

EFEITO FISIOLÓGICO DAS INCRETINAS

Antonio R. Chacra, MD*

RESUMO

As incretinas, hormônios originalmente identificados na década de 30, não foram completamente avaliados quanto a sua possível função no tratamento de diabetes mellitus tipo 2, até que suas propriedades insulínótropicas foram reconhecidas nos anos 60. As incretinas são hormônios produzidos pelo trato gastrointestinal e liberadas quando da entrada de nutrientes no intestino. Uma vez liberadas, as incretinas estimulam a secreção de insulina. O conceito dessa ação da incretina baseou-se em estudos que constataram que a resposta de insulina à glicose ingerida excedia a das quantidades equivalentes de glicose por via intravenosa. O hormônio incretina predominante é o peptídeo 1 tipo glucagon (GLP-1). Além de estimular a secreção de insulina, o GLP-1 suprime a liberação de glucagon, desacelera o esvaziamento gástrico, melhora a sensibilidade à insulina e reduz o consumo de alimentos. Em roedores e sistemas de modelo celular, demonstrou-se que o GLP-1 promove a regeneração e a concentração de células β , além de estimular a redução de apoptose. Ter a estimulação e ação do receptor de GLP-1 como alvo é essencial para as estratégias terapêuticas em pesquisa com o diabetes mellitus tipo 2 e envolve a infusão crônica de GLP-1, inibidores de dipeptidil peptidase-IV por via oral e substâncias que mimetizam a incretina, inclusive o peptídeo tipo GLP-1 natural recém-aprovado, exendina-4.

(*Adv Stud Med.* 2006;6(7B):S613-S617)

A hipótese do conceito de incretina foi criada a partir de estudos que relataram maior resposta da insulina à glicose oral, contra uma concentração equivalente de glicose intravenosa.^{1,2} Postulou-se que as substâncias derivadas do intestino, liberadas quando há consumo de nutrientes por via oral, foram secretagogos de insulina em potencial, que aumentaram a liberação de insulina.³ Em 1986, Nauck et al. estudaram o efeito da incretina (resposta da insulina à glicose oral X intravenosa), administrando 25, 50 e 100 g de glicose por via oral ou intravenosa aos indivíduos do estudo e medindo as concentrações de peptídeo de conexão (peptídeo C), que é usado como marcador da produção endógena de insulina.⁴ Esses pesquisadores constataram que o grau de secreção de incretina dependia da quantidade de glicose ingerida e que as incretinas eram responsáveis por aproximadamente 75% da resposta de insulina depois da ingestão de 50 g de glicose.

Os dois principais hormônios incretina são o polipeptídeo inibitório gástrico (GIP), também conhecido como polipeptídeo trópico insulínico dependente de glicose, e peptídeo 1 tipo glucagon (GLP-1). O conhecimento de sua secreção e ações levou ao desenvolvimento de terapias baseadas em incretina para diabetes tipo 2.

MECANISMO DE AÇÃO

As incretinas GIP e GLP-1 pertencem a uma superfamília do peptídeo glucagon e, como tal, existe alguma homologia da seqüência de aminoácidos entre esses peptídeos e glucagon, além de haver entre GIP e GLP-1 (Figura 1).^{5,6} GIP é um peptídeo de 42 aminoácidos, clivado de seu peptídeo precursor, ProGIP, enquanto GLP-1 é clivado do precursor de pró-glucagon e inclui peptídeos de 30 e 31 aminoácidos. GIP e GLP-1 são secretados pelo trato gastrointestinal. GIP é secretado das células K, localizadas principalmente no duodeno e na parte proximal do jejuno. GLP-1 é secretado pelas células L, encontradas principalmente no íleo e no cólon. Embora ambas as incretinas sejam liberadas

*Professor de Endocrinologia, Departamento de Medicina Interna, Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina, São Paulo, Brasil.

