



**FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA**

**TRABALHO FINAL DO 6º ANO MÉDICO COM VISTA À ATRIBUIÇÃO DO  
GRAU DE MESTRE NO ÂMBITO DO CICLO DE ESTUDOS DE Mestrado  
INTEGRADO EM MEDICINA**

**MARIA INÊS RIBEIRO SEIXAS**

***GLUCAGON-LIKE PEPTIDE-1 E SEUS ANÁLOGOS***  
***DIMENSÃO CARDIOVASCULAR***

**ARTIGO DE REVISÃO**

**ÁREA CIENTÍFICA DE ENDOCRINOLOGIA**

**TRABALHO REALIZADO SOB A ORIENTAÇÃO DE:**

**PROFESSORA DOUTORA MANUELA REBELO CARVALHEIRO**

**SETEMBRO/2011**

**FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA**

**GLUCAGON-LIKE PEPTIDE-1**

**DIMENSÃO CARDIOVASCULAR**

- Maria Inês Ribeiro Seixas
- Mestrado Integrado em Medicina - 6º ano
- Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra
- Morada: Travessa António Gedeão nº 10 3510-017 Viseu
- E-mail: [mariaineseixas@hotmail.com](mailto:mariaineseixas@hotmail.com)

**SETEMBRO/2011**

**RESUMO**

O *Glucagon-like peptide-1* é uma hormona peptídica segregada a partir das células L enteroendócrinas, de uma forma glicose-dependente, tendo sido os seus análogos aprovados para o controlo da hiperglicémia na Diabetes Mellitus tipo 2. Integra a classe farmacológica das incretinas. O facto de actuar em situações de hiperglicémia e de forma glicose-mediada, faz com que o risco de ocorrência de episódios de hipoglicémia seja reduzido.

A maioria dos estudos realizados nesta temática, diz respeito à acção do *Glucagon-like peptide-1* na célula  $\beta$ -pancreática. No entanto, investigações mais recentes têm vindo a demonstrar que esta hormona peptídica possui um amplo espectro de acção, nomeadamente no Sistema Cardiovascular, onde desempenha efeitos potencialmente cardioprotectores e vasodilatadores. Este pleiotropismo do *Glucagon-like peptide-1* é justificado pela extensa distribuição do seu receptor em diferentes tecidos.

Uma vez que o *Glucagon-like peptide-1* é rapidamente degradado pela enzima dipeptidil-peptidase-4, o seu tempo de semi-vida plasmática é muito curto. Com base neste facto, o estudo de potenciais agonistas do seu receptor, adquiriu especial importância. As moléculas melhor estudadas neste contexto são o Exenatide e o Liraglutide, pelo que grande parte dos modelos experimentais, para a investigação dos diferentes efeitos do *Glucagon-like peptide-1*, são realizados com base nestas substâncias. Os análogos referidos acima, apresentam elevada resistência à dipeptidil-peptidase-4, pelo que as semi-vidas são superiores e, conseqüentemente, os efeitos que daí advêm são em maior escala.

A distribuição de receptores do *Glucagon-like peptide-1* no Sistema Cardiovascular é ampla, designadamente ao nível dos cardiomiócitos, endocárdio, endotélio microvascular e músculo liso e endotélio coronários. O facto de o número de receptores ser elevado, sugere que o *Glucagon-like peptide-1* poderá ter um importante papel na regulação de funções

cardiovasculares. De facto, estudos em animais têm apontado o GLP-1 como modulador de vários efeitos com carácter cardioprotector, nomeadamente, vasodilatação, diminuição da frequência cardíaca e pressão arterial, atenuação do processo aterosclerótico e protecção contra a isquémia miocárdica. Recentemente, em humanos, verificou-se que a utilização dos análogos do GLP-1, apresenta um efeito inverso na frequência cardíaca, registando-se casos de taquicardia na prática clínica.

A doença cardiovascular é a segunda causa de mortalidade em Portugal (a primeira é a doença cerebrovascular), sendo a Diabetes Mellitus um importante factor de risco para o seu desenvolvimento. Ora, conjugando todas estas evidências, rapidamente concluímos que os análogos do *Glucagon-like peptide-1* podem vir a constituir uma nova classe de agentes na terapêutica cardiovascular, em pessoas com ou sem Diabetes Mellitus.

### **Palavras-chave**

Glucagon-like peptide-1, Receptor do Glucagon-like peptide-1, Exenatide, Liraglutide, Diabetes Mellitus, Doença Cardiovascular, Disfunção Endotelial, Frequência Cardíaca, Insuficiência Cardíaca, Isquémia Miocárdica

**ABSTRACT**

Glucagon-like peptide-1 is a peptide hormone secreted from enteroendocrine L cells, in a glucose-dependent manner, and its mimetics were recently approved for control of hyperglycemia in type 2 diabetes. These drugs are included in the class of incretins. As this drugs act by a glucose-dependent way, the risk of hypoglycaemic episodes is very reduced.

Most studies in this issue concerns the action of glucagon-like peptide-1 in  $\beta$ -pancreatic cell. However, more recent investigations have demonstrated that this peptide hormone has a broad spectrum of activity, particularly in the cardiovascular system, where plays a potentially cardioprotective and vasodilators effects. This pleiotropism of glucagon-like peptide-1 is justified by the extensive distribution of its receptor in different tissues.

Since glucagon-like peptide-1 is rapidly degraded by the enzyme dipeptidyl peptidase-4, its half-life in plasma is very short. On this basis, the study of potential agonists or mimetics, gained special importance. The best studied molecules in this context are Exenatide and Liraglutide so, much of the experimental studies to investigate the different effects of glucagon-like peptide-1 are made based on these substances. The analogs listed above, have high resistance to dipeptidyl peptidase-4 so the half-lives are higher and, consequently, the effects resulting therefrom are on a larger scale.

The distribution of receptors for glucagon-like peptide-1 in the cardiovascular system is wide, including the cardiomyocytes, endocardium, endothelium and smooth muscle microvascular/coronary endothelium. The fact that the number of receptors is high, suggests that glucagon-like peptide-1 may play an important role in the regulation of specific cardiovascular functions. In fact, studies with animals, have shown that the GLP-1 as a modulator of several cardioprotective effects, including vasodilation, decreased heart rate and

blood pressure, attenuation of the atherosclerotic process and protection against myocardial ischaemia.

Cardiovascular disease is the second cause of mortality in Portugal (the leading cause is cerebrovascular disease), being Diabetes Mellitus one of the major risk factor for its development. Thus, just together all of this evidences, is possible conclude that glucagon-like peptide-1 might play a role in cardiovascular therapy, regardless of the existence of Diabetes Mellitus.

### **Key words**

Glucagon-like peptide-1, Glucagon-like peptide-1 receptor, Exenatide, Liraglutide, Diabetes Mellitus, Cardiovascular Disease, Endothelial Dysfunction, Heart Rate, Heart Failure, Myocardial Ischemia

**ÍNDICE**

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	9
<b>2. OBJECTIVOS</b> .....	10
<b>3. DESENVOLVIMENTO</b> .....	11
<b>A. Efeito Incretina</b> .....	11
<b>B. Biologia do GLP-1</b> .....	12
B <sub>1</sub> . Síntese, secreção, metabolismo e eliminação .....	12
B <sub>2</sub> . Receptor do GLP-1: GLP-1R.....	14
B <sub>3</sub> . Agonistas do GLP-1R.....	17
<b>C. Impacto cardiovascular do GLP-1 e seus agonistas</b> .....	22
C <sub>1</sub> . Doença Cardiovascular e Intervenção Percutânea Primária .....	22
C <sub>2</sub> . GLP-1Rs e sua distribuição no Sistema Cardiovascular.....	22
C <sub>3</sub> . Modo de acção GLP-1 no Sistema Cardiovascular - duas vias propostas.....	23
C <sub>4</sub> . GLP-1 e Isquémia Cardíaca .....	25
C <sub>5</sub> . GLP-1 e Insuficiência Cardíaca .....	28
C <sub>6</sub> . GLP-1 e seus análogos - Pressão arterial e Frequência cardíaca .....	32
C <sub>7</sub> . Exenatide- Pressão arterial sistólica e Diabetes Mellitus tipo 2 .....	35
<b>D. Impacto do GLP-1 na função endotelial</b> .....	37
D <sub>1</sub> . Endotélio.....	37
D <sub>2</sub> . Disfunção endotelial - fisiopatologia.....	39
D <sub>3</sub> . Disfunção endotelial - Diabetes Mellitus e aterosclerose.....	41
D <sub>4</sub> . Efeitos do GLP-1 na função endotelial.....	42

D <sub>5</sub> . Vias sinalizadoras da acção do GLP-1 no endotélio .....	44
D <sub>6</sub> . Exenatide - redução das lesões ateroscleróticas .....	46
<b>4. CONCLUSÕES</b> .....	<b>48</b>
<b>5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>50</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A doença cardiovascular (DCV) é a segunda causa de mortalidade em Portugal (a primeira é a doença cerebrovascular), sendo a Diabetes Mellitus (DM) um importante factor de risco para o seu desenvolvimento (Sjöholm, 2009).

Agentes terapêuticos como estatinas, inibidores da enzima de conversão da angiotensina e beta-bloqueantes, têm demonstrado uma significativa acção na redução da incidência de doença cardiovascular, bem como nas taxas de morbilidade e mortalidade. No entanto, esta redução não é tão significativa em doentes com patologia associada, nomeadamente DM. Deste modo, a procura de alternativas terapêuticas mais eficazes tem sido alvo de vários centros de investigação. Um candidato apontado é o *glucagon-like peptide-1* (GLP-1), uma hormona peptídica, cujos análogos foram aprovados para o controlo da hiperglicémia na DM tipo 2. A razão desta escolha reside no facto de, para além da sua acção insulino-secretora glicose-mediada, terem sido apontadas acções benéficas no sistema cardiovascular, designadamente protecção da isquémia miocárdica e melhoria da função cardíaca (Grieve et al, 2009).

Esta revisão pretende abordar a acção do GLP-1 e seus análogos, a nível dos tecidos cardíaco e vascular e o seu eventual potencial terapêutico na DCV em diabéticos e não diabéticos.

## 2. OBJECTIVOS

O GLP-1 e seus análogos representam uma nova e promissora área de investigação e terapêutica, não só no contexto da patologia da DM, mas também a nível do sistema cardiovascular (Hausenloy et al, 2008). Aqui, existem múltiplos receptores do GLP-1 (GLP-1R), distribuídos por diversas áreas, tais como: cardiomiócitos, endocárdio, endotélio microvascular e músculo liso e endotélio coronários. Tendo em conta esta ampla extensão de GLP-1R nos tecidos vascular e cardíaco, a procura de agonistas destes receptores intensificou-se nos últimos anos, tendo-se verificado um espectro de acção benéfico, em várias modelos experimentais, tais como, modulação da frequência cardíaca (FC), pressão arterial (PA), tónus vascular e contractilidade miocárdica (Grieve et al, 2009; Chilton et al, 2011).

Os análogos do GLP-1R melhor estudados são o exenatide e o liraglutide pelo que, a maioria dos estudos realizados nesta área utilizam estas moléculas (Verge et al, 2010).

Esta revisão bibliográfica pretende, deste modo, descrever os efeitos cardiovasculares do GLP-1 e seus análogos, bem como as suas potenciais acções terapêuticas na DCV, identificadas em modelos experimentais e humanos, na presença ou ausência de DM.

### 3. DESENVOLVIMENTO

#### A. Efeito Incretina

A administração oral de glicose, em indivíduos saudáveis, produz um aumento dos níveis plasmáticos de insulina superior ao obtido com a administração de igual quantidade de glicose via endovenosa. Este fenómeno é designado “efeito incretina” e é explicado pela secreção glicose-dependente de hormonas gastrointestinais correspondente a, aproximadamente, 50-70 % da secreção total de insulina, após administração oral de glicose.

Foram identificadas duas hormonas incretinas: *Glucose-dependent insulintropic polypeptide* (GIP) e *glucagon-like peptide-1* (GLP-1). O principal estímulo para a secreção destas hormonas é a ingestão de refeições ricas em hidratos de carbono e lípidos (Baggio et al, 2007).

Importa realçar que, em doentes com DM tipo 2 descompensada, o efeito incretina se encontra diminuído ou mesmo ausente (Holst et al, 2004).

