

Cristina da Silva Schreiber de Oliveira

Efeito do inibidor da DPP-IV sobre glicemia, glucagon, insulina, peptídeo C, GLP-1 e ácidos graxos livres após dietas isocalóricas de diferentes composições nutricionais em pacientes diabéticos tipo 2 virgens de tratamento

São Paulo

2013

Cristina da Silva Schreiber de Oliveira

Efeito do inibidor da DPP-IV sobre glicemia, glucagon, insulina, peptídeo C, GLP-1 e ácidos graxos livres após dietas isocalóricas de diferentes composições nutricionais em pacientes diabéticos tipo 2 virgens de tratamento

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Programa: Cardiologia.

Orientador: Prof. Dr. Protásio Lemos da Luz

São Paulo

2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Oliveira, Cristina da Silva Schreiber de

Efeito do inibidor da DPP-IV sobre glicemia, glucagon, insulina, peptídeo C, GLP1 e ácidos graxos livres após dietas isocalóricas de diferentes composições nutricionais em pacientes diabéticos tipo 2 virgens de tratamentos / Cristina da Silva Schreiber de Oliveira. -- São Paulo, 2013.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Programa de Cardiologia.

Orientador: Protásio Lemos da Luz.

Descritores:1.Diabetes Mellitus tipo 2/terapia 2.Diabetes Mellitus/dietoterapia 3.Sitagliptina 4.Inibidores da dipeptidil-peptidase IV 5.Peptídeo 1 semelhante ao glucagon

USP/FM/DBD-084/13

Dedicatória

*Ao meu amor Ygor,
por entender o sacrifício do nosso tempo em família.*

Pelo amor incondicional.

*Aos meus filhinhos Antonio e Joaquim que me
fazem querer ser sempre melhor.*

*Aos meus pais, Bete e Jorge, por inculcarem os
valores para a realização profissional. Pelo amor
irrestrito sentido a cada momento.*

*Ao meu irmão Jorge Henrique, pelo apoio, bom
humor e compreensão.*

*Aos meus sogros Izabel Cristina e Joel Vieira de
Oliveira pela alegria, confiança e força em todos os
momentos.*

*Aos pacientes do SUS a quem ofereço estes resultados. A
eles retornarão estes conhecimentos e a minha dedicação.*

*Ao Prof. Dr. Protásio Lemos da Luz, Prof. Dr.
Bernardo Léo Wajchenberg, e Dra. Ana Tereza
Santomauro pela confiança e exemplo de conduta
médica.*

Agradecimientos

Ao Prof. Dr. Bernardo Léo Wajchenberg, por sua orientação e por dividir suas indagações acerca do diabetes. Por permitir que eu caminhasse este tempo consigo aprendendo a questionar.

Ao Prof. Dr. Protásio Lemos da Luz, pelo exemplo de determinação, academicismo, método em ciência e por sua orientação e paciência.

Ao Dr. Roberto Betti e Dr. Antonio Carlos Lerário pelo apoio sempre que algum problema se apresentava. Por me darem a oportunidade de participar do Núcleo de Diabetes do Instituto do Coração e aprender.

À Dra. Ana Tereza Santomauro, que propiciou o início desta jornada e inspirou-me a conhecer mais sobre Diabetes.

À Sra. Marineuza Gomes Rangel, sem a qual esta tese não teria acontecido. Foi secretária, técnica de enfermagem e “fiel escudeira”.

Às secretárias Maria das Neves Passos Silva, Andreia Caroline de Mattos e Nilza Seemann, incansáveis no apoio familiar com Antonio e Joaquim.

A minha mãe, Maria Elizabete da Silva Schreiber, pelas constantes viagens com os pequenos para que eu concluísse o trabalho. Foste incansável.

As Sras. Terezinha César e Carolina Sant’anna, pela elegante correção do inglês. E à querida Adriana Quadros pela correção da tabulação.

À Professora Maria Helena Cesar Coral que me incentivou permitindo que eu ministrasse aos alunos da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

Ao Serviço de Endocrinologia da UFSC, na pessoa dos amigos, Dr. Giovani Colombo, Dra. Heloísa Canali, Dr. Alexandre Hohl, Dra. Mara Eda Kowalski, Dr. Emerson Marques, Dra. Júlia Michels, Enf. Rita Sandoval, Dr. Marcelo Ronsoni, Dra. Mariana e Dr. Bruno Colombo. Ali obtive o incentivo para continuar.

À Prof. Dra. Ana Maria Lottemberg, cientista, nutricionista, especialista em lípidos, formuladora das dietas deste estudo, contribuinte em todas as etapas da pesquisa.

Ao Prof. Dr. Fadlo Fraige Filho por estimular a ciência, na Especialização em Endocrinologia do Hospital Beneficência Portuguesa de São Paulo. Por permitir-me selecionar pacientes na Campanha de Diabetes da Associação Nacional dos Diabéticos.

Aos meus professores de graduação, Prof. Dr. Roberto Henrique Heinisch e Prof. Dra. Esther Dantas Buzzaglo Correa que me incitaram à pesquisa clínica.

À Dra. Carolina Pira de Oliveira e Dr. Carlos Fernandes Tavares, pela amizade, apoio, orientação e força.

À Klara Rhaman, Dra. Monica Medeiros e Dra. Luciana Pescatore, cujo trabalho técnico foi essencial.

Às técnicas de enfermagem da Sala de Teste do Hospital das Clínicas, Izabel, Sebastiana e Francisca que me ajudaram a completar os testes das dietas.

Aos funcionários do Laboratório de Investigações Médicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo 18 e 22, em especial à Rosa Fukui e Valéria responsáveis pelas análises bioquímicas de GLP-1, glucagon e ácidos graxos livres.

À equipe da Gerência de Contas Médico Hospitalares, da Secretaria da Administração (SEA) do Estado de Santa Catarina, em especial à Margareth Raquel Martins e Glaucia Cipriani de Jesus. Verdadeiros amigos em todos os momentos.

À minha prima, Dra. Carolina Miranda participante na coleta dos dados e na revisão da tese. Às famílias Senna Maia, Oliveira, Schreiber e Silva, pelo amor e fé em meu êxito.

Ao Governo do Estado de Santa Catarina e à UFSC por promover o desenvolvimento científico de seus servidores.

Aos queridos Denise C. Damerau Sada, Gabriela Wilberstaedt e Aurélio Giacomelli, Maria Luiza da Nova, Carolina Sant'anna, Luciana Hammes, Janine Pereira Barbosa de Paula, Mirelle Finkler e Daniel Phillipi, Sonia Fialho, Lilian Meyer e Luciana Tupy pela amizade verdadeira.

“Um pouco de ciência nos afasta de Deus. Muito, nos aproxima”

Louis Pasteur

Sumário

	Pág.
LISTA DE ABREVIATURAS	
LISTA DE TABELAS	
LISTA DE FIGURAS	
RESUMO	
SUMMARY	
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 O PACIENTE DIABÉTICO RECÉM-DIAGNOSTICADO.....	3
1.2 O HORMÔNIO GLUCAGON LIKE PEPTÍDEO – 1 E C EFEITO INCRETINA.....	5
1.3 INIBIDORES DA DIPEPTIDIL-PEPTIDASE IV (DPP-IV).....	6
1.4 SITAGLIPTINA (MK-0431).....	8
1.5 DIETAS E SECREÇÃO DE GLP-1.....	9
2 OBJETIVO.....	11
3 CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	13
3.1 POPULAÇÃO ESTUDADA.....	14
3.2 MÉTODOS.....	16
3.2.1 TESTES LABORATORIAIS.....	19
3.2.2 DIETAS E RANDOMIZAÇÃO.....	23
3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	25
4 RESULTADOS.....	26
4.1 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS	27
4.2 DETERMINAÇÕES BIOQUÍMICAS.....	28
4.3 EFEITOS DAS DIETAS E DROGA SOBRE GLICEMIA.....	28
4.4 EFEITOS DAS DIETAS E DA DROGA SOBRE CONCENTRAÇÃO DE GLUCAGON.....	32
4.5 EFEITO DAS DIETAS E DADROGA SOBRE A SECREÇÃO DE INSULINA.....	35
4.6 EFEITOS DAS DIETAS E DA DROGA SOBRE A CONCENTRAÇÃO DE PEPTÍDEO-C.....	37
4.7 EFEITO DAS DIETAS E DA DROGA NA SECREÇÃO DE GLP-1.....	39
4.8 EFEITO DE DIETA E DA DROGA SOBRE AS	

	CONCENTRAÇÕES DE ÁCIDOS GRAXOS LIVRES.....	43
5	DISCUSSÃO.....	46
6	CONCLUSÃO.....	54
7	REFERÊNCIAS.....	56
8	APÊNDICES.....	65

Listas

ADA	American Diabetes Association
AGL	Ácidos Graxos Livres
CAPPesq	Comissão de ética para análise de projetos de pesquisa
CHO	Hiperlúcídica
Cm	Centímetros
Cols	Colaboradores
CT	Colesterol total
CV	Coeficiente de Variação
DM2	Diabetes Mellitus do tipo 2
DPP-IV	Dipeptidil-peptidase IV
EDTA	Ethylenediamine tetraacetic acid
FMUSP	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
GIP	Gastric Inhibitory Polypeptide
GLP-1	Glucagon-like peptide 1
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HbA1C	Hemoglobina Glicada
HC-FMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade Medicina da Universidade de São Paulo
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HOMA	Homeostasis Model Assessment
IMC	Índice de Massa Corporal
InCor	Instituto do Coração
Kcal	Quilocalorias
Kg	Quilograma
Kg/m²	Quilograma por metro quadrado
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LIM	Laboratório de Investigações Médicas
LPD	Hiperlipídica
m²	Metro quadrado

mg	Miligramas
mg/dl	Miligramas por decilitro
mmHg	Milímetros de mercúrio
N	Número de pacientes
ng/dl	Nanograma por decilitro
PTN	Hiperprotéica
RIE	Radioimunoensaio
SPSS	Statistical Product and Service Solutions
TG	Triglicerídeos
TOTG	Teste de Tolerância Oral com 75g de glicose com 2h
UKPDS	United Kingdom Prospective Diabetes Study
VLDL	Very Low Density Lipoprotein

	Pag.
Tabela 1. Composição nutricional da Dieta Hiperglicídica.....	23
Tabela 2. Composição nutricional da Dieta Hiperlipídica.....	23
Tabela 3. Composição nutricional da Dieta Hiperprotêica.....	24
Tabela 4. Características clínicas e antropométricas.....	24
Tabela 5. Característica dos exames laboratoriais basais dos pacientes estudados à entrada do estudo.....	27
Tabela 6. Comparação das mudanças nas medidas do GLP-1 entre os tempos 0' com placebo e 120' com sitagliptina para as dietas CHO, LPD e PTN.....	42

	Pag.
Figura 1A. Diminuição da glicemia com uso de sitagliptina em relação ao placebo * $p < 0,05$	30
Figura 1B. Como se observa houve aumento da glicemia com dieta CHO se comparado ao teste com dieta LPD ou PTN. A glicemia foi menor durante uso de sitagliptina em todos os três tipos de dieta (* $p < 0,05$).....	30
Figura 1C. A glicemia é maior em todos os tempos com a dieta CHO(* $p < 0,05$).....	31
Figura 1D. Nos tempos iniciais (0'30') a glicemia é maior na dieta LPD se comparada à dieta PTN.....	31
Figura 1E. Nos tempos de 60' a 180' a glicemia é maior com dieta hiperprotéica em relação ao teste com dieta hiperlipídica ($p < 0,05$).....	32
Figura 2A. Semelhante liberação de glucagon com placebo e sitagliptina.....	33
Figura 2B Durante a dieta CHO a secreção de glucagon foi menor em relação às dietas LPD e PTN.....	33
Figura 2C. Na dieta LPD a secreção de glucagon foi maior do que após dieta CHO (* $p < 0,05$).....	34
Figura 2D. Secreção de glucagon é maior durante a dieta PTN* $p < 0,05$. Neste teste, o glucagon aumenta até 60'e há uma queda após este tempo com sitagliptina ($p < 0,05$)..	34
Figura 3A. Semelhante secreção de insulina com placebo e sitagliptin.....	35
Figura 3B Concentração de insulina é maior com a dieta CHO em relação à dieta LPD * $p < 0,05$ e há tendência de secreção de insulina maior com dieta CHO quando comparada à dieta PTN ($p = 0,063$).....	36
Figura 3C. Secreção de insulina é maior na dieta LPD nos tempos iniciais (0'30') quando comparada à dieta PTN.....	36
Figura 3D. Nos tempos 60' 120' e 180' a insulina é maior na dieta PTN em relação à dieta LPD ($p < 0,05$).....	37
Figura 4A. Maior secreção de peptídeo-C em todos os tempos com a dieta CHO quando comparada com as dietas	

	PTN e LPD * $p < 0,05$	38
Figura 4B.	Nos tempos iniciais (0' e 30') e finais (120' e 180'), a medida de Peptídeo-C é maior na dieta LPD do que na dieta PTN.....	38
Figura 4C.	No tempo 60' a medida de Peptídeo-C é maior na dieta PTN do que na dieta LPD.....	39
Figura 5A.	Semelhante variação de GLP-1 no tempo com uso de placebo ou sitagliptina com as três dietas.....	40
Figura 5B.	As medidas de GLP1 diminuem no tempo com a dieta CHO.....	40
Figura 5C.	A dieta LPD apresenta medida de GLP-1 maior do que as outras dieta.....	41
Figura 5D.	Secreção de GLP-1 maior com dieta PTN em relação à dieta CHO (* $p < 0,05$) e menor do que a dieta LPD....	41
Figura 5E.	Aumento de GLP-1 com as dietas LPD e PTN entre os tempos 0' e 120' com sitagliptina. Diminuição do GLP-1 com a dieta CHO em uso da droga entre os tempos 0' e 120' * $p < 0,05$	43
Figura 6A.	Semelhante variação dos níveis de AGL com uso de placebo e sitagliptina com as três dietas.....	44
Figura 6B.	Níveis de AGL após dieta CHO.....	44
Figura 6C.	Os níveis de AGL foram maiores após a dieta LPD quando comparada às dietas CHO e PTN * $p < 0,05$	45
Figura 6D.	Níveis de AGL após dieta PTN.....	45

Resumo

Oliveira CSS. *Efeito do inibidor da DPP-IV sobre glicemia, glucagon, insulina, peptídeo C, GLP-1 e ácidos graxos livres após dietas isocalóricas de diferentes composições nutricionais em pacientes diabéticos tipo 2 virgens de tratamento* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2013. 76p.

