vs iDPP-4 (organizado por ordem alfabética de autor).

Estudo	Grupos				Marcador de aterosclerose sub-clínica				Marcadores Inflamatórios			
	Intervenção	Dose	N	Após	cIMT, mm		hs-CRP, mg/L		IL-6, pg/mL			
					Baseline	Após	Baseline	Alteração	Baseline	Após		
Liu et al. (2013)	PIO	30 mg/dia	59			4,2±6,8	-0,19 ±0,04 ^{***}					
	SITA	100 mg/dia	60			3,8±3,6	-0,07±0,04 ^l					
Liu et al. (2017)	PIO	30 mg/dia	40	1,16±0,12	1,20±0,14			14,32±3,97	12,27±3,91 [*]			
	SITA	100 mg/dia	31	1,15±0,10	1,18±0,16			15,82±6,20	12,78±4,30 [*]			

* p<0,05 vs baseline; ^{***}p<0,001 vs baseline; ^lp<0,05 vs PIO

Tabela 16. Resultados dos marcadores inflamatórios medidos nos estudos que comparam arGLP-1 vs iDPP-4 (organizado por ordem alfabética de autor).

Estudo	Grupos				Marcadores Inflamatórios					
	Intervenção	Dose	N	Após	hs-CRP, mg/L		TNF-α, pg/mL		IL-6, pg/mL	
					Baseline	Após	Baseline	Após	Baseline	Após
Ahmad et al. (2021)	LIRA	1,8 mg/dia	28	-1580±11325 ^a	7400±8900	1,4±0,4	-0,01±0,19 ^a	2,5±2,1	-0,03±2,23 ^a	
	SITA	100 mg/dia	33	-990±11841 ^a	8000±1300	1,4±0,2	-0,03±0,19 ^a	2,5±3,4	-0,41±2,33 ^a	
Hiramatsu et al. (2018)	LIRA	0,9 mg/dia	45	0,9±0,5	2,6±2,1					
	SITA	50 mg/dia	49	1,3±1,4	2,2±3,0					
	LINA	5mg/dia	45	1,6±1,1 [*]	2,4±1,8					

^a Resultados apresentados em alteração em relação ao baseline

*p<0,05 vs LIRA

4.5. Análise Global

Tal como explicado anteriormente, há várias complicações vasculares associadas à DMT2. Estas complicações podem ir desde o endotélio vascular até às complicações associadas à inflamação. No entanto, de forma a tratar a DMT2 e as complicações associadas, existem várias classes farmacológicas que, através dos diversos mecanismos descritos nos capítulos anteriores, poderão tratar a doença.

No que se refere ao endotélio vascular, os marcadores de função vascular (ACh, NPS e FMD) e de ativação endotelial (VCAM-1 e ICAM-1) estão diminuídos e aumentados, respetivamente, na população diabética (Assar, Angulo e Rodríguez-Mañas, 2016; Vriese, De *et al.*, 2000). Vários foram os estudos que abordaram estes marcadores e os dados fornecidos pelos autores vão ao encontro ao que é descrito na literatura. Com as intervenções farmacológicas, surgiram alterações. No que se refere a ACh e NPS, após o tratamento com as TZDs, os seus níveis melhoraram e a % de FMD melhorou aquando dos tratamentos com IT, EXE e LIRA, o que seria de esperar tendo em conta as propriedades das classes farmacológicas. No entanto, após o tratamento com MET e iDPP-4, a % de FMD não sofreu alterações. Não foi encontrada qualquer evidência que os fármacos em questão tenham qualquer efeito sobre os marcadores de função vascular.

Relativamente ao marcador de ativação endotelial, VCAM-1, é sabido que as classes farmacológicas TZDs, iDPP-4 e arGLP-1 têm um efeito favorável sobre a molécula de adesão, diminuindo ou inibindo a sua expressão (Liu *et al.*, 2020; Seufert e Gallwitz, 2014). Nesta dissertação, apenas o estudo de Chen *et al.* (2018) abordou a medida de VCAM-1 e os resultados vão de encontro à literatura, em que é demonstrado que os arGLP-1 promovem uma diminuição desta molécula. Por outro lado, no que se refere a ICAM-1, apenas a MET demonstra ter qualquer resultado na diminuição ou inibição da expressão desta molécula de adesão. Estas evidências são concordantes com os resultados obtidos pelos autores, tal como se pode observar nas Tabelas 8 e 11.

A aterosclerose e a rigidez arterial, conforme se sabe, são consequências que vão surgindo na população diabética. Estas consequências podem ser medidas através da cIMT e PWV, respetivamente. Sabe-se que ambos os marcadores estão aumentados em doentes com DMT2 (Durham *et al.*, 2018; Gajdova *et al.*, 2017; I. Christen *et al.*, 2010). De acordo com os resultados obtidos, como os iDPP-4 e TZDs promoveram uma maior diminuição dos valores do marcador de aterosclerose subclínica, cIMT, comparando com a MET. No que se refere ao marcador de rigidez arterial, PWV, após o tratamento com TZDs deu-se uma diminuição dos

seus níveis. As propriedades anti-ateroscleróticas das TZDs não estão definidas, nesta dissertação, porém esta classe farmacológica demonstrou ser efetiva na melhoria destes níveis (Liu *et al.*, 2017).

