

---

# AGRADECIMENTOS

---

Agradeço à Professora Doutora Manuela Carvalheiro, Professora Auxiliar da Clínica Universitária de Endocrinologia da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra (FMUC) /Serviço de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo dos HUC, cuja orientação foi crucial para a realização deste trabalho, pela disponibilidade, motivação, conhecimento e experiência transmitidos.

Por fim, agradeço aos meus pais, pelo apoio incondicional e por me facultarem todos os meios necessários para o alcance do sucesso durante o meu percurso académico.

---

# RESUMO

---

A Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) é uma patologia crónica que acarreta uma morbimortalidade bastante elevada. Infelizmente, a sua prevalência tem vindo a aumentar drasticamente nos últimos anos. Foi desenvolvida, recentemente, uma nova abordagem da terapêutica desta doença que se baseia na fisiologia das incretinas.

Este trabalho pretende definir o conceito de incretina, traçar os perfis de segurança, tolerabilidade e eficácia da terapêutica da DM2 baseada nessas hormonas, apontar as suas indicações actuais e expor as suas vantagens relativamente aos outros antidiabéticos disponíveis. Para a realização do mesmo, consultaram-se artigos científicos publicados e referenciados na MedLine/ PubMed.

Actualmente, são conhecidas 2 hormonas que se adequam à definição de incretina – *glucose-dependent insulintropic polypeptide* (GIP) e *glucagon-like peptide-1* (GLP-1). Estas hormonas são produzidas no tracto gastrointestinal e são lançadas para a circulação sanguínea em resposta à ingestão de nutrientes, aumentando a secreção de insulina. Contudo, as incretinas possuem uma semi-vida curta, uma vez que são rapidamente degradadas por uma enzima, a Dipeptidil-Peptidase 4 (DPP-4). Para além dos efeitos pancreáticos, as incretinas possuem importantes funções noutros tecidos, uma vez que demonstram, entre outras, a capacidade de controlar o apetite, não aumentar o peso e exercem efeitos benéficos a nível cardiovascular, papéis que devem ser valorizados, visto que a maioria dos doentes com DM2 apresenta excesso de peso ou obesidade e sofre, simultaneamente, de doença cardiovascular, sendo que a DM2 constitui, por si só, um risco acrescido para a última. O tratamento da DM2 baseado nas incretinas consiste em 2 grupos distintos de fármacos: os incretino-miméticos e os potenciadores das incretinas. Os primeiros, exercem actividade similar à das incretinas e são resistentes à

inactivação da DPP-4 e os segundos são constituídos pelos inibidores da DPP-4, que aumentam a semi-vida das incretinas endógenas, potenciando, assim, a sua actividade.

---

## PALAVRAS - CHAVE

---

Incretinas; GIP; GLP-1; Incretino-miméticos; Potenciadores de incretinas; Exenatide; Liraglutide; Sitagliptina; Vildagliptina.

## ÍNDICE

---

|   |    |
|---|----|
| 1 – Introdução.....   | 5  |
| 2 – Fisiologia das Incretinas.....  | 7  |
| 2.1 – GLP-1.....  | 8  |
| 2.1.1 – Gene Proglucagon.....   | 8  |
| 2.1.2 – Secreção, Metabolismo e Excreção de GLP-1.....                                  | 10 |
| 2.1.3 – Receptor de GLP-1.....  | 13 |
| 2.1.4 – Acções biológicas de GLP-1.....   | 14 |
| 2.2 – GIP.....  | 18 |
| 2.2.1 – Biossíntese, Secreção e Metabolismo do GIP.....                                 | 18 |
| 2.2.2 – Receptor do GIP.....  | 20 |
| 2.2.3 – Acções Biológicas do GIP.....   | 20 |
| 2.3 – Dipeptidil Peptidase-4: a enzima responsável pela inactivação das incretinas..... | 22 |
| 3 – Tratamento da DM2 baseado nas Incretinas.....                                       | 25 |
| 3.1– Incretino-Miméticos.....   | 26 |
| 3.1.1 – Exenatide.....  | 27 |
| 3.1.2 – Liraglutide.....  | 31 |
| 3.1.3 – Albiglutide.....  | 35 |
| 3.1.4 – Taspoglutide.....   | 36 |
| 3.1.5 – Outros agonistas de GLP-1R de longa acção.....                                  | 36 |
| 3.2 – Efeitos adversos dos Incretino-miméticos.....                                     | 37 |
| 3.4 – Questões não esclarecidas relativamente aos Incretino-miméticos.....              | 39 |
| 3.5 – Potenciadores da Incretinas: Inibidores da DPP-4.....                             | 41 |
| 3.5.1 – Sitagliptina.....   | 42 |
| 3.5.1.1 – Efeitos adversos da sitagliptina.....   | 43 |
| 3.5.2 – Vildagliptina.....  | 44 |
| 3.5.2.1 – Efeitos adversos da vildagliptina.....  | 46 |
| 3.5.3 – Alogliptina.....  | 47 |
| 3.5.4 – Saxagliptina.....   | 47 |
| 3.6 – Questões não esclarecidas relativamente aos inibidores da DPP-4.....              | 48 |
| 4 – Tratamento baseado nas Incretinas: Efeitos cardiovasculares.....                    | 52 |
| 5 – Serão as Incretinas as mediadoras chave da terapêutica cirúrgica da DM2?.....       | 59 |
| 6 – Conclusão.....  | 65 |
| 7 – Referências.....  | 66 |

## 1 – INTRODUÇÃO

---

A Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) é uma doença metabólica complexa, caracterizada por um estado de hiperglicemia resultante da redução da secreção de insulina juntamente com aumento da resistência às acções desta hormona. Estima-se que o número de doentes com diabetes seja de 285 milhões em 2010 e prevê-se que este valor irá rondar os 438 milhões no ano 2030. A DM2 contribuirá para a maioria desta subida, reflectindo, não só o envelhecimento da população, como também o aumento do número de indivíduos com excesso de peso e obesidade (Gungor and Arslanian 2002). Sabe-se que o controlo apertado da glicemia contribui para o decréscimo das complicações desta doença a longo prazo sendo, então, crucial que o maior número possível de doentes consiga atingir os níveis alvo de glicemia. Contudo, o alcance destes objectivos na prática clínica encontra-se longe de ser satisfatório. Podem ser apontadas várias razões para a falência do tratamento, incluindo, dificuldade em implementar e manter estilos de vida adequados, baixa adesão à terapêutica, eficácia limitada e/ou efeitos adversos do tratamento e a própria fisiopatologia da doença. Torna-se, então, necessário o desenvolvimento contínuo de terapêuticas que tentem colmatar estas lacunas e que exibam perfis de eficácia e segurança superiores aos dos fármacos já existentes. O tratamento inicial da DM2 compreende, geralmente, adequação do estilo de vida do doente em combinação com metformina. Apesar deste fármaco ser o agente de primeira linha no tratamento inicial da DM2, perdura alguma incerteza e falta de consenso no que respeita à escolha dos fármacos adicionais à metformina para optimizar o controlo glicémico. Foi, recentemente, desenvolvida uma terapêutica promissora apta a interpretar este papel. O tratamento da DM2 baseado nas incretinas apresenta um mecanismo de acção distinto de todas as outras terapêuticas, fundamentando-se na capacidade do organismo de controlar os níveis de glicemia, ao aumentar os níveis de hormonas incretinas activas, apresentando

resultados entusiasmantes no que diz respeito a eficácia, tolerabilidade e segurança. Concomitantemente, ao invés de actuar apenas na homeostase da glucose, possui um vasto espectro de acções não verificadas com os outros agentes anti-diabéticos, como o controlo do apetite, diminuição de peso ou efeito positivo sobre a doença cardiovascular, tão frequentemente associada à diabetes.

## 2 – FISILOGIA DAS INCRETINAS

---

As incretinas, hormonas produzidas no tracto gastrointestinal, são lançadas para a circulação sanguínea em resposta à ingestão de nutrientes, aumentando a secreção de insulina estimulada por glicose. Esta conexão entre o intestino e o pâncreas endócrino foi corroborada quando se demonstrou que a glicose dada oralmente provoca um maior incremento nos níveis plasmáticos de insulina do que a mesma quantidade de glucose administrada por via endovenosa (Baggio and Drucker 2007), ocorrendo o chamado efeito incretina, fenómeno que se pensa ser responsável por cerca de 50 a 70% do total de insulina segregada após administração oral de glucose.

A primeira incretina a ser isolada de extractos suínos foi denominada *gastric inhibitory peptide* (GIP), dada a sua capacidade de inibir a secreção ácida gástrica em cães. Posteriormente, foi provado que a GIP pode também estimular a secreção de insulina em animais e humanos. Uma vez que a inibição da secreção gástrica foi apenas observada em doses farmacológicas, enquanto a acção como incretina ocorre em doses fisiológicas, a hormona ganhou nova terminologia de modo a reflectir esta acção fisiológica – *glucose-dependent insulintropic polypeptide* –, embora o seu acrónimo se mantenha.

No decurso de estudos de clonagem e sequenciação do gene proglucagon mamífero e de ácidos desoxirribonucleicos (ADNs) complementares, foi descoberta a segunda hormona incretina, a *glucagon-like peptide-1* (GLP-1). O gene proglucagon, para além do glucagon, codifica ainda 2 peptídeos que são 50% homólogos ao glucagon e que foram denominados de *glucagon-like peptide-1* e *glucagon-like peptide-2* que, dada a sua semelhança com o glucagon, foram ambos testados para averiguar a sua capacidade insulínica, mas apenas o GLP-1 foi capaz de estimular a secreção de insulina.

Actualmente, apenas a GIP e a GLP-1 se adequam à definição de hormona incretina em humanos. Foi demonstrado que estes 2 peptídeos aumentam a secreção de insulina glucose-dependente de forma aditiva, contribuindo igualmente para o efeito incretina.

---

---

## 2.1 – GLP-1

---

---

### 2.1.1 – GENE PROGLUCAGON

---

---

O gene proglucagon localiza-se no braço longo do cromossoma 2 humano e compreende 6 exões e 5 intrões, sendo que a sequência de codificação do GLP-1 se encontra no exão 4 (White and Saunders 1986). Este gene tem expressão nas células  $\alpha$  do pâncreas endócrino, nas células L do intestino e nos neurónios localizados no tronco cerebral e no hipotálamo. A sua transcrição gera um único ácido ribonucleico mensageiro (ARNm), que é estruturalmente semelhante nos 3 tipos de células. Este ARNm é traduzido numa proteína precursora constituída por 180 aminoácidos que sofre um processo de pós-tradução tecido-específico, para assegurar peptídeos com funções igualmente específicas, no pâncreas, intestino e cérebro.

Nas células  $\alpha$  pancreáticas, o processo de pós-tradução tecido-específico leva à formação de: glucagon, *Glicentin-related polypeptide* (GRP), *intervening peptide-1* (IP1) e *major proglucagon peptide* (MPP). Este processo parece ser mediado, pelo menos em parte, pela enzima pro-hormona convertase 2 (PC2). O glucagon regula a produção hepática de



glucose pela activação da glicogenólise e neoglicogénese e inibição da glicólise. Representa, portanto, a principal hormona da contrarregulação da insulina, sendo essencial para a manutenção da homeostase da glicemia, sobretudo em jejum.

Nas células L enteroendócrinas e no Sistema Nervoso Central (SNC), o proglucagon origina glicentina, oxintomodulina, *intervening peptide-2*, GLP-1 e GLP-2. A enzima pro-hormona convertase 1/3 (PC 1/3) foi identificada nas células L e parece ser necessária e suficiente para o processo de pós-tradução do proglucagon no intestino (Rothenberg, Eilertson et al. 1995; Rouille, Kantengwa et al. 1997); no entanto, no SNC as enzimas responsáveis por este acontecimento ainda não foram bem definidas, mas, contudo, elevados níveis de PC3 e de PC 1/3 podem ser encontrados no SNC, incluindo no hipotálamo. As acções fisiológicas do *intervening peptide-2* e da glicentina, não estão bem definidas, mas a última exerce efeitos tróficos ao nível do intestino de roedores. A oxintomodulina inibe a secreção e a motilidade gastrointestinais, estimula a secreção pancreática de enzimas, bem como a absorção intestinal de glucose (Schjoldager, Mortensen et al. 1989), tendo ainda papel na promoção da saciedade e na regulação da frequência cardíaca. O GLP-2, apesar de apresentar funções biologicamente relevantes, como a estimulação da proliferação celular e a inibição da apoptose nas criptas intestinais (Drucker, Erlich et al. 1996), aumentar o transporte intestinal de glucose, melhorar a função da barreira intestinal, inibir a absorção de nutrientes (Tang-Christensen, Larsen et al. 2000; Lovshin, Estall et al. 2001) e o esvaziamento e secreção gástricos e ainda reduzir a reabsorção óssea e promover a proliferação e sobrevivência nervosas, não possui efeito insulínico. Em contrapartida, o GLP-1 exerce um importante espectro de acções que contribui para a regulação da homeostase da glucose (que será objecto de discussão seguidamente).

### 2.1.2 – SECREÇÃO, METABOLISMO E EXCREÇÃO DE GLP-1

---

O GLP-1 é segregado das células L enteroendócrinas, localizadas sobretudo no íleon distal e no cólon, embora possam ser encontradas em todo o intestino delgado (Mortensen, Christensen et al. 2003; Theodorakis, Carlson et al. 2006).

A secreção de GLP-1 é influenciada por diversos factores, mas o estímulo fisiológico primário é a ingestão de uma refeição, especialmente se for rica em gordura e hidratos de carbono (Brubaker 2006); a libertação de GLP-1 pode ser estimulada quer por refeições completas, quer por nutrientes isolados, como a glucose e outros açúcares, desde que administrados oralmente e não por via endovenosa, ácidos gordos e aminoácidos essenciais.

O padrão de secreção da GLP-1 é bifásico, iniciando-se por uma fase precoce (10 a 15 minutos), seguida por uma fase tardia (30-60 minutos). Uma vez que a maioria das células L se encontra no intestino distal, é pouco provável que a secreção inicial da GLP-1 seja precipitada por contacto directo com as células L. De facto, tem sido observado que o sistema nervoso autónomo, os neurotransmissores GRP (*Gastrin Releasing Peptide*) e a acetilcolina podem contribuir para a libertação precoce de GLP-1 após a ingestão de nutrientes. O nervo vago também parece ser um importante mediador da secreção de GLP-1 dependente de nutrientes, como mostraram alguns estudos realizados em humanos, nos quais se verificou que a administração de atropina (antagonista não-específico do receptor muscarínico), diminui a primeira fase de secreção de GLP-1 estimulada por glucose oral, independentemente do esvaziamento gástrico (Balks, Holst et al. 1997). Contrariamente ao mecanismo indirecto verificado na fase precoce, na tardia, os nutrientes digeridos estimulam directamente as

células L. Contudo, uma vez que as células L podem estar também localizadas nas zonas mais proximais do intestino, a fase precoce pode ocorrer também por estimulação directa.

A secreção de GLP-1 é ainda estimulada por uma hormona peptídica produzida nos adipócitos, a Leptina, cujos receptores se encontram expressos nas células intestinais L de humanos e roedores. Apesar da leptina aumentar a secreção de GLP-1, os indivíduos obesos apresentam frequentemente resistência a esta hormona. Assim, tem sido proposto que a leptino-resistência em obesos possa ser responsável pela diminuição dos níveis de GLP-1 (Anini and Brubaker 2003).

A activação de diferentes sinais intracelulares, como a proteína cinase A (PKA), a proteína cinase C (PKC), o cálcio e a proteína cinase activada por mitógeno (MAPK), estimulam também a libertação de GLP-1.

Têm sido realizados vários estudos no sentido de definir os estímulos da secreção de GLP-1, mas, em contrapartida, pouco se sabe acerca dos factores inibidores. Contudo, sabe-se que a insulina, a somatostatina e o neuropeptídeo galanina pertencem provavelmente a este último grupo.

O GLP-1 é segregado *in vivo* sob várias formas, das quais algumas são inactivas, como o GLP-1(1-37) e o GLP-1 (1-36), e outras, como o GLP-1 (7-37) e GLP-1(7-36)NH<sub>2</sub>, que apresentam actividade biológica. Estas parecem ser equipotentes na capacidade de estimulação de secreção de insulina (Orskov, Wettergren et al. 1993). Em humanos, a forma activa predominante na circulação é o GLP-1(7-36)NH<sub>2</sub>.