Endereço para correspondência: Antonio R. Chacra, MD, Professor de Endocrinologia, Departamento de Medicina Interna, Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina, Alameda Franca 910, São Paulo, Brasil 01422-002. E-mail: chacra@endocrino.epm.br.

depois de ingestão oral de nutrientes, as refeições ricas em carboidratos e lipídios, em particular, parecem ser os principais estimulantes da secreção de GIP.⁵ Esses peptídeos ligam-se a seis receptores específicos de GIP e GLP-1 e são rapidamente metabolizados pela enzima onipresente dipeptidil peptidase-IV (DPP-IV).⁷

Ambas as incretinas estimulam a secreção de insulina e, em modelos de cultura de células, demonstrou-se que estimulam a proliferação de células β.⁴ Embora seus efeitos sobre a sensibilidade à insulina não estejam bem definidos, um estudo de seis semanas em pacientes com diabetes tipo 2 relatou que o tratamento com GLP-1 estava associado ao aumento expressivo da sensibilidade à insulina.⁸ No diabetes tipo 2, o achado de que a secreção de GIP fica preservada enquanto a secreção de GLP-1 se deteriora é essencial para a justificativa da terapia de reposição de GLP-1. Além disso, os pacientes com diabetes tipo 2 têm resposta insulínica deficiente à administração exógena de GIP, mas têm resposta preservada ao GLP-1 exógeno. O achado de que as pessoas com diabetes tipo 2 têm baixas concentrações de GLP-1, mas resposta de secreção de insulina preservada sustenta o potencial terapêutico dos tratamentos com GLP-1.

Outros efeitos dos hormônios incretina diferem, com evidências que sugerem que o GIP acelera o esvaziamento gástrico; ao contrário, GLP-1 desacelera o esvaziamento gástrico, suprime a secreção de glucagon e reduz o consumo de alimentos. Não há relatos de que GIP afete a secreção de glucagon ou o consumo alimentar em estudos com seres humanos.

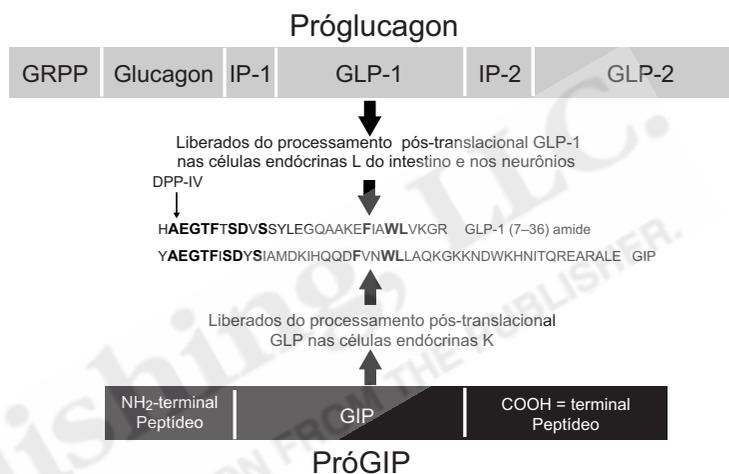
Antes de examinar mais a fundo os efeitos de GLP-1, é bom recapitular suas propriedades dominantes. O GLP-1 é clivado do pró-glucagon intestinal e secretado das células L do íleo e do cólon, depois do consumo de nutrientes. O GLP-1 ativo é rapidamente clivado para uma forma inativada por DPP-IV. Em virtude de seus efeitos sobre a secreção de insulina estimulante, secreção de glucagon supressor, desaceleração do esvaziamento gástrico, melhora da sensibilidade à insulina e redução do consumo alimentar, GLP-1, por fim, leva a uma redução da glicose circulante (Figura 2).