No que se refere à inflamação, esta também está largamente marcada na população diabética. Os níveis de marcadores inflamatórios, como hsCRP, IL-6, IL-1 β e TNF- α estão aumentados, levando, por exemplo, a um aumento do stress oxidativo e das moléculas de adesão acima mencionadas (Assar, Angulo e Rodríguez-Mañás, 2016). Como era de esperar, em todos os estudos, estes marcadores estavam elevados na população diabética. Num dos estudos da presente dissertação, o marcador inflamatório hsCRP também foi comparado com indivíduos saudáveis, estando com valores ao *baseline* inferiores comparando com os indivíduos diabéticos (1,5 \pm 0,1 mg/L vs MET 6,6 \pm 1,1 mg/L vs RSG 4,3 \pm 0,9 mg/L) (Farah *et al.*, 2008). Os vários fármacos foram testados nos diversos estudos e foi observada a atividade anti-inflamatória, nomeadamente das TZDs, que atua em todos os marcadores, baixando os seus níveis. Por sua vez, tal como seria de esperar o efeito provocado pelos iDPP-4 no TNF- α não é o mesmo do que o efeito provocado pelo mesmo fármaco na hsCRP e na IL-6. Nestes últimos marcadores há uma redução dos níveis, algo que não acontece com o TNF- α . Tal vai ao encontro do que é descrito na literatura (Liu *et al.*, 2013, 2017). Também a MET e o iSGLT2 são efetivos na diminuição do grau de inflamação da população diabética, por sua vez, tal como se sabe, a IT não tem um efeito significativo, nesta consequência da DMT2, apesar de nos presentes estudos demonstrar uma diminuição dos níveis de hsCRP e IL-6. Por sua vez, tal como seria de esperar, os arGLP-I levam a uma diminuição da hsCRP, sendo efetiva a sua atividade anti-inflamatória.

Tabela 17. Efeitos dos fármacos nos marcadores vasculares e inflamatórios.

		MARCADORES VASCULARES E INFLAMATÓRIOS										
		cIMT	PWV	FMD	ACh	NPS	ICAM-I	VCAM-I	hsCRP	TNF- α	IL-6	IL-1 β
FÁRMACO	MET	↓	–	–	–	–	↓	↑	↓	↓	↓	
	IT			↓					↓	↓	↓	
	TZDS	↓	↓		↓	↓	–		↓	↓	↓	↓
	iSGLT2								↓			
	arGLP-I			↓			↑	↓	↓	–	–	
	iDPP-4	↓		–					↓	↓	↓	

↓ diminui; ↑ aumenta; – sem efeito

Como se pôde observar, alguns estudos testaram também as terapias combinadas. A MET foi sempre combinada a outros fármacos e, de acordo com os resultados, este tipo de regime

mostrou-se mais eficaz do que o regime em monoterapia. A terapia combinada de MET+IT, além de apresentar um melhor controle no que se refere aos níveis de glicemia, promove também uma maior atividade anti-inflamatória, comparando com o regime em monoterapia. O potencial anti-inflamatório da MET confirma-se, assumindo-se, então, que a adição de MET à IT é responsável pelos benefícios no que se refere ao controle dos níveis das citocinas pró-inflamatórias (Borowska *et al.*, 2016). A terapia combinada de MET+PIO mostra-se mais efetiva na diminuição dos marcadores inflamatórios do que a monoterapia com MET, pois a PIO traz maiores benefícios anti-inflamatórios reduzindo mais marcadamente a inflamação associada à DMT2. Por outro lado, esta combinação terapêutica leva também a um melhor controle glicêmico (Hanefeld *et al.*, 2011). Além destas combinações, a MET também foi combinada à DAPA. À semelhança do que aconteceu anteriormente, os resultados também foram melhores do que nas intervenções em monoterapia, apresentando propriedades anti-inflamatórias mais marcadas, com uma maior redução de hsCRP (Cheng *et al.*, 2021). Por fim, a combinação MET+SITA também foi testada, apresentando um maior benefício quando comparada com os regimes em monoterapia. Neste caso, também se dá uma melhoria da inflamação associada à DMT2 (Liu *et al.*, 2017). Todas estas combinações têm vindo a ser recomendadas pelas *guidelines* para o tratamento da DMT2, havendo algoritmos próprios individualizados de acordo com as características metabólicas e doenças associadas a cada doente. No caso do indivíduo sofrer de doença cardiovascular aterosclerótica, as combinações preferenciais são MET+iSGLT2 e MET+arGLP-I (Duarte *et al.*, 2018).

Com a DMT2, há um aumento de risco de eventos cardiovasculares, no entanto, várias classes farmacológicas são conhecidas por apresentar benefícios a nível cardiovascular, nomeadamente na doença cardiovascular aterosclerótica, como é o caso dos iSGLT2, arGLP-I e iDPP-4 (Duarte *et al.*, 2018). Foi feita uma meta-análise por Ghosh-Swaby *et al.* (2020), em que foram comparados fármacos que diminuem a glicose, nomeadamente iSGLT2 e arGLP-I, sendo reportada uma diminuição da ocorrência de MACE (*Major Adverse Cardiovascular Events*) (*risk ratio* 0,92; 95% CI 0,89–0,95, $p < 0,0001$), mas sem efeito global no que se refere ao risco de insuficiência cardíaca (*risk ratio* 0,98; 95% CI 0,90–1,08; $p = 0,71$), comparando com o placebo ou com os cuidados primários. Apesar de não ter sido reportado qualquer efeito global no risco de insuficiência cardíaca, a direção e magnitude do mesmo estão relacionadas com a classe farmacológica usada. Apesar de não ter sido observado qualquer efeito com os iDPP-4, deu-se uma redução de risco de insuficiência cardíaca (cerca de 19%) com iSGLT2. Esta redução de risco de insuficiência cardíaca é consistente para participantes que apresentavam ou não, ao *baseline*, doença cardiovascular aterosclerótica. Estes dados sugerem um potencial