O tempo de semi-vida do GLP-1 bioactivo é inferior a 2 minutos, uma vez que é rapidamente inactivado por uma enzima proteolítica ubiquitária, denominada Dipeptidil Peptidase-4 (DPP-4) (Deacon, Nauck et al. 1995). A DPP-4, também conhecida por CD26, é

uma proteína sérica que cliva especificamente dipeptídeos do terminal amina de oligopeptídeos ou de proteínas, que contenham na posição 2 resíduos de alanina ou prolina, inativando ou modificando a sua actividade. O GLP-1 é um substrato da DPP-4 uma vez que possui o aminoácido alanina na penúltima posição, sendo rapidamente clivado em GLP-1 (9-37) ou GLP-1 (9-36)NH<sub>2</sub>. A DPP-4 pode ser encontrada em múltiplos tecidos e diferentes tipos celulares, incluindo o rim, pulmão, supra-renal, fígado, intestino, baço, testículo, pâncreas, SNC, bem como nas superfícies de linfócitos e macrófagos e na das células endoteliais, incluindo dos vasos que drenam a mucosa intestinal, e que se encontram adjacentes aos locais de secreção de GLP-1. Assim, a maioria do GLP-1 que entra na circulação portal já se encontra inactiva (Hansen, Deacon et al. 1999). Para além de estar ligada à superfície da membrana celular, a DPP-4 também se encontra como proteína solúvel circulante (Mentlein 1999). Está provado que a inibição da DPP-4 prolonga a semi-vida da GLP-1 bioactiva.

O metabolito inactivo do GLP-1 tem uma semi-vida de cerca de 5 minutos. Tanto a hormona activa como os seus metabolitos são eliminados, sobretudo, a nível renal. Foi demonstrado que doentes com insuficiência renal crónica apresentam níveis de metabolitos de GLP-1 superiores e quantidade semelhante de hormona bioactiva, quando comparados com indivíduos saudáveis (Meier, Nauck et al. 2004).

Os níveis de GLP-1 activo em jejum variam entre 5 a 10 pmol/L em humanos e aumentam cerca de 2 a 3 vezes após a refeição, dependendo da quantidade e do conteúdo desta (Elliott, Morgan et al. 1993; Xiao, Boushey et al. 1999; Vilsboll, Krarup et al. 2001). Os níveis pós-prandiais de GLP-1 intacto estão diminuídos em obesos e em diabéticos tipo 2. Dado que a taxa de eliminação é semelhante em indivíduos saudáveis, obesos e com DM2 (Ranganath, Beety et al. 1996; Vaag, Holst et al. 1996; Ranganath, Norris et al. 1999), a

diminuição nos níveis de GLP-1 é devida à diminuição da secreção (Vilsboll, Agero et al. 2003).

### 2.1.3 – RECEPTOR DE GLP-1

---

O receptor da GLP-1 (GLP-1R) contém uma proteína G acoplada, encontrando-se mapeado no braço curto do cromossoma 6. Foram identificados receptores com estrutura única em vários tecidos, incluindo nas células  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\delta$  do pâncreas, nos pulmões, coração, rins, estômago, intestino, hipófise, pele, gânglios do nervo vago e em várias regiões do SNC, incluindo hipotálamo e tronco cerebral.

É essencial a existência de uma região extracelular N-terminal para que a GLP-1 se possa ligar ao receptor.

A expressão dos receptores diminui nos ilhéus na presença de dexametasona, glicemia elevada, activação da PKC e GLP-1. Ao invés, aumenta em ratos diabéticos após 7 dias de tratamento com inibidores da DPP-4.

## 2.1.4 – ACÇÕES BIOLÓGICAS DE GLP-1

---

### *PÂNCREAS*

Os agonistas dos GLP-1R produzem várias acções no pâncreas, incluindo estimulação da secreção de insulina dependente de glucose. Para além desta hormona, o GLP-1 promove directamente a secreção de somatostatina das células  $\delta$  do pâncreas. A inibição da secreção de glucagon pelo GLP-1 é, provavelmente, mediada indirectamente pelo aumento dos níveis de insulina e/ou somatostatina. No entanto, o efeito glucagonostático do GLP-1 independentemente dos níveis séricos de insulina encontra-se demonstrado. Este efeito é também dependente da glicemia. O GLP-1 estimula, ainda, a proliferação das células  $\beta$  pancreáticas e inibe a sua apoptose em roedores. A glucose actua sinergicamente com esta hormona na promoção da transcrição do gene, na estabilidade do ARNm e na biossíntese da insulina, possibilitando, assim, o reabastecimento das reservas de insulina das células  $\beta$ , evitando a exaustão das mesmas. O GLP-1 confere, ainda, sensibilidade à glucose às células  $\beta$  resistentes, melhorando a sua capacidade de resposta. No entanto, esta hormona também exerce importantes acções extra-pancreáticas (*figura 1*).

### *SISTEMA NERVOSO CENTRAL E PERIFÉRICO*

Os GLP-1R e fibras nervosas contendo GLP-1 podem ser encontrados em regiões do SNC responsáveis pela regulação de diferentes funções homeostáticas, como o apetite, a motilidade gástrica, a glucorregulação e a função cardiovascular. Os GLP-1R podem ser localizados nos gânglios nervosos das fibras nervosas aferentes do nervo vago, cujos ramos centrais terminam no tracto solitário do tronco cerebral. A molécula do GLP-1 é relativamente pequena, ultrapassando facilmente a barreira hemato-encefálica. Pode, assim, diminuir o

apetite através da comunicação directa com os GLP-1R existentes no hipotálamo, estrutura responsável pela regulação do comportamento alimentar. Por outro lado, a diminuição do apetite pode ser indirecta, através da capacidade do GLP-1 de atrasar o esvaziamento gástrico, distendendo o estômago e provocando, assim, sensação de saciedade. A administração de agonistas de GLP-1R parece provocar uma diminuição do peso corporal em indivíduos obesos, diabéticos e saudáveis. Esta hormona possui também um papel de neuroprotecção, uma vez que exerce acções proliferativas, neogénicas e anti-apoptóticas nos neurónios, tendo, então, sido proposto o uso de agonistas de GLP-1R no tratamento de doenças neurodegenerativas e noutras patologias nervosas, incluindo a neuropatia periférica diabética.

#### *SISTEMA GASTROINTESTINAL*

A nível gastrointestinal, o GLP-1 exhibe actividade inibitória sobre a pentagastrina e sobre a secreção e motilidade gástricas após a refeição. A desaceleração do esvaziamento gástrico atenua o aumento da glicemia pós-prandial, uma vez que lentifica o trânsito de nutrientes do estômago para o intestino (Willms, Werner et al. 1996; Meier, Gallwitz et al. 2003). Deste modo, verifica-se, também, uma diminuição da insulina sérica pós-prandial. O GLP-1 inibe o esvaziamento gástrico através de mecanismos complexos. Apesar de existirem GLP-1R nas células parietais do estômago, sugerindo que os seus agonistas diminuem a motilidade e secreção gástricas de forma directa, vários dados experimentais indicam que este efeito da GLP-1 é mediado pelo nervo vago e envolve os GLP-1R localizados no SNC e/ou nas fibras vagais aferentes que transportam informação sensorial até ao cérebro.

#### *SISTEMA CARDIOVASCULAR*

Os GLP-1R encontram-se expressos no coração de humanos e roedores, embora o tipo celular específico não tenha ainda sido identificado. Localizam-se também nos núcleos do tracto solitário e área postrema, regiões do SNC que regulam a função cardiovascular. Pensa-

se, então, que o GLP-1 apresenta efeito cardioprotector. Esta hormona demonstrou actividade na diminuição do tamanho do enfarte, na melhoria da função ventricular esquerda e na absorção de glicose pelo miocárdio após reperfusão de lesão isquémica, em corações de ratos. Estes resultados parecem ser extensíveis aos humanos.

#### *FÍGADO, TECIDO ADIPOSO E MÚSCULO*

O GLP-1 participa activamente no metabolismo da glucose. Esta hormona inibe a produção hepática de glucose, para além de promover a sua reserva nos adipócitos e no músculo esquelético.

#### *OUTROS TECIDOS*

Está provado que, em humanos saudáveis, a infusão de GLP-1 a curto prazo produz aumento transitório nos níveis circulantes de hormona adrenocorticotrópica e de cortisol.

Apesar de não se conhecer a função precisa da GLP-1 no sistema respiratório e a sua importância para a normal fisiologia pulmonar, a activação do sinal de GLP-1R melhora a secreção da mucosa e de surfactante, promovendo, ainda, o relaxamento muscular pulmonar.

Esta hormona poderá ter, também, um papel protector a nível renal, dado que se verificou que a administração endovenosa, durante 3 horas, de GLP-1 em humanos obesos aumenta a excreção de água e sódio, diminui a secreção de  $H^+$  e a hiperfiltração glomerular.

A disponibilidade de dados acerca da função do GLP-1 sobre o sistema imune é ainda escassa. No entanto, estudos recentes investigaram o papel dos GLP-1R na função imune em ratos selvagens *wild-type* (W-T), em não obesos diabéticos (NOD) e em ratos com deleção dos GLP-1R (GLP-1R<sup>-/-</sup>), tendo sido concluído que a sinalização dos GLP-1R provavelmente



regula a proliferação linfocitária e a manutenção das células T reguladoras (Hadjiyanni, Siminovitch et al. 2010).

### *POTENCIAIS ACÇÕES DO GLP-1(9-36)NH<sub>2</sub>*

Uma vez que os níveis circulantes do metabolito primário do GLP-1, GLP-1 (9-36)NH<sub>2</sub>, são superiores ao da molécula activa, terá interesse a determinação das funções daquele peptídeo. Existem evidências de que este metabolito exerce um papel na função cardiovascular. Contudo, a sua acção sobre a homeostase da glucose permanece incerta.



**Figura 1:** Principais acções do GLP-1.

## 2.2 – GIP

---

### 2.2.1 – BIODISSÍNTHESE, SECREÇÃO E METABOLISMO DO GIP

---

O gene humano do GIP, localizado no braço longo do cromossoma 17, compreende 6 exões, encontrando-se a maioria da sequência codificadora desta hormona no exão 3. O GIP deriva de um precursor proGIP que codifica um peptídeo de sinal, um peptídeo N-terminal, o GIP e um peptídeo C-terminal. A hormona bioactiva é originada do seu precursor através de uma clivagem pós-transdução nos resíduos de arginina dos flancos, processo dependente da enzima PC 1/3. Os peptídeos codificados além do GIP não possuem função conhecida.

O GIP é sintetizado e segregado pelas células K intestinais, que se localizam maioritariamente no duodeno e jejuno proximal, podendo ser encontradas em menor número por todo o intestino delgado (Mortensen, Christensen et al. 2003).

Esta hormona é segregada em resposta à ingestão de nutrientes, especialmente de glucose e lípidos, sendo sobretudo influenciada pela taxa de absorção e não apenas pela presença de nutrientes no intestino. Em situações de mal-absorção, a secreção de GIP encontra-se, portanto, diminuída.

Estudos *in vitro* com células caninas mostraram que a activação da adenilciclase, o aumento do cálcio intracelular, a despolarização mediada por potássio, a glucose e a estimulação  $\beta$  adrenérgica potenciam a secreção de GIP.

Nos humanos, os níveis séricos basais de GIP variam de 0,06 a 0,1 nmol/L, aumentando para 0,2-0,5 nmol/l após a refeição (Orskov, Wettergren et al. 1996; Vilsboll, Krarup et al. 2001).

Os níveis de GIP encontram-se normais ou ligeiramente aumentados em doentes com DM2. O seu tempo de semi-vida é de 7 e 5 minutos em indivíduos saudáveis e em diabéticos tipo 2, respectivamente (Deacon, Nauck et al. 2000). O GIP possui um resíduo de alanina na sua posição 2, constituindo também um substrato para a DPP-4. Esta enzima converte a molécula activa, GIP (1-42), no metabolito inactivo, GIP (3-42). A comparação entre os níveis de incretinas após administração de DPP-4 intravenosa em humanos revelou que 40% do GIP permanece intacto enquanto que apenas 20% de GLP-1 se encontra na sua forma bioactiva (Kieffer, McIntosh et al. 1995; Deacon, Nauck et al. 2000), o que permite concluir que o GIP é menos susceptível à acção da DPP-4 *in vivo*, reflectindo-se numa semi-vida plasmática superior à da GLP-1.

A excreção de GIP parece ocorrer sobretudo a nível renal, uma vez que os seus níveis se encontram aumentados em doentes com insuficiência renal crónica. Estudos realizados em suínos demonstraram que o rim é o principal local de metabolismo da GIP, ocorrendo também no fígado (Deacon, Danielsen et al. 2001). As taxas de eliminação desta hormona, quer da sua forma activa quer do seu metabolito, são semelhantes em indivíduos saudáveis e em obesos com DM2.

### 2.2.2 – RECEPTOR DO GIP

---

O gene do receptor da GIP (GIPR), localizado no braço pequeno do cromossoma 19, tem expressão no pâncreas, estômago, intestino delgado, tecido adiposo, córtex da supra-renal, hipófise, coração, testículo, células endoteliais, osso, traqueia, baço, timo, pulmão, rim, tiróide e em várias regiões do SNC. Os níveis de ARNm e de proteína de GIPR estão diminuídos nos ilhéus de ratos diabéticos, o que se coaduna com o défice de acção de GIP em seres humanos (Lynn, Pamir et al. 2001). O domínio N-terminal e o primeiro *loop* do GIPR são essenciais para a elevada afinidade do GIP.

### 2.2.3 – ACCÇÕES BIOLÓGICAS DO GIP

---

#### *PÂNCREAS*

O papel fisiológico primário do GIP é, tal como o da outra hormona incretina GLP-1, actuar sobre as células  $\beta$  pancreáticas, aumentando a secreção de insulina dependente de glucose. O GIP actua sinergicamente com a glucose no estímulo da proliferação celular e aumento da sobrevivência das células  $\beta$  após sujeição do pâncreas a um ambiente desfavorável. Não obstante, o GIP apresenta também acções extra-pancreáticas.

### *SISTEMA NERVOSO CENTRAL*

No SNC, o GIP pode ser encontrado no hipocampo, sendo que o seu receptor tem expressão em várias regiões do cérebro, incluindo o córtex, hipocampo e bulbo olfativo. Esta hormona exibe, provavelmente, papel na proliferação de células nervosas progenitoras e na modificação do comportamento.

### *TECIDO ADIPOSEO*

O GIP encontra-se envolvido, também, na regulação do metabolismo dos lípidos e no desenvolvimento da obesidade. A ingestão de gordura é um potente estímulo à secreção de GIP em humanos e os níveis plasmáticos encontram-se aumentados em alguns indivíduos obesos (Salera, Giacomoni et al. 1982). Esta hormona apresenta efeitos anabólicos nos lípidos: estimula a síntese de ácidos gordos, aumenta a incorporação estimulada por insulina de ácidos gordos em triglicéridos, aumenta a síntese da lipoproteína lipase e reduz a lipólise estimulada por glucagon. Apesar dos indivíduos com DM2 apresentarem resistência aos efeitos insulíntricos do GIP exógeno e de não existir relação directa entre obesidade e GIP em humanos, os benefícios da estimulação versus inibição de GIPR devem ser ponderados.

### *METABOLISMO ÓSSEO*

O ARNm e proteína do GIP estão expressos no osso e em linhas celulares osteoblasto-*like* (Bollag, Zhong et al. 2000). O GIP estimula o aumento dos níveis de monofosfato de adenosina cíclico (cAMP) e do cálcio intracelular em cultura de osteoblastos, verificando-se, assim, incremento dos marcadores de formação óssea, como actividade da fosfatase alcalina e ARNm de colagénio tipo 1. Foram realizados vários estudos para demonstrar este novo papel do GIP na regulação da remodelação óssea. Contudo, a administração aguda de GIP em humanos não altera os marcadores de turnover ósseo (Henriksen, Alexandersen et al. 2003) e

continua incerto se a administração de GIP a longo prazo provocará um aumento da formação óssea.

#### *OUTROS TECIDOS*

A nível gástrico, esta incretina diminui a secreção ácida, mas apenas em doses suprafisiológicas (Schirra, Sturm et al. 1998) e também parece aumentar o transporte intestinal de hexose.

No fígado, o GIP atenua a produção de glucose estimulada pelo glucagon, mas por mecanismos indirectos, dado que não se detectaram GIPR neste órgão.

Apesar do ARNm do GIPR ser detectado noutros tecidos como coração, testículo, pulmão, as suas acções fisiológicas nestes órgãos permanecem por esclarecer.

### 2.3 – DIPEPTIDIL PEPTIDASE-4: A ENZIMA RESPONSÁVEL PELA INACTIVAÇÃO DAS INCRETINAS

---

A Dipeptidil Peptidase-4 (DPP-4), uma peptidase de superfície celular, originalmente conhecida como marcador CD26 da superfície celular de linfócitos ou como adenosina desaminase (ADA)-*binding protein*, é uma protease sérica de 766 aminoácidos que cliva preferencialmente as hormonas peptídicas que contenham na posição 2 resíduos de alanina ou prolina. O gene humano desta enzima encontra-se no cromossoma 2, locus 2q24.3 (Drucker 2007). A vasta distribuição da DPP-4 em vários tipos celulares e em diferentes leitos

vasculares e a sua presença como enzima solúvel activa na circulação indica que a proteólise é um evento comum na maioria dos tecidos.