Introdução: A sitagliptina, inibidor da dipeptidil-peptidase IV, impede a degradação do GLP-1 (peptídeo-1 semelhante ao glucagon), um dos principais hormônios incretínicos. A dieta interfere na secreção de GLP-1, no entanto, a interação das drogas que aumentam o GLP-1 e os macronutrientes da dieta é pouco estudada. **Objetivo e Métodos:** Determinar o efeito da sitagliptina, na secreção de GLP-1, glucagon, insulina, peptídeo-C, ácidos graxos livres e na glicemia após três dietas, isocalóricas, de diferentes composições nutricionais em pacientes diabéticos tipo 2, recém-diagnosticados, virgens de tratamento, quando comparado a uso de placebo. Dezesesseis indivíduos nessas condições foram submetidos a dietas hiperglicídica, hiperprotéica e hiperlipídica, isocalóricas entre si. Dosaram-se nos tempos 0, 30, 60, 120 e 180 minutos os parâmetros: glicose, insulina, peptídeo C, GLP-1, glucagon e AGL. Foi calculada média de área sob a curva e cálculo da área incremental, além de análise de variância para medidas repetidas. **Resultados:** Durante o teste de dieta hiperglicídica a glicemia foi maior em todos os tempos quando comparado aos testes com PTN e LPD independentemente do uso de sitagliptina ($p < 0,05$). Sitagliptina diminuiu a glicemia em todos os tempos, quando comparado ao uso de placebo ($p < 0,05$). Durante a dieta CHO, a secreção de glucagon foi menor que nas dietas LPD e PTN ($p < 0,05$). Já a concentração de insulina foi maior com a dieta CHO em relação à dieta LPD ($p < 0,05$). A concentração de insulina e peptídeo C foi maior em todos os tempos na dieta CHO ($p < 0,05$). A concentração de GLP-1 foi significativamente maior durante o teste hiperlipídico em relação à dieta CHO. Durante a dieta LPD, a medida de GLP-1 foi maior em todos os tempos. A dieta CHO apresentou medida de GLP-1 menor em todos os tempos do que as outras dietas ($p < 0,05$). A medida de GLP-1 no tempo foi maior (até 120') com o uso de sitagliptina do que com o uso do placebo, apesar de não estatisticamente significativa. Os níveis de AGL no tempo foram maiores com o uso do placebo do que com o uso da sitagliptina, apesar de não estatisticamente significativo. **Conclusão:** Houve diminuição da glicemia em todos os tempos com sitagliptina, independentemente da dieta testada. Houve diminuição do efeito da sitagliptina durante o uso da dieta hiperglicídica.

Descritores: Diabetes *Mellitus* tipo 2/terapia; Diabetes *Mellitus*/dietoterapia; Sitagliptina; Inibidores da dipeptidil-peptidase IV; Peptídeo 1 semelhante ao glucagon.

Summary

Oliveira CSS. *Effect of DPP-IV inhibitor on glycemia, glucagon, insulin, C-peptide, GLP-1, and free fatty acids after isocaloric diets with different nutritional compositions in drug-naïve patients recently diagnosed with type 2 diabetes* [thesis]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2013. 76p.

Background: Sitagliptin, a dipeptidil-peptidase IV inhibitor, prevents the degradation of GLP-1 (glucagon-like peptide 1), one of the incretin hormones. It is well-known that diet interferes in the GLP-1 secretion; however, the interaction between drugs that stimulates the release of GLP-1 and the macronutrients from diet is hardly studied. **Objective and Methods:** To demonstrate the effect of sitagliptin on glycemia, and on the secretion of GLP-1, glucagon, insulin, C-peptide, and free fatty acids after three isocaloric diets with different nutritional compositions, in drug-naïve patients, newly diagnosed with type 2 diabetes, when compared to the use of placebo. Sixteen individuals were subjected to a high-carbohydrate diet, a high-protein diet, and a high-fat diet, all of which with similar caloric values. At 0, 30, 60, 120 and 180 minutes after the diet, glucose, insulin, C-peptide, GLP-1, glucagon, and AGL were measured. The mean area under the curve, the incremental area, and the variance for repeated measures were calculated. **Results:** During high-carbohydrate diet, glycemia was higher for all time points, when compared to the PTN and LPD diets, independently of sitagliptin ($p < 0,05$). Sitagliptin reduced glycemia during three diets when compared to placebo ($p < 0,05$). During CHO diet, secretion of glucagon was smaller than it was during the LDP and PTN diets ($p < 0,05$). On the other hand, insulin concentration was higher than during the LPD diet ($p < 0,05$). Concentrations of insulin and C-peptide were higher for all the time points during the CHO diet ($p < 0,05$). GLP-1 concentration was significantly higher during the high-fat diet than during the high-carbohydrate diet. During the LPD diet, the quantity of the GLP-1 was larger for all time points. The CHO diet presented lower GLP-1 level, for all the time points, than the other diets ($p < 0,05$). The GLP-1 level (up to 120min) with the use of sitagliptin was higher with LPD and PTN diet than it was with the CHO diet. The AGL levels for all time points were higher with placebo than with sitagliptin, although not statistically significant. **Conclusion:** There was a reduction in glycemia with sitagliptin, independently of the diet tested, for all time points. There was a reduction in sitagliptin effect during the use of the high-carbohydrate diet.

Descriptors: Diabetes *Mellitus* type 2 / therapy; Diabetes *Mellitus* / diet therapy; Sitagliptin; Dipeptidil-peptidase IV inhibitors; Glucagon-like peptide 1.

1. Introdução

O diabetes *mellitus* do tipo 2 (DM2) é uma das doenças crônicas mais comuns e que continua a crescer em número e importância econômica e social. A *International Diabetes Federation* afirma que a prevalência de diabetes no mundo em 2011 atingiu 366 milhões de pessoas e a perspectiva é de que esse número alcance os 552 milhões em 2030¹. Os dados de prevalência são escassos. Na Inglaterra, onde o crescimento de diabetes tem superado as estimativas, o total de indivíduos diabéticos em 2010 foi de 3,1 milhões de indivíduos. O crescimento estimado dessa população para 2030 é de 9,5%, totalizando aproximadamente 4,6 milhões de indivíduos, sendo esse aumento ocasionado principalmente em virtude do envelhecimento e aumento da obesidade².

No Brasil, de acordo com estudo que utilizou dados eletrônicos armazenados no Sistema de Atenção Básica do Ministério da Saúde, a prevalência do diabetes esteve acima de 10% na maioria dos Estados entre 2002 e 2007. Além disso, houve aumento de prevalência nos períodos de 2002 a 2004 e entre 2005 e 2007, concordando com a literatura internacional³.

Nestes estudos de prevalência, observa-se que a incidência de diabetes é muitas vezes omitida porque o critério diagnóstico utilizado é a glicemia de jejum. Com o uso da Hemoglobina glicada a partir de 2010⁴ e a possível associação desta com a glicemia de jejum para o diagnóstico, a

prevalência de diabetes pode aumentar em até 50% nas populações acima de 50 anos⁵.

Pouco se sabe sobre a progressão das alterações metabólicas que ocorrem sequencialmente até o diagnóstico de diabetes. Em estudo de corte prospectivo com 6538 britânicos sem diabetes até o momento do diagnóstico da patologia, observou-se que 3 a 6 anos antes do diagnóstico ocorre baixa sensibilidade a insulina, com piora nos anos mais próximos ao diagnóstico. Além disso, a secreção de insulina estará progressivamente diminuída até o diagnóstico de diabetes quando comparado ao estado de intolerância à glicose⁶.

1.1 O PACIENTE DIABÉTICO RECÉM-DIAGNOSTICADO

Nos pacientes com diabetes recém-diagnosticado e nos intolerantes à glicose, a secreção de insulina está muito comprometida. Estudos com índios Pima americanos demonstraram que a disfunção das células beta da ilhota pancreática precede a manifestação clínica do diabetes do tipo 2⁷. No estudo UKPDS (*United Kingdom Prospective Diabetes Study*), resultados do índice HOMA mostraram que ao tempo do diagnóstico, o diabético já perdeu 50% da massa de células beta e que a disfunção delas provavelmente ocorreu de 10 a 12 anos antes⁸.

Além disso, esses pacientes podem apresentar ao momento do diagnóstico, complicações variadas. Neuropatia e nefropatia são as

complicações crônicas mais comuns do diabetes *mellitus*. Em estudo indiano recente, de 100 casos de diabetes recém-diagnosticados, 21% apresentavam proteinúria e 31% neuropatia. Se somadas, as duas complicações estiveram presentes em 16% dos casos⁹. Em outro estudo, em americanos diabéticos tipo 2 recém-diagnosticados com 40 anos ou mais, 24,9% possuía nefropatia e 21,5% neuropatia periférica¹⁰.

Outra complicação frequente é a doença cardiovascular. Mesmo em estágios precoces da doença, onde só observamos hiperglicemias no período pós-prandial ou com glicemias de jejum pouco elevadas (100 – 125 mg/dl), essa complicação pode se manifestar. No UKPDS, com 6 anos de acompanhamento 12,1% dos pacientes já haviam sofrido alguma complicação macrovascular do diabetes⁸. Esses achados demonstram o quando essa população (diabéticos recém-diagnosticados) deve ser alvo de medidas educativas e preventivas de saúde.

Ferrannini *et al.*¹¹ propôs que a progressão do DM2 do estado normoglicêmico para intolerante à glicose e enfim, diabetes, se faz ao longo do tempo podendo ser acompanhado pelos níveis de glicemia de jejum. Em estudo de acompanhamento de três anos, Ferrannini observou que o aumento da glicemia de jejum predisse a progressão para os diferentes estágios de intolerância à glicose até o diabetes franco. Essa evolução se fez muitas vezes de maneira rápida e pode ser explicada em parte por queda na secreção de insulina¹¹.

A importância da perda da primeira fase de secreção de insulina nessa evolução da patologia já foi bem documentada, pois apenas a

resistência insulínica não parece ser suficiente para causar o diabetes. Em pacientes com intolerância a glicose ou nos primeiros estágios de diabetes tipo 2, a primeira fase de secreção de insulina está perdida mesmo que tenha ocorrido aumento da segunda fase de secreção¹².

Essa falência progressiva da célula beta ocorre por uma combinação de lipotoxicidade, citocinas inflamatórias, glucotoxicidade e depósito amilóide à célula da ilhota. Estima-se que tenha ocorrido 50% de perda da função da célula beta ao momento do diagnóstico¹³.

1.2 O HORMÔNIO GLUCAGON LIKE PEPTÍDEO – 1 E O EFEITO INCRETINA

Os hormônios chamados incretínicos são hormônios gastrointestinais descritos desde 1960. Seu “efeito incretina” é definido por maior aumento da secreção de insulina quando a glicose é administrada oralmente se comparado com a administração parenteral de uma infusão isoglicêmica¹⁴.

Os dois hormônios incretínicos mais importantes são o Polipeptídeo Insulínico Dependente de Glicose (GIP) e Peptídeo - 1 semelhante ao glucagon (GLP-1).

GLP-1 e GIP são pequenos peptídeos, compostos por 30 e 42 aminoácidos respectivamente, liberados pelas células enteroendócrinas L localizadas no íleo distal e cólon e pelas células K no duodeno,

respectivamente. Ambos estimulam a liberação de insulina apenas quando a glicose sanguínea está elevada, aumentando a capacidade secretória do pâncreas endócrino melhorando os níveis glicêmicos¹⁵. Enquanto o GLP-1 controla a glicose sanguínea por outras vias além da hiperglicemia, estimulando a liberação de insulina glicose – dependente e inibindo a secreção de glucagon com supressão de produção de glicose hepática, assim como diminuindo a taxa de esvaziamento gástrico–, o GIP diminui menos intensamente o esvaziamento gástrico e não inibe a secreção de glucagon^{15,16}.

GLP1 nativo e GIP são rapidamente degradados pela enzima proteolítica dipeptidil peptidase-IV, que cliva os dois aminoácidos do grupo N-terminal de ambos os peptídeos produzindo metabólitos inativos¹⁷. A ativação do DPP-IV resulta na degradação do GLP-1(7-36) e a geração do metabólito GLP-1(9-36) amido, que não ativa o receptor do GLP-1. Assim, há aumento da secreção de insulina durante a infusão endovenosa de GLP1(7-36) em pacientes saudáveis e em diabéticos com função presente da célula beta. Já o seu metabólito não regula a secreção de insulina e o metabolismo de glicose ⁽¹⁸⁾.

1.3 INIBIDORES DA DIPEPTIDIL-PEPTIDASE IV (DPP-IV)

O GLP-1 nativo possui meia-vida curta, de menos de dois minutos, ocasionada em parte por sua rápida degradação pela enzima DPP-IV¹⁵. As drogas inibidoras da DPP-IV emergiram como estratégia terapêutica,

inibindo a enzima DPP-IV que degrada o GLP-1, prolongando a ação do GLP-1 “in vivo”¹⁹.

A enzima DPP-IV tem função dupla no organismo, ora como uma protease regulatória, ora como proteína de ligação. Como protease regulatória, enzima inativadora, cliva a alanina ou prolina da fração N-terminal do peptídeo, resultando em inativação dos peptídeos GLP-1 e GIP¹⁹.

Cronicamente, o tratamento com a droga sitagliptina reproduz o efeito agudo inibitório que a dose única de inibidor de DPP-IV induz durante a refeição, aumentando o GLP-1, diminuindo a produção endógena de glicose, suprimindo liberação de glucagon e melhorando a sensibilidade da célula beta à glicose em pacientes diabéticos tipo 2. Além disso, foi recentemente demonstrado que o tratamento crônico com sitagliptina diminui a glicemia, aumenta a sensibilidade à insulina e potencializa a função de célula beta mesmo em resposta a glicose endovenosa. Assim, provavelmente o mecanismo de controle de glicemia se deve, ao menos em parte, pela remoção da glicotoxicidade²⁰ e não apenas pelo efeito incretínico em si.