benefício ao nível cardiovascular dos fármacos em causa, uma vez que estes diminuem o peso do indivíduo e, conseqüentemente, o índice de massa corporal, reduzindo assim o risco de eventos ateroscleróticos e de insuficiência cardíaca. A meta-análise feita por Kristensen *et al.* (2019) avalia os arGLP-I no que se refere aos *outcomes* cardiovasculares, à semelhança dos estudos mencionados anteriormente. Neste caso, conclui-se que os arGLP-I mostraram ter efeitos benéficos quer ao nível cardiovascular quer ao nível da mortalidade, em doentes com DMT2. Com esta terapêutica deu-se uma redução de cerca de 12% de MACE (*hazard ratio* 0,88, 95%CI 0,82-0,94; $p < 0,0001$). No que se refere à morte causada por eventos cardiovasculares o *hazard ratio* foi de 0,88, com 95%CI 0,81-0,96; $p = 0,003$, para eventos de AVC fatais ou não fatais o *hazard ratio* foi de 0,84, com 95%CI 0,76-0,93; $p < 0,0001$ e para enfartes de miocárdio fatais ou não fatais o *hazard ratio* foi de 0,91, com 95%CI 0,84-1,00; $p = 0,043$. Além disso, a mortalidade devido a eventos cardiovasculares reduziu 12% e a admissão hospitalar por insuficiência cardíaca reduziu 9%, comprovando-se assim os benefícios dos arGLP-I. Numa outra meta-análise desenvolvida por Li *et al.* (2016), foi estudada a associação entre os iDPP-4 e o risco de insuficiência cardíaca ou o risco de admissão hospitalar devido a insuficiência cardíaca em doentes com DMT2. Por um lado, um conjunto de 38 estudos, mostraram que não existe diferença significativa de risco de insuficiência cardíaca entre os iDPP-4 e o controlo (*odds ratio* 0,97; 95% CI 0,61-1,56), com uma heterogeneidade nula ($I^2 = 0\%$), sendo a qualidade de evidência baixa. Por outro lado, um conjunto de 5 estudos apresentou um aumento de risco para a admissão hospitalar por insuficiência cardíaca em pacientes tratados com iDPP-4 vs controlo (*odds ratio* 1,13; 95% CI 1,00-1,26), sendo a qualidade de evidência considerada moderada. Por fim, após os ajustes das estimativas dos estudos observacionais, foi sugerido um aumento de risco para a admissão hospitalar por insuficiência cardíaca (*odds ratio* 1,14; 95% CI 0,95-2,09) em pacientes tratados com iDPP-4 (exclusivamente SITA) vs não tratamento. Conclui-se que o efeito dos iDPP-4 nesta doença é incerto, sendo sugerido que estes fármacos aumentam o risco de admissão hospitalar em doentes que já tenham doenças cardiovasculares. No estudo CARMELINA foi avaliado o efeito da LINA em doentes com DMT2 e elevado risco cardiovascular, nomeadamente a ocorrência de MACE. Foi registada uma taxa de incidência de MACE entre LINA vs placebo 0,13 (95% CI -0,63 – 0,90). Concluiu-se, neste estudo, que a LINA demonstrou segurança cardiovascular para eventos ateroscleróticos e hospitalizações por insuficiência cardíaca (Rosenstock *et al.*, 2019). A classe das TZDs também tem sido avaliada, Nissen e Wolski (2007) estudaram a RSG ao nível dos efeitos cardiovasculares. A RSG comparada com o grupo de controlo apresenta um *odds ratio* para enfarte de miocárdio de 1,43 (95% CI 1,03 – 1,98, $p < 0,03$) e para morte causada por eventos cardiovasculares um *odds ratio* de 1,64 (95%CI 0,98 – 2,74, $p < 0,06$). Assim, conclui-se que a rosiglitazona está associada

a um aumento do risco de enfarte de miocárdio e do risco de morbidade causada por eventos cardiovasculares. Como se pode observar, tal como nos marcadores vasculares e inflamatórios, estas classes farmacológicas trazem benefícios a nível cardiovascular, apesar de nas TZDs, tal não acontecer.

Por fim, vários aspetos deverão ser considerados no caso de serem feitos mais estudos acerca desta temática. Seria importante incluir mais comparações entre tratamentos, especialmente com a IT, uma vez que esta terapêutica é uma das mais usadas no contexto da DM. Além disso, comparar as classes farmacológicas iSGLT2, arGLP-1e iDPP-4 entre si também seria importante, uma vez que são terapêuticas cada vez mais adotadas e benéficas, como mencionado acima, a nível cardiovascular. Por outro lado, é também sugerido medir com mais frequência marcadores de aterosclerose subclínica, de rigidez arterial, de função vascular e de ativação endotelial. Apesar de vários estudos presentes nesta dissertação o fazerem, a informação não é suficiente para se poder confirmar os efeitos dos fármacos usados em cada estudo, sendo por isso importante a realização de mais e melhores estudos. No que se refere aos marcadores inflamatórios, em praticamente todos os estudos foram abordados, especialmente a hsCRP.

No que se refere ao tipo de estudo, é importante escolher um estudo *double-blind* (estudo com dupla ocultação) em detrimento de um estudo *open-label*, uma vez que, por exemplo, as intervenções dos clínicos/investigadores no estilo de vida de cada participante poderão diferir devido a factos como ingestão de álcool ou tabagismo, tipo de dieta, hábitos diários e auto-monitorização terapêutica, sendo necessário, neste caso, apresentar tabelas de características *baseline* dos participantes (Kim *et al.*, 2007). Assim e de forma a uniformizar resultados, acaba por ser necessário confirmar os resultados através de um estudo *double-blind*. Num estudo *open-label*, tanto participantes como os clínicos/investigadores estão a par das intervenções, enquanto num estudo *double-blind* não há acesso às informações do estudo, tal é importante, pois os participantes nunca serão alertados para factos que poderão influenciar os resultados (dosagens e estilos de vida, por exemplo), diminuindo-se, assim, o risco de viés. No caso da insulinoaterapia, não é possível fazer a ocultação com formulações injetáveis. Além disso e tendo por base os resultados anteriores, o processo de aleatorização deve ser melhorado, uma vez que é o domínio que obteve um alto risco de viés, levando a um viés global elevado.

É também necessário envolver um maior número de participantes, ter uma duração de estudo maior, para confirmar os resultados a longo prazo, e protocolos mais simples, de forma que o número de participantes não seja afetado devido à severidade dos critérios de inclusão

e exclusão dos estudos e de forma a ser possível fazer análises mais robustas. Por outro lado, é importante ter em conta o género, etnia e a medicação associada aos participantes, pois os resultados poderão variar, uma vez que, por exemplo, as estatinas interferem na inflamação mediada por citocinas nas paredes arteriais, reduzindo a secreção de citocinas pró-inflamatórias (Borowska *et al.*, 2016). É também aconselhável que os resultados sejam apresentados sob a forma numérica, de forma que os leitores consigam, de forma mais fácil, interpretar os resultados expressos nos diversos estudos.