A DPP-4 é membro de uma família genética complexa. Esta família de enzimas DPP-4-like inclui DPP8, DPP-9, PAF, DPP-2 ou dipeptidase prolina de célula quiescente (QPP), entre outras. Contudo, o papel e substratos endógenos da maioria dessas enzimas continuam por clarificar. Ainda assim, a DPP-4 é a enzima predominante responsável pela clivagem de X-Pro e X-Ala do soro humano. Uma vez que a família desta enzima engloba membros bem distintos, a selectividade e especificidade dos agentes usados para a inibição da actividade desta enzima devem ser cuidadosamente avaliadas.

Pensa-se que a DPP-4 exerce actividades biológicas não relacionadas apenas com a regulação da homeostase da glucose, tais como, controlo da imunidade e da função linfocitária, da migração celular, da entrada viral, da metastização e, ainda, da inflamação.

Apesar dos resultados experimentais obtidos usando inibidores não-selectivos de DPP-4 implicarem um papel da DPP-4 no controlo da imunidade, na biologia da transplantação, no crescimento das células tumorais e de metástases, os dados existentes acerca dos inibidores altamente selectivos criados para o tratamento da DM2 são limitados no que diz respeito a este assunto.

Numerosos peptídeos endócrinos, quimiocinas, como a SDF-1 (*stroma-cell derived factor*), e neuropeptídeos contêm uma alanina ou prolina na posição 2, representando, assim, potenciais substratos da DPP-4. A substância P constitui provavelmente um substrato fisiológico desta enzima. A inibição da DPP-4 potencia os efeitos vasodilatadores da substância P exógena, dado consistente com os casos de nasofaringite relatados em indivíduos humanos submetidos a tratamento com inibidores desta enzima (Charbonnel, Karasik et al. 2006; Pi-Sunyer, Schweizer et al. 2007). A substância P preenche, assim, os requisitos para

substrato da DPP-4, mas o significado clínico do seu aumento ou do SDF-1 após diminuição da actividade da DPP-4 continua incerto. Dada a potencial relevância destes peptídeos como substratos da DPP-4, é importante monitorizar os humanos em tratamento com inibidores da DPP-4, para detectar eventuais desenvolvimentos de inflamação, angioedema, rinite e urticária. Também o Neuropeptídeo Y (NPY) e o Peptídeo YY (PYY), com acções biológicas orexigénica e anorexiante, respectivamente, são clivados *in vitro* pela DPP-4, embora não existam evidências de que os níveis de NPY sejam significativamente alterados após diminuição da actividade da DPP-4.

É de elevada relevância clínica aferir a selectividade dos inibidores da DPP-4. Um número destes inibidores foi recentemente testado para a selectividade para DPP-4, FAP, DPP, 8, DPP-9 e DPP-2 (Lankas, Leiting et al. 2005). Nestes estudos, foram identificados os componentes selectivos para DPP-4, DPP8/9 ou DPP2, o que permitiu avaliar a toxicidade e tolerabilidade de cada tipo. A inibição selectiva de DPP-8/9 revelou algumas desvantagens como alopecia, trombocitopenia, mortalidade em ratos e toxicidade gastrointestinal em cães; a inibição selectiva da DPP-2 provocou reticulocitopenia em ratos. Por seu turno, a inibição selectiva da DPP-4 não demonstrou toxicidade aparente. É imperativo, então, que a inibição seja altamente selectiva sobre a DPP-4 e que não atinja a DPP-8/9.

A acção dos inibidores da DPP-4 é teoricamente diferente da das incretinas, dados os diversos substratos que esta enzima aparenta ter. Este facto tem trazido preocupações relativamente a possíveis efeitos adversos graves, os quais, até ao momento, não foram observados em estudos.



A diabetes é uma doença crónica que causa morbilidade substancial e mortalidade prematuras. Tanto o grau como a duração de exposição a níveis glicémicos elevados constituem factores determinantes no risco de desenvolvimento de complicações. Os agentes antidiabéticos disponíveis são capazes de alcançar, inicialmente, os níveis de glicemia recomendados mas, no entanto, a diabetes tipo 2 caracteriza-se pelo declínio progressivo da função das células  $\beta$ , sendo difícil obter o ajustamento e intensificação regulares necessários ao tratamento. A diminuição da hiperglicemia torna-se, por vezes, difícil de alcançar, dado o risco de hipoglicemia que a redução excessiva pode provocar. O risco incrementado de hipoglicemia e o aumento de peso associados às várias terapias existentes constituem uma barreira à optimização da glicemia. Uma vez que os doentes com DM2 apresentam sistematicamente excesso de peso, são necessários agentes terapêuticos que não promovam aumento adicional do mesmo. As glicemias do jejum e pós-prandial contribuem para o valor de hemoglobina glicada (HbA1c), embora seja a pós-prandial, só por si, que contribua para a maioria desse valor em indivíduos com HbA1c < 8.5%. Logo, o controlo da glicemia pós-prandial é a chave para o alcance do valor de HbA1c < 7%. Para além disso, os valores de glicemia pós-prandiais têm sido relacionados com o risco aumentado de eventos cardiovasculares. Sendo assim, novos agentes terapêuticos, que manifestem maior capacidade em minorar os níveis de glicemia pós-prandiais, podem trazer benefícios adicionais aos dos antidiabéticos já existentes, que diminuem a glicemia do jejum e pós-prandial (Barnett 2009).

Vários estudos demonstraram que a magnitude da secreção de insulina se encontra diminuída em indivíduos com DM2, sugerindo que os níveis ou as acções das incretinas estejam diminuídas nestes doentes. De facto, aquilo que tem sido observado é que os níveis de

GIP se encontram dentro dos parâmetros normais ou ligeiramente aumentados, enquanto que os níveis de GLP-1 se apresentam significativamente reduzidos em doentes com diminuição da tolerância á glucose ou DM2. Por outro lado, as acções de glucorregulação da GLP-1 encontram-se preservadas, enquanto a resposta insulínica ao GIP se encontra diminuída em doentes com DM2, mesmo após administração de doses suprafisiológicas. Logo, foram desenvolvidas duas estratégias terapêuticas com o objectivo de aumentar a acção da GLP-1 endógena in vivo. A primeira, consiste nos Incretino-miméticos, que possuem actividade semelhante à do GLP-1 e são resistentes à degradação da DPP-4. A segunda é constituída pelos Potenciadores das incretinas, dos quais fazem parte os inibidores da DPP-4, que aumentam a semi-vida das incretinas endógenas GLP-1 e GIP, potenciando, assim, a sua acção, ao inibir a actividade da enzima responsável pela sua degradação.

---

### 3.1– INCRETINO-MIMÉTICOS

---

Dado que a DPP-4 hidrolisa peptídeos com alanina ou prolina na posição 2, têm sido investigadas várias formas de obter uma forma sintética de GLP-1 que seja resistente a esta enzima e que, concomitantemente, mimetize os efeitos da hormona endógena.

### 3.1.1 – EXENATIDE

---

O Exenatide (exendin-4 sintético) foi o primeiro agonista de GLP-1R aprovado pelas agências reguladoras como agente terapêutico em diabéticos tipo 2 que não alcançaram controlos glicémicos satisfatórios. Este agonista é um composto sintético análogo ao GLP-1 produzido nas glândulas salivares do *Gila monster* (*Heloderma suspectum*) com 50% de aminoácidos homólogos ao GLP-1, ligando-se com maior avidéz aos GLP-1R do que a própria hormona endógena. O exenatide não representa um substrato para a DPP-4 uma vez que contém Gly<sup>2</sup> no local da Ala<sup>2</sup> (Lovshin and Drucker 2009). Este fármaco deve ser administrado por via subcutânea (SC) e é eliminado pelos rins através de filtração glomerular (Simonsen, Holst et al. 2006). Possui uma semi-vida média de 3.3 a 4 horas, apresentando pico plasmático 2 horas após a injeção, sendo detectado no plasma 15 horas após esta; exhibe efeito biológico durante 8h após a administração (Kolterman, Kim et al. 2005).

O exenatide melhora o controlo glicémico primariamente por reduzir a hiperglicemia pós-prandial, com modesta diminuição dos níveis de glicemia do jejum (Patsch, Miesenbock et al. 1992). É característico da DM2 a diminuição da primeira fase de secreção de insulina, que, nos indivíduos normais, ocorre cerca de 10 minutos após aumento súbito da glucose plasmática. O exenatide tem mostrado ser capaz de restaurar a primeira e segunda fases da secreção de insulina em resposta a bólus de glucose em diabéticos (Fehse, Trautmann et al. 2005). Estudos recentes revelaram que o padrão de secreção de insulina destes doentes observado com a administração de exenatide é comparável à resposta dos indivíduos saudáveis nos quais foi administrada solução salina. O exenatide poderá exercer, deste modo, efeitos benéficos sobre as acções das células  $\beta$ . Este fármaco influencia, também, a saciedade através de uma rede neurohormonal que, alcançando o cérebro, diminui o apetite e a ingestão

de alimentos. Deste modo, doentes tratados com o exenatide experimentaram importante perda de peso. O exenatide tem, então, a capacidade de aumentar a secreção de insulina dependente de glucose, restaurar a primeira fase de secreção de insulina, reduzir a secreção de glucagon e a produção hepática de glucose, regular o esvaziamento gástrico, suprimir o apetite e provocar perda de peso significativa.

Ensaio clínico aberto e controlado com placebo usando o exenatide em doentes com níveis de HbA1c oscilantes de 7.5 a 11% e Índice de Massa Corporal (IMC) > 25 kg/m<sup>2</sup> mostraram melhoria do controlo glicémico, dose dependente. A dose máxima diária de 10 µg 2 vezes/dia provocou uma diminuição de HbA1c de cerca de 0.8-1% às 30 semanas, em doentes inadequadamente controlados com metformina e/ou sulfonilureia (os doentes continuaram a fazer a sua medicação habitual durante os ensaios) (Buse, Henry et al. 2004; DeFronzo, Ratner et al. 2005; Kendall, Riddle et al. 2005). Aproximadamente, 40% dos doentes com dose de 10 µg atingiram níveis de HbA1c ≤ 7%. Concomitantemente, foi observada uma diminuição do peso corporal médio de 2 kg.

Vários estudos foram desenvolvidos no sentido de averiguar a eficácia do exenatide. Numa dessas investigações, foram realizados 3 ensaios clínicos randomizados, duplamente-cegos, controlados por placebo, multicêntricos, em doentes com DM2. Em cada ensaio, após 4 semanas de terapia com placebo, foi administrado aleatoriamente 5 µg de exenatide ou placebo 2 vezes/dia. Num dos ensaios, o exenatide foi adicionado a metformina; no segundo, a sulfonilureia; e no terceiro foi acrescentado a combinação de metformina e sulfonilureia. Em todos os estudos, após 4 semanas de tratamento, metade do grupo com exenatide aumentou a dose para 10µg 2 vezes/dia e metade do grupo com placebo também aumentou o volume de injeção. Os doentes foram seguidos durante 30 semanas após a randomização inicial. Houve diminuição do valor de HbA1c e do peso corporal dose-dependentes em todos

os ensaios clínicos, tendo a maior dose, 0.8mg, provocado a maior redução. A combinação de exenatide e metformina provocou maior decréscimo na HbA1c, uma vez que cerca de 45% dos doentes atingiram valores de HbA1c < 7%, tendo-se verificado uma diminuição de peso aproximadamente 2.7kg (6lb). Após 82 semanas do início do estudo, verificou-se que a HbA1c foi reduzida em cerca de 1.2% e que a perda ponderal foi de 4.5 kg para 5.4kg. O importante é que esta redução de peso não atingiu um *plateau* mas mostrou um declínio progressivo e contínuo. Foi verificado que os indivíduos com IMC < 30 emagreceram cerca de 4.5 kg (10 lb) e mantiveram essa perda por 2 anos. Em indivíduos com IMC superiores, a diminuição de peso foi mais acentuada e perdurou por um maior período de tempo. A diminuição de peso não se encontra relacionada com as náuseas que possam advir da toma de exenatide, pois só 5% são severas. A perda de peso foi associada a melhoria dos factores de risco cardiovasculares, como o aumento do colesterol HDL (*high-density lipoprotein*) em cerca de 4.46 mg/dl, diminuição dos triglicéridos de cerca de 36.94 mg/dl e redução modesta da tensão arterial (Ratner 2006).

A eficácia do exenatide foi avaliada num estudo comparativo “*head-to-head*” com a insulina glargina em combinação com metformina ou sulfonilureia. Foi observada melhoria do controlo glicémico em ambos os grupos, com redução de 1.1% na HbA1c após 26 semanas de tratamento. Em contraste com a insulino-terapia, que geralmente conduz ao aumento de peso, o tratamento com exenatide resultou em perda ponderal (+1.8 vs -2.3kg, respectivamente) (Heine, Van Gaal et al. 2005). As taxas de hipoglicemia foram semelhantes, mas a incidência de mal-estar gastrointestinal e de taxas de desistência foram superiores com o exenatide. Estudos efectuados com a insulina aspartato revelaram resultados semelhantes, embora a insulino-terapia tenha sido melhor tolerada, mas no entanto, apenas os doentes tratados com exenatide perderam peso (Nauck, Duran et al. 2007). Estes estudos sugerem que este incretino-mimético, apesar de exigir a administração por via subcutânea, representa uma

alternativa razoável ao começo de insulino-terapia em doentes cujos sintomas estão controlados sub-optimamente com antidiabéticos orais (ADO), principalmente naqueles preocupados com o seu potencial aumento de peso.

Apesar do exenatide possuir profundo efeito na glicemia pós-prandial, a sua acção sobre os níveis de glucose em jejum é modesta. Este facto pode estar relacionado com a duração de acção relativamente curta deste fármaco. Estudos com exenatide LAR (Long-Action Release) uma preparação de microsferas de longa-duração, apropriado para a administração de 1 vez/semana, revelaram uma diminuição de 50 mg/dl na glicemia do jejum e um decréscimo de 2% na HbA1c após 15 dias de tratamento. Um estudo mais recente, de 30 semanas, revelou, também, resultados benéficos da toma deste fármaco, observando que cerca de 77% dos doentes tratados com exenatide LAR atingiram níveis de HbA1c  $\leq 7\%$ , o que com o exenatide bidiário ocorreu em cerca de 61% dos doentes. Notoriamente, 33% dos doentes com exenatide LAR com níveis basais de HbA1c  $\geq 9\%$  alcançaram um valor final inferior a 6,5%. Ambos os fármacos mostraram redução de cerca de 4 kg no peso corporal. Este composto de longa acção está associado a menor número de indivíduos com queixas de náuseas, sendo bem tolerado, não demonstrando risco aumentado de hipoglicemia, sendo que cerca de 90% dos doentes completaram as 30 semanas de tratamento (Drucker, Buse et al. 2008).

O exenatide foi aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) em Abril de 2005 e pela *European Medicines Agency* (EMA) em Novembro do ano seguinte como tratamento adjuvante da metformina e/ou sulfonilureia na DM2. Deve ser injectado por via subcutânea 2 vezes/dia, 60 minutos antes da refeição, de manhã e à noite, não devendo ser administrado depois das refeições. Foi aprovado, posteriormente, para tratamento com tiazolidinediona com ou sem metformina e não se encontra licenciado para uso com insulina.

De forma a tornar a posologia do exenatide mais cómoda e a melhorar as suas acções, encontra-se em desenvolvimento a injeção SC semanal – Exenatide LAR. Este agente encontra-se em fase III de ensaios clínicos.

---

### 3.1.2 – LIRAGLUTIDE

---

O Liraglutide é um análogo da GLP-1 de longa acção, com substituição da Lys<sup>34</sup> por Arg<sup>34</sup> e com ligação de cadeia lateral de ácido gordo livre C-16 palmitoil à Lys<sup>26</sup>. O derivado de ácido gordo livre promove a ligação não-covalente do fármaco à albumina, aumentando, portanto, a semi-vida, uma vez que protege o fármaco da DPP-4 e, concomitantemente, da excreção renal, para além de diminuir a taxa de absorção do local de injeção. O Liraglutide também deve ser administrado por via subcutânea. Após a injeção, a concentração máxima plasmática é alcançada após 10 a 14 horas e possui semi-vida de 11 a 13 horas.

O liraglutide exhibe a capacidade de mimetizar o GLP-1: reduz os níveis de glicemia, eleva a secreção de insulina, diminui a velocidade do esvaziamento gástrico, reduz o peso e o apetite e minora, ainda, a taxa de hipoglicemia.

Estudos tendo como parâmetro variável a dose de medicamento usado em doentes com DM2, demonstraram que o liraglutide é eficaz e bem tolerado até 1.9 mg/dia.