A inibição da DPP-IV também reduz as variações glicêmicas durante o dia, diminuindo o estresse oxidativo e as citocinas pró-inflamatórias⁽²¹⁾.

1.4. SITAGLIPTINA (MK-0431)

Sitagliptina é inibidor competitivo e reversível da enzima DPP-IV. É eliminada pelo rim, com meia-vida de 11,8 a 14,4 horas²². Melhora a sensibilidade da célula beta com mínimo risco de hipoglicemia, podendo ser utilizado como monoterapia ou em associações^{23,24}. Além de ser uma razoável opção de tratamento para pacientes recém-diagnosticados²⁵. Estudos demonstraram que nesses pacientes a melhora da glicemia ocorre sem necessariamente haver aumento dos níveis de insulina, porém com diminuição dos níveis de glucagon^{26,27}.

Dose única de sitagliptina de 100 mg resultou em inibição de no mínimo 80% da atividade plasmática da DPP-IV por mais de 24 horas. Sua ação associada à refeição não causa hipoglicemia²⁸.

Um estudo pré-clínico demonstrou que 8 – 12 semanas de tratamento de ratos diabéticos com análogo de sitagliptina (des-fluoro-sitagliptina) restaura parcialmente, ao menos, a massa de células beta e sua morfologia, aumenta o conteúdo de insulina na ilhota e aumenta a secreção de insulina estimulada por glicose em ilhotas isoladas, similar ao que é observado em estudos pré-clínicos após administração de GLP-1 ou análogos ativadores do receptor de GLP-1 (GLP-1R)²⁷.

Em estudo de fase III da sitagliptina, a insulina pós-refeição, a secreção de Peptídeo C e a relação secreção insulina/secreção glicose e HOMA-beta e todas as medidas de função da célula beta foram aumentadas significativamente em relação ao placebo. Além disso, a relação

proinsulina/insulina foi significativamente reduzida com sitagliptina em relação ao placebo²⁹.

O efeito da sitagliptina na função da célula beta no DM2 foi observado através de amostras seriadas após testes de tolerância à refeição em três subestudos de fase III, estimando a secreção de insulina no estado basal (resposta da célula beta às concentrações de glicose), estático (resposta da célula beta após refeição através do aumento da glicose basal) e dinâmico. Níveis de proinsulina e taxa de proinsulina/insulina foram significativamente reduzidas com sitagliptina em comparação ao placebo, sugerindo melhora da função da célula beta sem ganho de peso adicional³⁰.

Além disso, estudos recentes vêm demonstrando que a sitagliptina exerce efeito direto nas células L intestinais sinalizando e estimulando a secreção de GLP1. Ocorre aumento do número de células L em ratos diabéticos tratados com sitagliptina. Isso pode ser uma explicação para o fato de que a glicemia de jejum melhora com o uso crônico desse medicamento e o porquê de esse efeito se manter por algum tempo, mesmo com a interrupção de seu uso³¹.

1.5 DIETAS E SECREÇÃO DE GLP-1

Há muito se sabe que a dieta interfere na secreção de GLP-1. Dietas com quantidade proteica aumentada, se comparada com dietas padrões (com 10% de proteína em sua composição) elevam a saciedade, a

termogênese, a taxa metabólica e a oxidação de gorduras em consonância com o aumento do GLP-1³².

Refeições líquidas e óleos monoinsaturados aumentam a secreção de GLP-1 em pacientes saudáveis se comparado com refeições sólidas e com outros tipos de gorduras³³.

Além disso, há descrito o aumento de GLP-1 com óleo de oliva³⁴ e com outros tipos de alimentos.

No entanto, a interação das drogas que aumentam o GLP-1 e a alimentação do paciente é pouco estudada. É de relevância clínica sabermos se ocorre interferência dos macronutrientes compondo a dieta e a ação clínica do medicamento.

2. Objetivos

Determinar o efeito do antagonista da Dipeptidil peptidase-IV (DPPIV) sitagliptina, na secreção de GLP-1, glucagon, insulina, peptídeo-C, ácidos graxos livres e na glicemia após três dietas isocalóricas, de diferentes composições nutricionais em pacientes diabéticos tipo 2, recém-diagnosticados, virgens de tratamento, quando comparado a uso de placebo.

3. Casuística e Métodos

3.1 POPULAÇÃO ESTUDADA

Os pacientes foram encaminhados dos ambulatórios do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP) e de Campanha Anual de Detecção Precoce de Diabetes. Foram entrevistados 45 indivíduos e selecionados para o estudo os que apresentavam diagnóstico de diabetes recente (tempo menor que três meses), confirmado por Teste de Tolerância Oral a Glicose com 75 g de glicose em 2 horas (TOTG) e por Hemoglobina Glicada (HbA1C). Eram considerados diabéticos se após o TOTG, no tempo 120 minutos, atingissem glicemia acima de 200 mg/dl. Dos pacientes recrutados para teste de diagnóstico, 16 foram selecionados por preencherem os critérios indicados a seguir.

Para inclusão:

- diabetes *mellitus* tipo 2, confirmado por curva de tolerância oral e hemoglobina glicada;
- idade entre 40 e 70 anos;
- ausência de tratamento medicamentoso para diabetes;
- sem uso de inibidor de bomba de próton ou medicamento quaisquer que altere motilidade gástrica como antieméticos, domperidona;
- sem uso de hipolipemiantes como sinvastatina, atorvastatina, rosuvastatina;
- hemoglobina glicada entre 6,5 e 9,0%;

- Índice de Massa Corporal (IMC) entre 20 e 35 kg/m²;
- entre as mulheres foram incluídas as pacientes menopausadas que não estivessem em uso de terapia hormonal.

Para exclusão:

- descompensação diabética aguda, com HbA1C > a 10%, IMC menor que 19,9 kg/m² e inclusive ou maior que 35,1 kg/m²;
- doenças psiquiátricas limitantes;
- tratados com insulina ou que tiveram cetonúria ou marcadores autoimunes para diabetes tipo 1, em uso de outros antidiabéticos orais; mulheres em idade fértil;
- doença severa concomitante como nefropatia (creatinina > 1,4mg/dl em mulheres e > 1,5 para homens), hipertensão arterial não controlada, Acidente Vascular Cerebral com sequela importante.

Dos pacientes excluídos, cinco estavam descompensados do diabetes com HbA1C > 10,0%, oito não conseguiram acompanhar os dias de exame, três faltaram aos dias de teste e 1 paciente estava com hipotireoidismo descompensado. Cinco pacientes eram intolerantes à glicose no exame de TOTG e não participaram da pesquisa.

Os pacientes foram orientados através de consultas com endocrinologista e nutricionista a manterem dieta estável de manutenção do peso durante o período de quatro meses em que os testes foram aplicados.

Todos mantinham controle de glicemia através de glicemia capilar sendo orientados a manter contato telefônico com a investigadora caso apresentassem alteração glicêmica superior a 200 mg/dl em jejum ou pós-prandial ou qualquer outro sinal ou sintoma concorrente à pesquisa.

Nos dias de teste de dieta, os pacientes foram orientados a se apresentarem em jejum de 10 horas, na Sala de Testes da Endocrinologia do HCFMUSP às 7h da manhã e não tomarem café ou água antes do exame. Pediu-se que mantivessem a quantidade de exercício físico que já realizavam durante o período da pesquisa. Os pacientes possuíam exames laboratoriais basais semelhantes como demonstrado na Tabela 5 dos Resultados.

3.2 MÉTODOS

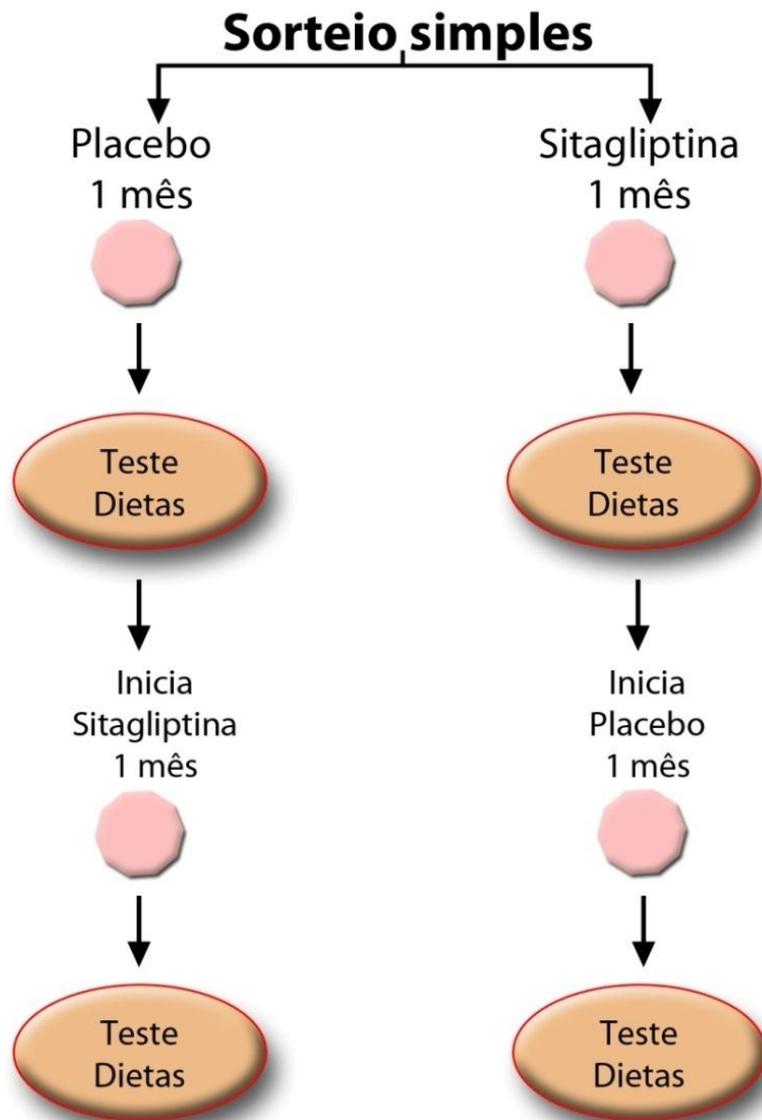
O estudo foi *cross-over*, randomizado, cego, placebo-controlado sendo que os pacientes foram sorteados para uso inicial de placebo ou sitagliptina 100mg. O placebo utilizado foi fabricado na Farmácia do HCFMUSP e mascarado na forma de blister com apresentação semelhante a do medicamento em sua forma e apresentação. Todos os pacientes passaram pela fase de uso do placebo e de uso de sitagliptina, na forma de *cross over*. Após um mês de uso de placebo ou de sitagliptina conforme o sorteio, o paciente apresentava-se em jejum para o teste de dieta que foi realizado na Sala de Testes da Endocrinologia do Hospital das Clínicas da

USP. O tempo de uso de ambos os tratamentos e o tempo de *washout* da droga foi de um mês. Os testes agudos de dietas eram realizados na ordem carboidrato, proteica e lipídica, com 48 horas de diferença entre eles.

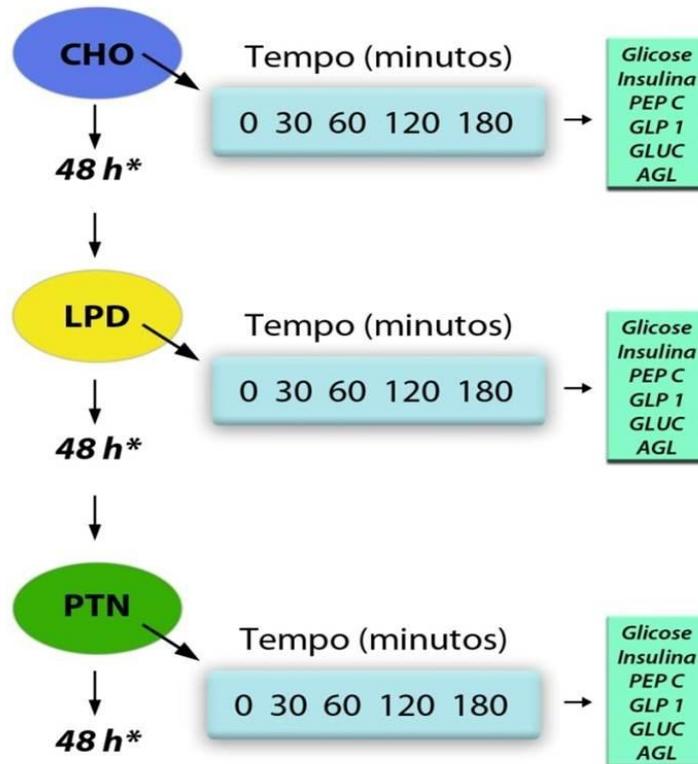
As três dietas para teste eram isocalóricas, com 450 kcal cada, com semelhante quantidade de fibras, semelhante composição de óleos, consistência sólida e foram desenvolvidas em conjunto com a empresa Condieta[®] para tornarem-se palatáveis e poderem ser comparadas entre si. No momento da ingesta, pediu-se que o paciente não ingerisse água ou outro líquido com a refeição e determinou-se o tempo médio de quinze minutos para a ingesta total da dieta. Nenhum paciente apresentou êmese durante os testes de dieta.

No período entre os dias de teste, os pacientes receberam em sua casa seis refeições padrões congeladas com orientação para que ingerissem nas 48 horas entre os testes, mantendo assim uma padronização da ingesta de macronutrientes e de número de calorias entre os dias de teste.

No dia do teste das dietas, os pacientes foram submetidos à punção venosa periférica e o sangue foi coletado no tempo basal com seringa gelada, seguido da ingesta da dieta, e após nos tempos trinta, sessenta, cento e vinte e cento e oitenta minutos. O sangue coletado foi transportado, centrifugado e armazenado sob refrigeração com inibidor da dipeptidil-peptidase-4 para evitar degradação do hormônio GLP-1. Nos tempos 0', 30', 60', 120' e 180' foram realizadas coletas para dosagem de glicemia, insulina, peptídeo-C, glucagon, glucagon-like peptídeo1 e ácidos graxos livres.