5. CONCLUSÃO

5. CONCLUSÃO

Esta revisão sistemática teve como objetivo comparar os efeitos de agentes antidiabéticos, em regime de monoterapia, em marcadores vasculares e inflamatórios em indivíduos com DMT2. Foi elaborada, quando possível, uma meta-análise para avaliar o efeito comparativo de vários fármacos em determinados *outcomes*. Perante os estudos incluídos nesta dissertação, pôde concluir-se que:

- Todos os agentes antidiabéticos estudados na presente dissertação tiveram um efeito positivo nos marcadores inflamatórios (hsCRP, TNF- α , IL-6 e IL-1 β), diminuindo os seus níveis. No entanto, os arGLP-I não tiveram qualquer efeito nos níveis de TNF- α e IL-6;

- No que se refere à cIMT, a MET, TZDs e iDPP-4 levaram a uma melhoria deste marcador. Também as TZDs levaram a uma melhoria do marcador de rigidez arterial, PWV;

- Relativamente ao FMD, nem a MET nem os iDPP-4 tiveram qualquer efeito, ao contrário da IT e do arGLP-I que levaram à diminuição dos níveis deste marcador;

- Os resultados obtidos nos marcadores de ativação endotelial, ICAM-I e VCAM-I, não foram de encontro ao que consta na literatura mencionada na dissertação (Molavi *et al.*, 2007; Seufert e Gallwitz, 2014), uma vez que estas terapêuticas antidiabéticas promovem uma diminuição dos níveis destes marcadores. No entanto, após o tratamento em monoterapia com a MET dá-se um aumento dos níveis de VCAM-I e após o tratamento em monoterapia com os arGLP-I ou TZDs, os níveis de ICAM-I aumentam e permanecem inalterados, respetivamente;

- As TZDs, como seria de esperar, promovem uma melhoria dos níveis de ACh e de NPS.

Tendo em conta a análise comparativa, por meta-análise, teceram-se as seguintes considerações:

- Na comparação MET vs IT é apresentada heterogeneidade elevada e uma SMD global negativa, não havendo também um favorecimento para nenhum dos tratamentos;

- No que se refere à análise MET vs PIO é apresentada uma SMD negativa e uma ausência de heterogeneidade;

- Em MET vs RSG, no marcador hsCRP, há uma ausência de heterogeneidade, no entanto, nos marcadores TNF- α e IL-6, as heterogeneidades são de 48% e 19%, respetivamente. Em nenhum dos casos é observado um efeito global de alteração;

- Estes resultados poderão ser devidos ao pequeno número de participantes em cada estudo e ao número de estudos reduzido em cada meta-análise, sendo considerada uma limitação para a análise.

Adicionalmente, conclui-se que não existem muitos estudos relacionados com esta temática. De forma a tratar as disfunções micro- e macrovasculares associadas à DMT2, seria importante explorar os efeitos dos diversos agentes antidiabéticos ao nível dos marcadores referidos, pois a DMT2 é uma doença de grande escala a nível mundial.

6. BIBLIOGRAFIA

6. BIBLIOGRAFIA

AHMAD, Ehtasham *et al.* - Effects of liraglutide versus sitagliptin on circulating cardiovascular biomarkers, including circulating progenitor cells, in individuals with type 2 diabetes and obesity: Analyses from the LYDIA trial. **Diabetes, obesity & metabolism**. England. . ISSN 1463-1326 (Electronic). 23:6 (2021) 1409–1414. doi: 10.1111/dom.14343.

AMBERG, Gregory C.; NAVEDO, Manuel F. - Calcium dynamics in vascular smooth muscle. **Microcirculation (New York, N.Y. : 1994)**. . ISSN 1549-8719 (Electronic). 20:4 (2013) 281–289. doi: 10.1111/micc.12046.

ARAKI, Takahiro *et al.* - Effect of adiponectin on carotid arterial stiffness in type 2 diabetic patients treated with pioglitazone and metformin. **Metabolism: Clinical and Experimental**. . ISSN 00260495. 55:8 (2006) 996–1001. doi: 10.1016/j.METABOL.2006.03.008.

ASSAR, Mariam El; ANGULO, Javier; RODRÍGUEZ-MAÑAS, Leocadio - Diabetes and ageing-induced vascular inflammation. **Journal of Physiology**. . ISSN 14697793. 594:8 (2016) 2125–2146. doi: 10.1113/JP270841.

BOROWSKA, Magdalena *et al.* - The Impact of Pharmacotherapy of Type 2 Diabetes *Mellitus* on IL-1 β , IL-6 and IL-10 Secretion. **Pharmacology**. Switzerland. . ISSN 1423-0313 (Electronic). 97:3–4 (2016) 189–194. doi: 10.1159/000443897.

BRITTEN, M. B.; ZEIHNER, A. M.; SCHÄCHINGER, V. - Clinical importance of coronary endothelial vasodilator dysfunction and therapeutic options. **Journal of Internal Medicine**. . ISSN 09546820. 245:4 (1999) 315–327. doi: 10.1046/j.1365-2796.1999.00449.x.

BROWN, Emily *et al.* - SGLT2 inhibitors and GLP-1 receptor agonists: established and emerging indications. **The Lancet**. . ISSN 1474547X. 398:10296 (2021) 262–276. doi: 10.1016/S0140-6736(21)00536-5.

BRUNTON, Stephen A.; WYSHAM, Carol H. - GLP-1 receptor agonists in the treatment of type 2 diabetes: role and clinical experience to date. **Postgraduate Medicine**. . ISSN 19419260. 132:sup2 (2020) 3–14. doi: 10.1080/00325481.2020.1798099.

CARVALHO, D. *et al.* - Agonistas dos Receptores do GLP-1 no Tratamento da Diabetes Tipo 2 GLP-1 Receptor Agonists in Type 2 Diabetes Treatment. **Revista Portuguesa de Diabetes**. 11:4 (2016) 154–166.

CHEN, Xiao-Min *et al.* - Liraglutide suppresses non-esterified free fatty acids and soluble

vascular cell adhesion molecule-1 compared with metformin in patients with recent-onset type 2 diabetes. **Cardiovascular diabetology**. . ISSN 1475-2840 (Electronic). 17:1 (2018) 53. doi: 10.1186/s12933-018-0701-4.