A eficácia do liraglutide foi avaliada num conjunto de estudos denominado “*Liraglutide Effect and Action in Diabetes*” ou programa LEAD. Os seus resultados foram usados para fundamentação do pedido de autorização para entrada no mercado na Europa e

nos Estados Unidos da América. Este programa incluiu cerca de 6500 indivíduos, dos quais 4400 receberam o fármaco em estudo. O liraglutide foi comparado com a rosiglitazona como terapêutica adjuvante do glicemipiride (LEAD 1), tendo sido observada uma redução nos níveis de HbA1c de 1.1% e 0.5%, respectivamente, após 26 semanas de tratamento (Marre, Shaw et al. 2009). No LEAD 2, ensaio em que o liraglutide e o glicemipiride foram adicionados à metformina, a redução dos níveis de HbA1c foi de 1.1% com ambos os fármacos. Contudo, o liraglutide provocou redução do peso corporal e menor número de casos de hipoglicemia mas apresentou maior número de náuseas (Nauck, Frid et al. 2009). Num ensaio de 52 semanas com doentes que ainda não tinham recebido qualquer terapêutica para a DM2 (LEAD3), a diminuição da HbA1c foi de 1.1% e 0.45% com o liraglutide e glicemipiride, respectivamente. O primeiro fármaco possibilitou, ainda, redução do peso e da pressão arterial, provocou menos hipoglicemia, mas provocou maior número de efeitos gastrointestinais adversos (Garber, Henry et al. 2009). O liraglutide foi administrado a doentes tratados concomitantemente com metformina e rosiglitazona no ensaio LEAD 4, tendo proporcionado uma redução de 1.5% nos níveis de HbA1c (Zinman, Gerich et al. 2009). No LEAD 5, o liraglutide foi comparado com a insulina glargina em doentes com DM2, nos quais a combinação prévia de metformina/sulfonilureia havia falhado. Após 26 semanas de tratamento, os níveis de HbA1c sofreram uma redução de 1.3% e 1.1% com o liraglutide e a insulina glargina, respectivamente (Russell-Jones, Vaag et al. 2009). No LEAD 6, que decorreu, igualmente, num período de 26 semanas, o liraglutide foi comparado com exenatide, tem sido verificado um declínio significativamente maior nos níveis de HbA1c e da glicemia do jejum com o primeiro fármaco. A duração das náuseas e as taxas de hipoglicemia minor foram menores com este agente (Buse, Rosenstock et al. 2009). Recentemente, foram apresentados novos dados do ensaio LEAD 6 de fase 3b, em que 376 dos doentes que tinham participado no estudo anterior de 26 semanas, foram submetidos a um período adicional de 14



semanas de tratamento com liraglutide, sendo que os indivíduos que tinham iniciado o estudo com este fármaco continuaram a tomá-lo e aqueles que começaram com o exenatide alteraram a sua terapêutica para o liraglutide. Este último grupo experimentou mudanças significativas, dado que os níveis de HbA1c reduziram 0.3%, a glicemia do jejum diminuiu 0.9 mmol/l, ocorreu uma perda de peso de 1 kg e a pressão arterial sistólica diminuiu aproximadamente 4 mmHg.

Face a estes dados, é possível concluir que, tal como o exenatide, o liraglutide possui a capacidade de induzir perda de peso significativa e apresenta muito baixo risco de hipoglicemia. No entanto, o liraglutide, ao invés do primeiro fármaco, deve ser administrado apenas 1 vez/ dia, a qualquer hora do dia, desde que a toma se efectue diariamente à mesma hora. O perfil de acção do liraglutide aparenta ser semelhante ao da insulina basal, sem pico. É de interesse referir que o liraglutide, na dose de 1.8 mg 1 vez/dia provocou uma redução mais acentuada da HbA1c e da glicemia do jejum do que 10 µg 2 vezes/dia, com diminuição semelhante do peso e da tensão arterial (*tabela 1*).

A EMEA autorizou a sua comercialização a 30 de Junho de 2009 em todos os países membros da UE, encontrando-se já no mercado na Alemanha, Reino Unido e Dinamarca. No dia 25 de Janeiro de 2010, recebeu aprovação pela FDA, para tratamento de indivíduos com DM2.

Este fármaco tem vindo a ser estudado, também, no tratamento da obesidade em indivíduos não diabéticos. Alguns estudos revelaram, recentemente, a efectividade do liraglutide na diminuição do peso corporal. Ensaios nos quais os participantes obesos, maioritariamente não diabéticos, foram submetidos a 1 de 4 doses diferentes de liraglutide – 1.2mg, 1.8 mg, 2.4 mg e 3.0mg – 1 vez/dia, por via subcutânea, demonstraram maior perda de peso, comparativamente ao grupo de controlo com placebo. Os doentes tratados com as duas

doses superiores (2.4mg e 3.0mg) sofreram, igualmente, uma redução mais significativa do seu peso corporal do que aqueles aos quais foram administrados 120 mg de orlistat (Xenical®) 3 vezes/dia, um medicamento aprovado para o tratamento da obesidade. A perda média de peso variou desde 4.8 kg com a dose mais baixa (1.2mg) a 7.2 kg com a dose de 3.0mg de liraglutide. A redução de peso com o placebo foi de cerca de 2 kg e de aproximadamente 4 kg com orlistat. Foi observado ainda que o liraglutide, administrado em qualquer uma das doses, diminuiu a tensão arterial e reduziu a prevalência de pré-diabetes com a dose de 1.8 a 3.0mg. As náuseas e vômitos foram mais frequentes nos indivíduos a tomar liraglutide do que aqueles com placebo, mas os efeitos adversos foram maioritariamente transitórios e induziram, muito raramente, à descontinuação do tratamento (Astrup, Rossner et al. 2009).

|  | <b>Exenatide</b> | <b>Agonistas de longa-acção<br/>(exenatide LAR e liraglutide)</b> |
|--|------------------|---|
| <b>Secreção de insulina e de glucagon glucose-dependente</b> | Sim              | Sim   |
| <b>Lentifica esvaziamento gástrico</b>                       | Sim              | Pouco ou nada   |
| <b>Peso corporal</b>   | ↓                | ↓   |
| <b>HbA1c</b>   | ↓ ~ 1%           | ↓ ~ 1.5%  |
| <b>Efeito na glicemia do jejum</b>                           | Modesto          | Bom   |
| <b>Efeito na glicemia pós-prandial</b>                       | Bom              | Modesto   |

|   |                     |                          |
|---|---------------------|--------------------------|
| <b>Efeito nos factores de risco CV</b>      | Melhora (com ↓peso) | Melhora                  |
| <b>Efeitos adversos</b>                     | Náuseas             | Náuseas menos frequentes |
| <b>Pancreatite</b>                          | Rara                | Rara                     |
| <b>Administração</b>                        | 2x/dia              | Diária ou semanal        |
| <b>Tumor medular da tiróide em roedores</b> | Muito raro          | Raro                     |

**Tabela 1:** Dados comparativos entre incretino-miméticos – adaptado (Drucker, Sherman et al. 2010).

### 3.1.3 – ALBIGLUTIDE

O Albiglutide é um agonista de GLP-1R recombinante de longa acção, constituído por 2 cópias ligadas de sequência humana modificada da sequência de GLP-1 no interior de uma grande molécula de albumina sérica. Esta estrutura permite uma acção sustentada e administração semanal. Apesar do tamanho relativamente grande do albiglutide, estudos pré-clínicos em roedores demonstraram que este fármaco activa os GLP-1R e reproduz um largo espectro das acções do GLP-1, incluindo a lentificação do esvaziamento gástrico e a percepção de saciedade após administração aguda.

Este agente terapêutico entrou em fase III de ensaios clínicos no primeiro trimestre de 2009.

### 3.1.4 – TASPOGLUTIDE

---

O Taspoglutide é uma molécula baseada no GLP-1 que contém uma substituição de ácido amino-isobutírico nas posições 8 e 35, conferindo-lhe resistência à DPP-4. Uma formulação baseada em zinco demonstrou ser apropriada para administração semanal. Estudos recentes revelaram que o taspoglutide, usado em combinação com a metformina, melhora significativamente a glicemia pós-prandial e do jejum, com perfil de tolerabilidade favorável (Nauck, Ratner et al. 2009).

Este fármaco encontra-se, actualmente, em avaliação em fase III de ensaios clínicos.

### 3.1.5 – OUTROS AGONISTAS DE GLP-1R DE LONGA ACÇÃO

---

Actualmente, encontram-se outros agonistas de GLP-1R de longa duração em ensaios clínicos, incluindo o CJC1134, que consiste numa proteína que contém uma fracção de exendin 4 ligada covalentemente à albumina sérica por uma ligação química, que provou exercer um vasto leque de acções regulatórias do GLP-1R dependente de glucose em estudos pré-clínicos. Encontram-se, igualmente, várias terapias de GLP-1 com administração semanal

sob investigação clínica activa em fases I-II de ensaios clínicos, mas estão disponíveis escassos dados acerca da estrutura e eficácia destas moléculas.

### 3.2 – EFEITOS ADVERSOS DOS INCRETINO-MIMÉTICOS

Estes fármacos são geralmente bem tolerados pelos doentes. Dado que o estímulo do GLP-1 sobre a secreção de insulina é dependente da glucose, a hipoglicemia severa é rara com a administração do exenatide, sendo que a moderada se torna mais frequente aquando a administração simultânea com sulfonilureia. Os efeitos adversos mais comuns são náuseas (57%) e vómitos (17%) (Chia and Egan 2008). As náuseas, usualmente, ligeiras ou moderadas, são mais comuns nas 8 semanas iniciais do tratamento, diminuindo posteriormente. Os efeitos adversos gastrointestinais não foram tolerados por um pequeno número de doentes, incentivando-os ao abandono da terapêutica (Amori, Lau et al. 2007). O liraglutide apresenta os mesmos efeitos adversos gastrointestinais, embora mais atenuados.

Alguns agonistas de GLP-1R, como o exenatide, estão associados à indução da formação de anticorpos, neste caso, anti-exenatide. Apesar de normalmente não interferirem na terapêutica, um pequeno grupo de doentes tratados com injeções bidiárias com título > 1:625 demonstrou menor eficácia do tratamento. Similarmente, em comparação com doentes sem títulos elevados destes anticorpos, doentes com títulos elevados tratados com injeções semanais exibem um efeito reduzido mas ainda assim significativo na diminuição da HbA1c. A informação disponível sobre os títulos de anticorpos e a sua relação com a eficácia terapêutica é muito menor para novos fármacos como o liraglutide.

Foram observados alguns casos de pancreatite em ensaios com o exenatide. Uma vez que são bem conhecidas as elevadas taxas de morbi-mortalidade desta patologia, tem sido levantada considerável preocupação com a potencial exacerbação ou aparecimento de novo de pancreatite em doentes tratados com incretino-miméticos. No entanto, encontram-se disponíveis poucos dados epidemiológicos que permitam comparar estes fármacos com outros antidiabéticos. Como os doentes submetidos a terapia com estes fármacos referem, frequentemente, desconforto abdominal devido à lentificação do esvaziamento gástrico e o facto deste sintoma ser normalmente associado à pancreatite, o diagnóstico desta situação torna-se difícil nestes doentes. Estudos recentes revelaram que o risco, após 1 ano de tratamento, de pancreatite é de 0.13% e 0.12% para o exenatide e sitagliptina, respectivamente (Dore, Seeger et al. 2009). Estes resultados não mostraram ser diferentes dos controlos tratados com metformina ou gliburide. Os dados do produtor do liraglutide indicam uma baixa incidência de pancreatite aguda, cerca de 0.8 casos/1000 doentes-ano. Os indivíduos com DM2 apresentam risco 3 vezes superior ao dos não diabéticos de vir a desenvolver pancreatite (Noel, Braun et al. 2009). Uma vez que apenas uma parte do risco pode ser atribuído a causas biliares, suspeita-se que outros factores, como a obesidade e hipertrigliceridemia, possam contribuir para o incremento do risco nesta população. Contudo, os dados experimentais e clínicos que associam os incretino-miméticos e inibidores da DPP-4 à pancreatite permanecem, ainda, incompletos. É necessária informação adicional para determinar se estes agentes aumentam significativamente o risco de pancreatite e se esta doença tende a ser severa. No entanto, os doentes aos quais se prescrever esta medicação, devem ser vigiados e devem-se excluir cuidadosamente outras causas de pancreatite aguda quando esta ocorrer em indivíduos tratados com estes fármacos.

A ingestão de alimentos associa a secreção de incretinas com a estimulação de secreção de calcitonina em roedores, provavelmente via GLP-1R existentes nas linhas

celulares do cancro medular da tiróide (CMT), sendo que o GLP-1 estimula a libertação de calcitonina em roedores *in vivo* (Drucker, Sherman et al. 2010). A análise de dados relatados no *Advisory Committee* da FDA em Abril de 2009 revelou que os estudos toxicológicos pré-clínicos do liraglutide demonstraram hiperplasia das células C e CMT. Por outro lado, a administração de exenatide diária encontrou-se associada a lesões nodulares das células C, embora não tenham sido relatados casos de carcinoma. Os roedores expostos a liraglutide e exenatide desenvolveram, frequentemente, lesões das células C; no entanto, os dados actuais sugerem que o CMT dos roedores tende a ser específico dos agonistas do GLP-1R de longa-acção devido à activação sustentada destes receptores. Dada a dificuldade em distinguir as formas neoplásicas e não-neoplásicas da hiperplasia das células C quer em roedores como em humanos, o significado do diagnóstico da lesão destas células permanece incerto. No entanto, segundo os dados da FDA, não foram documentadas quaisquer lesões histológicas em doentes tratados com exenatide.

### 3.4 – QUESTÕES NÃO ESCLARECIDAS RELATIVAMENTE AOS INCRETINO-MIMÉTICOS

---

O efeito do GLP-1 e dos agonistas do GLP-1R sobre a massa das células  $\beta$  humanas permanece, ainda, por demonstrar. Vários estudos mostraram que o exenatide tem acções benéficas sobre a função das células  $\beta$  de humanos, usando medidas indirectas, como a primeira fase de secreção de insulina (Fineman, Bicsak et al. 2003; Fehse, Trautmann et al. 2005). Em estudos com roedores, o GLP-1 induziu sensibilidade à glucose em células  $\beta$  resistentes a glucose (Holz, Kuhlreiber et al. 1993). O exenatide administrado em doses

farmacológicas aparenta exercer efeitos benéficos na massa das células  $\beta$  não observados com outros antidiabéticos. No entanto, não existem provas convincentes de que o exenatide preserve as células  $\beta$  transplantadas em humanos. Os marcadores da função da célula  $\beta$  mostraram melhoria em humanos que receberam exenatide durante 3 anos. Contudo, este efeito benéfico pode ser devido à reposição da competência da glucose sobre as células  $\beta$  e ao restabelecimento das suas acções insulínótropicas, bem como à diminuição da glicemia e do peso provocadas pelo exenatide e não propriamente por qualquer efeito directo deste fármaco na massa das células  $\beta$ . Até à data, existe pouca evidência de que os agonistas GLP-1R tenham efeito regenerativo ou protector na função das células  $\beta$  de diabéticos. A maioria dos estudos que apoiam a melhoria da função das células  $\beta$  são de curta duração, mal controlados para a correcção de efeitos gluco e lipotóxicos e, frequentemente, faltam controlos com agentes comparadores activos.

O mecanismo pelo qual o GLP-1 e os seus miméticos diminuem a secreção de glucagon pelas células  $\alpha$  permanece incerto. Os níveis elevados de glucagon plasmático quer do jejum quer pós-prandiais são característicos da DM2 e o tratamento com exenatide é capaz de diminuir ambos. A capacidade deste fármaco e do GLP-1 baixarem os níveis de glucagonémia em diabéticos contribui maioritariamente para a diminuição da glucose plasmática. Encontra-se, ainda, por esclarecer se o mecanismo de diminuição da secreção desta hormona é por via directa ou indirecta. A presença de GLP-1R nas células  $\alpha$  não tem sido objecto de investigação directa. Parece ser plausível que o GLP-1 estimule as células  $\beta$  e isso resulte em inibição paracrínica intra-ilhéu da libertação de glucagon. Um modelo transgénico de disfunção das células  $\beta$  favorece também o efeito paracrínico do GLP-1 na secreção de glucagon. Estes factos sugerem que é absolutamente necessário um factor segregado pela célula  $\beta$  para a supressão da secreção de glucagon mediada pelo GLP-1. Por outro lado, o controlo nervoso da secreção de glucagon pelo Sistema Nervoso Autónomo é



bem reconhecido e esta via pode ser mediada pelo GLP-1. O mecanismo subjacente à diminuição do glucagon pelo exenatide constitui uma interessante área de investigação e pode fornecer algumas pistas sobre a forma como a secreção de glucagon pode ser controlada na DM2.