Teste das Dietas (após 12h jejum)



**Dieta padrão congelada*

3.2.1 Testes laboratoriais

As determinações de Ácidos Graxos Livres (AGL), Glucagon e GLP-1 (Glucagon LikePeptide-1) foram realizadas no Laboratório de Carboidratos e Radioimunoensaio – Laboratório de Investigações Médicas (LIM) 18 – FMUSP³⁵. Todas as determinações foram efetuadas pelo método manual, em duplicatas, preferencialmente pelo mesmo indivíduo. As amostras para determinações de Glucagon e GLP-1 foram coletadas em tubos previamente gelados, contendo o anticoagulante EDTA e os inibidores de proteases

Aprotinina (Sigma-Aldrich A 6279) - 20 microlitros/mL de sangue e Diprotin A (ILE-PRO-ILE – Sigma-Aldrich I9759), 10 microlitros/mL de sangue, para preservar a forma ativa do glucagon e do GLP-1. O sangue assim coletado e mantido sempre no gelo foi imediatamente centrifugado a 4°C a 2000 rotações por minuto por 15 minutos e o plasma, separado em pequenas alíquotas que foram mantidas sob estoque à temperatura de -70°C, em *freezer* de ultrabaixa temperatura, para preservar as atividades por maior tempo. A quantificação foi realizada no mesmo ensaio, em grupos de casos estudados, para minimizar a variação de resultados entre diferentes lotes de kits e ensaios, tanto para Glucagon, GLP-1 e AGL.

Os ácidos graxos livres foram determinados no plasma, pelo método enzimático-colorimétrico específico (ACS-ACOD) utilizando reagentes da Wako Pure Chemical Industries, Ltd. (ref.: 999-34691, 995-34791, 991-34981, 993-35191, 997-76491 e 276-76491), comercializados pela Wako Chemicals USA[®]. As determinações foram efetuadas em duplicata, com a metodologia adaptada no LIM18, para execução pelo método manual para determinação em microplacas de 96 poços. A leitura foi efetuada pelo sistema *dual wavelengthmode 540/650nm*, no fotômetro Multiskan EX da Lab systems para obtenção de delta absorbâncias e a curva padrão apresentou linearidade de 0,1 até 2 mEq/L, e o limite de detecção, de 0,05 mEq/L. Os cálculos foram efetuados utilizando método de regressão linear e com correção de branco de reação das amostras quando elas se apresentavam visualmente alteradas: ou por presença de hemoglobina ou por outra alteração de cor. As variações entre as duplicatas foram mínimas,

permanecendo menores que 3%. As variações intra-ensaios e entre ensaios foram menores que 5%³⁵.

As concentrações de glucagon foram analisadas por radioimunoensaio fase líquida (RIE com iodo radioativo - I¹²⁵) com a técnica de duplo anticorpo, utilizando reagentes comercializados pela Millipore Corporation: kit GL-32K para Glucagon. O limite de sensibilidade foi de 20 pg/mL e linearidade da curva padrão até 800pg/mL. O anticorpo utilizado tem a seguinte especificidade, informada no manual: 100% para Glucagon, <0,1% para oxyntomodulina e indetectável para somatostatina, polipeptídeos pancreáticos, insulina, pró-insulina e peptídeo C de insulina. O coeficiente de variação (CV) intra-ensaio numa amostra de 150pg/mL foi 4,4% (20 repetições) e variação entre ensaios foi de 6,5% (20 determinações). Valores de referência em jejum: 50 a 150 pg/ml. No manual do kit consta que a percentagem de CV intra-ensaio pode variar de 4,0 a 6,8% e entre ensaios de 7,3 a 13,5%, dependendo da amostra^{36,37}.

A determinação de GLP-1 total foi realizada por radioimunoensaio fase líquida (RIE com iodo radioativo - I¹²⁵) com o kit da Millipore GLP1T-36HK, sendo que a curva foi linear de 10 a 500pM. O anticorpo utilizado (informado no manual) tem a seguinte especificidade: 100% para GLP-1(7-36), 100% para GLP-1(9-36) e 100% para GLP-1(7-36), <0,02% para GLP2, 0,2% para Glucagon e <0,01% para exendina. As amostras plasmáticas foram analisadas diretamente em duplicatas de 100 microlitros, uma vez que se mostrou detectável e reprodutível nos testes efetuados no mesmo ensaio. Nessas condições o CV intra-ensaio foi quase sempre menor que 5% (no

manual do kit, mostra uma %CV intra-ensaio variando de 22 a 38% e a %CV entre ensaios de 10 a 23% dependendo do nível de GLP-1, para amostras plasmáticas extraídas). A amostra plasmática para GLP-1, uma vez descongelada para uma determinação, numa repetição posterior (novo ensaio) foi observada maior variação, provavelmente pela alteração dos constituintes plasmáticos sob efeito do descongelamento. Os tubos das reações de RIE para determinação de GLP-1 foram sempre mantidos em ambientes refrigerados próximos de 4^oC em câmaras adaptadas, durante todo o manuseio das amostras em bancada³⁸. Os resultados obtidos para Glucagon e GLP-1 foram efetuados diretamente de cada curva padrão do ensaio, pelo programa computadorizado (*software*) para radioimunoensaio no contador gama utilizado.

O sangue coletado foi também encaminhado através da rotina do Laboratório Central do HCFMUSP para dosagem de glicemia, insulina e peptídeo-C. Para a dosagem de glicose sanguínea, foi utilizado o método Enzimático colorimétrico, com valores de referência para o jejum de 70 a 99 mg/dl³⁹. Para a dosagem de insulina foi utilizado o método Eletroquimioluminescência com valores de referência entre 2,6 e 24,9 µU/ml^{36,37}. Para dosagem de peptídeo C, o método utilizado foi de Eletroquimioluminescência com valores de referência entre 1,1 a 4,4 ng/ml⁴⁰.

3.2.2 Dietas e randomização

As dietas para os dias do teste compunham-se dos seguintes macronutrientes:

Tabela 1. Composição nutricional da Dieta Hiperglicídica

Dieta Hiperglicídica	Kcal	Proteína (g)	Lipídio (g)	Carboidrato (g)	Fibra (g)
Arroz (120g)	144,8	2,0	0,16	33,84	2,4
Batata(100g)	53,3	1,2	0,1	11,9	1,3
Macarrão(50g)	174,3	6	0,7	36	1,5
Manteiga(5g)	37,35		4,15		
Óleo (4,5g)	40,5		4,5		
Total(g)		9,2	9,96	81,74	5,2
kcal	450,25	36,8	89,64	326,96	
% kcal		8,17%	19,90%	72,61%	

Tabela 2. Composição nutricional da Dieta Hiperlipídica

Dieta Hiperlipídica	Kcal	Proteína (g)	Lipídio (g)	Carboidrato (g)	Fibra (g)
Manteiga(25g)	186,75	-	20,75	-	
Lingüiça (50g)	138,85	8	11,65	2,5	
Ovos (50g)	73	6	5	1	-
Aveia (20g)	69,6		2,4	12	4
		14	39,8	15,5	
kcal	468,20	56	358,2	62	
% kcal		12,96%	74,5%	12,8%	

Tabela 3. Composição nutricional da Dieta Hiperproteica

Dieta Hiperproteica	Kcal	Proteína (g)	Lipídio (g)	Carboidrato (g)	Fibra(g)
Clara de ovo (350g)	189,8	47	0,2	-	
1 gema (15g)	52,06	2,38	4,62	0,24	
Aveia (20g)	69,6		2,4	12	4
Proteína(2 colheres de sopa)	108	27			
Óleo de oliva (5 g)	45		5		
Total(g)		76,38	12,22	12,24	4
kcal	464.46	305,52	109,98	48.96	
%kcal		65,78%	24,67%	10,54%	

Os pacientes foram seguidos por seis meses ao todo, e passaram por no mínimo seis consultas. Quatro consultas médicas, duas consultas com nutricionista e monitoramentos frequentes telefônicos por profissional de enfermagem treinada em diabetes.

O tratamento foi dispensado mediante apresentação das caixas vazias do tratamento anterior. Objetivou-se controle glicêmico de no mínimo cinco pontos diários: jejum, pós-café, almoço, pós-almoço e antes de dormir. Essa monitorização foi realizada durante os quatro meses durante as visitas e por contato telefônico, ficando facultada a diminuição de pontos de glicemia para duas vezes ao dia se bom controle glicêmico atingido (jejum < 100 mg/dl e pós-prandial < 140 mg/dl).

A manutenção do peso durante a pesquisa foi monitorada por pesagem em balança da Sala de Testes da Endocrinologia devidamente calibrada e nas consultas médicas, consultas com nutricionista e com a técnica de enfermagem.

3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para averiguar o efeito da sitagliptina sobre cada um dos parâmetros: glicemia, glucagon, insulina, peptídeo C, GLP-1e AGL, após dietas isocalóricas de diferentes composições nutricionais, foi utilizada a Análise de variância para medidas repetidas. Para essa análise, foi considerada a área incremental sob a curva de cada um dos parâmetros citados.

Para comparar droga, dieta e tempo para cada um dos parâmetros: AGL, glicemia, glucagon, insulina, peptídeo C e GLP1, também foi utilizada a Análise de Variância para medidas Repetidas.

Foi utilizado nível de significância de 5%, p-valor $\leq 0,05$, bicaudal.

No estudo de *cross over* não houve influência da ordem de randomização dos pacientes para uso de placebo ou sitagliptina.

Para as análises utilizou-se o *Software de Estatística SPSS 15.0 for Windows*.

4. Resultados

4.1 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

Os indivíduos tinham em média 58,4 anos eram em sua maioria homens (56,3%). O IMC médio foi de 27,1 kg/m² e 56,3% eram hipertensos. A história familiar de DM2 prévio ocorreu em 68,8% dos pacientes. A distribuição quanto à idade e ao sexo foi demonstrada na Tabela 4.

Não houve diferença estatisticamente significativa entre o IMC inicial e final do estudo (p=0,912).

Tabela 4. Características clínicas e antropométricas dos pacientes estudados

Variáveis	n = 16
Idade (anos)*	58,4 ±11,6
Sexo**	
Masculino	9 (56,3)
Feminino	7 (43,8)
IMC (kg/m ²)*	27,1±2,4
Presença HAS**	9 (56,3)
PAS*	136,1 ±26
PAD*	77,5 ± 16,1
História Familiar DM2**	11 (68,8)

Dados expressos por média ± desvio padrão*

Dados expressos por n (%)**

4.2 DETERMINAÇÕES BIOQUÍMICAS

Os indivíduos apresentaram glicemia basal média de 164 mg/dl e HbA1c média de 7,7%. A média de peptídeo C foi de 3,8 ng/ml e de GLP-1 de 219,1 pM. Na Tabela 5 foram demonstrados os valores basais da concentração plasmática de glicose, insulina, peptídeo C, glucagon, GLP 1, AGL de todos os indivíduos participantes do estudo.

Tabela 5. Característica dos exames laboratoriais basais dos pacientes estudados à entrada do estudo.

Variáveis	n = 16
Glicemia jejum (mg /dl)	164,3 ± 43,5
A1c (%)	7,7 ± 1,2
Colesterol Total (mg/dL)	219,0 ± 51,8
LDL-colesterol	132,8 ± 49,7
HDL-colesterol	42,0 ± 13,1
TG	217,4 ± 163,1
Insulina (μU/L)	19,6 ± 14,0
Peptídeo C (ng/ml)	3,8 ± 1,8
GLP-1 (pM)	219,1 ± 54,6
Glucagon (pg/ml)	77,1 ± 32,8
AGL (mEq/L)	0,6 ± 0,2

Dados expressos por média ± desvio padrão.

4.3 EFEITOS DAS DIETAS E DROGA SOBRE GLICEMIA

Como demonstrado nas figuras 1A, 1B, 1C, 1D e 1E abaixo e os Apêndices 1 e 2, observa-se que durante o teste de dieta CHO

(hiperglicídica) a glicemia foi maior em todos os tempos quando comparado aos testes com PTN e LPD independente do uso de sitagliptina ($p < 0,05$).

Sitagliptina diminuiu a glicemia em todos os tempos, quando comparado ao uso de placebo ($p < 0,05$).

A mudança de glicemia no tempo depende da dieta. A glicemia é maior em todos os tempos na dieta CHO. Porém, entre os testes de dietas LPD e PTN há diferenças na glicemia ao longo do tempo. Nos tempos iniciais (0' e 30') a glicemia é maior na dieta LPD do que na dieta PTN ($p < 0,05$).

Além disso, a glicemia varia nos testes de dietas dependendo do uso de sitagliptina ou placebo. A glicemia é sempre maior com a dieta CHO tanto com uso de placebo quanto com o uso de sitagliptina, sendo maior com o uso de placebo. Entre as dietas LPD e PTN a glicemia é maior com o uso de placebo, porém com este a glicemia é maior na dieta LPD do que na dieta PTN e com o uso da sitagliptina a glicemia é maior na dieta PTN do que na dieta LPD ($p < 0,05$).