EFEITOS DO GLP-1 SOBRE A REGULAÇÃO CENTRAL DA ALIMENTAÇÃO

O efeito de saciedade do GLP-1 sobre o sistema nervoso central foi examinado em 1996 por Turton et al.⁹ Nesse estudo, ratos em jejum receberam injeções intracerebrais-ventriculares de

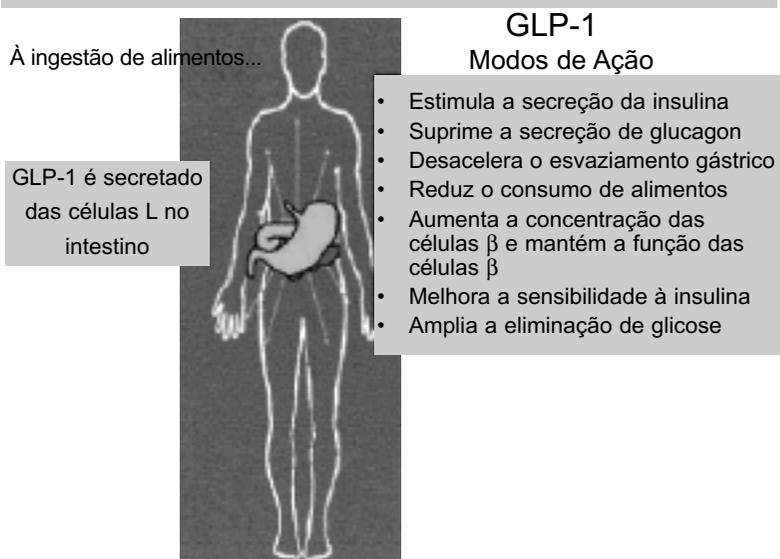
GLP-1 ou controle com solução salina, e seu consumo de alimentos foi medido em intervalos de duas horas, com um mínimo de 72 horas entre as injeções. Conforme a concentração de GLP-1 injetado aumentava, o consumo de alimentos diminuía progressivamente.

Figura 1. GLP-1 e GIP: Homologia da Sequência



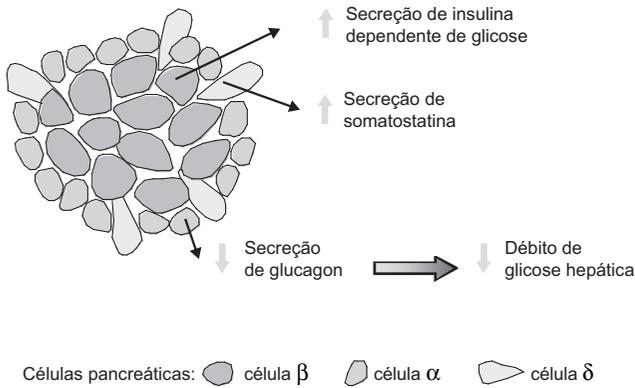
GLP-1 = peptídeo 1 tipo glucagon; GIP = polipeptídeo inibitório gástrico; GLP-2 = peptídeo 2 tipo glucagon; GRPP = peptídeo pancreático relacionado com glicentina; IP-1 = peptídeo-1 interveniente; IP-2 = peptídeo-2 interveniente. As áreas em negrito indicam a homologia da seqüência. Reproduzido com a permissão de Drucker. *Diabetes Care*. 2003;26:2929-2940.⁶

Figura 2. Ações Biológicas do GLP-1



GLP-1 = peptídeo 1 tipo glucagon. Reproduzido com a permissão de Drucker. *Diabetes Care*. 2003;26:2929-2940.⁶

Figure 3. GLP-1: Efeitos Pancreáticos



GLP-1 = peptídeo I tipo glucagon.
 Dados de Drucker et al.¹¹; Orskov et al.¹²

Além disso, eles demonstraram um bloqueio dos efeitos de GLP-1 sobre o consumo de alimentos com a exendina, antagonista de receptor de GLP-1. Essas observações sugerem que GLP-1 teve efeitos centrais significativos sobre a redução do consumo alimentar. Corroborando ainda mais a atividade no sistema nervoso central, os pesquisadores localizaram GLP-1 e seus receptores na amígdala e no hipotálamo. A meta-análise de estudos em seres humanos também demonstrou que GLP-1 está associado com um aumento do consumo de alimentos dependente da dose.¹⁰