### 3.5 – POTENCIADORES DA INCRETINAS: INIBIDORES DA DPP-4

---

---

O objectivo primordial da inibição da DPP-4 no tratamento da DM2 consiste na prevenção da inactivação do GLP-1 e, assim, prolongar a sobrevivência da hormona incretina libertada endogenamente. Esta estratégia foi originalmente descrita por Holst e Deacon (Holst and Deacon 1998), que demonstraram que a inibição da DPP-4 eleva os níveis circulantes de GLP-1 em experiências animais e que as acções insulínótropicas da GLP-1 exógena são aumentadas pela inactivação da DPP-4. Estudos posteriores demonstraram que a prevenção da inactivação do GLP-1 pela inibição da DPP-4 aumenta acentuadamente os níveis de GLP-1 circulante, preservando, no entanto, o ritmo circadiano da secreção desta hormona. Os inibidores da DPP-4 permitem, assim, o alcance de níveis fisiológicos de GLP-1 após a refeição. Estes fármacos possuem as grandes vantagens de, contrariamente à maioria dos ADO, apresentarem muito baixo risco de hipoglicemia (quando usados isoladamente) e de não influenciarem o peso corporal, embora não possuam a capacidade de reduzi-lo, como se verifica com os incretino-miméticos. Contudo, comparativamente aos agonistas da GLP-1R, não provocam os efeitos adversos gastrointestinais descritos daqueles fármacos, para além de que a sua posologia, por ser oral, é mais cómoda. Existem evidências que sugerem que os inibidores da DPP-4 melhoram o controlo glicémico mais eficazmente em estadios ligeiros a

moderados da doença, o que pode reflectir a maior reserva das células  $\beta$  nas fases iniciais de desenvolvimento da DM2. Dada a sua eficiência, segurança, tolerabilidade e posologia oral, espera-se que estes fármacos se tornem no tratamento de 1ª linha nos estadios precoces da DM2, especialmente em associação com metformina.

---

### 3.5.1 – SITAGLIPTINA

---

A sitagliptina, uma molécula orgânica, parece ser selectiva para DPP-4 e não interagir com outras proteases relacionadas. Este fármaco de administração oral é rapidamente absorvido, alcançando pico plasmático 1 a 6 horas após a administração. A sua semi-vida varia de 8 a 14 horas, com biodisponibilidade de 87%, e, farmacocineticamente, não interfere com os alimentos. Cerca de 80% da dose é excretada inalterada a nível renal, sendo que 15% do fármaco biodisponível é metabolizado pelo CYP3A4 e CYP2C8 no fígado. A dose preconizada é a de 25 a 100 mg 1 vez/dia (*tabela 2*). Com 100mg de dose diária, mais de 80% da actividade da DPP-4 plasmática é inibida por um período de 24 horas. É necessária uma diminuição da dose se a *clearance* de creatinina for inferior a 50 ml/min e se for inferior a 30 ml/min, para 50 mg e 25 mg, respectivamente. A FDA recomenda o estudo da função renal antes do tratamento com sitagliptina (Ahren 2007). Não foram observadas quaisquer interacções com outros fármacos.

Têm sido desenvolvidos ensaios clínicos com o sentido de avaliar a eficácia da sitagliptina em combinação com outros ADO. Os resultados mais entusiasmantes foram obtidos com a combinação inicial de metformina e sitagliptina, que mostrou obter resultados superiores aos da monoterapia com sitagliptina e com metformina. Esta combinação permitiu

uma redução de 1.9% no valor da HbA1c, enquanto a monoterapia permitiu diminuição de 0.6%-0.7% e 1.13%, respectivamente, após 24 semanas de tratamento. A sitagliptina e a metformina possuem mecanismos de acção diferentes, mas complementares. A sitagliptina, como foi descrito anteriormente, aumenta os níveis de GLP-1 activo através da inibição da DPP-4 e, por seu turno, a metformina eleva os níveis de GLP-1 total, provavelmente por aumentar a secreção de GLP-1. A co-administração destes fármacos proporciona níveis de GLP-1 mais elevados do que a administração isolada de qualquer um deles, para além de permitir um efeito mais do que aditivo nas concentrações pré e pós-prandiais de GLP-1 activo.

Como tratamento adjuvante, a sitagliptina em combinação com a metformina, glipizida ou pioglitazona permitiu uma diminuição de 0.6-0.7% quando comparada com placebo.

Este fármaco foi aprovado nos EUA em Outubro de 2006 e, posteriormente, na Europa, com as seguintes indicações: uso em monoterapia, quando a metformina é inapropriada; em terapêutica oral dupla com metformina, sulfonilureia ou glitazona; em terapêutica oral tripla com metformina e sulfonilureia ou glitazona e, por fim, como terapêutica adjuvante da insulina com ou sem metformina.

---

#### 3.5.1.1 – EFEITOS ADVERSOS DA SITAGLIPTINA

---

A sitagliptina é geralmente bem tolerada, quer em monoterapia quer em combinação com outros antidiabéticos orais. Situações de hipoglicemia ocorreram apenas em terapêuticas combinadas. Os efeitos adversos descritos mais frequentemente decorrentes da toma de sitagliptina são a nasofaringite, a dermatite de contacto e a osteoartrite. Uma revisão sistemática da terapia com sitagliptina revelou que o risco de efeitos adversos gastrointestinais é praticamente nulo, mas, no entanto, existe um risco acrescido de infecções do tracto urinário, cefaleias e, especialmente, de nasofaringite, podendo reflectir a actividade necessária da DPP-4 na imunovigilância.

---

### 3.5.2 – VILDAGLIPTINA

---

A vildagliptina, um fármaco inibidor da actividade da DPP-4 selectivo, reversível e competitivo, é uma substância de baixo peso molecular, apropriada a administração oral. Este agente terapêutico é rapidamente absorvido, atingindo pico plasmático em 1 a 2 horas. A sua semi-vida, de cerca de 2 horas, é inferior à da vildagliptina. A sua biodisponibilidade é de 85% e a sua farmacocinética não é afectada pelos alimentos. A posologia recomendada é a de 50 mg 2 vezes/dia (*tabela 2*). Com a dose diária de 100 mg inibe 98% da actividade da DPP-4, 45 minutos após a administração, e 60% às 24 horas. Aproximadamente 85% do fármaco é metabolizado no fígado por hidrólise, sendo convertido num metabolito que é eliminado pelo rim e cujas funções biológicas permanecem desconhecidas. Os restantes 15% são eliminados inalterados pelo rim. Este fármaco deve ser administrado na dose 50mg 2 vezes/dia (de manhã e à noite) pois 100mg em dose única diária estão associados a um aumento significativo das

transaminases. Em 2007, a FDA solicitou dados adicionais acerca do efeito da vildagliptina em doentes com insuficiência renal. Tal como acontece com a sitagliptina, não foram relatados casos de interações medicamentosas.

Num dos primeiros ensaios com a vildagliptina, foram administrados 100 mg 1 vez/dia deste fármaco a doentes com DM2 durante 4 semanas. Verificou-se um decréscimo de cerca de 0.7-0.9 mmol/l da glucose do jejum e de 1.5 mmol/l da pós-prandial, sendo que o valor da HbA1c também sofreu redução significativa (Ahren, Landin-Olsson et al. 2004). Estudos subsequentes, revelaram que a vildagliptina administrada nas doses de 50 mg 1 vez/dia, 50 mg 2 vezes/dia e 100 mg 1 vez/dia provocou um decréscimo do valor de HbA1c de 0.5%, 0.7% e 0.9%, respectivamente (Pi-Sunyer, Schweizer et al. 2007). Estes dados sugerem que 100 mg de vildagliptina permitem obter benefícios clínicos semelhantes, quando administrada em dose individual ou dividida.

A vildagliptina aparenta ser efectiva como terapêutica adjuvante quando administrada a doentes inadequadamente controlados com sulfonilureia, metformina, tiazolidinediona ou insulina, permitindo diminuir os níveis de HbA1c em cerca de 0.6, 0.9, 1.0 e 0.5%, respectivamente (Bosi, Camisasca et al. 2007; Fonseca, Schweizer et al. 2007; Garber, Schweizer et al. 2007; Garber, Foley et al. 2008). Para além disso, a vildagliptina revelou ser tão eficaz quanto a pioglitazona em doentes mal controlados com a metformina, nos quais o decréscimo de HbA1c foi de 0.9% e 1.0%, respectivamente (Bolli, Dotta et al. 2008). A incidência de hipoglicemia foi semelhante à do placebo quando a vildagliptina foi adicionada à metformina ou pioglitazona, mas, no entanto, quando acrescentada à glimepiride em curso, observaram-se eventos de hipoglicemia em 0.6% e 1.2% dos doentes submetidos a placebo e a 50 mg/dia de vildagliptina, respectivamente (Garber, Schweizer et al. 2007).

Este fármaco foi aprovado na Europa e noutros países para tratamento da DM2 nos termos semelhantes aos da sitagliptina, ou seja, em combinação com metformina ou tiazolidinediona, na dose de 50 mg 2 vezes/dia, sendo que a dose única de 100 mg não foi aprovada devido ao aumento das enzimas hepáticas. Em 2007, a FDA solicitou dados adicionais sobre o efeito deste medicamento em doentes com insuficiência renal, antes de garantir a sua licença final.

### 3.5.2.1 – EFEITOS ADVERSOS DA VILDAGLIPTINA

---

---

Os efeitos adversos da vildagliptina são praticamente sobrepostos aos da sitagliptina, não apresentando igualmente risco de reacções adversas gastrointestinais. Alguns estudos apontaram neste sentido, revelando que, pelo menos 5% dos doentes submetidos a tratamento com vildagliptina apresentaram infecções do tracto respiratório superior, nasofaringite, tonturas, gripe e cefaleias. As lesões cutâneas como flictenas e úlceras podem também ocorrer com este fármaco. No entanto, e marcando a distinção dos efeitos adversos relativamente à sitagliptina, a toma da vildagliptina tem sido associada a casos raros de disfunção hepática, incluindo hepatite. Deve ser feito o estudo da função hepática do doente antes de iniciar o tratamento com este fármaco, a cada trimestre no primeiro ano e periodicamente nos anos seguintes, com o objectivo detectar e monitorizar a ocorrência deste efeito.

### 3.5.3 – ALOGLIPTINA

---

A alogliptina é um inibidor da DPP-4 que tem sido investigado em fase III de ensaios clínicos como monoterapia ou em combinação com outros ADOs (metformina, sulfonilureias ou tiazolinedionas). Este fármaco foi avaliado em monoterapia, durante 26 semanas, em diabéticos mal controlados, com as doses de 12.5 mg ou 25 mg diárias, alcançando reduções na ordem de 0.56% e 0.59%, respectivamente, parecendo ser bem tolerado (DeFronzo, Fleck et al. 2008). Nestas doses, a alogliptina reduziu os níveis de tensão arterial, quando adicionada a terapêutica já existente em diabéticos com má resposta à metformina isolada (Nauck, Ellis et al. 2009). Os doentes experimentaram uma diminuição de 0.6% na HbA1c e de 1mmol/l na glicemia do jejum, após 26 semanas de adição da alogliptina à metformina.

Foi pedida licença de entrada no mercado nos EUA em Dezembro de 2007.

### 3.5.4 – SAXAGLIPTINA

---

A saxagliptina constitui um inibidor da DPP-4 de administração única diária. Ensaios efectuados com o objectivo de avaliar a eficácia da saxagliptina quando adicionada à metformina em doentes inadequadamente controlados com este último fármaco, revelaram

que a saxagliptina foi, em geral, bem tolerada e possibilitou que mais do dobro dos doentes atingissem valores de HbA1c < 7% relativamente ao placebo (DeFronzo, Hissa et al. 2009).

Continua por estabelecer até que ponto a alogliptina e a saxagliptina irão exibir propriedades antidiabéticas únicas ou um perfil de segurança distinto dos demonstrados pela sitagliptina e vildagliptina. Os diferentes inibidores da DPP-4 devem, portanto, ser avaliados para determinar se estes agentes representam avanços significativos e clinicamente distintos.

A saxagliptina foi recentemente aprovada nos EUA e na Europa.

Encontram-se, actualmente, em fases terminais de ensaios clínicos, outros inibidores da DPP-4, incluindo a linagliptina e o tartrato de dutogliptina.

### 3.6 – QUESTÕES NÃO ESCLARECIDAS RELATIVAMENTE AOS INIBIDORES DA DPP-4

---

Apesar do exenatide apresentar efeitos benéficos na massa das células  $\beta$  de roedores, quando administrado em doses farmacológicas (Li, Hansotia et al. 2003; Teta, Rankin et al. 2007), a acção dos inibidores da DPP-4 sobre a massa destas células permanece por esclarecer.

Os inibidores da DPP-4 foram desenvolvidos com o objectivo de aumentar o GLP-1 endógeno activo, contudo, é ponto de controvérsia se o aumento para o dobro do GLP-1 activo provocado pelo tratamento crónico com a sitagliptina é suficiente para explicar o decréscimo dos níveis de HbA1c. Se estes fármacos diminuíssem a glicemia



consequentemente ao aumento dos níveis de GLP-1, seria esperado que os níveis de insulina se elevassem também. Contudo, os níveis de insulina pós-prandial e do jejum e do peptídeo C não são diferentes após 10 dias de tratamento com estes fármacos em indivíduos saudáveis e com DM2.

Ao contrário do que se verifica com a GLP-1 endógena e com o exenatide, os inibidores da DPP-4 não diminuem o esvaziamento gástrico (Vella, Bock et al. 2007), havendo quem defenda que o grau de elevação da GLP-1 proporcionado por este fármaco não é de magnitude suficiente para exercer esta acção. Extrapolando, o aumento da GLP-1 pelos inibidores da DPP-4 pode não ser suficiente para aumentar a secreção de insulina.

A diminuição dos níveis pós-prandiais de glucagon é evidente após a administração de inibidores da DPP-4. No entanto, a redução desta hormona não é verificada em jejum, altura em que teria o seu maior benefício para provocar um decréscimo na produção nocturna de glucose no fígado. A redução do glucagon pós-prandial é pouco significativa e é de curta duração, sendo os níveis superiores aos dos não diabéticos, o que provavelmente não contribui para a totalidade dos efeitos anti-hiperglicémicos destes fármacos.

| <b>FÁRMACO</b>                    | <b>DOSE</b>                | <b>FARMACÊUTICA</b>  | <b>STATUS</b> |
|-----------------------------------|----------------------------|----------------------|---------------|
| <b><u>Agonistas de GLP-1R</u></b> |                            |                      |               |
| <b>Exenatide</b>                  | 5-10µg 2 id                | Eli Lilly Company    | FDA e EMEA    |
| <b>Liraglutide</b>                | 1.2-1.8mg 1 id             | Novo Nordisk         | FDA e EMEA    |
| <b>AVA0010</b>                    | 5-30µg 1 ou 2id            | Sanofi-Aventis       | Fase III      |
| <b>Exenatide LAR</b>              | 2mg 1 vez/sem              | Amylin               | Fase III      |
| <b>Taspoglutide</b>               | 20-30mg 1 vez/sem          | Roche                | Fase III      |
| <b>Albiglutide</b>                | 30-50mg 1 vez/sem          | GlaxoSmithKline      | Fase III      |
| <b>CJC-1134-PC</b>                | 1.5mg-3mg 1 ou 2 vezes/sem | ConjuChem            | Fase II       |
| <b>NN9535</b>                     | 0.1-1.6mg 1 vez/sem        | Novo Nordisk         | Fase II       |
| <b>LY2189265</b>                  | 0.25-3mg 1 vez/sem         | Eli Lilly Company    | Fase II       |
| <b>LY2428757</b>                  | 0.5-17.6mg 1 vez/sem       | Eli Lilly Company    | Fase II       |
| <b><u>Inibidores da DPP-4</u></b> |                            |                      |               |
| <b>Sitagliptina</b>               | 25-100mg 1id               | Merck                | FDA e EMEA    |
| <b>Vildagliptina</b>              | 50mg 2id                   | Novartis             | EMEA          |
| <b>Alogliptina</b>                | 12.5-25mg 1 id             | Takeda               | Fase III      |
| <b>Saxagliptina</b>               | 5-10mg 1 id                | Bristol-Myers-Squibb | FDA e EMEA    |
| <b>Linagliptina</b>               | 2.5-5mg 1 id               | Boehringer           | Fase II       |
| <b>Dutogliptina</b>               | 200-400mg 1id              | Phenomix             | Fase II       |

**Tabela 2:** Doses e status dos incretino-miméticos e dos potenciadores de incretinas.

## 4 – TRATAMENTO BASEADO NAS INCRETINAS: EFEITOS CARDIOVASCULARES

---

A doença cardiovascular (DCV) constitui a principal causa de morte em diabéticos (Milicevic, Raz et al. 2008), sendo que o enfarte do miocárdio é responsável por cerca de 75% de todas as mortes (Grobbee 2003). Os doentes com DM, seja do tipo 1 ou 2, possuem um risco de desenvolvimento de DCV 10 e 3 vezes superior, respectivamente, ao da população geral. A maioria das evidências sugere que a prevalência da DCV em diabéticos é devida aos efeitos deletérios da hiperglicemia sobre a fisiopatologia cardiovascular. Por outro lado, a DM coexiste frequentemente com outros factores de risco para a DCV, como a hipertensão arterial e a dislipidemia.