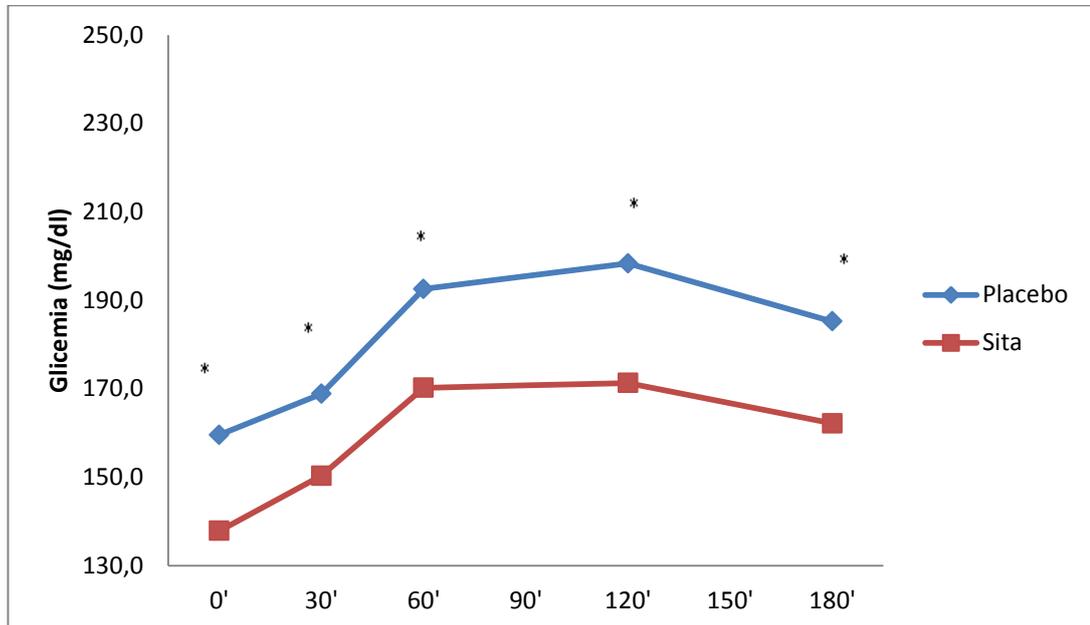


Figura 1A. Diminuição da glicemia com uso de sitagliptina em relação ao placebo durante as três dietas * $p < 0,05$

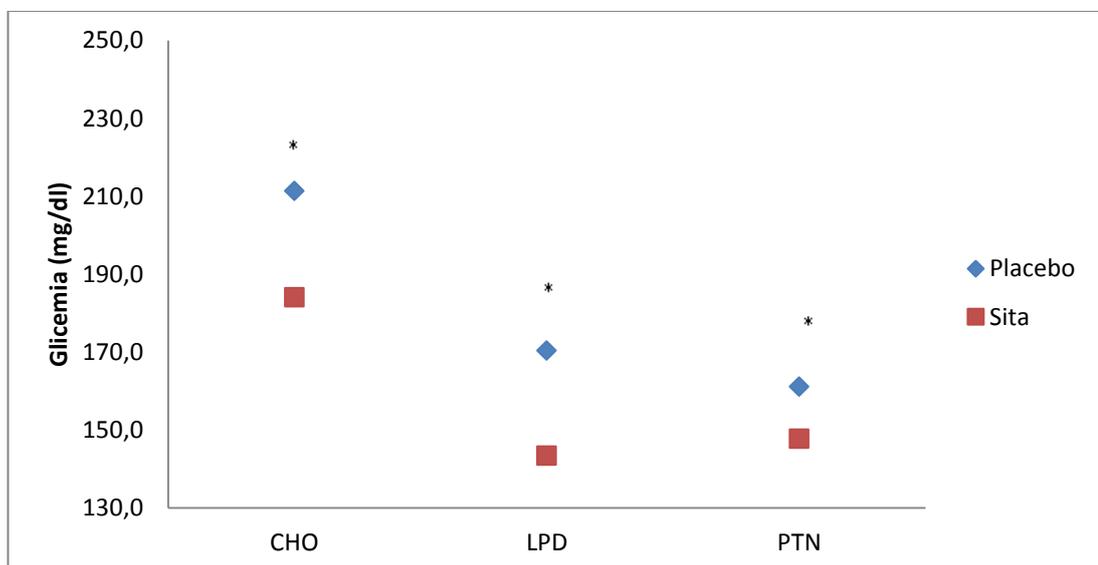


Figura 1B. Como se observa houve aumento da glicemia com dieta CHO se comparado ao teste com dieta LPD ou PTN. A glicemia foi menor durante uso de sitagliptina em todos os três tipos de dieta (* $p < 0,05$).

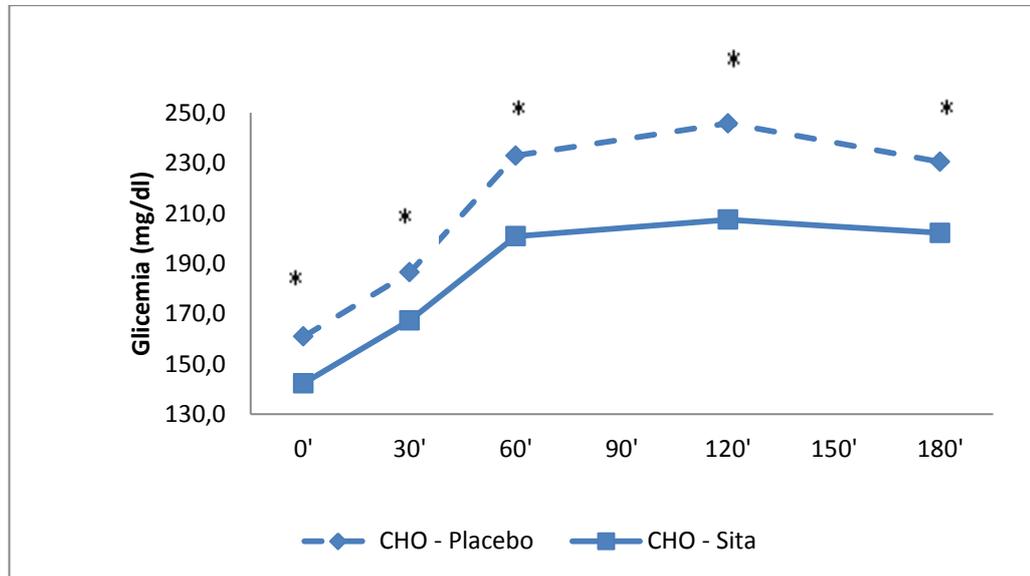


Figura 1C. A glicemia é maior em todos os tempos com a dieta CHO(* $p < 0,05$)

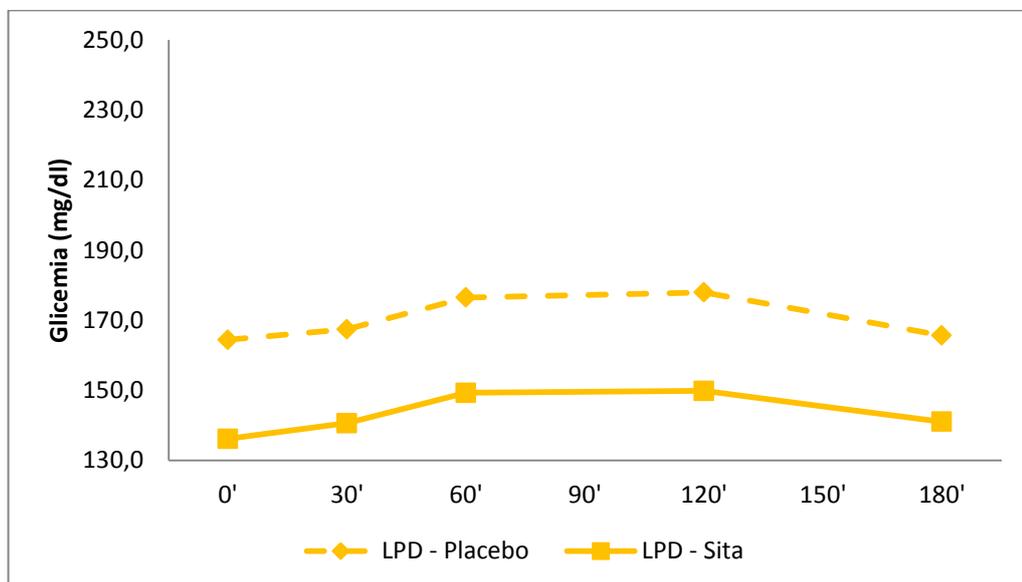


Figura 1D. Nos tempos iniciais (0'30') a glicemia é maior na dieta LPD se comparada à dieta PTN

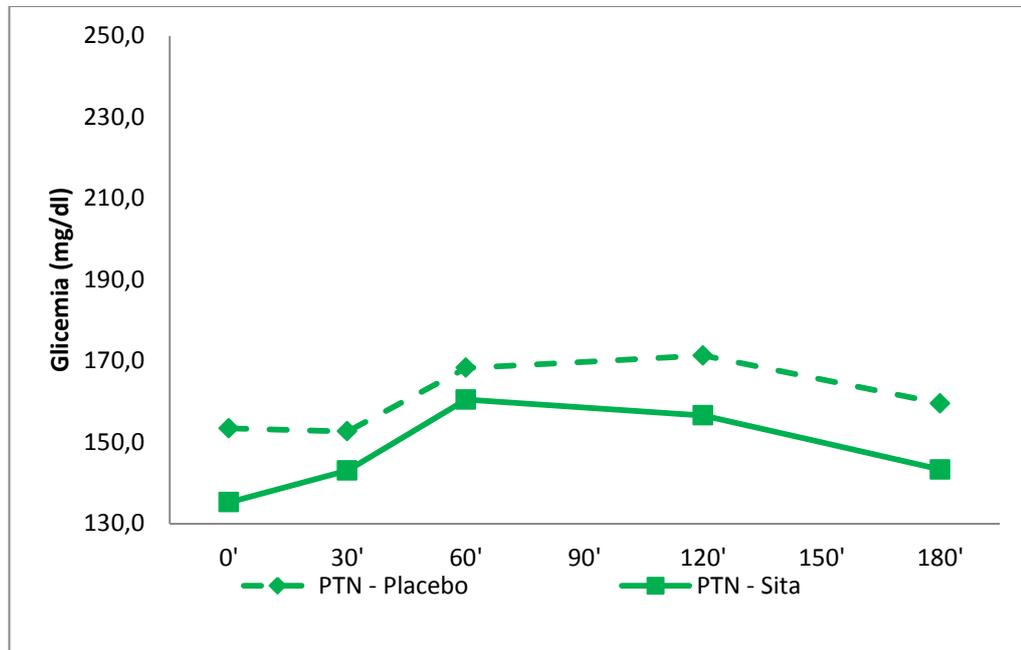


Figura 1E. Nos tempos de 60' a 180' a glicemia é maior com dieta hiperproteica em relação ao teste com dieta hiperlipídica ($p < 0,05$)

4.4 EFEITOS DAS DIETAS E DADROGA SOBRE CONCENTRAÇÃO DE GLUCAGON

Nos Apêndices 3 e 4 e nas figuras 2A, 2B, 2C e 2D a seguir, observa-se que, durante a dieta CHO, a secreção de glucagon foi menor do que nas dietas LPD e PTN ($p < 0,05$).

A concentração de glucagon no tempo depende da dieta. Na dieta CHO, aumenta de 0' até 30' e a partir de 60' há uma queda significativa, enquanto na dieta LPD o glucagon apresenta leve aumento em todos os tempos. Finalmente, na dieta PTN o glucagon aumenta até 60' e tem uma leve queda após esse tempo com o uso da sitagliptina ($p < 0,05$).

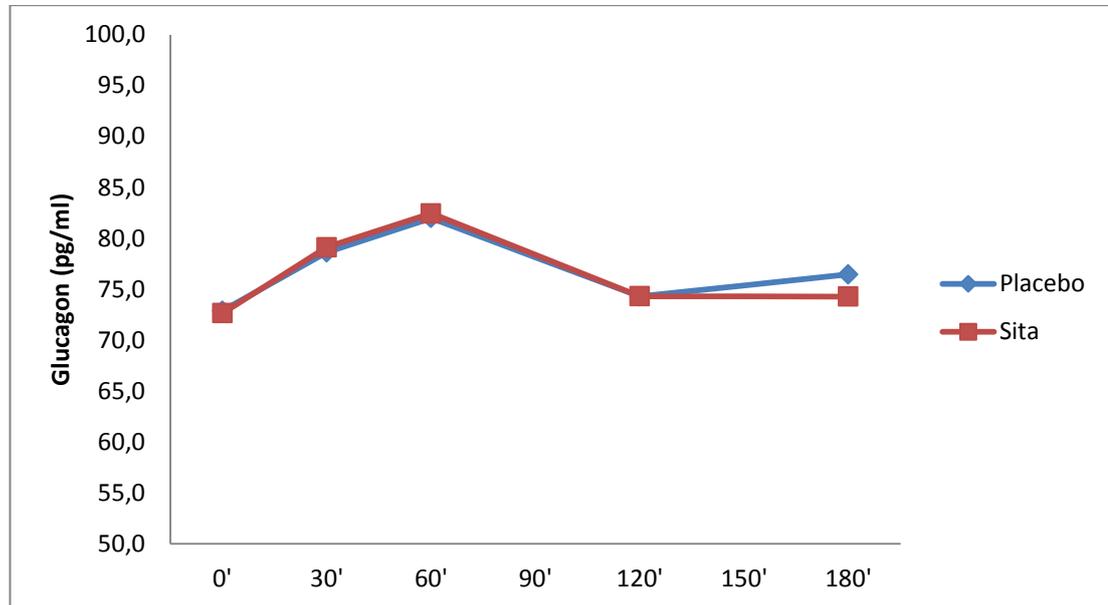


Figura 2A. Semelhante liberação de glucagon com placebo e sitagliptina durante os três testes de dieta.