No que diz respeito ao GLP-1, estudos concluem que a sua secreção está significativamente reduzida, num contexto de DM tipo 2 descompensada. Pelo contrário, os níveis plasmáticos de GIP, nestes doentes, estão preservados ou ligeiramente aumentados, mas a sua acção insulínica está diminuída. O processo fisiopatológico subjacente à reduzida acção do GIP ainda é desconhecido. No entanto, estudos pré-clínicos, sugerem que a consequente hiperglicémia pode dever-se a *down-regulation* da expressão de receptores específicos para o GIP, nos ilhéus pancreáticos, a par com outras anomalias funcionais da célula  $\beta$ . Sabe-se que, os fenómenos acima descritos, são secundários à DM tipo 2 (Salehi et al, 2008).

## B. Biologia do GLP-1

### B<sub>1</sub>. Síntese, secreção, metabolismo e eliminação

O GLP-1 é sintetizado a partir da cadeia de síntese do glucagon. Esta cadeia inicia-se pela síntese do pré-proglucagon (PPG), cujo gene está localizado no braço longo do cromossoma 2 e é expresso nas células  $\alpha$ -pancreáticas, células L enteroendócrinas do íleo e cólon e células neuronais do hipotálamo e tronco cerebral. O PPG é um peptídeo composto por 160 aminoácidos. A clivagem do PPG origina o pró-glucagon (PG), que é clivado pela pró-convertase 1, resultando a isoforma GLP-1 (7–36) (Deacon, 2005) (Figura 1).

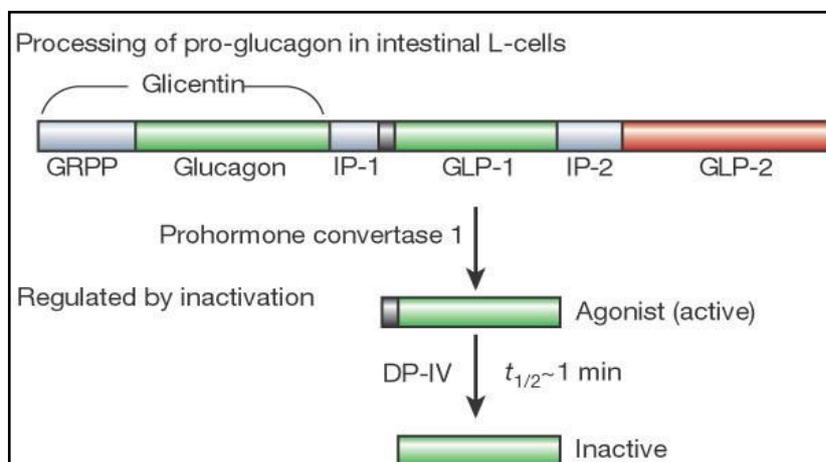


Figura retirada de Moller DE. (2001)

**Figura 1.** O GLP-1 é um produto resultante do gene pré-pro-glucagon (PPG). O pro-glucagon (PG) é clivado pela pró-convertase 1, originando a molécula de GLP-1, pelo que o PG é o precursor imediato do GLP-1. Este, é segregado a partir das células L enteroendócrinas, que predominam no intestino distal, principalmente sob a forma de GLP-1 (7–36). Esta isoforma é rapidamente hidrolisada *in vivo* ( $t_{1/2} \sim 1$  min), pela dipeptidil-peptidase-4 (DPP-4), resultando um metabolito inativo, GLP-1 (9–36).

O GLP-1 é rapidamente degradado pela enzima dipeptidil-peptidase-4 (DPP-4), pertencente à família das serina protease, resultando um produto inactivo, GLP-1 (9–36), após a remoção de um peptídeo N-terminal. A DPP-4 é ubiqüitária no organismo, o que explica a semi-vida plasmática muito curta da incretina ( $t_{1/2}$ : 1-2 minutos). Devido a esta extensa e rápida degradação, grande parte do GLP-1 foi já inactivado antes de entrar na circulação sistémica, daí a implicação das vias neurais, indirectas, para levar a cabo os seus efeitos (Deacon, 2005; Aulinger et al, 2007) (Figura 2).

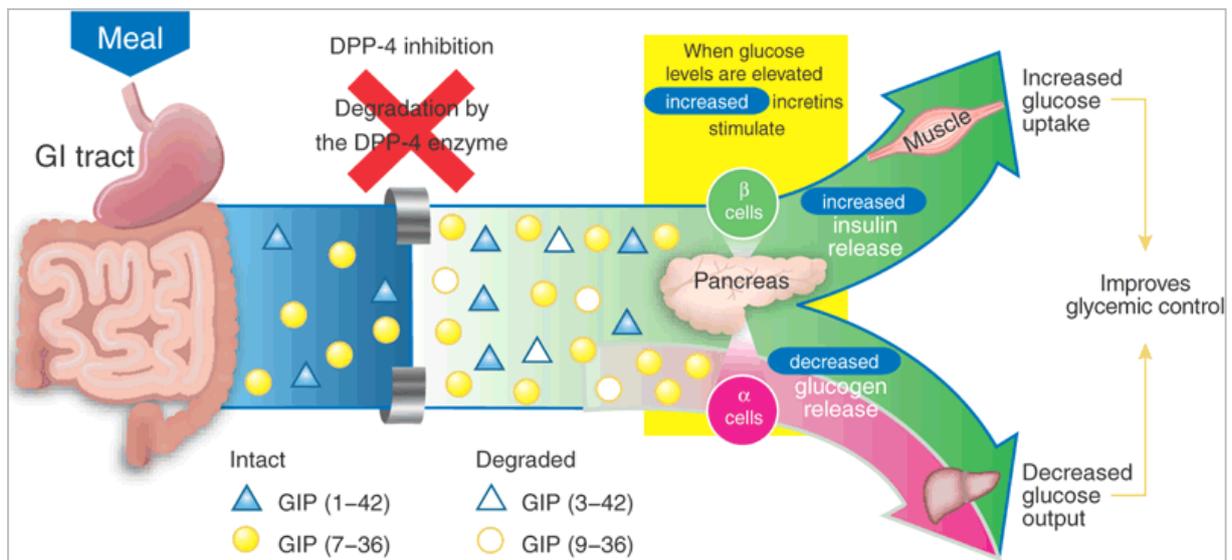


Figura retirada de May M. (2009)

**Figura 2.** Após a ingestão de nutrientes são segregadas as hormonas GLP-1 (7–36) e GIP (1–42), que promovem um aumento dos níveis plasmáticos de insulina – efeito incretina. Após, aproximadamente, dois minutos, a enzima DPP-4 converte o GLP-1 e o GIP nos seus metabolitos inactivos, GLP-1 (9–36) e GIP (3–42), *in vivo*.

A maior via de eliminação do GLP-1 é a renal, envolvendo mecanismos que incluem filtração glomerular, reabsorção tubular e catabolismo (Deacon, 2005).

## B<sub>2</sub>. Receptor do GLP-1: GLP-1R

O gene do GLP-1R humano está localizado no cromossoma 6, banda p21.1, é formado por 40 Kb e consiste em 7 exões (Stoffel *et al.*, 1993).

O receptor do GLP-1 (GLP-1R) pertence à superfamília de receptores acoplados a uma proteína G transmembranar, que também inclui os receptores do glucagon, GLP-2 e GIP. É constituído por 463 aminoácidos e 90 % da sequência constituída por estes aminoácidos é similar ao GLP-1R do rato (Saraceni *et al.*, 2007). O GLP-1R compreende oito domínios hidrofóbicos, sete dos quais transmembranares, bem como um domínio N-terminal extracelular (Saraceni *et al.*, 2007) (Figura 3).

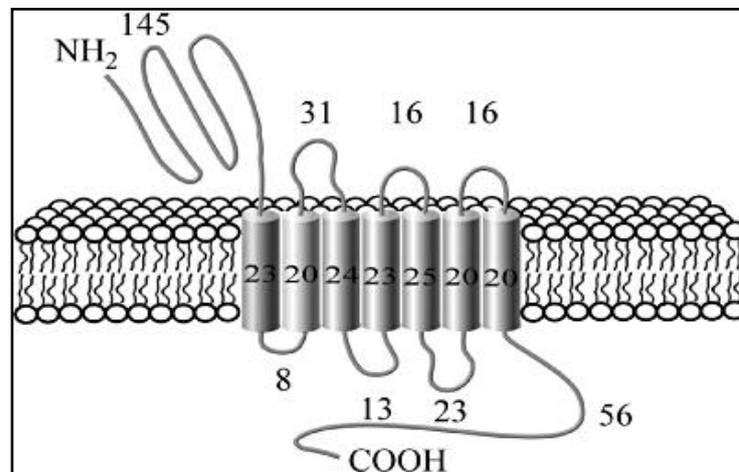


Figura retirada de Grieve *et al.* (2009)

**Figura 3.** Ilustração da estrutura do receptor da molécula do GLP-1 (GLP-1R), que inclui o número de resíduos de aminoácidos em cada segmento. O GLP-1R é um receptor acoplado à proteína G, com sete domínios transmembranares, constituído por 463 aminoácidos.



**Figura 4.** Principais eventos moleculares durante a indução da secreção de insulina pela célula  $\beta$  pancreática, através do GLP-1 ou dos seus agonistas. A ligação destas moléculas ao GLP-1R resulta na produção de AMPc. Consequentemente, há activação de enzimas, nomeadamente PKA e Epac, o que leva à elevação dos níveis de cálcio intracelulares e inibição dos canais de potássio. As alterações dos níveis de cálcio intracelulares levam a uma fusão das vesículas de insulina à membrana plasmática e consequente exocitose de moléculas de insulina, pela célula  $\beta$  pancreática.

Há evidências da existência de receptores do GLP-1R nos ilhéus pancreáticos (principalmente células  $\beta$ , mas também  $\alpha$  e  $\delta$ ), pulmão, coração, rim, tracto gastrointestinal, pele e várias áreas do Sistema Nervoso Central (SNC) e Periférico (SNP), que incluem o hipotálamo, hipófise e tronco cerebral (Figura 5).

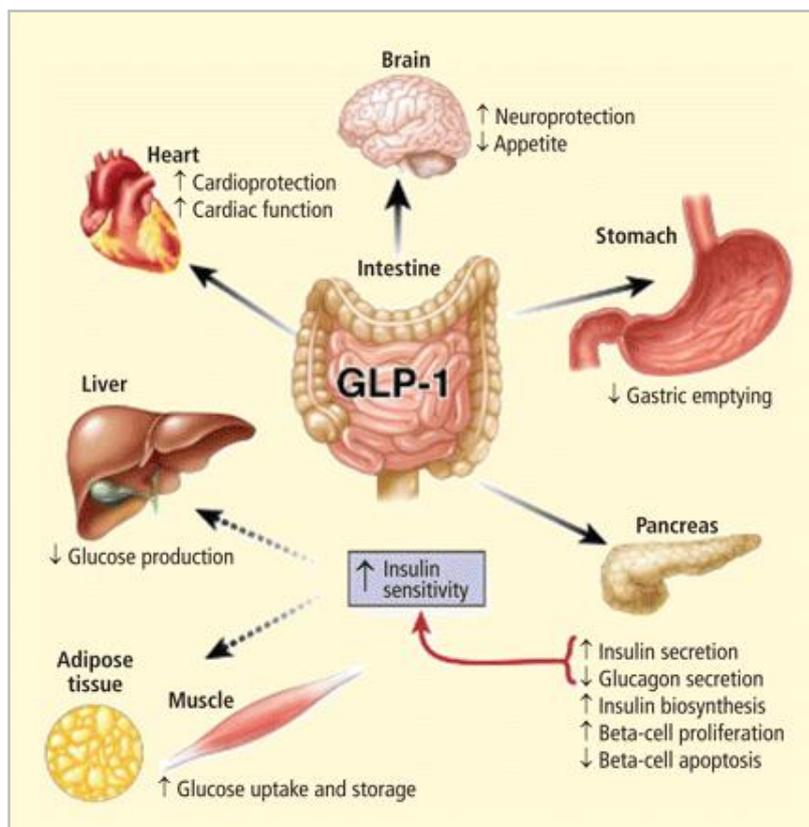


Figura retirada de Baggio et al. (2007)

**Figura 5.** Acções do GLP-1 nos tecidos periféricos. A maioria dos efeitos do GLP-1 é mediada pela interacção directa com os GLP-1Rs presentes nestes tecidos. No entanto, as acções do GLP-1 no fígado, tecido adiposo e músculo esquelético parecem ocorrer através de mecanismos indirectos e ainda permanecem ambíguos.