EFEITOS DO GLP-1 SOBRE O PÂNCREAS

Os efeitos do GLP-1 sobre as células das ilhotas pancreáticas incluem aumento da secreção de insulina das células β de modo dependente da glicose, aumento da secreção de somatostatina das células δ e redução da secreção de glucagon das células α. Essas ações contribuem para diminuir o débito de glicose hepática (Figura 3).^{11,12} Uma implicação clínica importante da dependência das concentrações de glicose no sangue no nível da glicose plasmática em jejum ou acima do normal é que o GLP-1 não causa hipoglicemia. Contudo, também é preciso observar que a sinalização de receptor de GLP-1 não é essencial para a resposta da glicose nas células β.¹³

EFEITOS DO GLP-1 SOBRE AS CÉLULAS β

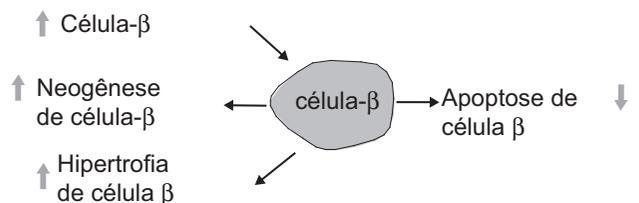
Em estudos com animais, o tratamento com GLP-1 comprovadamente aumentou a massa de células β e manteve a função das células β. Os efeitos do GLP-1 sobre as células β geralmente são agudos, subagudos e

crônicos.¹⁴ De forma aguda, o GLP-1 amplia a secreção da insulina dependente da glicose, ao passo que os efeitos subagudos incluem a estimulação da transcrição da pró-insulina e a biossíntese da insulina. Os efeitos crônicos são estimulação da proliferação de células β e neogênese a partir das células ductais precursoras, além da maior expressão de transportadores de GLUT-2 e de glicocinase, que regulam a captação da glicose e o metabolismo do pâncreas.

Em 2002, Zander et al. estudaram os efeitos do GLP-1 sobre a resposta de primeira e segunda fase da insulina em pacientes com diabetes tipo 2.⁸ Os indivíduos receberam infusão subcutânea contínua de GLP-1 ou de solução salina por seis semanas, e foram submetidos a uma bateria de exames nas semanas 0 (antes da infusão), 1 e 6. A técnica do *clamp* hiper-glicêmico com glicose 30 mM por 90 minutos, com estimulação da secreção de insulina por L-arginina por 45 minutos, foi usada para medir a função das células β. Os resultados desse estudo mostraram que as respostas de insulina de primeira fase (0–10 minutos) e de segunda fase (10–45 minutos) melhoraram com a infusão contínua de GLP-1. A resposta máxima de insulina, medida pelas concentrações de peptídeo C, aumentou em média 3,3 vezes comparada com os valores do início do estudo ($P < 0,0001$) depois de seis semanas de infusão contínua de GLP-1. Melhoras significativas da função das células β, da sensibilidade à insulina e de outros parâmetros medidos foram demonstradas em resposta à infusão contínua de GLP-1.

Vários sistemas de modelos demonstraram que o tratamento com GLP-1 estimula a regeneração e a concentração das células β (Figura 4). Os estudos comprovaram que o tratamento com GLP-1 está associado a neogênese, proliferação e hipertrofia de células β, além de apoptose reduzida das células β. Usando o

Figura 4. GLP-1 Estimula a Regeneração e a Concentração de Células β



GLP-1 = peptídeo I tipo glucagon.
 Dados de Farilla et al.¹⁵; Farilla et al.¹⁶

modelo de rato gordo de Zucker, Farilla et al. constataram que depois do tratamento com GLP-1, a proliferação de células β aumentou substancialmente, ao passo que a apoptose das células β diminuiu.¹⁵ Esses efeitos em combinação contribuíram para um aumento da massa de células β . Os efeitos do GLP-1 sobre a apoptose das células β também foi demonstrado em células de ilhotas humanas isoladas.¹⁶ As células cultivadas na ausência e na presença de GLP-1 por até cinco dias mostraram que o tratamento com GLP-1 reduziu expressivamente a porcentagem de células apoptóticas ($P < 0,01$ X controle).