CHENG, Lan *et al.* - Dapagliflozin, metformin, monotherapy or both in patients with metabolic syndrome. **Scientific reports**. . ISSN 2045-2322 (Electronic). 11:1 (2021) 24263. doi: 10.1038/s41598-021-03773-z.

CHU, Neelima V. *et al.* - Differential effects of metformin and troglitazone on cardiovascular risk factors in patients with type 2 diabetes. **Diabetes care**. United States. . ISSN 0149-5992 (Print). 25:3 (2002) 542–549. doi: 10.2337/diacare.25.3.542.

DEACON, Carolyn F. - Dipeptidyl peptidase 4 inhibitors in the treatment of type 2 diabetes *Mellitus*. **Nature Reviews Endocrinology**. . ISSN 17595037. 16:11 (2020) 642–653. doi: 10.1038/s41574-020-0399-8.

DEFRONZO, Ralph A. *et al.* - Novel agents for the treatment of type 2 diabetes. **Diabetes Spectrum**. . ISSN 19447353. 27:2 (2014) 100–112. doi: 10.2337/diaspect.27.2.100.

DIREÇÃO GERAL DA SAÚDE - Insulinoterapia na Diabetes *Mellitus* Tipo 2. **Revista Portuguesa de Diabetes**. 6:4 (2011) 180–187.

DUARTE, R. - Inibidores da DPP-4 (Gliptinas) – 10 anos depois (2007-2017). **Revista Portuguesa de Diabetes**. 12:2 (2017) 62–67.

DUARTE, Rui; MELO, Miguel; SILVA NUNES, José - Recomendações Nacionais da SPD para o Tratamento da Hiperglicemia na Diabetes Tipo 2 – Atualização 2018/19 com Base na Posição Conjunta ADA/EASD*. **Revista Portuguesa de Diabetes**. 13:4 (2018) 154–180.

DURHAM, Andrew L. *et al.* - Role of smooth muscle cells in vascular calcification: Implications in atherosclerosis and arterial stiffness. **Cardiovascular Research**. . ISSN 17553245. 114:4 (2018) 590–600. doi: 10.1093/cvr/cvy010.

FARAH, Raymond; SHURTZ-SWIRSKI, Revital; LAPIN, Olga - Intensification of oxidative stress and inflammation in type 2 diabetes despite antihyperglycemic treatment. **Cardiovascular diabetology**. . ISSN 1475-2840 (Electronic). 7: 20 (2008). doi: 10.1186/1475-2840-7-20.

FIDAN, Evren *et al.* - The effects of rosiglitazone and metformin on inflammation and endothelial dysfunction in patients with type 2 diabetes *Mellitus*. **Acta diabetologica**. Germany. . ISSN 1432-5233 (Electronic). 48:4 (2011) 297–302. doi: 10.1007/s00592-011-0276-

Y.

FONSECA, Diogo A.; ANTUNES, Pedro E.; COTRIM, Maria D. - Endothelium-dependent vasoactivity of the human internal mammary artery. **Coronary Artery Disease**. . ISSN 14735830. 25:3 (2014) 266–274. doi: 10.1097/MCA.000000000000097.

GAJDOVA, Jaromira *et al.* - Pulse wave analysis and diabetes *Mellitus*. A systematic review. **Biomedical Papers**. . ISSN 18047521. 161:3 (2017) 223–233. doi: 10.5507/bp.2017.028.

GENOVESE, Stefano *et al.* - Effect of pioglitazone versus metformin on cardiovascular risk markers in type 2 diabetes. **Advances in therapy**. United States. . ISSN 1865-8652 (Electronic). 30:2 (2013) 190–202. doi: 10.1007/s12325-013-0003-x.

GHOSH-SWABY, Olivia R. *et al.* - Glucose-lowering drugs or strategies, atherosclerotic cardiovascular events, and heart failure in people with or at risk of type 2 diabetes: an updated systematic review and meta-analysis of randomised cardiovascular outcome trials. **The Lancet Diabetes and Endocrinology**. . ISSN 22138595. 8:5 (2020) 418–435. doi: 10.1016/S2213-8587(20)30038-3.

GURKAN, Eren *et al.* - Evaluation of exenatide versus insulin glargine for the impact on endothelial functions and cardiovascular risk markers. **Diabetes Research and Clinical Practice**. . ISSN 18728227. 106:3 (2014) 567–575. doi: 10.1016/J.DIABRES.2014.09.046.

HAMILTON, Sandra J.; CHEW, Gerard T.; WATTS, Gerald F. - Therapeutic regulation of endothelial dysfunction in type 2 diabetes *Mellitus*. **Diabetes and Vascular Disease Research**. . ISSN 14791641. 4:2 (2007) 89–102. doi: 10.3132/dvdr.2007.026.

HANEFELD, Markolf *et al.* - Double-blind, randomized, multicentre, and active comparator controlled investigation of the effect of pioglitazone, metformin, and the combination of both on cardiovascular risk in patients with type 2 diabetes receiving stable basal insulin therapy: th. **Cardiovascular diabetology**. . ISSN 1475-2840 (Electronic). 10:65 (2011). doi: 10.1186/1475-2840-10-65.

HARRER, Mathias *et al.* - **Doing Meta-Analysis With R: A Hands-On Guide**. 1st. ed. Boca Raton, FL and London : Chapman & Hall/CRC Press, 2021 Disponível em <https://www.routledge.com/Doing-Meta-Analysis-with-R-A-Hands-On-Guide/Harrer-Cuijpers-Furukawa-Ebert/p/book/9780367610074>. ISBN 978-0-367-61007-4.

HARTEMANN-HEURTIER, Agnès *et al.* - Effects of bed-time insulin versus pioglitazone on abdominal fat accumulation, inflammation and gene expression in adipose tissue in patients

with type 2 diabetes. **Diabetes Research and Clinical Practice**. . ISSN 01688227. 86:1 (2009) 37–43. doi: 10.1016/j.diabres.2009.06.028.