Deste modo, a função do GLP-1 não se limita às células pancreáticas, sendo uma hormona pleiotrópica com diferentes funções reguladoras (Abu-Hamdah et al., 2009).

### **B<sub>3</sub>. Agonistas do GLP-1R**

#### **a) Exenatide**

O exenatide é um produto sintético estruturalmente idêntico ao exendin-4 nativo - peptídeo isolado das secreções salivares do lagarto Gila do Arizona (*Heloderma suspectum*) - que possui uma sequência de aminoácidos homóloga ao GLP-1 humano em 53%. Liga-se com elevada afinidade ao GLP-1R, sendo um potente agonista deste receptor, mimetizando todas as acções fisiológicas documentadas do GLP-1 (Baggio et al., 2007; Saraceni et al., 2007; Mafong et al., 2008).

Devido a esta homologia parcial com o GLP-1 nativo, num pequeno número de doentes, surge a produção de anticorpos, alguns dos quais, com efeitos neutralizantes de determinadas acções do composto (Verge et al., 2010).

O exenatide é um peptídeo de 39 aminoácidos e tem uma semi-vida de 6 a 8 horas, após administração subcutânea. A sua longa duração de acção é atribuída ao facto de existir um resíduo de glicina na posição 2, em vez de alanina, não constituindo um substrato para a DPP-4 (Baggio et al., 2007; Mafong et al., 2008).

O exenatide foi o primeiro análogo do GLP-1 a existir no mercado com “efeito incretina mimético”, tendo sido aprovado pelas *US Food and Drug Administration* (FDA) e *European Medicines Agency* (EMA), como terapêutica adjuvante da metformina e/ou sulfonilureias e/ou glitazonas, no tratamento da DM tipo 2 (Mafong et al., 2008). Em Portugal o fármaco não está comercializado.

São várias as aplicações clínicas do exenatide. Uma das principais acções do exenatide é a potenciação da secreção de insulina pelas células  $\beta$  pancreáticas. Estudos demonstram acções glucoreguladoras do exenatide, como redução dos níveis de glucose pós-prandiais e hemoglobina A<sub>1c</sub>. Contrariamente à classe de secretagogos, como as sulfonilureias, os efeitos insulíntricos do exenatide são glucose-dependentes, pelo que o risco de ocorrência de hipoglicémias é muito inferior comparativamente com as sulfonilureias (Mafong et al., 2008).

Exendin (9-39) é uma forma amino-terminal truncada do Exenatide que também se liga ao GLP-1R e é um forte antagonista das acções do GLP-1 e Exenatide (Treiman et al., 2010).

O tratamento com exenatide resulta também numa redução estatisticamente significativa de Hemoglobina A<sub>1c</sub> e do peso corporal.

Os principais efeitos adversos são náuseas, vómitos e diarreia. A maior parte dos episódios de náuseas são ligeiros a moderados, dependem da dose e diminuem de frequência com a continuidade do tratamento. Não existe correlação com a perda de peso verificada. Foram detectados anticorpos anti-exenatide em 41 a 49% dos indivíduos tratados com exenatide em ensaios clínicos de fase III. O significado da formação desses anticorpos permanece por esclarecer. Recentemente foram reportados casos de pancreatite aguda em doentes tratados com exenatide, no entanto ainda não foi estabelecida uma clara relação causal (Iltz et al., 2006). Mais ainda, em estudos com ratos, o uso de Exenatide tem sido relacionado com hiperplasia das células C da tiróide (Waser et al., 2011).

Dados recentes mostram uma redução sustentada na HA1c e peso após 104 semanas de tratamento com exenatide e melhoria na função da célula  $\beta$  medidos através do *Homeostatic Model Assessment* (HOMA-B) (Srinivasan et al., 2008).

Os principais aspectos negativos apontados ao uso deste fármaco são a falta de dados sobre os seus efeitos na morbilidade e mortalidade e sobre a sua eficácia no controlo glicémico a longo-prazo. Mais ainda, o exenatide é um medicamento muito caro, cuja relação custo/benefício não está ainda estabelecida.

### **b) Liraglutide**

Os estudos LEAD (Liraglutide Effect and Action in Diabetes) têm sido a base de investigação do liraglutide (Buse et al., 2009).

O liraglutide é um análogo do GLP-1 que partilha 97% da sequência de aminoácidos com a molécula nativa. Um resíduo de arginina substitui a lisina na posição 34 e um glutamato é adicionado na posição 24, o que permite a ligação de ácido palmítico o qual, por sua vez, se liga não covalentemente e de forma reversível à albumina. O resultado destas duas substituições leva a um perfil farmacocinético com uma semi-vida longa ( $t_{1/2}$  : 13 horas), uma vez que mais de 98% do liraglutide circula ligado à albumina, o que o torna altamente resistente à DPP-4 (Verge et al., 2010).

O liraglutide administrado uma vez por dia permite um controlo glicémico significativamente superior ao obtido com a administração de exenatide 2 vezes por dia e é, em geral, bem tolerado. Estes resultados sugerem que o liraglutide pode ser uma opção no tratamento de diabéticos tipo 2, especialmente quando o peso corporal e o risco de hipoglicemias são factores importantes.

A resposta humoral ao liraglutide é baixa e, até hoje, não há casos de neutralização de efeitos do referido composto (Verge et al., 2010).

O liraglutide está indicado para o tratamento da DM tipo 2, em monoterapia e em combinação com metformina e/ou sulfonilureias e glitazonas (Triplitt et al., 2007; Verge et al., 2010). No nosso país o fármaco não está comercializado.

Como efeitos adversos, são de destacar os efeitos gastrointestinais, como náuseas, vómitos e diarreia. Recentemente, alguns estudos com ratos registaram casos de pancreatites agudas e hiperplasia das células C da tiróide (Crane, 2011).

### c) Formulações em estudo

Agonistas GLP-1R de longa acção (LAR) estão a ser desenvolvidos com base no perfil farmacocinético da albumina, na tentativa de obter um perfil que permita a administração de exenatide apenas uma vez por semana, como é o caso do exenatide *Long-Acting Release* (LAR) (Baggio et al., 2007; Verge et al., 2010).

Existem outros análogos do GLP-1 em estudo, nomeadamente taspoglutide, albiglutide, semaglutide e CJC-1131. Os dois primeiros encontra-se actualmente em ensaios clínicos da fase III e a expectativa é a de se obter uma farmacocinética compatível com uma administração por semana (Triplitt et al., 2007) (Figura 6).

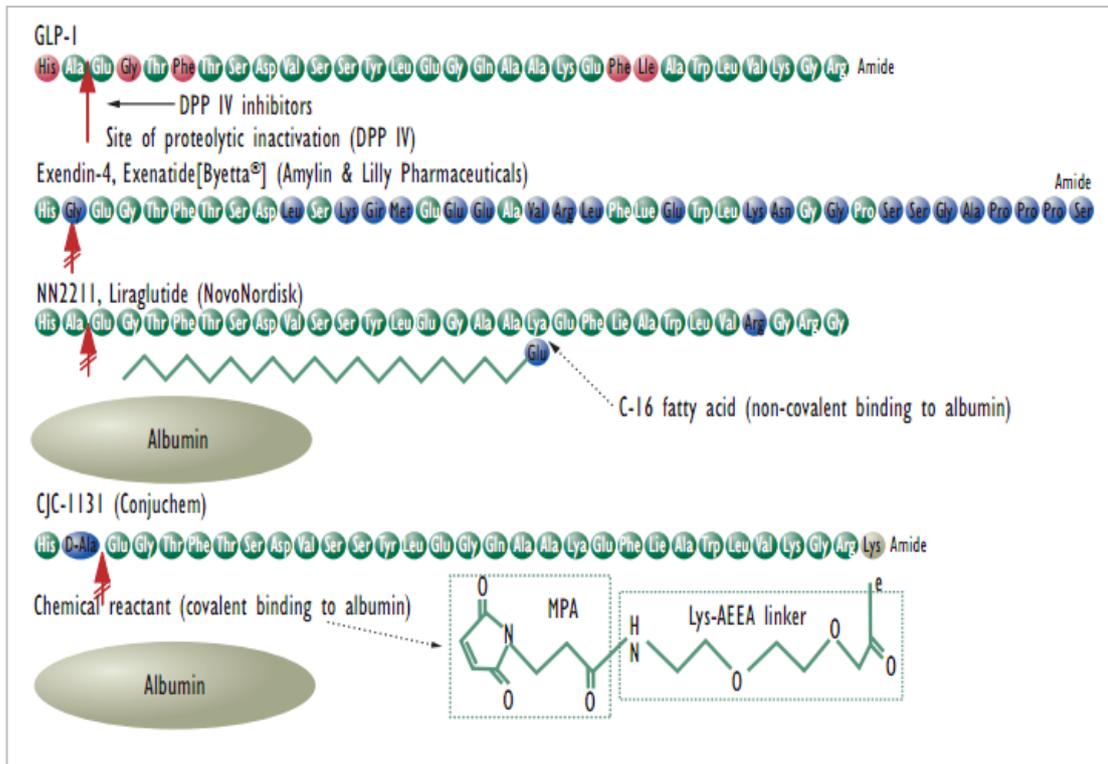


Figura retirada de Gaallwitz B (2006)

**Figura 6.** Ilustração das sequências de aminoácidos do GLP-1 nativo e dos seus miméticos, exenatide, liraglutide e CJC-1131. Na molécula de GLP-1, os aminoácidos coloridos a vermelho correspondem a sítios específicos de ligação ao GLP-1R com actividade biológica e os coloridos a verde podem ser modificados e, com isso, não haver perda drástica de actividade biológica. Nos miméticos do GLP-1, os aminoácidos desenhados a azul mostram as diferenças relativas à molécula nativa. O sítio de clivagem da DPP-4, N-terminal, encontra-se representado por uma seta vermelha. As possíveis alterações moleculares dos miméticos do GLP-1 e os eventuais locais de ligação à albumina também estão representados na figura.

## **C. Impacto cardiovascular do GLP-1 e seus agonistas**

### **C<sub>1</sub>. Doença Cardiovascular e Intervenção Percutânea Primária**

O enfarte agudo do miocárdio (EAM) é a maior causa de morte e de insuficiência cardíaca (IC) no mundo ocidental (Jax, 2009; Treiman et al., 2010).

Apesar de o tratamento de primeira linha para esta situação ser a intervenção percutânea primária (PPCI), as consequências que daqui advêm são sérias e preocupantes. De um modo genérico, podemos falar em disfunção da reperfusão miocárdica e, concretamente, em diminuição da contractilidade, alterações inflamatórias e microtrombóticas, consequências do dano irreversível de uma determinada área de cardiomiócitos (Treiman et al., 2010).

Em aproximadamente 25 % dos doentes tratados através de PPCI, a disfunção da reperfusão miocárdica leva a um risco particularmente elevado de disfunção sistólica ventricular esquerda e/ou IC, com uma mortalidade superior a 50% (Treiman et al., 2010).

### **C<sub>2</sub>. GLP-1Rs e sua distribuição no Sistema Cardiovascular**

Apesar da maioria das funções fisiológicas do GLP-1 serem atribuídas ao controlo glicémico, os receptores para esta molécula são encontrados numa grande variedade de tecidos extra-pancreáticos (Saraceni et al., 2007; Grieve et al., 2009; Jax, 2009).

Existe uma larga expressão de GLP-1R no sistema cardiovascular, tanto de humanos como de roedores. A localização específica destes receptores envolve a musculatura lisa vascular miocárdica, endotélio vascular, cardiomiócitos, endocárdio e endotélio e musculatura lisa coronários. Esta ampla distribuição de GLP-1R no sistema cardiovascular sugere que o

GLP-1 terá um importante papel na regulação de determinadas funções deste sistema (Grieve et al., 2009; Jax, 2009).

De facto, estudos recentes têm apontado o GLP-1 como modulador de vários efeitos benéficos cardiovasculares. Estes, ocorrem em diferentes funções tais como, FC, PA, tónus vascular e contractilidade miocárdica (Anjali et al., 2009; Grieve et al., 2009).