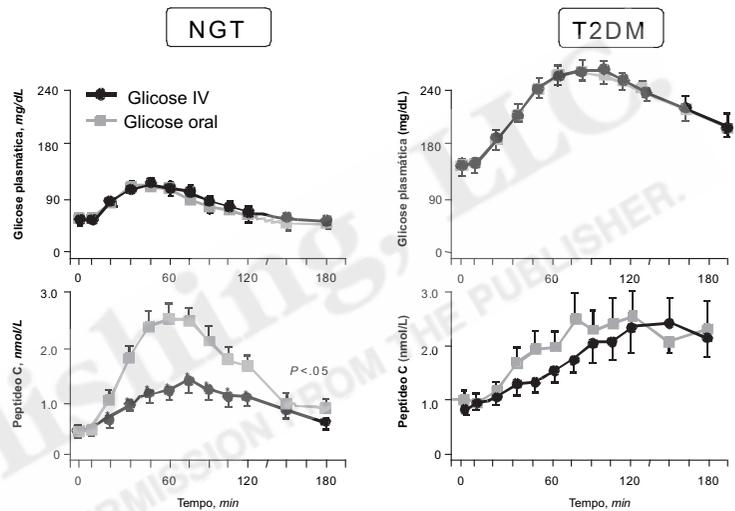
A deterioração da função das ilhotas pancreáticas no diabetes tipo 2 já foi estabelecida há um certo tempo. Muller et al. relataram déficits na secreção de células β e α já em 1970.¹⁷ Naquele estudo, os indivíduos com diabetes tipo 2 apresentaram uma redução inicial drástica da secreção de insulina depois de uma refeição de 200 g de carboidrato, em comparação com uma elevação veloz e aguda da insulina em indivíduos não-diabéticos. Além disso, uma carga oral de glicose resultou em concentrações sustentadas de secreção de glucagon das células pancreáticas e em indivíduos com diabetes tipo 2, em comparação com os níveis suprimidos dos indivíduos não-diabéticos. Esses resultados demonstram os defeitos duplos nas células das ilhotas pancreáticas nos indivíduos com diabetes tipo 2.

DETERIORAÇÃO DE GLP-1 NO DIABETES TIPO 2

O efeito da deterioração da incretina associada ao diabetes tipo 2 foi demonstrado por Nauck et al. em 1986.¹⁸ Nesse estudo, a glicose oral e intravenosa gerou alterações idênticas da glicose plasmática durante um período de três horas para indivíduos com tolerância normal à glicose. De modo semelhante, a glicose oral e intravenosa causou alterações idênticas na glicose plasmática de indivíduos com diabetes tipo 2. As concentrações de peptídeo C, um indicador da secreção de insulina endógena, também foram medidas durante a administração de glicose pelas duas vias. A Figura 5 mostra os resultados desse estudo, no qual os indivíduos não-diabéticos tiveram concentrações reduzidas de peptídeo C em resposta à glicose intravenosa e oral, apesar de apresentarem concentrações de glicose plasmática semelhantes. No entanto, no grupo de indivíduos com diabetes tipo 2 estudados em hiperglicemia equivalente, as concentrações de peptídeo C foram semelhantes, independentemente da via de administração da glicose. Assim, os indivíduos com diabetes tipo 2