HIRAMATSU, Takeyuki *et al.* - Liraglutide relieves cardiac dilated function than DPP-4 inhibitors. **European journal of clinical investigation**. . ISSN 1365-2362 (Electronic). 48: 10 (2018) e13007. doi: 10.1111/eci.13007.

HURREN, Kathryn M.; DUNHAM, Marissa Waldman - Are thiazolidinediones a preferred drug treatment for type 2 diabetes? **Expert Opinion on Pharmacotherapy**. . ISSN 17447666. 22:2 (2021) 131–133. doi: 10.1080/14656566.2020.1853100.

I. CHRISTEN, Alejandra *et al.* - Arterial Wall Structure and Dynamics in Type 2 Diabetes *Mellitus* Methodological Aspects and Pathophysiological Findings. **Current Diabetes Reviews**. . ISSN 15733998. 6:6 (2010) 367–377. doi: 10.2174/157339910793499146.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION - **IDF Diabetes Atlas**. 10th edn ed. Brussels, Belgium : [s.n.] Disponível em <https://www.diabetesatlas.org>.

IWATA, Masako; MIYASHITA, Yutaka; KUMAGAI, Hiromichi - Seasonal variation of endothelium-dependent flow-mediated vasodilation measured in the same subjects. **American Journal of Cardiovascular Disease**. 2:2 (2012) 111–115.

KADOGLU, Nikolaos P. E. *et al.* - Effects of rosiglitazone and metformin treatment on apelin, visfatin, and ghrelin levels in patients with type 2 diabetes *Mellitus*. **Metabolism: clinical and experimental**. United States. . ISSN 1532-8600 (Electronic). 59:3 (2010) 373–379. doi: 10.1016/j.metabol.2009.08.005.

KATO, T. *et al.* - Comparative study of low-dose pioglitazone or metformin treatment in Japanese diabetic patients with metabolic syndrome. **Experimental and clinical endocrinology & diabetes: official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association**. Germany. . ISSN 1439-3646 (Electronic). 117:10 (2009) 593–599. doi: 10.1055/s-0029-1202792.

KAUTZKY-WILLER, A. *et al.* - Insulin sensitivity during oral glucose tolerance test and its relations to parameters of glucose metabolism and endothelial function in type 2 diabetic subjects under metformin and thiazolidinedione. **Diabetes, obesity & metabolism**. England. . ISSN 1462-8902 (Print). 8:5 (2006) 561–567. doi: 10.1111/j.1463-1326.2005.00568.x.

KIM, Hyeong Jin *et al.* - Effects of rosiglitazone and metformin on inflammatory markers and adipokines: Decrease in interleukin-18 is an independent factor for the improvement of

- homeostasis model assessment-beta in type 2 diabetes *Mellitus*. **Clinical Endocrinology**. . ISSN 03000664. 66:2 (2007) 282–289. doi: 10.1111/j.1365-2265.2006.02723.x.
- KITAO, Naoyuki *et al.* - The effects of vildagliptin compared with metformin on vascular endothelial function and metabolic parameters: a randomized, controlled trial (Sapporo Athero-Incretin Study 3). **Cardiovascular diabetology**. . ISSN 1475-2840 (Electronic). 16:1 (2017) 125. doi: 10.1186/s12933-017-0607-6.
- KRISTENSEN, Søren L. *et al.* - Cardiovascular, mortality, and kidney outcomes with GLP-1 receptor agonists in patients with type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis of cardiovascular outcome trials. **The Lancet Diabetes and Endocrinology**. . ISSN 22138595. 7:10 (2019) 776–785. doi: 10.1016/S2213-8587(19)30249-9.
- LAFUENTE, Nuria *et al.* - The deleterious effect of high concentrations of D-glucose requires pro-inflammatory preconditioning. **Journal of Hypertension**. . ISSN 02636352. 26:3 (2008) 478–485. doi: 10.1097/HJH.0b013e3282f331fb.
- LERMAN, Amir; ZEIHNER, Andreas M. - Endothelial function: Cardiac events. **Circulation**. . ISSN 00097322. 111:3 (2005) 363–368. doi: 10.1161/01.CIR.0000153339.27064.14.
- LI, Ling *et al.* - Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors and risk of heart failure in type 2 diabetes: Systematic review and meta-analysis of randomised and observational studies. **The BMJ**. . ISSN 17561833. 352:2016). doi: 10.1136/bmj.i610.
- LIBBY, Peter - The changing landscape of atherosclerosis. **Nature**. . ISSN 14764687. 592:7855 (2021) 524–533. doi: 10.1038/s41586-021-03392-8.
- LIU, Hengdao *et al.* - The protective role of DPP-4 inhibitors in atherosclerosis. **European Journal of Pharmacology**. . ISSN 18790712. 875 (2020). doi: 10.1016/j.ejphar.2020.173037.
- LIU, Sung-Chen *et al.* - Efficacy and safety of adding pioglitazone or sitagliptin to patients with type 2 diabetes insufficiently controlled with metformin and a sulfonylurea. **Endocrine practice: official journal of the American College of Endocrinology and the American Association of Clinical Endocrinologists**. United States. . ISSN 1934-2403 (Electronic). 19:6 (2013) 980–988. doi: 10.4158/EP13148.OR.
- LIU, Xiaojie *et al.* - Comparison of Antidiabetic Medications during the Treatment of Atherosclerosis in T2DM Patients. **Mediators of inflammation**. . ISSN 1466-1861 (Electronic). 2017. doi: 10.1155/2017/5032708.
- MAO, Xiao-Ming *et al.* - Independent anti-inflammatory effect of insulin in newly diagnosed

type 2 diabetes. **Diabetes/metabolism research and reviews**. England. . ISSN 1520-7560 (Electronic). 25:5 (2009) 435–441. doi: 10.1002/dmrr.968.

MELO, P.; MEDINA, J. L. - Início da Insulinoterapia na Diabetes Tipo 2: A Outra Insulinorresistência. **Revista Portuguesa de Diabetes**. 4:1 (2009) 17–22.