Receptores de GLP-1R também estão presentes no núcleo do tracto solitário e na área postrema, ambas regiões do SNC reguladoras da função cardiovascular (Baggio et al., 2007; Abu-Hamdah et al., 2009).

Importa realçar o facto de que a modulação de efeitos supracitada, além de se apresentar benéfica na DCV, também foi observada em modelos experimentais e humanos, na presença ou não de DM (Grieve et al., 2009; Jax, 2009; Verge et al., 2010).

### **C<sub>3</sub>. Modo de acção GLP-1 no Sistema Cardiovascular - duas vias propostas**

Novas evidências sugerem que a biologia do GLP-1, no sistema cardiovascular, é complexa e provavelmente envolve múltiplos receptores e mecanismos (Treiman et al., 2010).

Dois estudos recentes com modelos animais atribuem um papel importante ao metabolito GLP-1 (9–36) na mediação de efeitos no sistema cardiovascular, de forma independente do GLP-1R. O GLP-1 (9–36) é produzido através da clivagem do GLP-1, pela enzima DPP-4. Este metabolito é incapaz de activar os GLP-1Rs, não apresentando, por isso, actividade insulionotrópica (Ban et al., 2008). Ban *et al* realizaram estudos em que utilizaram linhas celulares e corações de rato, aos quais foram administradas as duas moléculas, GLP-1 sintético, sob a forma de Exenatide, e GLP-1 (9–36). Os autores demonstraram que o GLP-1R era expresso nos cardiomiócitos, endocárdio, endotélio microvascular e músculo liso das artérias coronárias, mas não nos fibroblastos cardíacos. Mais ainda, o Exenatide, através do

GLP-1R, revelou uma acção inotrópica no músculo cardíaco, uma vez que induziu o aumento da pressão arterial diastólica (PAD) ventricular esquerda, a captação de glucose, a viabilidade dos cardiomiócitos após isquémia/síndrome de reperfusão, bem como através do seu efeito vasodilatador. Pelo contrário, em relação ao GLP-1 (9–36) não se observaram acções inotrópicas, sendo os seus efeitos mediados independentemente do GLP-1R. Neste caso, o processo subjacente à acção do GLP-1 (9–36) é dependente da via do Óxido nítrico (NO)/GMP cíclico (GMPc), que induz a captação de glucose e vasodilatação, revelando um efeito positivo na função cardíaca, no período pós-isquémia (Ban et al., 2008) (Figura 7).

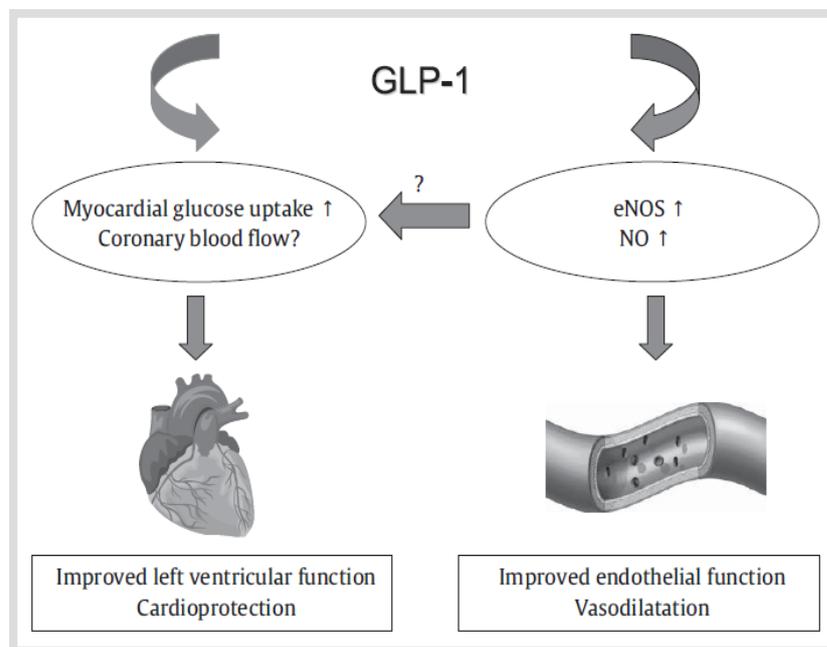


Figura retirada de Nystrom T. (2008)

**Figura 7.** Estudos recentes demonstram que, adicionalmente aos conhecidos efeitos insulínicos e insulínópicos, o GLP-1 apresenta efeitos benéficos na insuficiência ventricular esquerda e disfunção endotelial, em doentes com história de enfarte miocárdico. O GLP-1 melhora factores hemodinâmicos (o que pode envolver o fluxo sanguíneo coronário) e aumenta a captação de glucose, através do NO e GLUT-1.

#### C4. GLP-1 e Isquémia Cardíaca

A maioria dos estudos sobre o potencial benefício do GLP-1 na DCV focam as suas acções na isquémia cardíaca e a sua aparente capacidade protectora de dano isquémico nos cardiomiócitos. Vários estudos, utilizando diferentes modelos experimentais, têm relatado que o tratamento agudo com GLP-1 exerce efeitos benéficos após a isquémia e reperfusão miocárdica. A maioria dos estudos, até à data, têm utilizado modelos de perfusão cardíaca com roedores *ex vivo* Langendorff com curtos períodos de isquémia (30-45 min) e reperfusão (30-120 min) e têm demonstrado que ambas as moléculas, GLP-1 e Exenatide, reduzem significativamente a área de enfarte, melhorando a recuperação da função contráctil, após oclusão transitória da artéria coronária. Importa referir que resultados semelhantes também foram relatados *in vivo* (Grieve et al., 2009).

O tratamento agudo com GLP-1 nativo (na presença de um inibidor da DPP-4), em modelos experimentais com roedores, após um curto período de isquémia (30 min), revelou uma significativa acção protectora contra o desenvolvimento de áreas de enfarte, após reperfusão de 2 horas (Bose et al., 2005; Grieve et al., 2009).

Num modelo experimental canino, a administração de GLP-1 durante um período de 24 h de reperfusão, após a oclusão temporária da artéria coronária (10 min), demonstrou resultados importantes, com uma melhoria significativa da função ventricular esquerda, embora sem efeitos nas funções hemodinâmica e sistólica globais (Nikolaidis et al., 2005b; Grieve et al., 2009).

Um estudo recente que utiliza um modelo de isquémia e reperfusão em suínos *in vivo*, concluiu que o tratamento prolongado com Exenatide, durante um período de três dias após isquémia de 75 min, diminuiu significativamente a dimensão do enfarte miocárdico e aumentou os níveis de recuperação das funções sistólica e diastólica (Timmers et al., 2009;

Grieve et al., 2009). Pelo contrário, um estudo anterior, utilizando o mesmo modelo experimental, inferiu que o tratamento com GLP-1 nativo durante um período muito curto de reperfusão não apresentou quaisquer efeitos sobre a dimensão do enfarte, embora tenha diminuído significativamente os níveis intersticiais de piruvato e lactato (Kavianipour et al., 2003; Grieve et al., 2009).

Curiosamente, um estudo recente indicou que o GLP-1 também pode conferir efeitos benéficos sobre a isquémia cardíaca no contexto da DM. Foram utilizados como modelos experimentais ratos normoglicémicos e diabéticos, estes últimos induzidos com estreptozotocina (STZ). A ambos os grupos foi administrado liraglutide, por um período de sete dias, e observou-se uma redução significativa da área de enfarte, bem como da incidência de ruptura cardíaca após enfarte do miocárdio (Grieve et al., 2009; Noyan-Ashraf et al., 2009). Estes resultados foram associados a um aumento significativo da sobrevida e do débito cardíaco, embora estes últimos provavelmente sejam secundários aos benefícios relatados na remodelação precoce pós-EAM. Mais interessante, foi a constatação de que o tratamento crónico com liraglutide pode conferir vantagens na cardioprotecção e sobrevida superiores às da metformina, apesar de efeitos equivalentes sobre o controle glicémico. Mais ainda, há evidências que estes achados experimentais, se podem também relacionar com a situação clínica. Num estudo não randomizado predominantemente de doentes não-diabéticos com EAM, submetidos a intervenção coronária percutânea primária, foi administrado GLP-1 durante 72 h, tendo sido demonstrado que melhora significativamente a fracção de ejeção ventricular esquerda e as motilidades global e regional (Nikolaidis et al., 2004b). Além disso, um estudo randomizado realizado com um número semelhante de doentes com preservação da função ventricular esquerda e submetidos a revascularização miocárdica, concluiu que a administração de GLP-1 12 h antes e 36 h após a cirurgia melhorou o controlo glicémico, reduzindo a exigência de altas doses de insulina ou inotrópicos (Sokos et al., 2007). Este

estudo, indica que GLP-1 pode ter um potencial benefício terapêutico para o tratamento da doença isquêmica cardíaca (Sokos et al., 2007), apesar de serem necessários estudos mais detalhados para confirmar estas observações iniciais.

Os mecanismos precisos subjacentes aos efeitos benéficos do GLP-1 na isquemia cardíaca ainda não estão totalmente estabelecidos. No entanto, vários estudos experimentais indicam que ocorrem de forma independente dos efeitos sobre o metabolismo da glucose e podem envolver a ativação de GMPc/AMPC e pró-cinases, como PI3K, Akt, glicogênio sintetase cinase-3 $\beta$ , p70s6 cinase, ERK1 / 2 e p38 MAPK (Bose et al., 2005a; Ban et al., 2008; Noyan-Ashraf et al., 2009). Também foi sugerido que o GLP-1 pode exercer o seu efeito protector sobre a isquemia miocárdica, pelo menos parcialmente, através de acções benéficas sobre a apoptose dos cardiomiócitos, stress oxidativo e mecanismos antioxidantes endógenos de defesa (Bose et al., 2005a; Noyan-Ashraf et al., 2009; Timmers et al., 2009). O papel do GLP-1R na isquemia cardíaca parece ser particularmente interessante. Tem sido relatado que os efeitos protectores do Exenatide, contra o dano *ex vivo* isquemia-reperfusão, e do liraglutide, contra a apoptose dos cardiomiócitos induzida por EAM, são completamente abolidos pelo antagonista do GLP-1R, Exendin (9-39), sugerindo que as mudanças que ocorrem no início da remodelação pós-isquemia são mediadas exclusivamente através do GLP-1R (Bose et al., 2005a; Sonne et al., 2008; Noyan-Ashraf et al., 2009).

No entanto, estudos recentes sugerem que o GLP-1 pode melhorar a recuperação funcional na isquemia cardíaca, através de mecanismos independentes do GLP-1R, que podem envolver o seu metabolito "inactivo" GLP-1 (9-36). O tratamento agudo com GLP-1 (9-36) após a reperfusão (e não antes do início da isquemia) resultou numa melhoria da recuperação funcional, que ocorreu independentemente do GLP-1R (Ban et al., 2008; Sonne et al., 2008). Curiosamente, os efeitos benéficos do GLP-1 na recuperação funcional cardíaca observada nos corações de ratos com GLP-1R foram abolidos pelo inibidor da DPP-4,

sitagliptina, sugerindo que estes efeitos foram mediados pelo seu produto de degradação, o GLP-1 (9-36) (Ban et al., 2008).

Em suma, estas experiências não só fornecem dados convincentes da existência de vias independentes do GLP-1R, mas também sugerem uma possível divergência dos mecanismos subjacentes aos efeitos mediados pelo GLP-1 sobre a isquémia cardíaca. Este facto faz avançar a intrigante possibilidade de direccionamento terapêutico selectivo de diferentes aspectos do fenótipo isquémico, embora pesquisas mais pormenorizadas sejam claramente necessárias antes que esta pode ser uma realidade (Grieve et al., 2009).

### **C5. GLP-1 e Insuficiência Cardíaca**

A maioria das pesquisas sobre o potencial terapêutico do GLP-1, no contexto da DCV, aborda o tema da isquémia cardíaca. No entanto, vários estudos recentes, experimentais e clínicos, também demonstram efeitos funcionais favoráveis do GLP-1 no contexto da IC (Grieve et al., 2009).