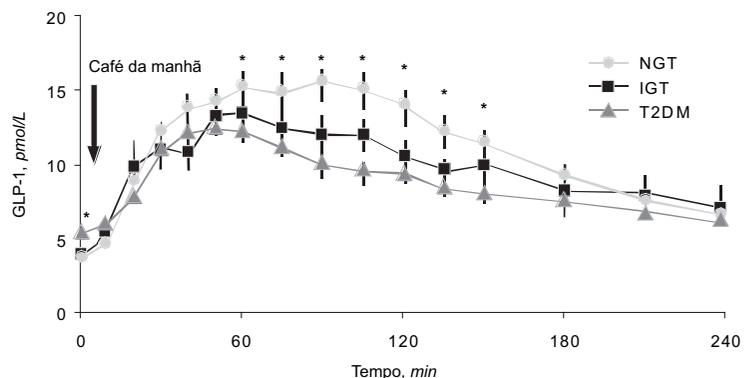
perdiam o efeito da incretina em resultado da administração oral de glicose. O defeito da incretina no diabetes tipo 2 parece ter duas causas: redução da secreção de GLP-1 e efeito insulínico profundamente deteriorado do GIP.¹⁹

Figura 5. O Efeito da Incretina é Deteriorado no Diabetes Tipo 2, em Comparação com NGT



NGT = tolerância normal à glicose. Reproduzido com a permissão de Nauck et al. *Diabetologia*. 1986;29:46-52.¹⁸

Figura 6. A Liberação de GLP-1 é Deteriorada nos Pacientes com Diabetes Tipo 2



GLP-1 = peptídeo I tipo glucagon. Adaptado com permissão de Toft-Nielsen et al. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001; 86:3717-3723.²⁰

Além do efeito deteriorado da incretina, o diabetes tipo 2 também foi associado à liberação defeituosa de GLP-1. Toft-Nielsen et al. estudaram a secreção de incretinas em um período de quatro horas depois do café da manhã em indivíduos com diabetes tipo 2, em comparação com os que tinham tolerância normal à glicose.²⁰ Demonstraram uma redução significativa da resposta do GLP-1 em pacientes com diabetes tipo 2 (Figura 6). Em um estudo de um pequeno grupo de gêmeos idênticos, diferentes apenas pelo diabetes tipo 2, a resposta do GLP-1 foi baixa no gêmeo diabético.²¹ Em parentes de primeiro grau não-diabéticos dos pacientes com diabetes, os perfis de 24 horas do GLP-1 foram normais.²² Essas observações sugerem que a secreção defeituosa de GLP-1 é, com mais probabilidade, uma consequência em vez de uma causa do diabetes.

MÉTODOS PARA AMPLIAR A ESTIMULAÇÃO E A AÇÃO DE RECEPTOR DE GLP-1

Um entendimento maior da função das incretinas no diabetes tipo 2 levou ao desenvolvimento de modalidades terapêuticas que objetivaram a ampliação da estimulação e da ação do GLP-1. A utilidade da administração do GLP-1 é limitada pelas dificuldades de infusões crônicas e pela natureza transitória dos efeitos quando cessa a infusão. Os inibidores orais de DPP-IV estão, no momento, em pesquisa clínica, com vários deles (por exemplo, NVP-LAF237, BMS-477118 e MK-0431) em Fase III de desenvolvimento. As substâncias que mimetizam a incretina são as que têm o desenvolvimento mais extenso, sendo que peptídeo tipo GLP-1 natural recém-aprovado, exendina-4 (exenatida) foi aprovado pela Food and Drug Administration dos EUA em 2005 para uso no diabetes tipo 2 em combinação com metformina e sulfonilurêias. Dos análogos do GLP-1 restantes, NN2211 (liraglutida) está em estudos de fase III, enquanto outras substâncias que mimetizam incretina estão em estágios anteriores de desenvolvimento.

O potencial terapêutico das abordagens das incretinas no tratamento do diabetes tipo 2 é o foco dos artigos subseqüentes desta monografia.