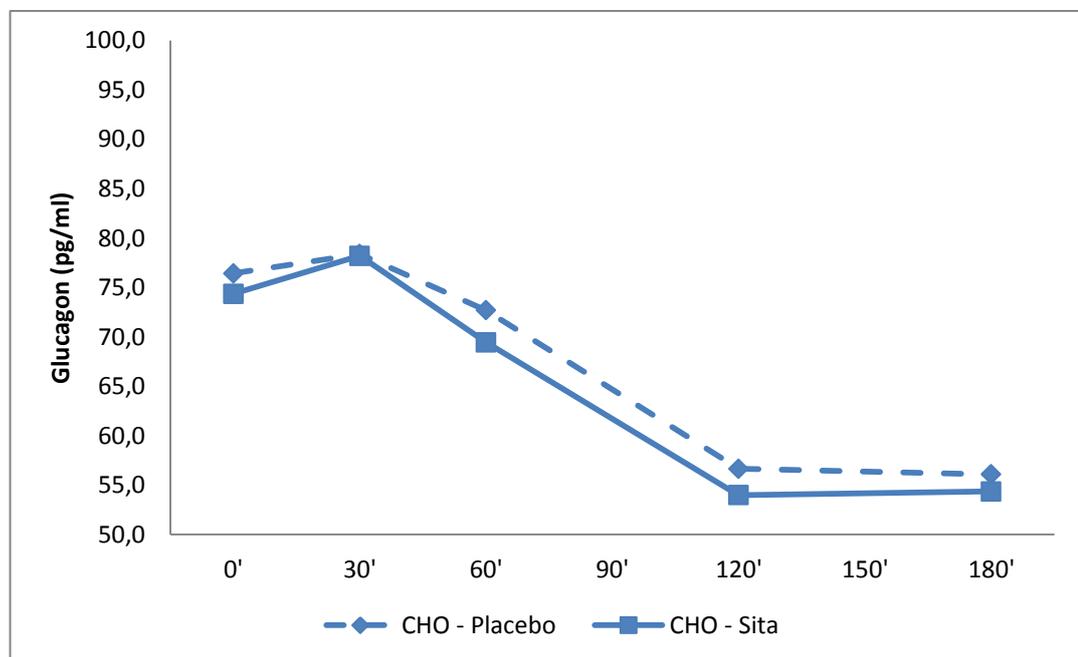


Figura 2B. Durante a dieta CHO a secreção de glucagon foi menor em relação às dietas LPD e PTN

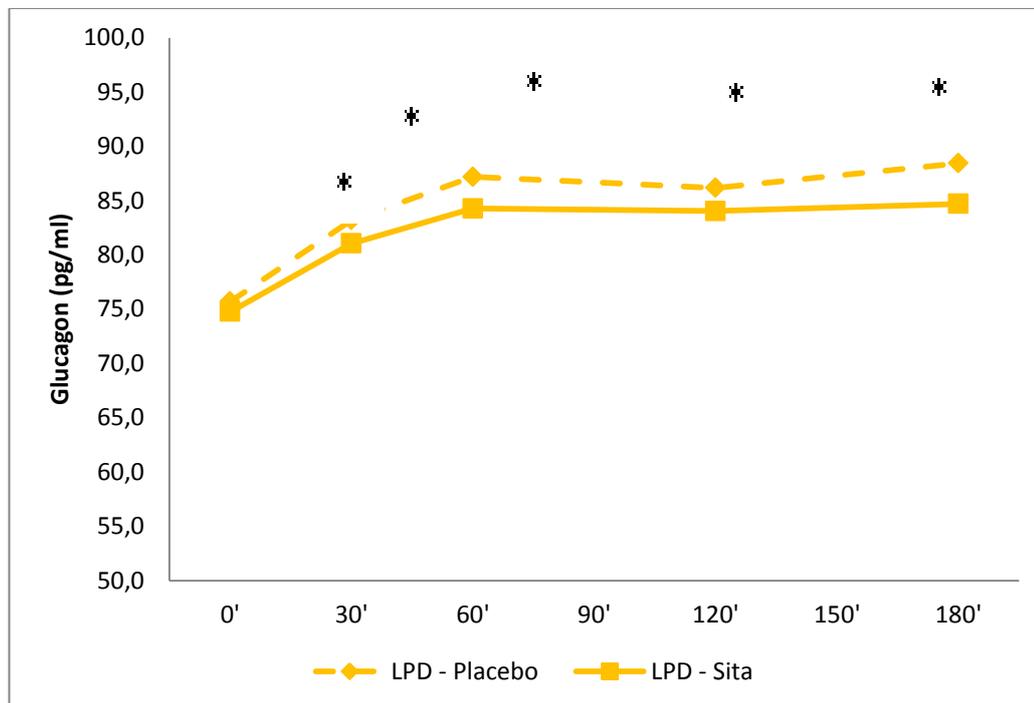


Figura 2C. Na dieta LPD a secreção de glucagon foi maior do que após dieta CHO (* $p < 0,05$)

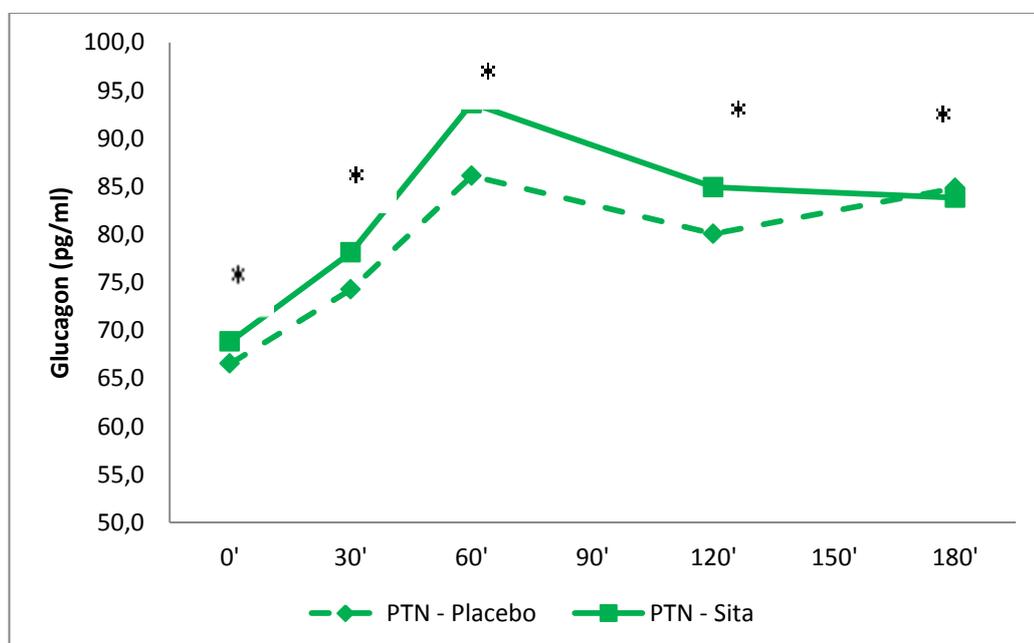


Figura 2D. Secreção de glucagon é maior durante a dieta PTN* $p < 0,05$. Neste teste, o glucagon aumenta até 60' e há uma queda após este tempo com sitagliptina ($p < 0,05$)

4.5 EFEITO DAS DIETAS E DA DROGA SOBRE A SECREÇÃO DE INSULINA

Assim como visualizado nos Apêndices 5 e 6 e nas figuras 3A, 3B, 3C e 3D a seguir, observa-se que a concentração de insulina foi maior com a dieta CHO em relação à dieta LPD ($p < 0,05$).

As medidas de concentração de insulina foram muito similares em relação ao uso de placebo e sitagliptina, resultado não estatisticamente significativo.

A variação da concentração de insulina no tempo depende da dieta. Esta é maior em todos os tempos na dieta CHO. Porém, entre as dietas LPD e PTN há diferenças na secreção de insulina ao longo do tempo. Nos tempos iniciais (0' e 30'), a secreção de insulina é maior na dieta LPD do que na dieta PTN e nos tempos 60', 120' e 180' é maior na dieta PTN do que na dieta LPD ($p < 0,05$).

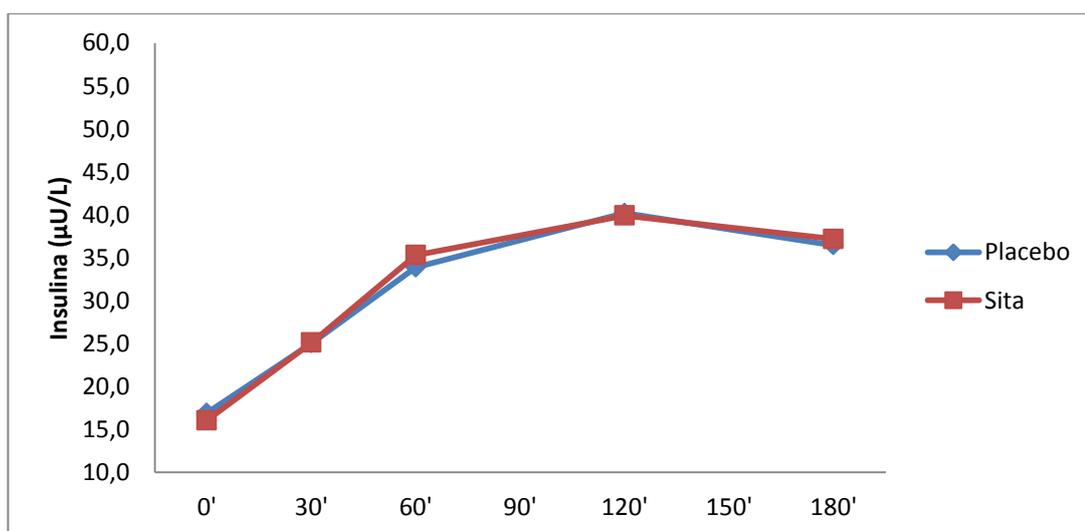


Figura 3A. Semelhante secreção de insulina com placebo e sitagliptina durante as três dietas

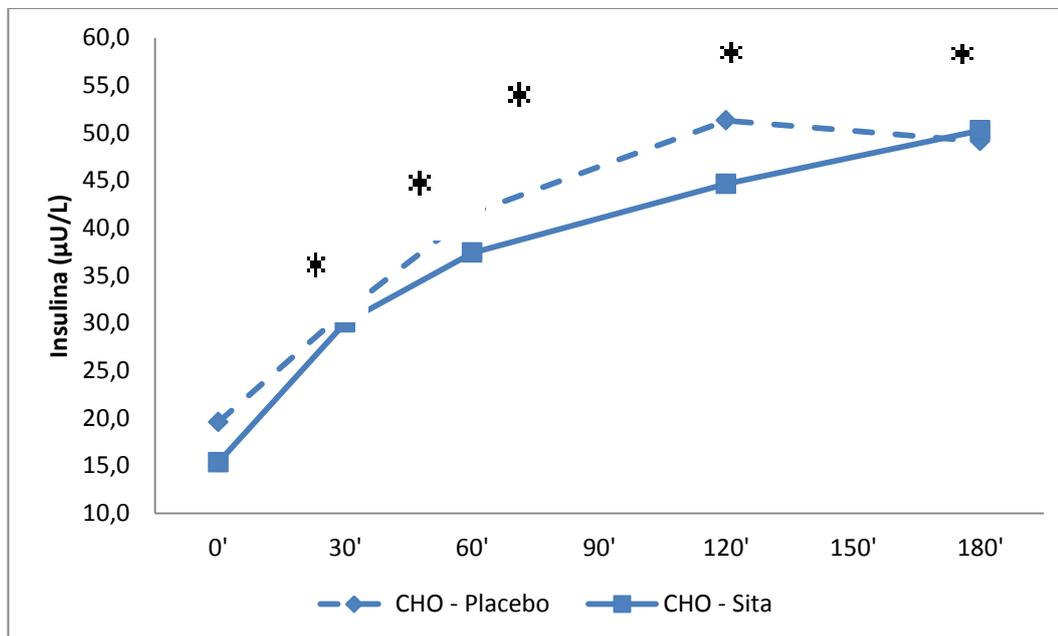


Figura 3B. Concentração de insulina é maior com a dieta CHO em relação à dieta LPD * $p < 0,05$ e há tendência de secreção de insulina maior com dieta CHO quando comparada à dieta PTN ($p = 0,063$)

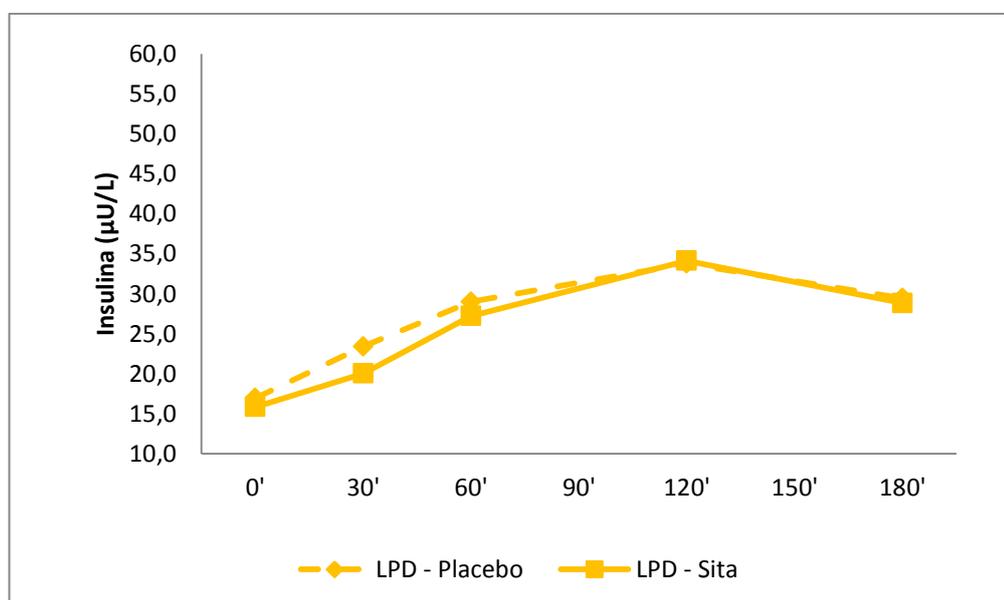


Figura 3C. Secreção de insulina é maior na dieta LPD nos tempos iniciais (0'30') quando comparada à dieta PTN

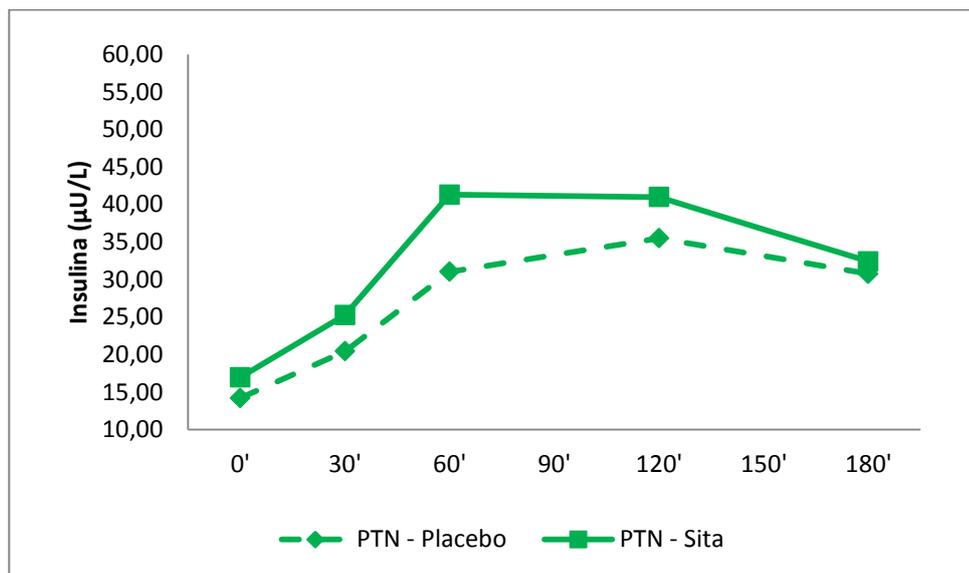


Figura 3D. Nos tempos 60' 120' e 180' a insulina é maior na dieta PTN em relação à dieta LPD ($p < 0,05$)

4.6 EFEITOS DAS DIETAS E DA DROGA SOBRE A CONCENTRAÇÃO DE PEPTÍDEO-C

Observa-se que durante a dieta CHO houve maior secreção de Peptídeo-C em relação à dieta PTN. A dieta LPD não difere significativamente das outras duas dietas (CHO e PTN) quanto à medida de Peptídeo-C, representado nos Apêndices 7 e 8 e Figuras 4A, 4B e 4C a seguir.