O coração adulto normal apresenta a capacidade de utilizar vários substratos para a formação de fosfatos de alta energia, nomeadamente ácidos gordos não esterificados (AGNEs), glicose e lactato, sendo os primeiros o substrato metabólico preferencial, devido à alta produção de adenosina trifosfato (ATP) quando completamente oxidados. No entanto, em determinadas circunstâncias, tal como na IC e EAM, nas quais coexistem fenómenos de isquémia e consequente aumento do metabolismo cardíaco, na tentativa de a superar, o substrato preferencial é a glicose, uma vez que leva a uma produção mais rápida de ATP. Esta adaptação metabólica é mediada por processos fisiológicos e transcricionais (Sokos et al., 2006).

O conceito de que a disfunção ventricular esquerda predispõe, não só ao desenvolvimento de resistência à insulina pelo miocárdio, mas também a nível periférico, apresenta actualmente bases científicas sólidas. Deste modo, a insulino-resistência ocorre no contexto da IC, mesmo na ausência de DM. Na verdade, a alteração da homeostase normal da glucose foi observada em, aproximadamente, 43% dos doentes com Insuficiência cardíaca congestiva (ICC) e constitui um parâmetro na classificação da IC proposta pela New York Heart Association (NYHA) (Sokos et al., 2006).

A grande maioria dos estudos, referentes ao tema da insulino-resistência do miocárdio e da magnitude dos mecanismos celulares em causa, tem sido realizada com modelos caninos portadores de miocardiopatia dilatada (Sokos et al., 2006).

A principal conclusão destes estudos assenta no facto de que se poderia melhorar a função cardíaca através de um aumento da utilização de glucose. A administração de Glicose-insulina-potássio (GIK) tem sido estudada como adjuvante no tratamento do EAM, na tentativa de aumentar a captação de glucose pelo miocárdio e posterior oxidação. O uso de administrações de GIK no tratamento da ICC é limitado pelo facto de serem necessárias grandes quantidades de volume de fluidos. Um agente com características e efeitos similares na captação de glucose pelo miocárdio e menos exigências de volume constituiria um método terapêutico alternativo altamente atraente. Uma hipótese colocada é precisamente o GLP-1 (7-36), hipótese esta, justificada pelas suas acções insulínótropicas e insulinomiméticas, intimamente relacionadas com o valor da glicemia, com o reduzido risco de ocorrência de hipoglicémia e com o facto de não ser necessária a administração de glucose. (Sokos et al., 2006).

Num modelo experimental canino com miocardiopatia dilatada, a administração a curto prazo de GLP-1 recombinante, ao longo de 48 h, tem sido relacionada com uma melhoria significativa nas funções sistólica e diastólica, com o aumento da sensibilidade à

insulina pelo miocárdio e com o consequente aumento da captação de glucose (Nikolaidis et al., 2004a). Curiosamente, o GLP-1 (9-36) também mostrou exercer efeitos benéficos similares aos demonstrados para a molécula nativa de GLP-1 neste modelo (Nikolaidis et al., 2005b). Este facto apoia a ideia crescente de que a forma metabolicamente “inactiva” do GLP-1 pode desempenhar um papel activo a nível do sistema cardiovascular. Além disso, estudos experimentais com ratos propensos ao desenvolvimento de IC (caracterizados por obesidade, insulino-resistência, hipertensão arterial e miocardiopatia dilatada), tratados cronicamente com GLP-1 a partir dos 9 meses de idade (altura em que evoluem para uma insuficiência cardíaca avançada e morte) apresentaram função cardíaca contráctil preservada, aumento da captação miocárdica de glucose e uma redução significativa da apoptose dos cardiomiócitos. Embora este estudo conclua que o GLP-1 exerce um estímulo para a captação de glucose pelo miocárdio, não estabelece claramente a noção se os seus efeitos benéficos sobre a função contráctil ocorrem devido a uma acção cardíaca directa ou secundária aos seus efeitos insulíntricos e insulínómicos (Poornima e tal., 2008).

É importante realçar que estes dados experimentais são suportados por estudos pré-clínicos, que indicam que o GLP-1 pode também melhorar a função contráctil do ventrículo esquerdo em doentes com IC crónica. Uma investigação inicial realizada com um pequeno número de doentes diabéticos tipo 2 e insuficiência cardíaca crónica concluiu que, a curto prazo, a administração de GLP-1, num período de 3 dias, tende a melhorar as funções sistólica e diastólica, embora estas alterações não tenham logrado significância estatística (Thrainsdottir et al., 2004). No entanto, se se aumentar a duração do tratamento com GLP-1 para 5 semanas, tanto em doentes diabéticos como em doentes normoglicémicos, e ambos com IC crónica (classes III e IV da NYHA), o resultado é de uma melhoria significativa da fracção de ejeção, do consumo de oxigénio pelo miocárdio e do status funcional. Não foi observado qualquer efeito do GLP-1 a nível cardiovascular em doentes com função cardíaca

normal (Sokos et al., 2006). Embora estes estudos pré-clínicos constituam um incentivo para a potencial utilização de GLP-1 no tratamento da IC, a pesquisa nesta área precisa de ser aprofundada e mais significativa, com fim a confirmar estas observações iniciais, investigar os mecanismos subjacentes e explorar possíveis interacções medicamentosas com as terapêuticas actuais para a insuficiência cardíaca.

Halbirk et al., (2010) estudaram os efeitos metabólicos e cardiovasculares da administração de GLP-1, por um período de 48 horas, em 20 indivíduos não-diabéticos com ICC estável, fracção de ejeção inferior a 40%, classificados pela NYHA nas classe II-III. Os mesmos indivíduos receberam administrações de GLP-1 ou placebo, consoante o grupo a que pertenciam. O GLP-1 promoveu um aumento da insulina plasmática e, conseqüentemente uma diminuição da glicemia, bem como uma ligeira, mas significativa, elevação nos valores de PAD e FC. No entanto, não se registou um impacto significativo em parâmetros, tais como fracção de ejeção ventricular esquerda (FEVE), função cardíaca de contractilidade miocárdica regional e BNP. Em 8 doentes registaram-se períodos de hipoglicémia, pelo que é necessário um estudo rigoroso do impacto de um possível tratamento com GLP-1, em indivíduos com insuficiência cardíaca mas não diabéticos, dada a possibilidade de ocorrência de hipoglicémias frequentes.

Após a administração de GLP-1, durante 72 horas, registaram-se melhorias na fracção de ejeção ventricular esquerda, em 10 doentes com FEVE menor que 40%, aquando da administração simultânea da terapêutica standard (Sjöholm, 2009; Treiman et al., 2010).

Estes resultados são contrastantes com a maioria dos estudos feitos com base em modelos experimentais animais e humanos tratados com GLP-1, no contexto de IC.

## C6. GLP-1 e seus análogos - Pressão arterial e Frequência cardíaca

O Exenatide, o primeiro agonista do GLP-1 aprovado para uso clínico, actua fundamentalmente na diminuição da glicémia, mas apresenta outros efeitos, nomeadamente a nível da pressão arterial e frequência cardíaca.

Estudos experimentais revelaram que a administração de Exenatide a doentes com DM tipo 2 e obesos resultou, não só numa melhoria dos níveis plasmáticos de glucose e perda ponderal significativas, mas também numa redução dos valores de pressão arterial sistólica (PAS), proteína C reactiva (PCR) e triglicérideos (Dandona et al., 2010).

O estudo de Okerson et al., (2010) conclui que há uma redução consistente na PAS (2-3 mmHg) após o tratamento com Exenatide, quando comparado com placebo ou tratamento com insulina. As reduções na PAS foram maiores nos casos de hipertensão sistólica pré-existente, sendo a maior redução atribuída aos casos em que este valor era superior a 150 mmHg (4.6-8.2 mmHg). Quanto à PAD, não se verificou nenhuma alteração dos seus valores. Consequentemente, houve uma redução significativa da pressão de pulso, na ordem dos 3 mm, nos doentes em que a esta era superior a 40 mmHg.

Numa outra análise, com um grupo de indivíduos Afro-americanos, os resultados obtidos foram similares aos descritos acima. Esta diminuição dos valores da PA não pode ser explicada com base na perda ponderal concomitante, parecendo independente deste facto. Tendo em conta que a rigidez e espessamento arteriais constituem dois factores importantes para o aumento da PAS, são necessários estudos do efeito do Exenatide na velocidade da onda de pulso arterial. (Dandona et al., 2010; Okerson et al., 2010).

Os efeitos benéficos do exenatide e outros análogos do GLP-1 têm sido confirmados por diversos artigos, incluindo os mais recentes com o liraglutide (Dandona et al., 2010).

Tendo em conta o efeito adicional importante de perda ponderal, estes agentes são potenciais agentes terapêuticos para a Síndrome Metabólica, em doentes com ou sem DM.

Além dos efeitos apontados acima, têm sido atribuídos ao Exenatide acções cardioprotectoras em doentes com história de EAM. O mecanismo subjacente a estas acções não são totalmente claros. A sua potencial acção anti-inflamatória pode estar na base destes mecanismos. Mais ainda, o Exenatide pode exercer adicionalmente um efeito anti-apoptótico *insuline-like* (Dandona et al., 2010; Okerson et al., 2010).

Em modelos experimentais, estes agentes têm revelado efeitos vasodilatadores, com indução da libertação de GMPc e AMPc, bem como efeitos protectores do dano pós-isquémia (Nyström, 2008).

Importa realçar o facto de que todas estas investigações são recentes e, por isso, muitos dos processos subjacentes continuam por esclarecer. Além disso, as condições e características de cada estudo são diferentes, podendo levar a resultados divergentes. Nesta perspectiva, Blásquez e os seus colaboradores observaram que o GLP-1 (7-36) NH<sub>2</sub> exerce um aumento dose-dependente na PA e FC, em modelos experimentais com roedores, enquanto que o GLP-1 (1-37) provoca apenas um ligeiro aumento nestes valores. Além disso, o tratamento prévio com propanolol, fentolamina ou reserpina não previne estes efeitos, o que sugere que não são mediados pelos receptores catecolamínicos. Além destes aspectos, o Exenatide mostrou induzir um aumento dose-dependente e prolongado na PA e FC, que pode ser bloqueado pelo Exendin (9-39), o que demonstra que a ocupação do GLP-1R é necessária para se obterem estes efeitos. No entanto, as doses necessárias de Exendin (9-39) para a inibição das acções do GLP-1/Exenatide foram 300 vezes superiores às dos respectivos agonistas do receptor. Por este motivo, pensa-se que um mecanismo central possa estar envolvido na regulação das acções vasculares do GLP-1. Na verdade, o GLP-1R é altamente expresso a nível cerebral, particularmente no hipotálamo, tronco cerebral, área postrema e

núcleo do tracto solitário; áreas estas, que se sabe estarem envolvidas na regulação da função cardiovascular (Nyström, 2008).

A administração intraventricular de GLP-1, em roedores, eleva a PA e FC e estes efeitos podem ser inibidos pela administração prévia de Exendin (9-39) pela mesma via, não se verificando o mesmo por via endovenosa. Contudo, se ambas as administrações forem endovenosas, o mecanismo inibidor do Exendin (9-39) mantém-se (Nyström, 2008; Treiman et al., 2010).

O procedimento cirúrgico de vagotomia bilateral impede as acções do GLP-1 e do Exendin (9-39) administrados via intraventricular, mas não via endovenosa. Estas evidências sugerem que o duplo controlo a nível central das acções do GLP-1 sobre os parâmetros cardiovasculares é dependente da transmissão parassimpática, enquanto que a regulação por estruturas nervosas periféricas, não é mediada por receptores adrenérgicos nem pelo nervo vago, podendo, em parte, envolver uma interacção directa com os vasos. Por outro lado, foi recentemente mostrado que doses de exenatide, que se sabe aumentarem a PA e FC, também induzem imunorreactividade *Fos-like* (FOS-IR) em regiões cerebrais e na medula supra-renal, com uma distribuição semelhante à dos neurónios catecolaminérgicos, que executam um papel central na regulação do Sistema Nervoso Simpático (SNS). Estas observações sugerem que as acções do GLP-1, a nível cardiovascular, envolvem a integração de efeitos directos e indirectos, cardíacos e neuronais, respectivamente (Nyström, 2008).