REFERÊNCIAS

1. Elrick H, Stimmler L, Hlad CJ Jr, Arai Y. Plasma insulin response to oral and intravenous glucose administration. *J Clin Endocrinol Metab.* 1964;24:1076-1082.
2. McIntyre N, Holdsworth CD, Turner DS. Intestinal factors in the control of insulin secretion. *J Clin Endocrinol Metab.* 1965;25:1317-1324.
3. Dupre J, Beck JC. Stimulation of release of insulin by an extract of intestinal mucosa. *Diabetes.* 1966;15:555-559.
4. Nauck MA, Homberger E, Siegel EG, et al. Incretin effects of increasing glucose loads in man calculated from venous insulin and C-peptide responses. *J Clin Endocrinol Metab.* 1986;63:492-498.
5. Aroda MA, Henry RR. Incretin hormones in diabetes and metabolism. Available at: <http://www.medscape.com/viewprogram/3075>. Accessed March 1, 2006.
6. Drucker DJ. Enhancing incretin action for the treatment of type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2003;26:2929-2940.
7. Moller DE. New drug targets for type 2 diabetes and the metabolic syndrome. *Nature.* 2001;414:821-827.
8. Zander M, Madsbad S, Madsen JL, Holst JJ. Effect of 6-week course of glucagon-like peptide 1 on glycaemic control, insulin sensitivity, and β -cell function in type 2 diabetes: a parallel-group study. *Lancet.* 2002; 359:824-830.
9. Torton MD, O'Shea D, Gunn I, et al. A role for glucagon-like peptide-1 in the central regulation of feeding. *Nature.* 1996;379:69-72.
10. Verdich C, Flint A, Gutzwiller JP, et al. A meta-analysis of the effect of glucagon-like peptide-1 (7-36) amide on ad libitum energy intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:4382-4389.
11. Drucker DJ, Philippe J, Mojsov S, et al. Glucagon-like peptide I stimulates insulin gene expression and increases cyclic AMP levels in a rat islet cell line. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1987;84:3434-3438.
12. Orskov C, Holst JJ, Nielsen OV. Effect of truncated glucagon-like peptide-1 [proglucagon(78-107) amide] on endocrine secretion from pig pancreas, antrum, and nonantral stomach. *Endocrinology.* 1988;123:2009-2013.
13. Flamez D, Van Breusegem A, Scocchi LA, et al. Mouse pancreatic β -cells exhibit preserved glucose competence after disruption of the glucagon-like peptide-1 receptor gene. *Diabetes.* 1998;47:646-652.
14. Drucker DJ. Glucagon-like peptides: regulators of cell proliferation, differentiation, and apoptosis. *Mol Endocrinol.* 2003;17:161-171.
15. Farilla L, Hui H, Bertolotto C, et al. Glucagon-like peptide-1 promotes islet cell growth and inhibits apoptosis in Zucker diabetic rats. *Endocrinology.* 2002;143:4397-4408.
16. Farilla L, Bulotta A, Hirshberg B, et al. Glucagon-like peptide 1 inhibits cell apoptosis and improves glucose responsiveness of freshly isolated human islets. *Endocrinology.* 2003;144:5149-5158.
17. Muller WA, Faloona GR, Aguilar-Parada E, Unger RH. Abnormal alpha-cell function in diabetes. Response to carbohydrate and protein ingestion. *N Engl J Med.* 1970;283:109-115.
18. Nauck M, Stockmann F, Ebert R, Creutzfeldt W. Reduced incretin effect in type 2 (non-insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia.* 1986;29:46-52.
19. Holst JJ, Gromada J. Role of incretin hormones in the regulation of insulin secretion in diabetic and nondiabetic humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2004;287:E199-206.
20. Toft-Nielsen MB, Damholt MB, Madsbad S, et al. Determinants of the impaired secretion of glucagon-like peptide-1 in type 2 diabetic patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:3717-3723.
21. Vaag AA, Holst JJ, Volund A, Beck-Nielsen HB. 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.* 1996;135:425-432.
22. Nyholm B, Walker M, Gravholt CH, et al. Twenty-four-hour insulin secretion rates, circulating concentrations of fuel substrates and gut incretin hormones in healthy offspring of type II (non-insulin-dependent) diabetic parents: evidence of several aberrations. *Diabetologia.* 1999;42:1314-1323.