Com o objectivo de averiguar a presença de potenciais efeitos no desenvolvimento ou agravamento dos factores de risco da DCV, em Dezembro de 2008, a FDA exigiu que todos os novos fármacos desenvolvidos para o tratamento da DM2 devem ser sujeitos a estudos cuidadosos nesse sentido. É, assim, mandatório que estes novos agentes, para além de optimizarem o controlo glicémico, sejam benéficos na evolução da DCV ou que, pelo menos, não a agravem. No entanto, são pouco conhecidas as consequências a longo prazo da maioria dos agentes anti-diabéticos comercializados no sistema CV. Estudos recentes revelaram que os agentes mais frequentemente prescritos para tratamento da DM2 levantam preocupações no que diz respeito a este assunto, o que pode explicar, em parte, a falta de melhoria nos factores CV durante o tratamento da DM2.

As sulfonilureias, agentes secretagogos de insulina, são prescritas para o tratamento da DM2 há mais de 50 anos. Uma análise recente de larga escala da «*Diabetes Audit and Research in Tayside Scotland Diabetes Information System*» e da «*Medicines Monitoring*

*Unit*» revelou que os doentes em tratamento com sulfonilureias, em monoterapia ou em combinação com metformina, exibiram significativo acréscimo das taxas de morbidade e mortalidade, relativamente àqueles tratados apenas com metformina (Evans, Ogston et al. 2006). Outros estudos sugeriram que algumas sulfonilureias podem agravar o pré-condicionamento isquémico do miocárdio (Fisman, Motro et al. 2008). Para além disso, o uso de sulfonilureias tem vindo a ser relacionado com o comprometimento da função contráctil do músculo cardíaco após isquémia, em animais e humanos, bem como a dimensão aumentada de enfarte, quando comparada com os controlos (Toombs, McGee et al. 1992). Contudo, os dados publicados recentemente na «*Action in Diabetes and Vascular Disease: Preterax and Diamicron Modified Realease Controlled Evaluation (ADVANCE)*» e «*United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS)*» revelaram que o tratamento com sulfonilureias não provocou efeitos significativos nos eventos macrovasculares, após 5 e 10 anos, respectivamente (Holman, Paul et al. 2008; Patel, MacMahon et al. 2008).

A metformina, uma biguanida que aumenta a sensibilidade à insulina, é um dos fármacos mais prescritos no tratamento da DM2. Contudo, uma meta-análise recente de estudos observacionais demonstrou que a combinação metformina/sulfonilureia aumentou o risco relativo de hospitalização e de mortalidade devido a eventos CV (Rao, Kuhadiya et al. 2008). Estes resultados são significativos uma vez que esta combinação é a mais usada para terapêutica da DM2 na prática médica. Para além disso, as biguanidas encontram-se, também, contra-indicadas em doentes com insuficiência cardíaca ou renal severas dada a sua propensão para causar acidose láctica.

As tiazolidinedionas (TZD) são uma classe relativamente recente de ADOs. A rosiglitazona e pioglitazona, as TZD aprovadas, funcionam como agentes sensibilizadores de insulina, actuando como agonistas da forma gamma do receptor activado de proliferação do peroxissoma (PPAR $\gamma$ ). Dado o extenso papel dos PPAR $\gamma$  na sinalização da inflamação, a

primeira hipótese a ser colocada acerca destes agentes é de que seriam capazes de proporcionar maior protecção vascular. Contudo, o uso de TZD leva à retenção de líquidos e de consequente formação de edemas periféricos, provocando, então, aumento do peso corporal e agravamento da insuficiência cardíaca. Assim, as TZD estão contra-indicadas em doentes com e em risco de falência cardíaca (Classe III ou IV da New York Heart Association). Por outro lado, uma revisão recente advertiu que os doentes com DM2 já possuem por si só um risco subjacente de insuficiência cardíaca e que o edema relacionado com a terapêutica com TZD pode simplesmente exacerbar ou descortinar a disfunção CV pré-existente (Irons, Greene et al. 2006; Erdmann and Wilcox 2008).

Os fármacos disponíveis para o tratamento da diabetes não apresentaram resultados conclusivos na redução da doença macrovascular, podendo o seu uso crónico promover efeitos deletérios a nível CV, apesar da melhoria da hiperglicemia. Assim, é imperioso o desenvolvimento de novos medicamentos que não diminuam apenas os níveis de glicemia, mas que exerçam papéis benéficos na fisiopatologia da doença. O tratamento da DM2 baseado nas incretinas parece responder a estas necessidades. Os dados pré-clínicos desta nova classe de medicamentos sugerem que os agonistas da GLP-1R e os inibidores da actividade da DPP-4 permitem obter efeitos de cardioprotecção e vasodilatação, para além do controlo glicémico.

Os estudos desenvolvidos focaram-se, primariamente, em elucidar os efeitos cardíacos do GLP-1 em modelos animais com insuficiência cardíaca. Nestes, verificou-se que cães com cardiomiopatia dilatada aos quais foi administrada uma infusão durante 48h de GLP-1 recombinante, melhoraram a sua contractilidade ventricular (92%), volume de enfarte (102%) e débito cardíaco (57%). Os cães tratados com GLP-1 exibiram, ainda, aumento da captação de glucose pelo miocárdio (46%) e do consumo de oxigénio (9.4%), sugerindo reforço da fosforilação oxidativa. Estes autores postularam que os efeitos benéficos da estimulação dos

GLP-1R são devidos, primariamente, à modulação do metabolismo miocárdico (Nikolaidis, Elahi et al. 2004). Analogamente, um ensaio com 10 doentes submetidos a angioplastia após enfarte agudo do miocárdio, demonstrou que a infusão contínua de GLP-1 recombinante durante 72 horas, aumentou significativamente a fracção de ejeção ventricular (11%) e a mobilidade da parede (21%), relativamente aos indivíduos não tratados. De salientar que esta melhoria na função CV foi mantida e permaneceu detectável em alguns doentes meses após a cessação do tratamento com GLP-1. Os benefícios deste tratamento revelaram-se independentes do local do enfarte ou da história da diabetes (Nikolaidis, Mankad et al. 2004). Para além disso, o tratamento pré-cirúrgico com GLP-1 permitiu melhor controlo glicémico e recuperação hemodinâmica sem administração de altas doses de insulina ou inotrópicos após *bypass* coronário, relativamente aos controlos que necessitaram de maior uso de fármacos inotrópicos e vasoactivos e que apresentaram maior número de casos de arritmias (Sokos, Bolukoglu et al. 2007). Outros ensaios mostraram, ainda, que o tratamento com GLP-1 reduz significativamente o tamanho do enfarte (Bose, Mocanu et al. 2005).

Dadas as evidências de um papel cardioprotector do GLP-1, foram levadas a cabo algumas investigações com o objectivo de explorar os mecanismos precisos subjacentes a estes efeitos benéficos. A hipótese original era de que a cardioprotecção derivaria da activação dos GLP-1R, portanto, seria suposto que estes efeitos estariam ausentes em ratos com deleção dos GLP-1R (GLP-1R<sup>-/-</sup>). Os ensaios com estes ratos sugeriram que os GLP-1R actuam na estrutura e função cardíacas normais, com os ratos GLP-1R<sup>-/-</sup> exibindo frequências cardíacas diminuídas, resposta inotrópica deficiente e massa anormal do ventrículo esquerdo, comparativamente aos ratos *Wild-Type* (W-T) (Gros, You et al. 2003). Verificou-se, também, que os efeitos protectores do GLP-1 nativo se encontram surpreendentemente preservados em ratos sem GLP-1R funcionais. Esta evidência, juntamente com o facto de que os efeitos do exendin-4 se encontram significativamente reduzidos mas não ausentes nos corações com

GLP-1R<sup>-/-</sup>, sugere que a existência de uma via de sinalização independente de GLP-1R para a cardioprotecção. Com base nesta hipótese, vários estudos demonstraram que nem todos os efeitos do GLP-1 podem ser bloqueados pelo antagonista dos GLP-1R, exendin(9-39), nomeadamente a motilidade gastrointestinal e secreção gástrica ácida (Daniel, Anvari et al. 2002).

Subsequentemente, alguns investigadores examinaram o potencial papel do GLP-1 (9-36), o metabolito gerado após acção da DPP-4 sobre o GLP-1, como intermediário na protecção mediada e independente dos GLP-1R. Estudos recentes mostraram que este metabolito amplia a absorção de glucose pelo miocárdio e aumenta a performance do ventrículo esquerdo em cães com cardiomiopatia dilatada (Nikolaidis, Elahi et al. 2005). Foi, também, constatado que a administração de GLP-1 (9-36) após isquémia global produz uma melhoria significativa da pressão do ventrículo esquerdo, apesar de não reduzir o tamanho do enfarte (Sonne, Engstrom et al. 2008). Estes dados apontam para que os efeitos benéficos do GLP-1 são mediados, pelo menos em parte, através de mecanismos dependentes de GLP-1(9-36) e independentes dos GLP-1R.

Outra evidência entusiasmante é a de que o GLP-1 e o seu metabolito exibem importante acção vasodilatadora, aumentando o fluxo coronário em corações isolados perfundidos a pressão constante. Verificou-se, ainda, que ambos os agentes são capazes de dilatar artérias mesentéricas de ratos W-T previamente contraídas com fenilefrina. No sentido de verificar se o GLP-1(9-36) desempenha papel crítico na cardioprotecção e vasodilatação mediadas por GLP-1, foram testados os efeitos do tratamento com GLP-1 com o inibidor da DPP-4 sitagliptina. Ao bloquear a conversão de GLP-1 em GLP-1(9-36) em artérias mesentéricas pré-contraídas e em corações isolados após lesão de isquémia/reperfusão (I/R), mostrou-se que ambos os efeitos do GLP-1 se encontravam significativamente diminuídos (Baggio, Kieffer et al. 2000). Estes factos sugerem que os efeitos cardiovasculares do GLP-1



são parcialmente mediados por uma via dependente de GLP-1(9-36). No entanto, mantiveram-se alguns graus relevantes de vasodilatação e cardioprotecção após inibição da DPP-4, apoiando a noção de que alguns efeitos do GLP-1 nativo continuam a ser mediados por mecanismos dependentes de GLP-1R. Outro estudo envolvendo a sitagliptina verificou que este fármaco melhora a performance global e regional em resposta ao stress do ventrículo esquerdo e atenua o *stunning* pós-isquémico em humanos com doença coronária (Ban, Noyan-Ashraf et al. 2008).

Diversos estudos foram desenvolvidos com o objectivo de clarificar o papel vasoactivo do GLP-1, um dos quais demonstrou que a infusão contínua a curto termo de GLP-1 melhorou o fluxo sanguíneo periférico em indivíduos com DM2. Para além disso, ambos os tratamentos a curto e longo prazo com agonistas de GLP-1R reduziram as pressões arteriais sistólicas e diastólicas em diabéticos. Estes efeitos na pressão arterial não devem ser inteiramente atribuídos a benefícios indirectos da perda de peso, uma vez que são evidentes mesmo após poucas semanas de tratamento (Drucker and Nauck 2006; Amori, Lau et al. 2007; Vilsboll 2007).

Face a estas evidências, foi proposto um novo esquema com duas vias de acções cardiovasculares do GLP-1, uma que depende dos GLP-1R para o inotropismo, absorção de glucose, pré-condicionamento isquémico e acções vasodilatadoras isquémicas, e a segunda, dependente do metabolismo de GLP-1 em GLP-1(9-36), tendo este último efeitos independentes de GLP-1R na recuperação da função cardíaca pós-isquémia e de vasodilatação. O GLP-1(9-36) não é um inotrópico, mas possui efeitos modestos na absorção de glucose pelo miocárdio *in vitro*, para além de ser vasodilatador através um mecanismo dependente de NO/cGMP (óxido nítrico/monofosfato de guanosina cíclica), que também participa na cardioprotecção no desenvolvimento da lesão I/R (Brunner, Maier et al. 2003).

Recentemente, um estudo realizado por Arakawa et al (2010) (Arakawa, Mita et al. 2010) obteve resultados que sugerem que os agonistas de GLP-1R diminuem a acumulação de monócitos e macrófagos no endotélio, através da inibição da resposta inflamatória nos macrófagos, o que contribui para a atenuação da aterosclerose.

Apesar destes dados, são necessários estudos clínico-experimentais adicionais que avaliem cuidadosamente o impacto cardiovascular do tratamento baseado nas incretinas em doentes com DM2.

## 5 – SERÃO AS INCRETINAS AS MEDIADORAS CHAVE DA TERAPÊUTICA CIRÚRGICA DA DM2?

---

Em 1987, Pories et al (Pories, Caro et al. 1987) publicaram uma observação inovadora, afirmando que 99% dos doentes com obesidade mórbida e DM2 ou intolerância à glucose submetidos a *bypass* gástrico retornaram a níveis de euglicemia, em apenas 10 dias após a cirurgia. Desde então, vários estudos, com o objectivo de confirmar a efectividade e durabilidade da remissão da DM2 verificada após a cirurgia bariátrica, têm vindo a ser realizados.

Numa meta-análise de 22 094 doentes (Buchwald, Avidor et al. 2004), foi observada a resolução da diabetes em 98.9% dos doentes submetidos a derivação biliopancreática, em 83.7% daqueles em que se realizou *bypass* gástrico e em 47.9% dos doentes após colocação de banda gástrica por via laparoscópica. Uma revisão sistemática da literatura inglesa que incluiu mais de 22.000 doentes (73% mulheres com IMC médio de 47 kg/m<sup>2</sup>) revelou uma remissão completa da DM2 (definida como descontinuação de toda a medicação anti-diabética e valores de glicemia dentro dos parâmetros normais) em 77% dos casos.

Estes efeitos têm demonstrado ser igualmente alcançados na população não obesa, dado que vários estudos em humanos revelaram melhoria acentuada no controlo da diabetes em doentes com IMC <35 kg/m<sup>2</sup>. Lee et al. (2008) (Lee, Wang et al. 2008) mostraram que 89.5% dos doentes diabéticos com IMC <35kg/m<sup>2</sup> retornaram a valores de euglicemia 1 ano após *bypass* gástrico e que o nível médio de HbA1c diminuiu de 7.3% no pré-operatório para 5.6% 1 ano após a cirurgia.

Têm sido desenvolvidas e optimizadas várias abordagens cirúrgicas, muitas delas de uso corrente, para indução de perda de peso. Estas técnicas podem ser divididas em diferentes

grupos (Ferrannini and Mingrone 2009), tais como, puramente restritivas, cujo procedimento mais comum é a colocação de banda gástrica ajustável por via laparoscópica (LAGB) e a gastroplastia vertical com banda, variante da primeira; maioritariamente restritivas, como o *bypass* gástrico em Y de Roux (RYGB); e maioritariamente mal-absortivas, como a derivação biliopancreática com *duodenal switch*, que veio substituir o *bypass* jejunoileal. Outras técnicas, como o *bypass* duodenojejunal endoluminal em manga têm sido testadas em roedores de forma a evitar descontinuidade intestinal e novas anastomoses.

O controlo e remissão da diabetes parecem ser obtidos com maior eficácia com os procedimentos que incluem um *bypass* intestinal, como o *bypass* gástrico ou a derivação biliopancreática. Estas técnicas parecem possibilitar uma melhoria progressiva da função das células  $\beta$  ao longo do tempo, paralelamente à perda de peso. Os procedimentos puramente restritivos melhoram significativamente a diabetes, embora sejam menos efectivos que as cirurgias de *bypass*.

Estudos experimentais recentes apontam para a reestruturação da anatomia gastrointestinal como o principal mediador no controlo cirúrgico da diabetes, sugerindo um papel activo do intestino delgado na fisiopatologia desta doença. No entanto, o mecanismo exacto responsável pela remissão da DM2 não foi ainda estabelecido, mas, aparentemente, não se encontra apenas relacionado com a perda de peso, uma vez que o incremento na secreção de insulina ocorre rapidamente após a cirurgia. Esta melhoria deve ser sobretudo uma consequência das alterações ocorridas no eixo entero-insular, particularmente nas incretinas, sendo estas as mediadoras chave dos efeitos antidiabéticos da cirurgia bariátrica. Vários estudos prévios apontam para esta hipótese, uma vez que a perda ponderal observada se fez acompanhar da melhoria do controlo da diabetes e do aumento dos níveis de GLP-1.