Com base neste último estudo, que revela o aumento da PA e FC por parte do GLP-1 e seus análogos, novas dúvidas surgem relativamente ao seu uso como fármaco anti-diabético. Todavia, os efeitos a longo prazo do tratamento com GLP-1 diferem daqueles registados com modelos experimentais animais. De facto, após um tratamento com Exenatide, por um período de 82 semanas, a PAS e PAD diminuíram, provavelmente devido a uma melhoria dos níveis plasmáticos de glucose e lípidos, bem como devido a uma perda ponderal significativa.

Mais recentemente, foi demonstrado que um tratamento com GLP-1 por 14 semanas melhora o controlo glicémico, provoca uma perda ponderal e diminui a PAS. É de notar, que a redução na PA ocorreu mais cedo do que a possível influência do peso corporal (Nyström, 2008).

Finalmente, importa referir que, no mês de Julho do ano corrente, as Sociedades de Endocrinologia e Diabetologia referiram que o uso do Liraglutide, na prática clínica, está associado a um aumento da FC, na ordem dos 2-8 batimentos por minuto (bpm), pelo que novas investigações nesta área são necessárias para o esclarecimento da actuação dos análogos do GLP-1 a nível cardíaco (Drucker et al., 2011).

### **C7. Exenatide- Pressão arterial sistólica e Diabetes Mellitus tipo 2**

Aproximadamente três em cada quatro doentes com DM tipo 2 são hipertensos, o que constitui mais um factor de risco importante de morbilidade e mortalidade cardiovasculares.

Um adequado controlo dos valores de pressão arterial, nos doentes diabéticos, reduz significativamente o risco de EAM, AVC e morte súbita.

Actualmente, todas as Sociedades de Endocrinologia e Diabetologia recomendam um limite inferior a 130/80 mmHg para as pessoas com DM e Hipertensão arterial (HTA). Para este objectivo se cumprir, são frequentemente necessários múltiplos agentes anti-hipertensivos, cujos mecanismos de acção são complementares. Embora esta multiplicidade de agentes reduza a quantidade de comprimidos administrados pelo doente, um fármaco que actue em ambas as situações, DM e Hipertensão Arterial (HTA), seria o ideal, uma vez que aumentaria a comodidade e a adesão do doente à terapêutica e reduziria eventuais interacções medicamentosas (Okerson et al., 2010; Verge et al., 2010).

Em estudos experimentais, os efeitos do Exenatide na redução da PA foram observados apesar de não existirem alterações significativas dos agentes anti-hipertensores e a correlação com a perda ponderal é diminuta, o que sugere que esta redução dos valores da PA seja mediada por um mecanismo alternativo (Okerson et al., 2010).

Numa investigação da United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS), em indivíduos diabéticos e hipertensos, concluiu-se que, cada redução de 10 mmHg na PAS estava associado a uma diminuição de 15 % do risco de morte por DM. Uma vez que a PA está intimamente relacionada com o risco cardiovascular, reduções nos valores da PA constituem um benefício em doentes diabéticos com HTA (Okerson et al., 2010).

No *Heart Outcomes Prevention Evaluation study*, que compara a eficácia do Ramipril com placebo, a redução de 2,5 mmHg na PAS e 1 mmHg na PAD, em indivíduos diabéticos, foi associada a uma redução de 25% do risco de EAM e AVC. Porém, outros mecanismos, além da redução da PA, podem ter sido responsáveis por estes resultados.

Os dados actuais sugerem que os agonistas do GLP-1 actuam na PA através de vários processos, diferentes dos levados a cabo pelos agentes anti-hipertensores, mas possivelmente complementares (Figura 8).

<b>The heart</b>
<b>In vivo effects (species)</b>
Essential role in cardiovascular development (rodent)
Heart rate ↑ (rodent)
Improved left ventricular function (human, rodent, and dog)
Cardioprotection against ischemia (rodent)
Pyruvate and lactate accumulation ↓ in the ischemic heart (pig)
<b>In vitro effects</b>
Increase in the cAMP concentration in cardiac myocytes
Cardioprotection against ischemia
Functional recovery of the post-ischemic heart

Figura retirada de Nystrom T. (2008)

**Figura 8.** Efeitos fisiológicos, in vivo e in vitro, do GLP-1 e do Exenatide a nível cardíaco.

#### **D. Impacto do GLP-1 na função endotelial**

##### **D<sub>1</sub>. Endotélio**

Actualmente, não existem dúvidas de que o endotélio possui um papel crucial na homeostase vascular, através da modulação do fluxo sanguíneo, do fornecimento de nutrientes e O<sub>2</sub>, da proliferação e migração das células musculares lisas, da fibrinólise e coagulação, da inflamação e adesão de células como as plaquetas e leucócitos (Nyström, 2008).

O vaso arterial é constituído por três diferentes camadas, apresentando cada uma delas funções distintas:

1. Túnica **íntima**- uma única camada de células endoteliais;
2. Túnica **média**- células musculares lisas;
3. Túnica **adventícia**- lâmina elástica, com fibras nervosas terminais, rodeada por tecido conjuntivo.

A importância do endotélio ganhou uma dimensão crescente, juntamente com o estudo dos fenómenos de vasodilatação e vasoconstrição.

A actividade vasodilatadora é mediada por factores produzidos a nível endotelial, nomeadamente o NO. Este factor, com origem na L-arginina, difunde-se rapidamente pelas células musculares lisas endoteliais, onde se liga ao grupo heme da guanilato-ciclase solúvel, promovendo a formação de GMPc. Este último é definido como um segundo mensageiro, que activa, por sua vez, uma proteína cinase, levando a um aumento da libertação de cálcio, a partir do citoplasma das células musculares lisas endoteliais. Consequentemente, há uma inibição da maquinaria celular contráctil, promovendo-se, deste modo, o fenómeno da vasodilatação (Nyström, 2008; Sjöholm, 2009).

A produção e libertação de NO pode ser elevada através da presença de factores, como acetilcolina, bradicinina e serotonina, uma vez que estas moléculas activam a enzima NO sintetase (eNOS). Acresce que, existem determinadas circunstâncias que levam à libertação deste factor endotelial vasodilatador. Entre elas, constam a resposta a uma situação de stress e contextos generalizados de vasoconstrição.

Uma importante e crescente evidência indica que o anião nitrito representa a maior fonte intravascular e tecidual de NO.

Além do seu potente efeito vasodilatador, o NO apresenta muitas outras funções “protectoras” do endotélio, através da inibição da expressão de citocinas pró-inflamatórias, quimiocinas e da adesão de leucócitos às células musculares lisas endoteliais. Esta última acção limita a posterior adesão de plaquetas às referidas células, inibindo, deste modo, a proliferação da túnica média dos vasos arteriais constituintes do endotélio. Todos estes fenómenos descritos, inibidos pelo NO como dito acima, constituem os estágios primordiais do fenómeno de aterosclerose (Arakawa et al., 2010).

### **D<sub>2</sub>. Disfunção endotelial - fisiopatologia**

Em resposta a alterações hemodinâmicas e metabólicas, o endotélio sintetiza e liberta substâncias vasoactivas.

O termo disfunção endotelial é utilizado para designar o desequilíbrio entre a produção de factores vasodilatadores, como o NO e a prostaciclina (PGI<sub>2</sub>), e factores vasoconstrictores, como a endotelina-1 (ET-1), angiotensina- II (AT-II) e determinadas prostaglandinas (PGH<sub>2</sub>). Perante este desequilíbrio, o sistema vascular endotelial fica exposto a condições pró-trombóticas e pró-aterogénicas, o que, por sua vez, leva a um predomínio da vasoconstrição, adesão de leucócitos e plaquetas, mitogénese, stresse oxidativo, actividade inflamatória, aterosclerose e trombose (Nyström, 2008) (Figura 9).

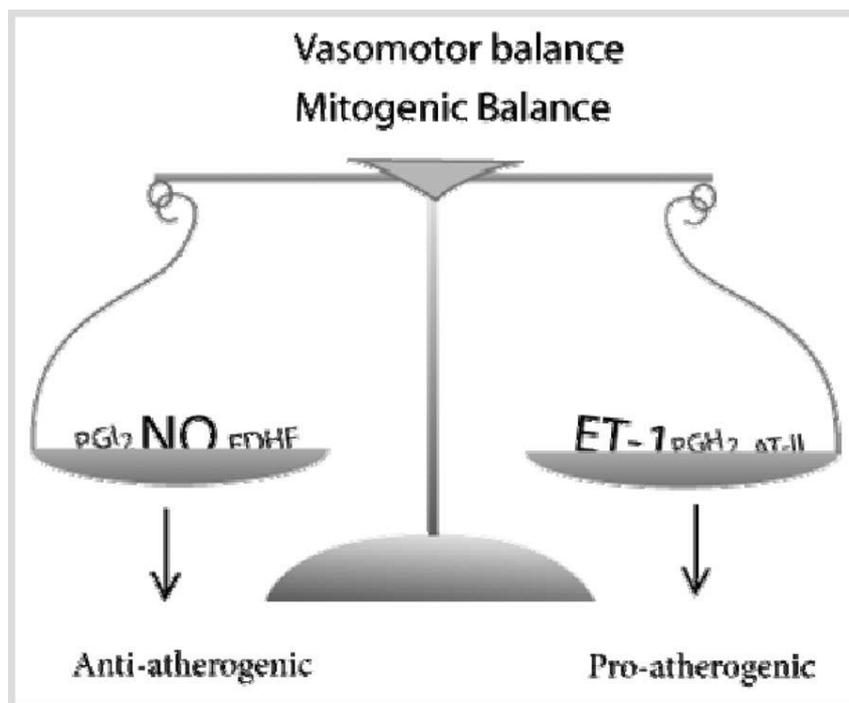


Figura retirada de Nystrom (2008)

**Figura 9.** O termo disfunção endotelial refere-se ao desequilíbrio entre a produção de factores vasodilatadores (NO, EDHF, PGI<sub>2</sub>) e factores vasoconstritores (ET-1, AT-II, PGH<sub>2</sub>). Este desequilíbrio, afecta a homeostase endotelial e expõe as células endoteliais a um ambiente pró-trombótico e pró-aterogénico. A disfunção endotelial é um factor-chave em todos os estádios da aterosclerose.

Na presença de factores promotores de aterosclerose, incluindo a DM, a actividade vasodilatadora do endotélio é enfraquecida.

Sob determinadas circunstâncias, a constrição paradoxal das artérias coronárias, devida à estimulação pela acetilcolina, é observada (Arakawa et al., 2010).

Apesar da etiologia da disfunção endotelial ainda não estar completamente esclarecida, vários estudos apontam um papel importante à diminuição da actividade biológica mediada pelo NO. Na presença de concentrações sub-óptimas de substrato (nitrito) ou co-factores (NADPH, BH<sub>4</sub>) para a síntese de NO, a eNOS pode produzir espécies reactivas

de oxigénio (ROS), como o anião superóxido e o peróxido de hidrogénio, levando a um ambiente celular de stress oxidativo. Altas concentrações destas espécies levam a uma saturação dos sistemas *scavenger*, mecanismos intra e extra-celulares de defesa, o que leva a uma exacerbação da situação de stress oxidativo (Nyström, 2008).

### **D3. Disfunção endotelial - Diabetes Mellitus e aterosclerose**

A disfunção endotelial é considerada uma característica major do processo de aterosclerose, com evolução clínica progressiva para DCV. Juntamente com a obesidade e insulino-resistência, a disfunção endotelial é comum em doentes com DM e pode explicar um prognóstico menos favorável em conjunto com esta doença (Nyström, 2008).

A insulino-resistência verificada a nível dos tecido muscular esquelético, adiposo e hepático, constitui um evento bem caracterizado nos indivíduos obesos e com DM e contribui para um agravamento da homeostase da glucose. Além destes aspectos, o miocárdio também pode apresentar insulino-resistência, o que explica, em parte, o desenvolvimento de IC nestes doentes (Nyström et al., 2004; Nyström, 2008).

A associação entre insulino-resistência e disfunção endotelial levou a novas investigações, que revelaram a importância de hábitos de exercício físico e alterações na dieta nestes doentes e/ou prescrição de agentes farmacológicos. As atitudes mencionadas podem levar ao aumento da sensibilidade periférica à insulina e melhorar a função endotelial.

O GLP-1, como anti-diabético que é, diminui os níveis de glucose plasmáticos e oferece uma nova e promissora abordagem do tratamento da DM. Os seus diferentes efeitos extra-pancreáticos, nomeadamente os cardiovasculares, são fulcrais para se constituir esta conexão.