Não há diferença estatística entre placebo e sitagliptina quanto à concentração de Peptídeo-C.

Dependendo da dieta, houve diferenças na concentração de Peptídeo-C. A medida de Peptídeo-C é maior em todos os tempos na dieta CHO. Porém, entre as dietas LPD e PTN há mudança de Peptídeo-C ao longo do tempo. Nos tempos iniciais (0' e 30') e finais (120' e 180'), a medida

de Peptídeo-C é maior na dieta LPD do que na dieta PTN e no tempo 60' a medida de Peptídeo-C é maior na dieta PTN do que na dieta LPD.

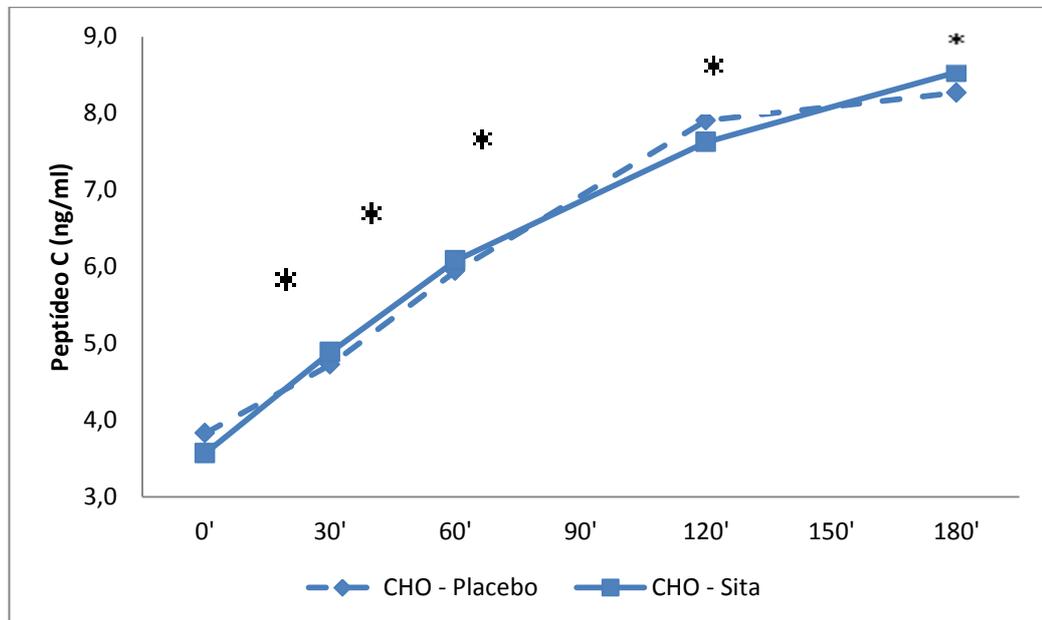


Figura 4A. Maior secreção de peptídeo-C em todos os tempos com a dieta CHO quando comparada com as dietas PTN e LPD* $p < 0,05$

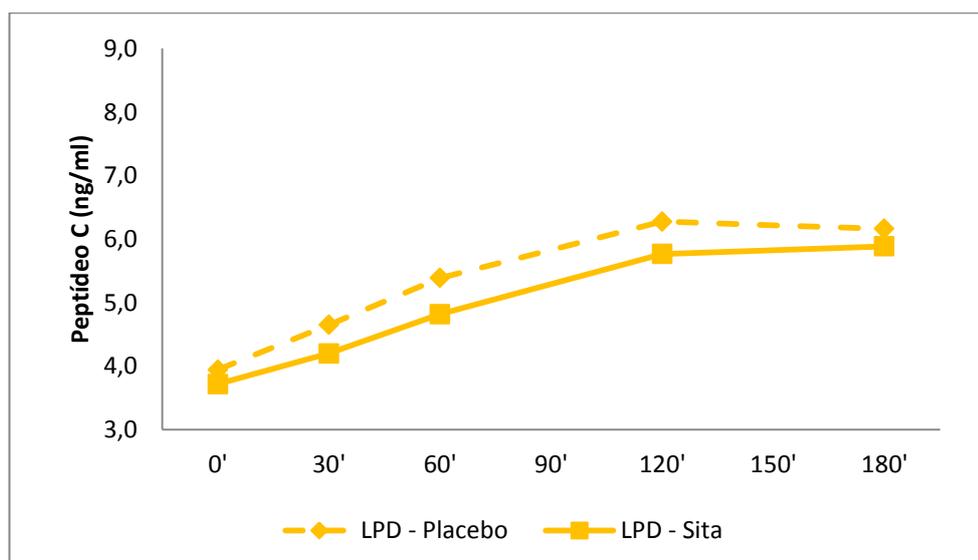


Figura 4B. Nos tempos iniciais (0' e 30') e finais (120' e 180'), a medida de Peptídeo-C é maior na dieta LPD do que na dieta PTN

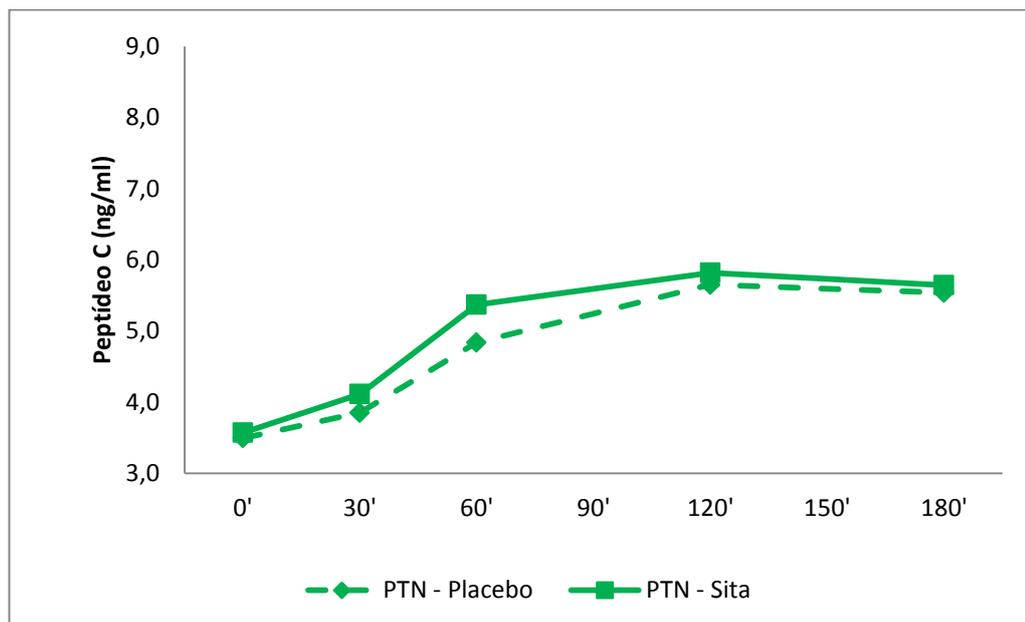


Figura 4C. No tempo 60' a medida de Peptídeo-C é maior na dieta PTN do que na dieta LPD

4.7. EFEITO DAS DIETAS E DA DROGA NA SECREÇÃO DE GLP-1

Nos resultados demonstrados nos Apêndices 9 e 10 e Figuras 5A, 5B, 5C, 5D e 5E observa-se que durante a dieta LPD a concentração de GLP-1 é significativamente maior em relação à dieta CHO.

Durante o uso de placebo e sitagliptina não houve diferença estatisticamente significativa quanto à concentração de GLP1.

A dieta demonstra ocasionar variação significativa na secreção de GLP1. A dieta LPD apresenta medida de GLP-1 maior em todos os tempos do que as outras duas dietas. A dieta CHO apresenta medida de GLP-1 menor em todos os tempos do que as outras duas dietas. Além disso, as

medidas de GLP-1 aumentam no tempo para as dietas LPD e PTN e diminui no tempo para a dieta CHO.

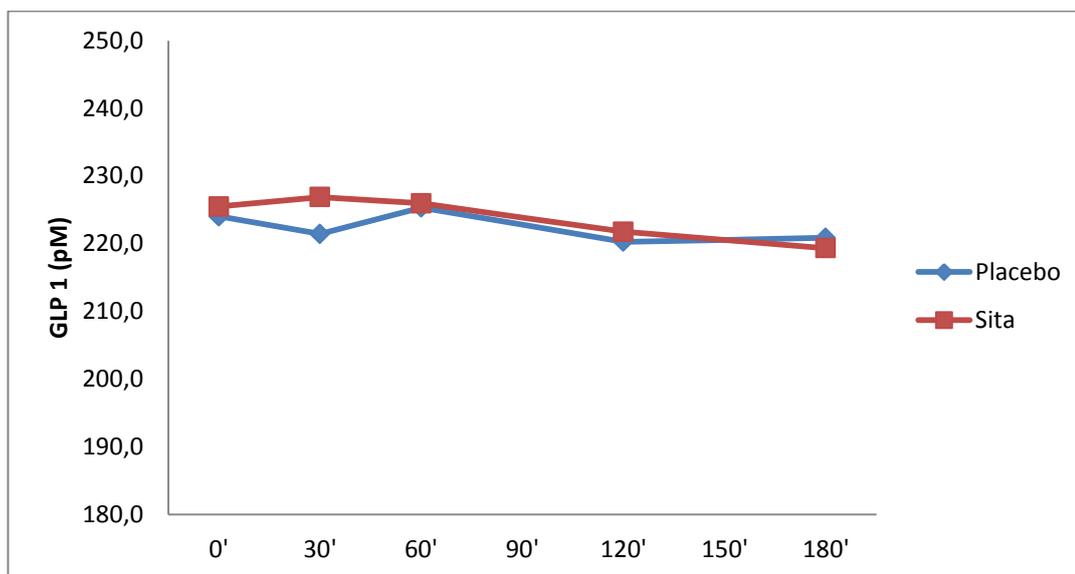


Figura 5A. Semelhante variação de GLP-1 no tempo com uso de placebo e sitagliptina com as três dietas

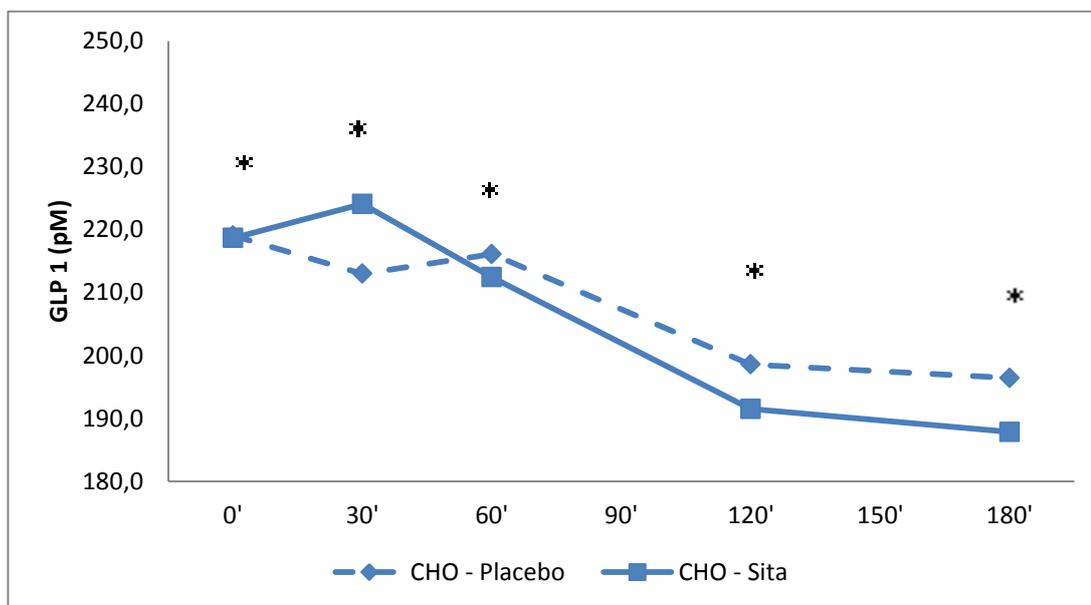


Figura 5B. As medidas de GLP1 diminuem no tempo com a dieta CHO.