Também o efeito incretina, que se encontra alterado na DM2, parece voltar aos seus parâmetros fisiológicos. O rebote da cirurgia bariátrica sobre este efeito foi analisado em vários estudos (Laferrere, Heshka et al. 2007) , comparando a resposta insulínica da glucose dada por via oral com a da administrada endovenosamente. Este último estudo revelou que após a RYGB, para além do aumento dos níveis circulantes de GLP-1 e GIP, o efeito incretina na insulina e/ou peptídeo C melhorou significativamente, cerca de 1 mês após a cirurgia, atingindo magnitude semelhante à dos indivíduos não diabéticos de controlo. Similarmente, outro estudo efectuado (Salinari, Bertuzzi et al. 2009) revelou aumento do efeito incretina após derivação biliopancreática, para além do restabelecimento da primeira fase de secreção de insulina 1 mês após a cirurgia e normalização da sensibilidade da célula  $\beta$ .

Rubino (2008) (Rubino 2008) levou a cabo uma investigação com o objectivo de encontrar os mecanismos de acção responsáveis pela remissão da diabetes no *bypass* gastrointestinal, usando o *bypass* duodenojejunal (DJB) como modelo do RYGB. Foram propostas 2 hipóteses para encontrar a porção da reestruturação anatómica do RYGB essencial no efeito de remissão da diabetes. A “hipótese do intestino distal” teoriza que o controlo da diabetes resulta da passagem rápida de nutrientes não digeridos para o intestino distal, diminuindo o tempo de libertação de hormonas entéricas, estimulando um sinal fisiológico que melhora o metabolismo da glucose. O potencial candidato para mediador deste efeito é o GLP-1. Outra alternativa – a “hipótese do intestino proximal” – afirma que a exclusão do duodeno e do jejuno proximal do trânsito dos nutrientes pode prevenir a secreção de um sinal que promove a insulino-resistência, característica da DM2, mas não de indivíduos normais. A DM2 poderá, então, ser caracterizada por um componente de disfunção duodeno-jejunal. No sentido de explicar como a exclusão duodenal pode melhorar a diabetes e qual a possível contribuição do intestino proximal para a fisiopatologia desta doença, foi desenvolvida a teoria “anti-incretina”, apoiada no eixo entero-insular e no conceito de

incretina, isto é, que o GIP e GLP-1 entéricos actuam a nível pancreático, estimulando a secreção de insulina dependente de glucose. Segundo esta teoria, é razoável postular a existência de um mecanismo de contrarregulação estimulado igualmente pela passagem de nutrientes. Este “sistema anti-incretina” exercerá acções opostas às das incretinas. Uma vez que será necessário um equilíbrio entre a produção de incretinas e anti-incretinas para a homeostasia da glucose, um desequilíbrio no sentido do aumento de produção de anti-incretinas causará insulino-resistência e diminuição da secreção de insulina, ou seja, DM2. Enquanto que o excesso de produção de anti-incretina poderá estar envolvido na fisiopatologia da DM2, a sua deficiência após o *bypass* gastrointestinal poderá explicar algumas complicações raras do RYGB como a nesidioblastose ou a hipoglicemia pós-prandial e o síndrome de dumping decorrentes de gastrectomia com exclusão duodenal.

Ainda não são conhecidos potenciais candidatos para o papel de anti-incretina. Contudo, é interessante que a acção do GIP e a expressão do seu receptor se encontre diminuída na DM2. Para além disso, a fase precoce da secreção de insulina glucose-dependente encontra-se caracteristicamente atenuada na DM2. Estas anomalias são consistentes com a existência de um factor proximal anti-incretina que interfere com o GIP (incretina proximal). A reversão da alteração da secreção precoce da insulina após RYGB sugere uma possível recuperação da função do GIP.

Se considerada apenas a capacidade de indução de remissão da doença, o RYGB e BPD parecem ser mais efectivos na diabetes do que na própria obesidade. Esta remissão da diabetes constitui um maior benefício que a perda de peso per se, mesmo num doente com obesidade mórbida. Cada vez mais evidências mostram que RYGB e BPD são capazes de induzir mudanças importantes nas hormonas intestinais, apoiando a noção de que estas cirurgias são procedimentos verdadeiramente metabólicos.

Como em todos os outros procedimentos cirúrgicos, os riscos e benefícios devem ser cuidadosamente avaliados, isto é, a probabilidade de remissão da diabetes e prevenção de todas as suas complicações a longo prazo devem superar os riscos de morbidade e mortalidade decorrentes da cirurgia. Estudos recentes mostraram que a taxa de mortalidade da cirurgia bariátrica varia entre 0.25% e 0.5%. Por outro lado, os benefícios são significativos, como têm demonstrado vários estudos, nos quais se verificou que a mortalidade em diabéticos seguidos durante 7 anos após *bypass* gástrico em Y de Roux diminui 92% relativamente aos controlos. Outro benefício da cirurgia é a melhoria geral da síndrome metabólica, o que contribui para a diminuição dos factores de risco cardiovasculares. Mesmo de uma perspectiva económica, este procedimento parece apresentar uma relação custo-efectividade a longo prazo inferior à da terapêutica convencional (Keating, Dixon et al. 2009). Contudo, se por um lado o uso indiscriminado da cirurgia no tratamento da diabetes pode ser potencialmente perigoso e deve ser prevenido, por outro, a possibilidade da intervenção cirúrgica não deve de todo ser descartada. Para prover respostas adequadas a estas considerações, foi organizado o Diabetes Surgery Summit (DSS), evento realizado em Roma em Março de 2007. Nesta conferência ficou postulado que a cirurgia gastrointestinal pode ser adequada para o tratamento da DM2 em candidatos cirúrgicos apropriados, cujo IMC oscile entre 30 e 35 kg/m<sup>2</sup> e que se encontrem inadequadamente controlados pelo estilo de vida e terapêutica médica. O tipo de cirurgia que reuniu maior consenso foi a LAGB, seguida de RYGB, BPD e, por fim, da gastrectomia em manga. Nesta cimeira foi igualmente acordado que a colaboração entre endocrinologistas, cirurgiões e investigadores deve ser encorajada para facilitar a compreensão dos mecanismos gastrointestinais envolvidos na regulação metabólica e para permitir o uso destes mecanismos na melhoria do tratamento da DM2.

A cirurgia parece constituir uma arma adicional contra a diabetes. O uso da “cirurgia metabólica” desencadeou uma redefinição nos objectivos do tratamento, do controlo para a remissão. O potencial da cirurgia em delinear a complexa fisiologia do eixo neurohormonal e do tracto gastrointestinal pode levar à melhor compreensão da fisiopatologia da diabetes.



## 6 – CONCLUSÃO

---

O estudo das hormonas incretinas permitiu, não só, desenvolver uma nova abordagem do tratamento da DM2, como proporcionou uma melhor compreensão da fisiopatologia da doença. Actualmente, deparamo-nos com novos conceitos e realidades que poderão ser o início de um novo capítulo da história da DM2.

Os incretino-miméticos e potenciadores das incretinas têm sido alvo de grande atenção, na medida em que apresentam propriedades que os tornam agentes antidiabéticos bastante atractivos. Para além da sua função na homeostasia da glucose, estes fármacos apresentam acções extra-pancreáticas únicas que os distinguem das outras terapêuticas disponíveis, nomeadamente o efeito benéfico sobre a DCV, a diminuição/neutralidade sobre o peso corporal e o controlo do apetite.

Actualmente, na Europa, já se encontram disponíveis os incretino-miméticos exenatide e liraglutide e os potenciadores de incretinas sitagliptina, vildagliptina e saxagliptina, aprovados para uso quer em monoterapia quer como tratamento combinado.

As incretinas parecem ser, ainda, a base do sucesso de uma variante diferente e totalmente inovadora do tratamento da DM2, a terapêutica cirúrgica. De facto, a remissão completa da DM2 tem sido observada em doentes submetidos a cirurgia bariátrica, sendo que as incretinas são as moléculas mais frequentemente invocadas como responsáveis por este efeito.

## 7 – REFERÊNCIAS

---

- Ahren, B. (2007). "Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors: clinical data and clinical implications." Diabetes Care **30**(6): 1344-1350.
- Ahren, B., M. Landin-Olsson, et al. (2004). "Inhibition of dipeptidyl peptidase-4 reduces glycemia, sustains insulin levels, and reduces glucagon levels in type 2 diabetes." J Clin Endocrinol Metab **89**(5): 2078-2084.
- Amori, R. E., J. Lau, et al. (2007). "Efficacy and safety of incretin therapy in type 2 diabetes: systematic review and meta-analysis." JAMA **298**(2): 194-206.
- Anini, Y. and P. L. Brubaker (2003). "Role of leptin in the regulation of glucagon-like peptide-1 secretion." Diabetes **52**(2): 252-259.
- Arakawa, M., T. Mita, et al. (2010). "Inhibition of monocyte adhesion to endothelial cells and attenuation of atherosclerotic lesion by a glucagon-like peptide-1 receptor agonist, exendin-4." Diabetes.
- Astrup, A., S. Rossner, et al. (2009). "Effects of liraglutide in the treatment of obesity: a randomised, double-blind, placebo-controlled study." Lancet **374**(9701): 1606-1616.
- Baggio, L., T. J. Kieffer, et al. (2000). "Glucagon-like peptide-1, but not glucose-dependent insulinotropic peptide, regulates fasting glycemia and nonenteral glucose clearance in mice." Endocrinology **141**(10): 3703-3709.
- Baggio, L. L. and D. J. Drucker (2007). "Biology of incretins: GLP-1 and GIP." Gastroenterology **132**(6): 2131-2157.

- Balks, H. J., J. J. Holst, et al. (1997). "Rapid oscillations in plasma glucagon-like peptide-1 (GLP-1) in humans: cholinergic control of GLP-1 secretion via muscarinic receptors." J Clin Endocrinol Metab **82**(3): 786-790.
- Ban, K., M. H. Noyan-Ashraf, et al. (2008). "Cardioprotective and vasodilatory actions of glucagon-like peptide 1 receptor are mediated through both glucagon-like peptide 1 receptor-dependent and -independent pathways." Circulation **117**(18): 2340-2350.
- Barnett, A. H. (2009). "New treatments in type 2 diabetes: a focus on the incretin-based therapies." Clin Endocrinol (Oxf) **70**(3): 343-353.
- Bollag, R. J., Q. Zhong, et al. (2000). "Osteoblast-derived cells express functional glucose-dependent insulinotropic peptide receptors." Endocrinology **141**(3): 1228-1235.
- Bolli, G., F. Dotta, et al. (2008). "Efficacy and tolerability of vildagliptin vs. pioglitazone when added to metformin: a 24-week, randomized, double-blind study." Diabetes Obes Metab **10**(1): 82-90.
- Bose, A. K., M. M. Mocanu, et al. (2005). "Glucagon-like peptide 1 can directly protect the heart against ischemia/reperfusion injury." Diabetes **54**(1): 146-151.
- Bosi, E., R. P. Camisasca, et al. (2007). "Effects of vildagliptin on glucose control over 24 weeks in patients with type 2 diabetes inadequately controlled with metformin." Diabetes Care **30**(4): 890-895.
- Brubaker, P. L. (2006). "The glucagon-like peptides: pleiotropic regulators of nutrient homeostasis." Ann N Y Acad Sci **1070**: 10-26.
- Brunner, F., R. Maier, et al. (2003). "Attenuation of myocardial ischemia/reperfusion injury in mice with myocyte-specific overexpression of endothelial nitric oxide synthase." Cardiovasc Res **57**(1): 55-62.
- Buchwald, H., Y. Avidor, et al. (2004). "Bariatric surgery: a systematic review and meta-analysis." JAMA **292**(14): 1724-1737.

- Buse, J. B., R. R. Henry, et al. (2004). "Effects of exenatide (exendin-4) on glycemic control over 30 weeks in sulfonylurea-treated patients with type 2 diabetes." Diabetes Care **27**(11): 2628-2635.
- Buse, J. B., J. Rosenstock, et al. (2009). "Liraglutide once a day versus exenatide twice a day for type 2 diabetes: a 26-week randomised, parallel-group, multinational, open-label trial (LEAD-6)." Lancet **374**(9683): 39-47.
- Charbonnel, B., A. Karasik, et al. (2006). "Efficacy and safety of the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor sitagliptin added to ongoing metformin therapy in patients with type 2 diabetes inadequately controlled with metformin alone." Diabetes Care **29**(12): 2638-2643.
- Chia, C. W. and J. M. Egan (2008). "Incretin-based therapies in type 2 diabetes mellitus." J Clin Endocrinol Metab **93**(10): 3703-3716.
- Daniel, E. E., M. Anvari, et al. (2002). "Local, exendin-(9-39)-insensitive, site of action of GLP-1 in canine ileum." Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol **283**(3): G595-602.
- Deacon, C. F., P. Danielsen, et al. (2001). "Dipeptidyl peptidase IV inhibition reduces the degradation and clearance of GIP and potentiates its insulinotropic and antihyperglycemic effects in anesthetized pigs." Diabetes **50**(7): 1588-1597.
- Deacon, C. F., M. A. Nauck, et al. (2000). "Degradation of endogenous and exogenous gastric inhibitory polypeptide in healthy and in type 2 diabetic subjects as revealed using a new assay for the intact peptide." J Clin Endocrinol Metab **85**(10): 3575-3581.
- Deacon, C. F., M. A. Nauck, et al. (1995). "Both subcutaneously and intravenously administered glucagon-like peptide I are rapidly degraded from the NH<sub>2</sub>-terminus in type II diabetic patients and in healthy subjects." Diabetes **44**(9): 1126-1131.
- DeFronzo, R. A., P. R. Fleck, et al. (2008). "Efficacy and safety of the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor alogliptin in patients with type 2 diabetes and inadequate glycemic control: a

- randomized, double-blind, placebo-controlled study." Diabetes Care **31**(12): 2315-2317.
- DeFronzo, R. A., M. N. Hissa, et al. (2009). "The efficacy and safety of saxagliptin when added to metformin therapy in patients with inadequately controlled type 2 diabetes with metformin alone." Diabetes Care **32**(9): 1649-1655.
- DeFronzo, R. A., R. E. Ratner, et al. (2005). "Effects of exenatide (exendin-4) on glycemic control and weight over 30 weeks in metformin-treated patients with type 2 diabetes." Diabetes Care **28**(5): 1092-1100.
- Dore, D. D., J. D. Seeger, et al. (2009). "Use of a claims-based active drug safety surveillance system to assess the risk of acute pancreatitis with exenatide or sitagliptin compared to metformin or glyburide." Curr Med Res Opin **25**(4): 1019-1027.
- Drucker, D. J. (2007). "Dipeptidyl peptidase-4 inhibition and the treatment of type 2 diabetes: preclinical biology and mechanisms of action." Diabetes Care **30**(6): 1335-1343.
- Drucker, D. J., J. B. Buse, et al. (2008). "Exenatide once weekly versus twice daily for the treatment of type 2 diabetes: a randomised, open-label, non-inferiority study." Lancet **372**(9645): 1240-1250.
- Drucker, D. J., P. Erlich, et al. (1996). "Induction of intestinal epithelial proliferation by glucagon-like peptide 2." Proc Natl Acad Sci U S A **93**(15): 7911-7916.
- Drucker, D. J. and M. A. Nauck (2006). "The incretin system: glucagon-like peptide-1 receptor agonists and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in type 2 diabetes." Lancet **368**(9548): 1696-1705.
- Drucker, D. J., S. I. Sherman, et al. (2010). "Incretin-based therapies for the treatment of type 2 diabetes: evaluation of the risks and benefits." Diabetes Care **33**(2): 428-433.
- Elliott, R. M., L. M. Morgan, et al. (1993). "Glucagon-like peptide-1 (7-36)amide and glucose-dependent insulintropic polypeptide secretion in response to nutrient

- ingestion in man: acute post-prandial and 24-h secretion patterns." J Endocrinol **138**(1): 159-166.
- Erdmann, E. and R. G. Wilcox (2008). "Weighing up the cardiovascular benefits of thiazolidinedione therapy: the impact of increased risk of heart failure." Eur Heart J **29**(1): 12-20.
- Evans, J. M., S. A. Ogston, et al. (2006). "Risk of mortality and adverse cardiovascular outcomes in type 2 diabetes: a comparison of patients treated with sulfonylureas and metformin." Diabetologia **49**(5): 930-936.
- Fehse, F., M. Trautmann, et al. (2005). "Exenatide augments first- and second-phase insulin secretion in response to intravenous glucose in subjects with type 2 diabetes." J Clin Endocrinol Metab **90**(11): 5991-5997.
- Ferrannini, E. and G. Mingrone (2009). "Impact of different bariatric surgical procedures on insulin action and beta-cell function in type 2 diabetes." Diabetes Care **32**(3): 514-520.
- Fineman, M. S., T. A. Bicsak, et al. (2003). "Effect on glycemic control of exenatide (synthetic exendin-4) additive to existing metformin and/or sulfonylurea treatment in patients with type 2 diabetes." Diabetes Care **26**(8): 2370-2377.
- Fisman, E. Z., M. Motro, et al. (2008). "Non-insulin antidiabetic therapy in cardiac patients: current problems and future prospects." Adv Cardiol **45**: 154-170.
- Fonseca, V., A. Schweizer, et al. (2007). "Addition of vildagliptin to insulin improves glycaemic control in type 2 diabetes." Diabetologia **50**(6): 1148-1155.
- Garber, A., R. Henry, et al. (2009). "Liraglutide versus glimepiride monotherapy for type 2 diabetes (LEAD-3 Mono): a randomised, 52-week, phase III, double-blind, parallel-treatment trial." Lancet **373**(9662): 473-481.