A DCV é a complicação mais comum e mais séria da DM tipo 2. Estes doentes têm, não só um elevado risco cardiovascular, mas também um prognóstico pobre, a curto e longo prazo, após um evento de EAM. Com efeito, a taxa global de mortalidade por doença coronária, em indivíduos com DM tipo 2 e sem EAM prévio, é tão elevada como a para indivíduos não diabéticos e com antecedentes de EAM. Perante estas evidências, impôs-se a necessidade de pesquisas aprofundadas na tentativa de compreender os processos e mecanismos subjacentes a estas observações (Nyström, 2008; Verge et al., 2010).

Independentemente dos factores de risco em causa, a aterosclerose é uma doença inflamatória em que a disfunção endotelial desempenha um papel essencial em todas as fases deste processo inflamatório (Arakawa et al., 2010).

#### **D4. Efeitos do GLP-1 na função endotelial**

A administração intravenosa de GLP-1 em doentes com DM e doença coronária tem vindo a mostrar resultados muito positivos na melhoria da função endotelial destes doentes. No entanto, certos factores, como as diferenças entre os níveis circulantes de peptídeo-C e glucagon, podem influenciar a conclusão destes estudos (Nyström, 2008).

Foi recentemente afirmado que, a administração de GLP-1, em indivíduos saudáveis, aumenta os níveis de vasodilatação, mesmo a mediada por acetilcolina, através de um mecanismo independente das alterações dos níveis plasmáticos de glucose e insulina (Treiman et al., 2010).

O GLP-1 não altera a resposta vasodilatadora ao nitroprussiato, o que sugere que este peptídeo cause vasodilatação via NO e envolvendo canais de  $K_{ATP}$  (Nyström, 2008).

Algumas investigações com modelos experimentais animais também descrevem efeitos benéficos na função endotelial, por parte do GLP-1. O tratamento crónico com GLP-1

de ratos alimentados com uma dieta rica em sal restaura parcialmente as funções endoteliais. Por outro lado, a resposta vasodilatadora de ratos tratados com acetilcolina foi quase duas vezes superior à obtida no grupo acima. Já o efeito vasodilatador em resposta ao DEA NONOate (dador de NO) foi similar em ambos os grupos, o que sugere que o efeito do GLP-1 envolve o endotélio. Além disso, a administração de Exenatide ou GLP-1 a ratos com DM induzida com estreptozotocina/nicotinamida, restabelece o seu tónus vascular normal. O facto de existir este restabelecimento da função endotelial, nestes dois modelos experimentais, parece ser consequência da melhoria do controlo metabólico e não de um efeito directo dos peptídeos nas células endoteliais (Nyström, 2008) (Figura 10).

<b>The endothelium</b>
<b>In vivo effects (species)</b>
Improvement in endothelial function (rodent and human)
Endothelial-dependent vasodilatation ↑ (human)
Blood pressure ↑ (rodent and human)
Blood pressure ↓ (human)
Selective vasodilatation (rodent)
Coronary blood flow ↑ in a dilated cardiomyopathy model (dog)*
Coronary blood flow → (dog)
<b>In vitro effects</b>
Vasorelaxation of pulmonary and conduit arteries
Stimulation of eNOS activity and NO release
Apoptosis ↓ and cell growth ↑
Inhibition of TNF- $\alpha$ -induced expression of PAI-1

Adaptado de Nystrom (2008)

**Figura 10.** Efeitos fisiológicos, in vivo e in vitro, do GLP-1 e do Exenatide a nível endotelial.

### **D5. Vias sinalizadoras da acção do GLP-1 no endotélio**

Richter e seus colaboradores descreveram pela primeira vez os efeitos vasodilatadores do GLP-1, efeitos esses dose-dependentes, em anéis arteriais isolados a partir de modelos roedores. As imagens radiológicas revelaram uma ligação directa do GLP-1 em locais específicos da túnica de células musculares lisas, mas não no endotélio. Além disso, após a remoção da camada endotelial, o efeito vasodilatador do GLP-1 foi abolido, o que demonstra que este efeito apenas ocorre se o endotélio estiver intacto. Por outro lado, a inibição da eNOS com L-NAME (L-Nitro-Arginine Methyl Ester), também leva à abolição do efeito vasodilatador mediado pelo GLP-1 nas artérias pulmonares, em modelos experimentais roedores, o que suporta a conclusão de que o endotélio está envolvido directamente neste efeito (Nyström, 2008; Sjöholm, 2009).

Pelo contrário, o efeito vasodilatador do GLP-1, em modelos experimentais com ratos, não parece ser mediado pelo endotélio ou via NO. Neste caso, o efeito pode ser totalmente inibido com Exendin (9-39), demonstrando o envolvimento específico da ligação ao GLP-1R.

Estudos experimentais, verificaram em células humanas isoladas da artéria coronária, que o GLP-1 e o Exenatide rapidamente activam a eNOS e estimulam a produção de NO, o que promove a proliferação celular e inibe a apoptose por glucolipotoxicidade. Mais ainda, em células vasculares endoteliais, o GLP-1 protege, aparentemente, contra a disfunção endotelial mediada pelo Factor de Necrose Tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), através da regulação da expressão de moléculas de adesão vascular (VCAMs), do Inibidor da activação do plasminogénio (PAI-1) e da secreção proteica. As vias moleculares activadas pelo GLP-1 nas células endoteliais permanecem inconclusivas e necessitam de um estudo mais aprofundado para maior clarificação (Arakawa et al., 2010) (Figura 11).

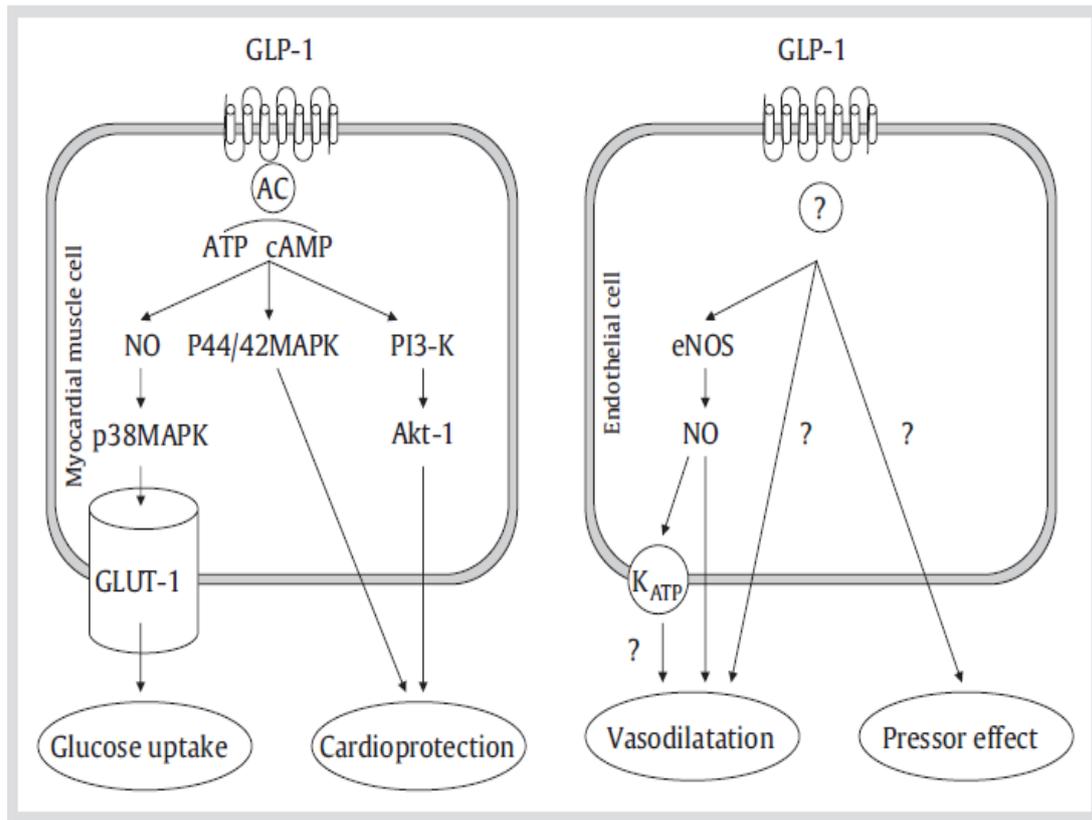


Figura retirada de Nystrom T (2008)

**Figura 11.** Vias moleculares hipotéticas da ação do GLP-1 a nível do miocárdio (esquerda) e endotélio (direita). Os efeitos protectores deste peptídeo envolvem uma variedade de vias, cujos constituintes maioritários são cinases, tais como: Akt-1, PI-3K, P44/42 e MAPK. O aumento da captação de glucose ocorre devido à activação das vias NO e p38MAPK pode, em parte, exercer um efeito protector do miocárdio contra a isquémia.

Estudos recentes com modelos experimentais roedores revelaram que a elevação da PA pelo GLP-1 envolve vias do SNC com transmissão parassimpática. Este efeito pode ser bloqueado por um antagonista específico do GLP-1R, demonstrando a necessidade de ocupação deste receptor para se obter o efeito. No entanto, estudos *in vivo*, indicam que o GLP-1 promove vasodilatação e restabelece a função endotelial em humanos, efeitos que podem, em parte, ser mediados via NO e envolver canais  $K_{ATP}$ . Além disso, em células endoteliais humanas

isoladas a partir da artéria coronária humana, o GLP-1 e o Exenatide activam rapidamente a produção de NO, a partir da eNOS.

#### **D<sub>6</sub>. Exenatide - redução das lesões ateroscleróticas**

A aterosclerose é um processo patológico complexo que envolve várias reacções inflamatórias.

A interacção entre as células endoteliais e os monócitos desempenha um papel crucial na formação do ateroma. Deste modo, a adesão dos monócitos às células endoteliais, na túnica íntima, constitui um dos primeiros eventos da aterogénese. Consequentemente, há uma invasão da parede vascular por estas células, iniciando-se um processo de reacções inflamatórias a este nível. Após esta fase, os monócitos transformam-se em macrófagos, iniciando-se um processo de quimiotaxia, que envolve várias citocinas pró-inflamatórias (Arakawa et al., 2010).

O GLP-1R é expresso em grande número nas células endoteliais, células musculares lisas, macrófagos e monócitos (Treiman et al., 2010).

Estudos apontam que o Exenatide previne a progressão do processo aterosclerótico, em modelos experimentais com ratos (apo E<sup>-/-</sup>), uma vez que reduz a expressão de mediadores inflamatórios, como TNF- $\alpha$  e Proteína quimiotáctica de monócitos-1 (MCP-1), em macrófagos activados. Estes dois mediadores inflamatórios foram objecto de estudo e está estabelecido o seu efeito aterogénico. A indução da expressão destes mediadores em ratos promove o desenvolvimento de lesões ateroscleróticas. Assim, este efeito nos monócitos/macrófagos, conjuntamente com o efeito do GLP-1 a nível endotelial, podem significar um impacto major na redução do processo de aterosclerose (Goto et al., 2011).

Os principais efeitos do GLP-1 são mediados através da activação da adenilciclase e consequente produção de AMPc. Assim, utilizando um inibidor e activador desta enzima, foi demonstrado que a estimulação do AMPc, pelo Exenatide, é fundamental para atenuar a produção de mediadores inflamatórios, a nível macrofágico. Este resultado é consistente com estudos anteriores, em que o aumento dos níveis intracelulares de AMPc inibe a produção de TNF- $\alpha$  e a sua transcrição em macrófagos (Nyström, 2008; Treiman et al., 2010).

Estes dados sugerem que o Exenatide regula a resposta inflamatória nos macrófagos, via AMPc/PKA, que inibe, por sua vez, a produção de citocinas inflamatórias.

#### 4. CONCLUSÕES

Não existem dúvidas quanto à eficácia do GLP-1 e seus agonistas no tratamento da hiperglicémia associada a DM tipo 2. No entanto, estudos recentes têm vindo a demonstrar que os referidos agentes terapêuticos também exercem efeitos benéficos no contexto de patologia cardiovascular, o que poderá levar a hipóteses terapêuticas adicionais para a DCV, em doentes diabéticos ou normoglicémicos (Grieve et al., 2009).