MITA, Tomoya *et al.* - Sitagliptin Attenuates the Progression of Carotid Intima-Media Thickening in Insulin-Treated Patients With Type 2 Diabetes: The Sitagliptin Preventive Study of Intima-Media Thickness Evaluation (SPIKE): A Randomized Controlled Trial. **Diabetes care**. United States. . ISSN 1935-5548 (Electronic). 39:3 (2016) 455–464. doi: 10.2337/dc15-2145.

MOGHISSI, Etie - Insulin therapy in type 2 diabetes. **US Endocrinology**. . ISSN 17583926. 9:1 (2013) 6–12. doi: 10.17925/use.2013.09.01.6.

MOLAVI, Behzad *et al.* - A review of thiazolidinediones and metformin in the treatment of type 2 diabetes with focus on cardiovascular complications. **Vascular Health and Risk Management**. . ISSN 11766344. 3:6 (2007) 967–973.

NANJAN, M. J. *et al.* - Thiazolidinediones as antidiabetic agents: A critical review. **Bioorganic Chemistry**. . ISSN 10902120. 77 (2018) 548–567. doi: 10.1016/j.bioorg.2018.02.009.

NATALI, Andrea *et al.* - Vascular effects of improving metabolic control with metformin or rosiglitazone in type 2 diabetes. **Diabetes care**. United States. . ISSN 0149-5992 (Print). 27:6 (2004) 1349–1357. doi: 10.2337/diacare.27.6.1349.

NIEVES-CINTRÓN, Madeline *et al.* - **Cellular and molecular effects of hyperglycemia on ion channels in vascular smooth muscle**. [S.l.] : Springer International Publishing, 2021 Disponível em <https://doi.org/10.1007/s00018-020-03582-z>. ISBN 0001802003.

NISSEN, Steven E.; WOLSKI, Kathy - Effect of Rosiglitazone on the Risk of Myocardial Infarction and Death from Cardiovascular Causes. **New England Journal of Medicine**. 356:24 (2007) 2457–2471. doi: 10.1056/NEJMoa072761.

NOGUCHI, Kaoru *et al.* - Single administration of vildagliptin attenuates postprandial hypertriglyceridemia and endothelial dysfunction in normoglycemic individuals. **Experimental and Therapeutic Medicine**. . ISSN 17921015. 9:1 (2015) 84–88. doi: 10.3892/etm.2014.2051.

NOMOTO, Hiroshi *et al.* - A comparison of the effects of the GLP-1 analogue liraglutide and insulin glargine on endothelial function and metabolic parameters: A randomized, controlled

trial sapporo athero-incretin study 2 (SAIS2). **PLoS ONE**. . ISSN 19326203. 10:8 (2015) 1–14. doi: 10.1371/journal.pone.0135854.

NUNES, J. Silva - Aspetos Práticos na Terapêutica com Metformina Practical Aspects on the Therapy with Metformin. **Revista Portuguesa de Diabetes**. 9:3 (2014) 127–132.

PAGE, Matthew J. *et al.* - The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews. **International Journal of Surgery**. . ISSN 17439159. 88 (2021) 1–11. doi: 10.1016/j.ijssu.2021.105906.

PEREZ, Alfonso *et al.* - Effects of pioglitazone and metformin fixed-dose combination therapy on cardiovascular risk markers of inflammation and lipid profile compared with pioglitazone and metformin monotherapy in patients with type 2 diabetes. **Journal of clinical hypertension (Greenwich, Conn.)**. . ISSN 1751-7176 (Electronic). 12:12 (2010) 973–982. doi: 10.1111/j.1751-7176.2010.00389.x.

PRADHAN, Aruna D. *et al.* - Effects of initiating insulin and metformin on glycemic control and inflammatory biomarkers among patients with type 2 diabetes: The LANCET randomized trial. **JAMA - Journal of the American Medical Association**. . ISSN 00987484. 302:11 (2009) 1186–1194. doi: 10.1001/jama.2009.1347.

REYNOLDS, L. Raymond *et al.* - Differential effects of rosiglitazone and insulin glargine on inflammatory markers, glycemic control, and lipids in type 2 diabetes. **Diabetes research and clinical practice**. Ireland. . ISSN 0168-8227 (Print). 77:2 (2007) 180–187. doi: 10.1016/j.diabres.2006.12.011.

RÖDER, Pia V. *et al.* - Pancreatic regulation of glucose homeostasis. **Experimental & molecular medicine**. . ISSN 20926413. 48:November 2015 (2016) e219. doi: 10.1038/emmm.2016.6.

ROSENSTOCK, Julio *et al.* - Effect of Linagliptin vs Placebo on Major Cardiovascular Events in Adults with Type 2 Diabetes and High Cardiovascular and Renal Risk: The CARMELINA Randomized Clinical Trial. **JAMA - Journal of the American Medical Association**. . ISSN 15383598. 321:1 (2019) 69–79. doi: 10.1001/jama.2018.18269.

ROTHSTEIN, Hannah R.; SUTTON, Alexander J.; BORENSTEIN, Michael - Publication bias in meta-analysis. **Publication Bias in Meta-Analysis: Prevention, Assessment and Adjustments**. (2006) 1–7. doi: 10.1002/0470870168.ch1.

RUSZKOWSKA-CIASTEK, Barbara *et al.* - Effect of uncontrolled hyperglycemia on levels of

adhesion molecules in patients with diabetes *Mellitus* type 2. **Journal of Zhejiang University: Science B**. . ISSN 18621783. 16:5 (2015) 355–361. doi: 10.1631/jzus.B1400218.

SAINI, Vandana - Molecular mechanisms of insulin resistance in type 2 diabetes *Mellitus*. **World Journal of Diabetes**. . ISSN 1948-9358. 1:3 (2010) 68. doi: 10.4239/wjd.v1.i3.68.

SALTIEL, Alan R.; KAHN, C. Ronald - Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. **Nature**. . ISSN 00280836. 414:6865 (2001) 799–806. doi: 10.1038/414799a.

SANCHEZ-RANGEL, Elizabeth; INZUCCHI, Silvio E. - Metformin: clinical use in type 2 diabetes. **Diabetologia**. . ISSN 14320428. 60:9 (2017) 1586–1593. doi: 10.1007/s00125-017-4336-x.