- Garber, A. J., J. E. Foley, et al. (2008). "Effects of vildagliptin on glucose control in patients with type 2 diabetes inadequately controlled with a sulphonylurea." Diabetes Obes Metab **10**(11): 1047-1056.
- Garber, A. J., A. Schweizer, et al. (2007). "Vildagliptin in combination with pioglitazone improves glycaemic control in patients with type 2 diabetes failing thiazolidinedione monotherapy: a randomized, placebo-controlled study." Diabetes Obes Metab **9**(2): 166-174.
- Grobbbee, D. E. (2003). "How to ADVANCE prevention of cardiovascular complications in type 2 diabetes." Metabolism **52**(8 Suppl 1): 24-28.
- Gros, R., X. You, et al. (2003). "Cardiac function in mice lacking the glucagon-like peptide-1 receptor." Endocrinology **144**(6): 2242-2252.
- Gungor, N. and S. Arslanian (2002). "Pathophysiology of type 2 diabetes mellitus in children and adolescents: treatment implications." Treat Endocrinol **1**(6): 359-371.
- Hadjiyanni, I., K. A. Siminovitch, et al. (2010). "Glucagon-like peptide-1 receptor signalling selectively regulates murine lymphocyte proliferation and maintenance of peripheral regulatory T cells." Diabetologia.
- Hansen, L., C. F. Deacon, et al. (1999). "Glucagon-like peptide-1-(7-36)amide is transformed to glucagon-like peptide-1-(9-36)amide by dipeptidyl peptidase IV in the capillaries supplying the L cells of the porcine intestine." Endocrinology **140**(11): 5356-5363.
- Heine, R. J., L. F. Van Gaal, et al. (2005). "Exenatide versus insulin glargine in patients with suboptimally controlled type 2 diabetes: a randomized trial." Ann Intern Med **143**(8): 559-569.
- Henriksen, D. B., P. Alexandersen, et al. (2003). "Role of gastrointestinal hormones in postprandial reduction of bone resorption." J Bone Miner Res **18**(12): 2180-2189.

- Holman, R. R., S. K. Paul, et al. (2008). "10-year follow-up of intensive glucose control in type 2 diabetes." N Engl J Med **359**(15): 1577-1589.
- Holst, J. J. and C. F. Deacon (1998). "Inhibition of the activity of dipeptidyl-peptidase IV as a treatment for type 2 diabetes." Diabetes **47**(11): 1663-1670.
- Holz, G. G. t., W. M. Kuhlreiber, et al. (1993). "Pancreatic beta-cells are rendered glucose-competent by the insulinotropic hormone glucagon-like peptide-1(7-37)." Nature **361**(6410): 362-365.
- Irons, B. K., R. S. Greene, et al. (2006). "Implications of rosiglitazone and pioglitazone on cardiovascular risk in patients with type 2 diabetes mellitus." Pharmacotherapy **26**(2): 168-181.
- Keating, C. L., J. B. Dixon, et al. (2009). "Cost-efficacy of surgically induced weight loss for the management of type 2 diabetes: a randomized controlled trial." Diabetes Care **32**(4): 580-584.
- Kendall, D. M., M. C. Riddle, et al. (2005). "Effects of exenatide (exendin-4) on glycemic control over 30 weeks in patients with type 2 diabetes treated with metformin and a sulfonylurea." Diabetes Care **28**(5): 1083-1091.
- Kieffer, T. J., C. H. McIntosh, et al. (1995). "Degradation of glucose-dependent insulinotropic polypeptide and truncated glucagon-like peptide 1 in vitro and in vivo by dipeptidyl peptidase IV." Endocrinology **136**(8): 3585-3596.
- Kolterman, O. G., D. D. Kim, et al. (2005). "Pharmacokinetics, pharmacodynamics, and safety of exenatide in patients with type 2 diabetes mellitus." Am J Health Syst Pharm **62**(2): 173-181.
- LaFerrere, B., S. Heshka, et al. (2007). "Incretin levels and effect are markedly enhanced 1 month after Roux-en-Y gastric bypass surgery in obese patients with type 2 diabetes." Diabetes Care **30**(7): 1709-1716.



- Lankas, G. R., B. Leiting, et al. (2005). "Dipeptidyl peptidase IV inhibition for the treatment of type 2 diabetes: potential importance of selectivity over dipeptidyl peptidases 8 and 9." Diabetes **54**(10): 2988-2994.
- Lee, W. J., W. Wang, et al. (2008). "Effect of laparoscopic mini-gastric bypass for type 2 diabetes mellitus: comparison of BMI>35 and <35 kg/m<sup>2</sup>." J Gastrointest Surg **12**(5): 945-952.
- Li, Y., T. Hansotia, et al. (2003). "Glucagon-like peptide-1 receptor signaling modulates beta cell apoptosis." J Biol Chem **278**(1): 471-478.
- Lovshin, J., J. Estall, et al. (2001). "Glucagon-like peptide (GLP)-2 action in the murine central nervous system is enhanced by elimination of GLP-1 receptor signaling." J Biol Chem **276**(24): 21489-21499.
- Lovshin, J. A. and D. J. Drucker (2009). "Incretin-based therapies for type 2 diabetes mellitus." Nat Rev Endocrinol **5**(5): 262-269.
- Lynn, F. C., N. Pamir, et al. (2001). "Defective glucose-dependent insulinotropic polypeptide receptor expression in diabetic fatty Zucker rats." Diabetes **50**(5): 1004-1011.
- Marre, M., J. Shaw, et al. (2009). "Liraglutide, a once-daily human GLP-1 analogue, added to a sulphonylurea over 26 weeks produces greater improvements in glycaemic and weight control compared with adding rosiglitazone or placebo in subjects with Type 2 diabetes (LEAD-1 SU)." Diabet Med **26**(3): 268-278.
- Meier, J. J., B. Gallwitz, et al. (2003). "Normalization of glucose concentrations and deceleration of gastric emptying after solid meals during intravenous glucagon-like peptide 1 in patients with type 2 diabetes." J Clin Endocrinol Metab **88**(6): 2719-2725.
- Meier, J. J., M. A. Nauck, et al. (2004). "Secretion, degradation, and elimination of glucagon-like peptide 1 and gastric inhibitory polypeptide in patients with chronic renal insufficiency and healthy control subjects." Diabetes **53**(3): 654-662.

- Mentlein, R. (1999). "Dipeptidyl-peptidase IV (CD26)--role in the inactivation of regulatory peptides." Regul Pept **85**(1): 9-24.
- Milicevic, Z., I. Raz, et al. (2008). "Natural history of cardiovascular disease in patients with diabetes: role of hyperglycemia." Diabetes Care **31 Suppl 2**: S155-160.
- Mortensen, K., L. L. Christensen, et al. (2003). "GLP-1 and GIP are colocalized in a subset of endocrine cells in the small intestine." Regul Pept **114**(2-3): 189-196.
- Nauck, M., A. Frid, et al. (2009). "Efficacy and safety comparison of liraglutide, glimepiride, and placebo, all in combination with metformin, in type 2 diabetes: the LEAD (liraglutide effect and action in diabetes)-2 study." Diabetes Care **32**(1): 84-90.
- Nauck, M. A., S. Duran, et al. (2007). "A comparison of twice-daily exenatide and biphasic insulin aspart in patients with type 2 diabetes who were suboptimally controlled with sulfonylurea and metformin: a non-inferiority study." Diabetologia **50**(2): 259-267.
- Nauck, M. A., G. C. Ellis, et al. (2009). "Efficacy and safety of adding the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor alogliptin to metformin therapy in patients with type 2 diabetes inadequately controlled with metformin monotherapy: a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled study." Int J Clin Pract **63**(1): 46-55.
- Nauck, M. A., R. E. Ratner, et al. (2009). "Treatment with the human once-weekly glucagon-like peptide-1 analog taspoglutide in combination with metformin improves glycemic control and lowers body weight in patients with type 2 diabetes inadequately controlled with metformin alone: a double-blind placebo-controlled study." Diabetes Care **32**(7): 1237-1243.
- Nikolaidis, L. A., D. Elahi, et al. (2004). "Recombinant glucagon-like peptide-1 increases myocardial glucose uptake and improves left ventricular performance in conscious dogs with pacing-induced dilated cardiomyopathy." Circulation **110**(8): 955-961.

- Nikolaidis, L. A., D. Elahi, et al. (2005). "Active metabolite of GLP-1 mediates myocardial glucose uptake and improves left ventricular performance in conscious dogs with dilated cardiomyopathy." Am J Physiol Heart Circ Physiol **289**(6): H2401-2408.
- Nikolaidis, L. A., S. Mankad, et al. (2004). "Effects of glucagon-like peptide-1 in patients with acute myocardial infarction and left ventricular dysfunction after successful reperfusion." Circulation **109**(8): 962-965.
- Noel, R. A., D. K. Braun, et al. (2009). "Increased risk of acute pancreatitis and biliary disease observed in patients with type 2 diabetes: a retrospective cohort study." Diabetes Care **32**(5): 834-838.
- Orskov, C., A. Wettergren, et al. (1993). "Biological effects and metabolic rates of glucagonlike peptide-1 7-36 amide and glucagonlike peptide-1 7-37 in healthy subjects are indistinguishable." Diabetes **42**(5): 658-661.
- Orskov, C., A. Wettergren, et al. (1996). "Secretion of the incretin hormones glucagon-like peptide-1 and gastric inhibitory polypeptide correlates with insulin secretion in normal man throughout the day." Scand J Gastroenterol **31**(7): 665-670.
- Patel, A., S. MacMahon, et al. (2008). "Intensive blood glucose control and vascular outcomes in patients with type 2 diabetes." N Engl J Med **358**(24): 2560-2572.
- Patsch, J. R., G. Miesenbock, et al. (1992). "Relation of triglyceride metabolism and coronary artery disease. Studies in the postprandial state." Arterioscler Thromb **12**(11): 1336-1345.
- Pi-Sunyer, F. X., A. Schweizer, et al. (2007). "Efficacy and tolerability of vildagliptin monotherapy in drug-naive patients with type 2 diabetes." Diabetes Res Clin Pract **76**(1): 132-138.
- Pories, W. J., J. F. Caro, et al. (1987). "The control of diabetes mellitus (NIDDM) in the morbidly obese with the Greenville Gastric Bypass." Ann Surg **206**(3): 316-323.

- Ranganath, L., F. Norris, et al. (1999). "Inhibition of carbohydrate-mediated glucagon-like peptide-1 (7-36)amide secretion by circulating non-esterified fatty acids." Clin Sci (Lond) **96**(4): 335-342.
- Ranganath, L. R., J. M. Beety, et al. (1996). "Attenuated GLP-1 secretion in obesity: cause or consequence?" Gut **38**(6): 916-919.
- Rao, A. D., N. Kuhadiya, et al. (2008). "Is the combination of sulfonylureas and metformin associated with an increased risk of cardiovascular disease or all-cause mortality?: a meta-analysis of observational studies." Diabetes Care **31**(8): 1672-1678.
- Ratner, R. (2006). "Incretin-based therapies for type 2 diabetes: clinical utility." Endocrinol Metab Clin North Am **35 Suppl 1**: 12-16; discussion 17-19.
- Rothenberg, M. E., C. D. Eilertson, et al. (1995). "Processing of mouse proglucagon by recombinant prohormone convertase 1 and immunopurified prohormone convertase 2 in vitro." J Biol Chem **270**(17): 10136-10146.
- Rouille, Y., S. Kantengwa, et al. (1997). "Role of the prohormone convertase PC3 in the processing of proglucagon to glucagon-like peptide 1." J Biol Chem **272**(52): 32810-32816.
- Rubino, F. (2008). "Is type 2 diabetes an operable intestinal disease? A provocative yet reasonable hypothesis." Diabetes Care **31 Suppl 2**: S290-296.
- Russell-Jones, D., A. Vaag, et al. (2009). "Liraglutide vs insulin glargine and placebo in combination with metformin and sulfonylurea therapy in type 2 diabetes mellitus (LEAD-5 met+SU): a randomised controlled trial." Diabetologia **52**(10): 2046-2055.
- Salera, M., P. Giacomoni, et al. (1982). "Gastric inhibitory polypeptide release after oral glucose: relationship to glucose intolerance, diabetes mellitus, and obesity." J Clin Endocrinol Metab **55**(2): 329-336.

- Salinari, S., A. Bertuzzi, et al. (2009). "First-phase insulin secretion restoration and differential response to glucose load depending on the route of administration in type 2 diabetic subjects after bariatric surgery." Diabetes Care **32**(3): 375-380.
- Schirra, J., K. Sturm, et al. (1998). "Exendin(9-39)amide is an antagonist of glucagon-like peptide-1(7-36)amide in humans." J Clin Invest **101**(7): 1421-1430.
- Schjoldager, B., P. E. Mortensen, et al. (1989). "Oxyntomodulin from distal gut. Role in regulation of gastric and pancreatic functions." Dig Dis Sci **34**(9): 1411-1419.
- Simonsen, L., J. J. Holst, et al. (2006). "Exendin-4, but not glucagon-like peptide-1, is cleared exclusively by glomerular filtration in anaesthetised pigs." Diabetologia **49**(4): 706-712.
- Sokos, G. G., H. Bolukoglu, et al. (2007). "Effect of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) on glycemic control and left ventricular function in patients undergoing coronary artery bypass grafting." Am J Cardiol **100**(5): 824-829.
- Sonne, D. P., T. Engstrom, et al. (2008). "Protective effects of GLP-1 analogues exendin-4 and GLP-1(9-36) amide against ischemia-reperfusion injury in rat heart." Regul Pept **146**(1-3): 243-249.
- Tang-Christensen, M., P. J. Larsen, et al. (2000). "The proglucagon-derived peptide, glucagon-like peptide-2, is a neurotransmitter involved in the regulation of food intake." Nat Med **6**(7): 802-807.
- Teta, M., M. M. Rankin, et al. (2007). "Growth and regeneration of adult beta cells does not involve specialized progenitors." Dev Cell **12**(5): 817-826.
- Theodorakis, M. J., O. Carlson, et al. (2006). "Human duodenal enteroendocrine cells: source of both incretin peptides, GLP-1 and GIP." Am J Physiol Endocrinol Metab **290**(3): E550-559.

- Toombs, C. F., S. McGee, et al. (1992). "Myocardial protective effects of adenosine. Infarct size reduction with pretreatment and continued receptor stimulation during ischemia." Circulation **86**(3): 986-994.
- Vaag, A. A., J. J. Holst, et al. (1996). "Gut incretin hormones in identical twins discordant for non-insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM)--evidence for decreased glucagon-like peptide 1 secretion during oral glucose ingestion in NIDDM twins." Eur J Endocrinol **135**(4): 425-432.
- Vella, A., G. Bock, et al. (2007). "Effects of dipeptidyl peptidase-4 inhibition on gastrointestinal function, meal appearance, and glucose metabolism in type 2 diabetes." Diabetes **56**(5): 1475-1480.
- VilSBoll, T. (2007). "Liraglutide: a once-daily GLP-1 analogue for the treatment of type 2 diabetes mellitus." Expert Opin Investig Drugs **16**(2): 231-237.
- VilSBoll, T., H. AgerSO, et al. (2003). "Similar elimination rates of glucagon-like peptide-1 in obese type 2 diabetic patients and healthy subjects." J Clin Endocrinol Metab **88**(1): 220-224.
- VilSBoll, T., T. Krarup, et al. (2001). "Reduced postprandial concentrations of intact biologically active glucagon-like peptide 1 in type 2 diabetic patients." Diabetes **50**(3): 609-613.
- White, J. W. and G. F. Saunders (1986). "Structure of the human glucagon gene." Nucleic Acids Res **14**(12): 4719-4730.
- Willms, B., J. Werner, et al. (1996). "Gastric emptying, glucose responses, and insulin secretion after a liquid test meal: effects of exogenous glucagon-like peptide-1 (GLP-1)-(7-36) amide in type 2 (noninsulin-dependent) diabetic patients." J Clin Endocrinol Metab **81**(1): 327-332.

Xiao, Q., R. P. Boushey, et al. (1999). "Secretion of the intestinotropic hormone glucagon-like peptide 2 is differentially regulated by nutrients in humans." Gastroenterology **117**(1): 99-105.

Zinman, B., J. Gerich, et al. (2009). "Efficacy and safety of the human glucagon-like peptide-1 analog liraglutide in combination with metformin and thiazolidinedione in patients with type 2 diabetes (LEAD-4 Met+TZD)." Diabetes Care **32**(7): 1224-1230.