Os mecanismos precisos de actuação do GLP-1 e seus análogos subjacentes a estes potenciais efeitos protectores cardiovasculares são, ainda, largamente desconhecidos e, pelos estudos até então, muito complexos. Estudos recentes suportam a ideia da existência de processos independentes do clássico, que integra o GLP-1R e/ou existência de múltiplos GLP-1Rs distribuídos pelo Sistema Cardiovascular. Além disso, existem evidências de que a forma metabolicamente inactiva do GLP-1, GLP-1 (9-36), possa desempenhar um papel significativo no referido sistema. Existem, deste modo, muitas contradições quanto à acção de ambas as moléculas, pelo que é fundamental a continuação de investigação nesta área, na tentativa de clarificar as acções e os efeitos dos peptídeos em causa (Aulinger et al., 2007; Grieve et al., 2009).

GLP-1 e seus análogos têm demonstrado provas consistentes da sua acção cardioprotectora num elevado número de estudos com modelos animais, nomeadamente na protecção contra a isquémia miocárdica após reperfusão e no aumento da contractilidade miocárdica, sob condições de stress. Pensa-se que o mecanismo major subjacente a estes efeitos seja o aumento da captação de glucose a nível miocárdico (Bose et al., 2005).

O tratamento com GLP-1, Exenatide ou Liraglutide está associado, em muitos estudos com animais e humanos, a uma diminuição dos valores das pressões sistólica e diastólica. No entanto, importa realçar que, nesta área os resultados são contraditórios, uma vez que em

estudos mais recentes com modelos animais, demonstrou-se um aumento dos referidos valores, provavelmente por um mecanismo regulado a nível do SNS. Pelo contrário, num estudo com modelos humanos, a administração contínua de GLP-1, tende a diminuir a PA e a aumentar a FC (Drucker et al., 2011). A razão destas aparentes discrepâncias não são claras, apesar das diferenças entre espécies, doses administradas e duração dos tratamentos poderem ser importantes para a divergência de resultados (Nyström et al., 2004).

Estudos recentes com modelos animais mostraram também que o uso de análogos de GLP-1 pode estar na base da hiperplasia das células C da tiróide e da ocorrência de pancreatites agudas (Waser et al., 2011).

Para finalizar, tendo em conta que a DCV é uma das principais causas de morbilidade e mortalidade em Portugal, e que o GLP-1 e seus análogos demonstram potenciais efeitos benéficos a este nível, é possível, num futuro próximo, que estes agentes façam parte de um leque de escolhas abrangente, no contexto da terapêutica da DCV, independentemente de presença de DM. Apesar de estudos pré-clínicos com GLP-1 demonstrarem resultados encorajadores, é necessário aumentar o número de pesquisas, antes de se concluírem os potenciais efeitos terapêuticos destas moléculas na área cardiovascular.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Abu-Hamdah R, Rabiee A, Meneilly GS, Shannon RP, Andersen DK, Elahi D (2009) The extrapancreatic effects of glucagon-like peptide-1 and related peptides. *J Clin Endocrinol Metab*, 94(6): 1843-1852
- 2- Anjali VF, Patterson B, Karnik AA, Shannon RP (2009) Glucagon-like Peptide-1 and Myocardial Protection: More than Glycemic Control. *Clin. Cardiol*, 32,5,236-243
- 3- Arakawa M, Tomoya M, Azuma K, Ebato C, Goto H, Nomiya T, Fujitani Y, Hirose T, Kawamori R, Watada H (2010) Inhibition of Monocyte Adhesion to Endothelial Cells and Attenuation of Atherosclerotic Lesion by a Glucagon-like Peptide-1 Receptor Agonist, Exendin-4. *Diabetes*, Vol 59
- 4- Aulinger B, D'aleccio D (2007) Glucagon-like peptide 1: continued advances, new targets and expanding promise as a model therapeutic. *Current opinion in Endocrinology, Diabetes & Obesity*, 14:68-73
- 5- Baggio LL, Drucker DJ (2007) Biology of Incretins: GLP-1 and GIP. *Gastroenterology*;132:2131-2157
- 6- Ban K, Noyan-Ashraf MH, Hofer J, Bolz SS, Drucker DJ, Husain M (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*, 117:2340-2350

- 7-** Bose AK, Mocanu MM, Carr RD, Yellon DM (2005) Glucagon-like peptide-1 is Protective Against Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury when Given Either as a Preconditioning Mimetic or at Reperfusion in an Isolated Rat Heart Model. *Cardiovascular Drugs and Therapy* 19 9-11
- 8-** Buse JB, Rosenstock J, Sesti G (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*
- 9-** Chilton R, Wyatt J, Nandish S, Oliveros R, Lujan M (2011) Cardiovascular Comorbidities of Type 2 Diabetes Mellitus: Defining the Potencial of Glucagon-like peptide-1 Based Therapies. *The American Journal of Medicine*, Vol 124
- 10-** Crane M (2011) FDA Warns of Serious Risks Associated With Liraglutide
- 11-** Dandona P, Chaudhuri A, Dhindsa S (2010) A novel Antihypertensive Effect of Exenatide, a GLP-1 Agonist. *American Journal of Hypertension*
- 12-** Deacon CF (2005) What do we know about the secretion and degradation of incretin hormones? *Regul Pept*, 128:117-124
- 13-** Drucker DJ, Sherman, SI, Bergenstal, RM, Buse, JB (2011) The safety of incretin-based therapies; review of the scientific evidence *J Clin Endocrinol Metab* 96(7);2027-2031

- 14- Gaallwitz B (2006) Beta-cell Defects in Type 2 Diabetes and the Possibility of Treatment Options with GLP-1-based Therapies, Islet Cell Function in Type 2 Diabetes, US Endocrine Disease
- 15- Grieve DJ, Cassidy RS, Green BD (2009) Emerging cardiovascular actions of the incretin hormone glucagon-like peptide-1: potencial therapeutic benefits beyond glycaemic control? British Journal of Pharmacology, 157, 1340-1351
- 16- Hausenloy DJ, Yellon DM (2008) GLP-1 Therapy Beyond Glucose Control. Circ Heart Fail, 1:147-149
- 17- Goto H, Nomiyama T, Mita T, Yasunari E, Azuma K, Komiya K, Arakawa M, Jin WL, Kanazawa A, Kawamori R, Fujitani Y, Hirose T, Watada H (2011) Exendin-4, a glucagon-like peptide-1 receptor agonist, reduces intimal thickening after vascular injury. Biochemical and Biophysical Research Communications 405 79-84
- 18- Holst JJ, Ørskov C (2004) The Incretin Approach for Diabetes Treatment. Modulation of Islet Hormone Release by GLP-1 Agonism. Diabetes, 53(3)
- 19- Iltz JL, Baker D, Setter SM, Campbell K (2006) New drug. Exenatide: An Incretin Mimetic for the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus. Clin Ther 28(5)
- 20- Jax T (2009) Treatment of patients with diabetes with GLP-1 analogues or DPP-4-inhibitors: a hot topic for cardiologists? Clin Res Cardiol, 98:75-79

- 21-** Kavianiipour M, Ehlers MR, Malmberg K, Ronquist G, Ryden L, Wilkstrom G et al. (2003) Glucagon-like peptide-1 (7-36) amide prevents the accumulation of pyruvate and lactate in the ischemic and non-ischemic porcine myocardium. *Peptides*, 24:569-578
- 22-** Kim W, Egan JM (2008) The Role of Incretins in Glucose Homeostasis and Diabetes Treatment. *Pharmacol Rev* 60:470–512
- 23-** Mafong DD, Henry RR (2008) Exenatide as a treatment for Diabetes and Obesity: Implications for Cardiovascular Risk Reduction. *Current Atherosclerosis Reports*, 10:55-60
- 24-** May M (2009) Novo awaits green light for diabetes drug. *Nature Biotechnology* 27, 682-685
- 25-** Moller DE (2001) New drug targets for type 2 diabetes and the metabolic syndrome. *Nature* **414**, 821-827 doi:10.1038/414821<sup>a</sup>
- 26-** Nikolaidis LA, Elahi D, Hentosz T, Doverspike A, Huerbin R, Zourelas L et al. (2004a) Recombinant glucagon-like peptide-1 improves left ventricular performance in conscious dogs with pacing-induced dilated cardiomyopathy. *Circulation* 110: 955-961

- 27-** Nikolaidis LA, Mankad S, Sokos GG, Miske G, Shah A, Elahi D et al (2004b) Effects of glucagon-like peptide-1 in patients with acute myocardial infarction and left ventricular dysfunction after successful reperfusion. *Circulation* 109: 962-965
- 28-** Nikolaidis LA, Elahi D, Shen YT, Shannon RP (2005b) 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: H2401-H2408
- 29-** Noyan-Ashraf MH, Momen MA, Ban K, Sadi AM, Zhou YQ, Riazi AM et al. (2009) GLP-1R agonist liraglutide activates cytoprotective pathways and improves outcomes after experimental myocardial infarction in mice. *Diabetes* 58: 975-983
- 30-** Nyström T, Gutniak MK, Zhang Q, Zhang F, Holst JJ, Ahrén B, SJÖHOLM A (2004) Effects of glucagon-like peptide-1 on endothelial function in type 2 diabetes patients with stable coronary artery disease. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 287: E 1209-E 1215
- 31-** Nyström T (2008) The potential beneficial role of Glucagon-like peptide-1 in Endotelial Dysfunction and Heart Failure Associated with Insuline Resistance. *Horm Metab Res* 40: 593 – 606
- 32-** Okerson T, Yan P, Stonehouse A, Brodows R (2010) Effects of Exenatide on Systolic Blood Pressure in Subjects with Type 2 Diabetes. *American Journal of Hypertension*

- 33-** Poormina I, Brown S, Bhashyam S, Parikh P, Bolukoglu H, Shannon RP (2008) Chronic glucagon-like peptide-1 (GLP-1) infusion sustains LV systolic function and prolongs survival in the spontaneously hypertensive-heart failure prone rat. *Circ Heart Fail* 1: 153-160
- 34-** Salehi M, Aulinger BA, D'alessio DA (2008) Targeting  $\beta$ -cell mass in Type 2 diabetes: Promise and limitations of new drugs based on incretins. *Endocr Rev*, 29:367-379
- 35-** Saraceni C, Broderick TL (2011) Effects of glucagon-like peptide-1 and long-acting analogues on cardiovascular and metabolic function. *Drugs R D* 2007; 8(3): 145-153
- 36-** Sjöholm A (2009) Impact of glucagon-like peptide 1 on endothelial function. *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 11 (Suppl.3) 19-25
- 37-** Sonne DP, Engstrom T, Treiman M (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: 243-249
- 38-** Sokos GG, Bolukoglu H, German J, Hentosz T, Magovern J, Maher TD 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: 824-829

- 39-** Srinivasan BT, Jarvis J, Davies MJ (2008) Recent advances in the management of type 2 diabetes mellitus: a review. *Postgrad Med J* 84:524-531
- 40-** Thrainsdottir I, Malmberg K, Olsson A, Gutniak M, rydén L (2004) Initial experience with GLP-1 treatment on metabolic control and myocardial function in patients with type 2 diabetes mellitus and heart failure. *Diab Vas Dis Res* 1: 40-43
- 41-** Timmers L, Henriques JP, De Kleijin DP, Devries JH, Kemperman H, Steendijk P et al. (2009) Exenatide reduces infarct size and improves cardiac function in a porcine model of ischemia and reperfusion injury. *J Am Coll Cardiol*, 53: 501-510
- 42-** Treiman M, Elvekjaer M, Engstrom T, Jensen JS (2010) Glucagon-like Peptide 1- A Cardiologic Dimension. *Cardiovasc Med*, 20:8-12
- 43-** Triplitt C, McGill JB, Porte JR D, Conner CS (2007) The Changing Landscape of Type 2 Diabetes: The Role of Incretin-Based Therapies in Managed Care Outcomes. *J Manag Care Pharm*, 13(9):S2-S16
- 44-** Verge D, López X (2010) Impact of GLP-1 and GLP-1 Receptor Agonists on Cardiovascular Risk Factors in Type 2 Diabetes. *Current Diabetes Reviews*, 6: 191-200
- 45-** Waser B, Beetschen K, Pellegata NS, Reubi JC (2011) Incretin Receptors in Non-Neoplastic and Neoplastic Thyroid C Cells in Rodents and Humans: Relevance for Incretin-Based Diabetes Therapy