SANTOS, Eduardo José Ferreira Dos; CUNHA, Madalena - Interpretação crítica dos resultados estatísticos de uma meta-análise: estratégias metodológicas. **Millenium**. 44 (2013) 85–98.

SCHEEN, André J. - Sodium–glucose cotransporter type 2 inhibitors for the treatment of type 2 diabetes *Mellitus*. **Nature Reviews Endocrinology**. . ISSN 17595037. 16:10 (2020) 556–577. doi: 10.1038/s41574-020-0392-2.

SEUFERT, J.; GALLWITZ, B. - a Focus on the Cardiovascular , Gastrointestinal and Central Nervous Systems. **Diabetes Obesity and Metabolism**. 16:7 (2014) 588–601.

STERNE, Jonathan A. C. *et al.* - RoB 2: A revised tool for assessing risk of bias in randomised trials. **The BMJ**. . ISSN 17561833. 366:August (2019). doi: 10.1136/bmj.l4898.

STOCKER, Derek J. *et al.* - A randomized trial of the effects of rosiglitazone and metformin on inflammation and subclinical atherosclerosis in patients with type 2 diabetes. **American Heart Journal**. . ISSN 10976744. 153:3 (2007) 445.e1-445.e6. doi: 10.1016/j.ahj.2006.11.005.

STORCH, Amanda Sampaio *et al.* - Métodos de Investigação da Função Endotelial: Descrição e suas Aplicações Methods of Endothelial Function Assessment: Description and Applications. **International Journal of Cardiovascular Sciences**. . ISSN 0066-782X. 30:3 (2017) e130–e137.

STUMVOLL, Michael; GOLDSTEIN, Barry J.; HAEFTEN, Timon W. VAN - Type 2 diabetes: Principles of pathogenesis and therapy. **Lancet**. . ISSN 01406736. 365:9467 (2005) 1333–1346. doi: 10.1016/S0140-6736(05)61032-X.

TENTOLOURIS, Anastasios *et al.* - SGLT2 inhibitors: A review of their antidiabetic and cardioprotective effects. **International Journal of Environmental Research and Public**

Health. . ISSN 16604601. 16:16 (2019) 1–27. doi: 10.3390/ijerph16162965.

THIJSSSEN, Dick H. J.; CARTER, Sophie E.; GREEN, Daniel J. - Arterial structure and function in vascular ageing: Are you as old as your arteries? **Journal of Physiology**. . ISSN 14697793. 594:8 (2016) 2275–2284. doi: 10.1113/JP270597.

VANHOUTTE, P. M. - Platelet-derived serotonin, the endothelium, and cardiovascular disease. **Journal of cardiovascular pharmacology**. . ISSN 0160-2446. 17 Suppl 5 (1991) S6—12.

VRIESE, An S. DE *et al.* - Endothelial dysfunction in diabetes. **British Journal of Pharmacology**. . ISSN 00071188. 130:5 (2000) 963–974. doi: 10.1038/sj.bjp.0703393.

WANG, Minxin *et al.* - Correlations of carotid intima-media thickness with endothelial function and atherosclerosis degree in patients with type 2 diabetes *Mellitus*. **Clinical Hemorheology and Microcirculation**. . ISSN 18758622. 72:4 (2019) 431–439. doi: 10.3233/CH-180486.

WEBB, R. Clinton - Smooth muscle contraction and relaxation. **American Journal of Physiology - Advances in Physiology Education**. . ISSN 10434046. 27:1–4 (2003) 201–206. doi: 10.1152/advan.00025.2003.

WHO - Global Report on Diabetes. 978 (2016) 6–86.

WILCOX, Gisela - Insulin and Insulin Resistance. **Clin Biochem Rev**. . ISSN 0159-8090 (Print). 26:2 (2005) 19–39.

ANEXOS

ANEXO I

- Risco de viés apresentado por estudo.

Unique ID	Study ID	Experimental	Comparator	Outcome	Weight	D1	D2	D3	D4	D5	Overall
1	A	IT	MET	IL-6; IL-1β	1	-	!	+	+	+	-
2	A	IT	MET	hsCRP; IL-6	1	!	+	+	+	+	!
3	A	IT	MET	hsCRP; IL-6	1	+	+	+	+	+	+
4	A	TRO	MET	hsCRP	1	!	!	+	+	+	!
5	A	RSG	MET	hsCRP	1	-	!	+	+	+	-
6	A	RSG	MET	ICAM-1; hsCRP; TNF-α; IL-6	1	!	+	+	+	+	!
7	A	PIO	MET	hsCRP	1	+	+	+	+	+	+
8	A	RSG	MET	hsCRP	1	-	+	+	+	+	-
9	A	PIO	MET	hsCRP; PWV	1	!	+	+	+	+	!
10	A	RSG	MET	hsCRP; TNF-α; IL-6	1	-	+	+	+	+	-
11	A	PIO, SITA	MET	cIMT; IL-6	1	-	+	+	+	+	-
12	A	RSG	MET	Ach, NPS; hsCRP; TNF-α; IL-6	1	+	+	+	+	+	+
13	A	RSG	MET	hsCRP, cIMT	1	+	+	+	+	+	+
14	A	DAPA	MET	hsCRP	1	!	+	+	+	+	!
15	A	LIRA	MET	VCAM-1; ICAM-1	1	-	+	+	+	+	-
16	A	VILDA	MET	FMD, hsCRP	1	-	+	+	+	+	-
17	A	PIO	IT	hsCRP	1	+	+	+	+	+	+
18	A	EXE	IT	FMD; hsCRP; TNF-α; IL-6	1	-	+	+	+	+	-
19	A	LIRA	IT	FMD	1	-	+	+	+	+	-
20	A	SITA	PIO	hsCRP	1	-	+	+	+	+	-
21	A	SITA	LIRA	hsCRP; TNF-α; IL-6	1	!	+	+	+	+	!

Low risk
 Some concerns
 High risk

D1 Randomisation process
 D2 Deviations from the intended interventions
 D3 Missing outcome data
 D4 Measurement of the outcome
 D5 Selection of the reported result