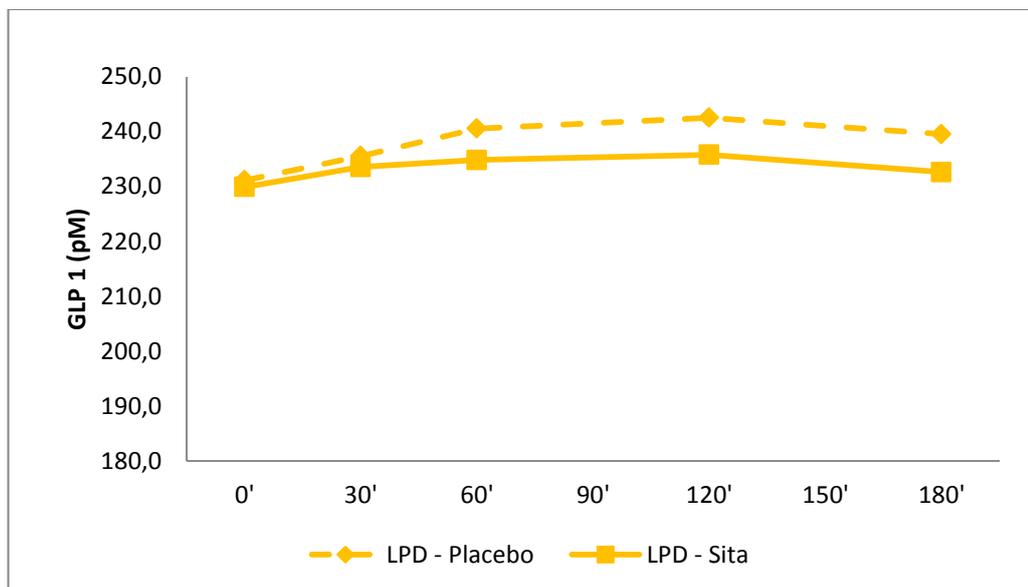


Figura 5C. A dieta LPD apresenta medida de GLP-1 maior do que as outras dietas

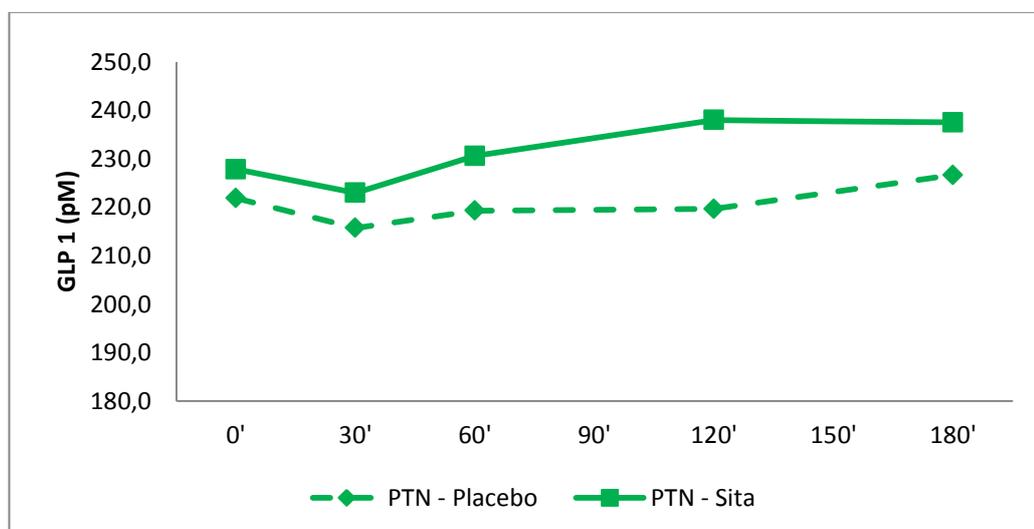


Figura 5D. Secreção de GLP-1 maior com dieta PTN em relação à dieta CHO (* $p < 0,05$) e menor do que a dieta LPD

Além disso, houve tendência ($p=0,065$) de que ocorra interação entre uso da sitagliptina e as três dietas. Assim, para comparar as mudanças nas medidas do GLP-1 entre os tempos 0' e 120' com sitagliptina para as diferentes dietas, utilizou-se a análise de variância para medidas repetidas.

Como demonstrado na Tabela 6 a seguir, verifica-se que existe diferença significativa entre as dietas para as medidas de GLP-1 entre os tempos 0' com placebo e 120' com sitagliptina. A dieta CHO difere das dietas LPD e PTN, pois é a única que apresenta queda significativa nas medidas do GLP-1 entre os tempos 0' com placebo e 120' com a droga. Por outro lado, as dietas LPD e PTN apresentam aumento nas medidas do GLP-1 entre os tempos 0' com placebo e 120' com sitagliptina, porém sem significância estatística.

Tabela 6. Comparação das mudanças nas medidas do GLP-1 entre os tempos 0' com placebo e 120' com sitagliptina para as dietas CHO, LPD e PTN

GLP-1 no tempo por droga	CHO	LPD	PTN
Tempo 0 – Placebo			
Média ± Desvio padrão	219,06 ± 54,56	231,15 ± 54,56	221,89 ± 50,66
Total	16	16	16
Tempo 120 –Sitagliptina			
Média ± Desvio padrão	191,5 ± 48,29	235,78 ± 48,7	238,03 ± 51,71
Total	16	16	16
Comparações	p		
Dieta	0,011		
CHO x LPD	0,046		
CHO x PTN	0,045		
LPD x PTN	1,000		
Tempo	0,758		
Dieta x Tempo	0,001		

A Figura 5E a seguir ilustra os resultados da Tabela 6.

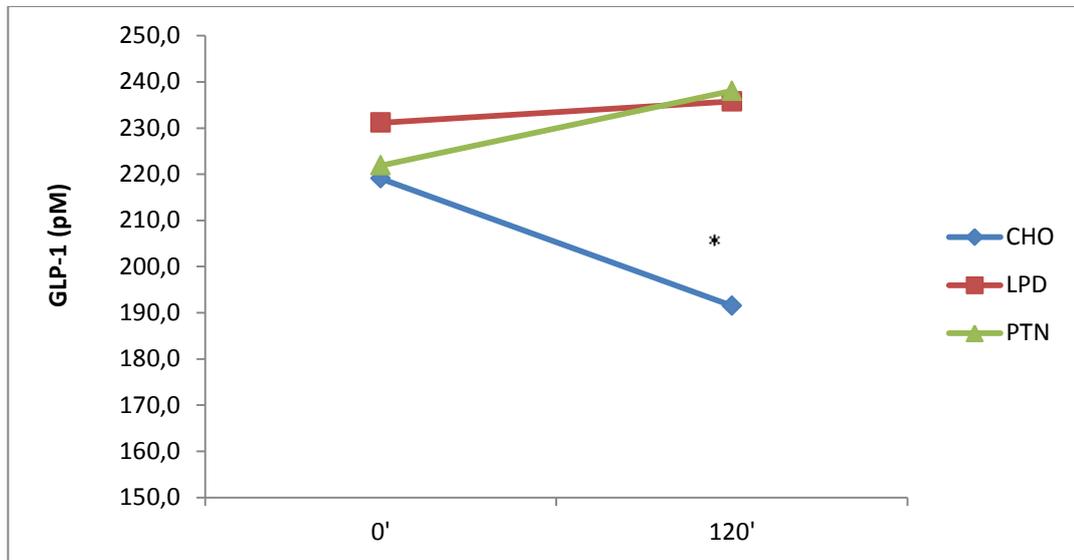


Figura 5E. Aumento de GLP-1 com as dietas LPD e PTN entre os tempos 0' e 120' com sitagliptina. Diminuição do GLP-1 com a dieta CHO em uso da droga entre os tempos 0' e 120' (*p<0,05)

4.8 EFEITO DE DIETA E DA DROGA SOBRE AS CONCENTRAÇÕES DE ÁCIDOS GRAXOS LIVRES

Nos Apêndices 11 e 12 e Figuras 6A, 6B, 6C e 6D a seguir, é demonstrado que durante o teste de dieta LPD a secreção de AGL é significativamente maior do que as dietas CHO e PTN.

Entre placebo e sitagliptina, não há diferença significativa quanto às concentrações de AGL, mesmo que a medida de AGL no tempo seja sempre maior com o uso do placebo do que com o uso da sitagliptina.

A queda de AGL no tempo depende da dieta do paciente, pois, apesar de haver queda de AGL nas três dietas, na dieta LPD a medida de AGL no tempo é maior do que nas dietas CHO e PTN.

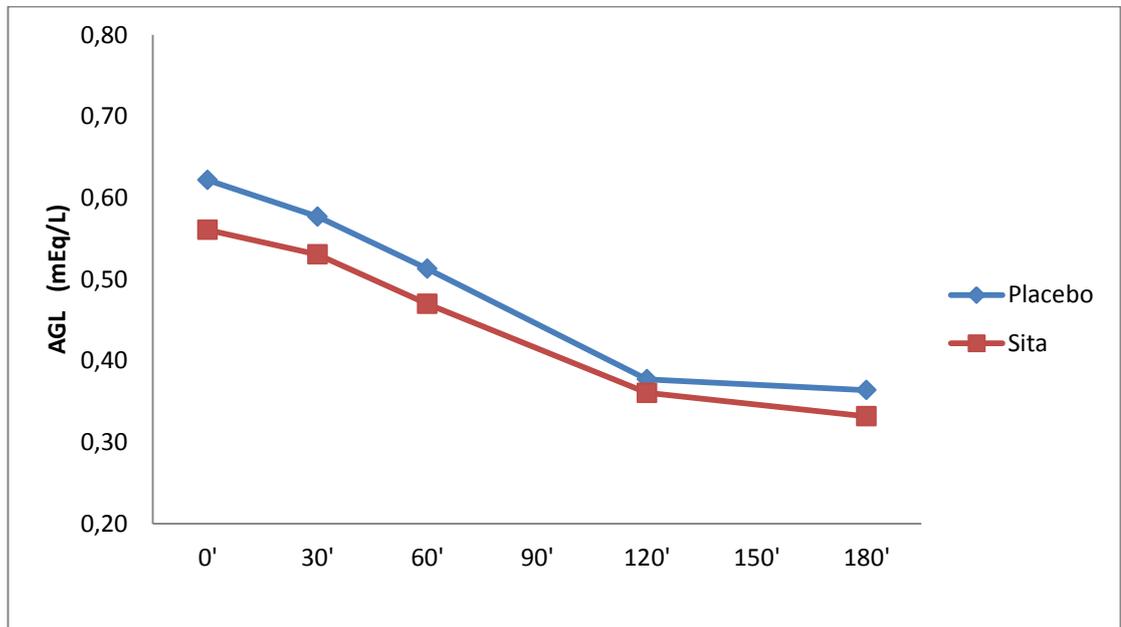


Figura 6A. Semelhante variação dos níveis de AGL com uso de placebo e sitagliptina com as três dietas

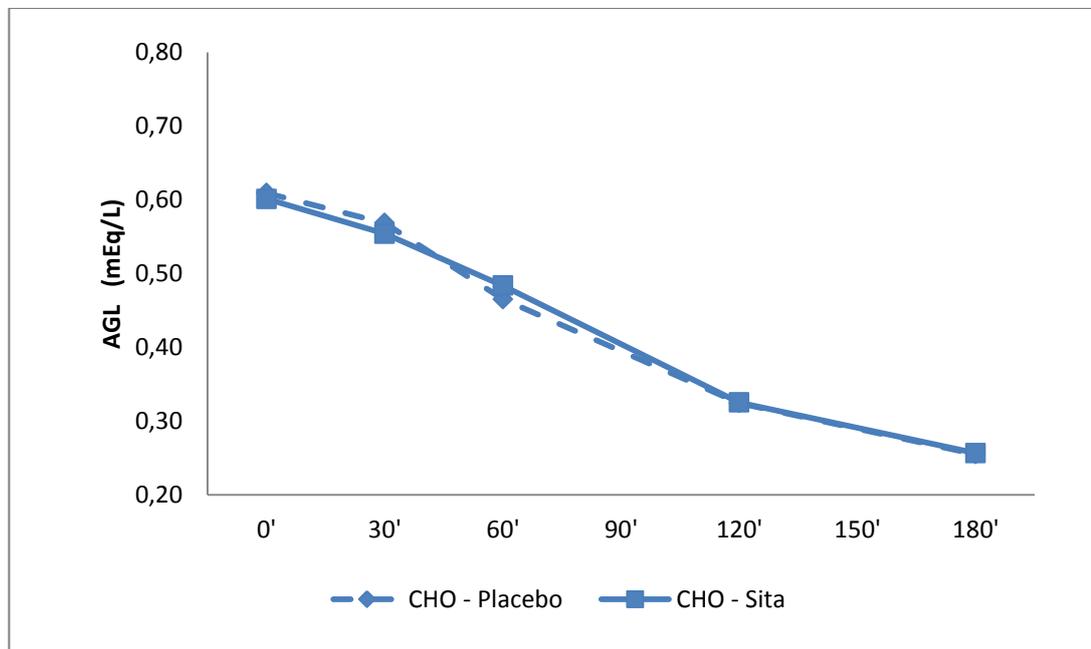


Figura 6B. Níveis de AGL após dieta CHO

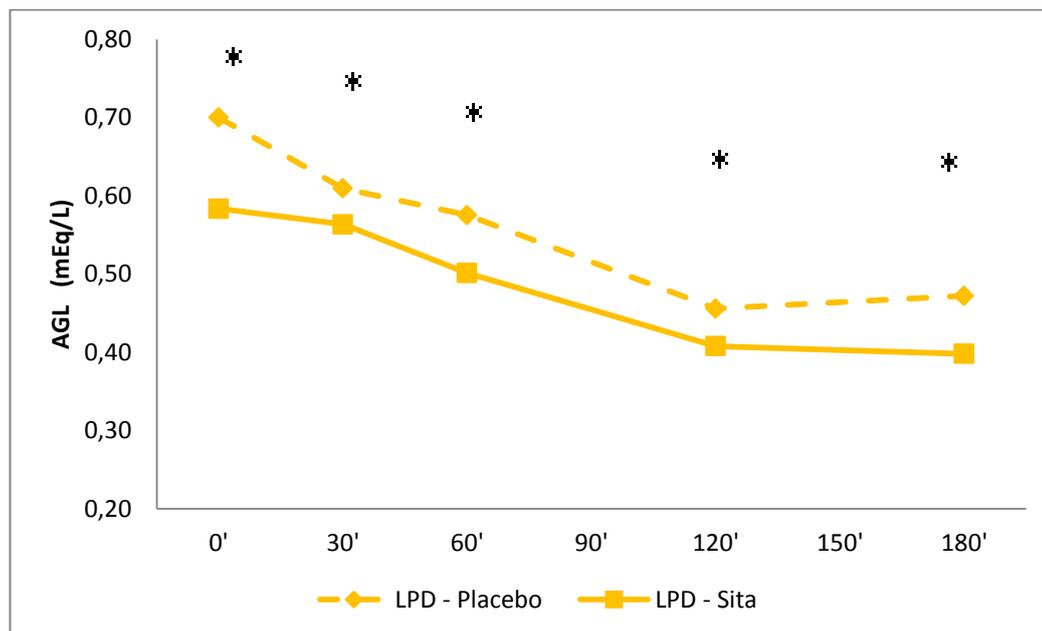


Figura 6C. Os níveis de AGL foram maiores após a dieta LPD quando comparada às dietas CHO e PTN * $p < 0,05$

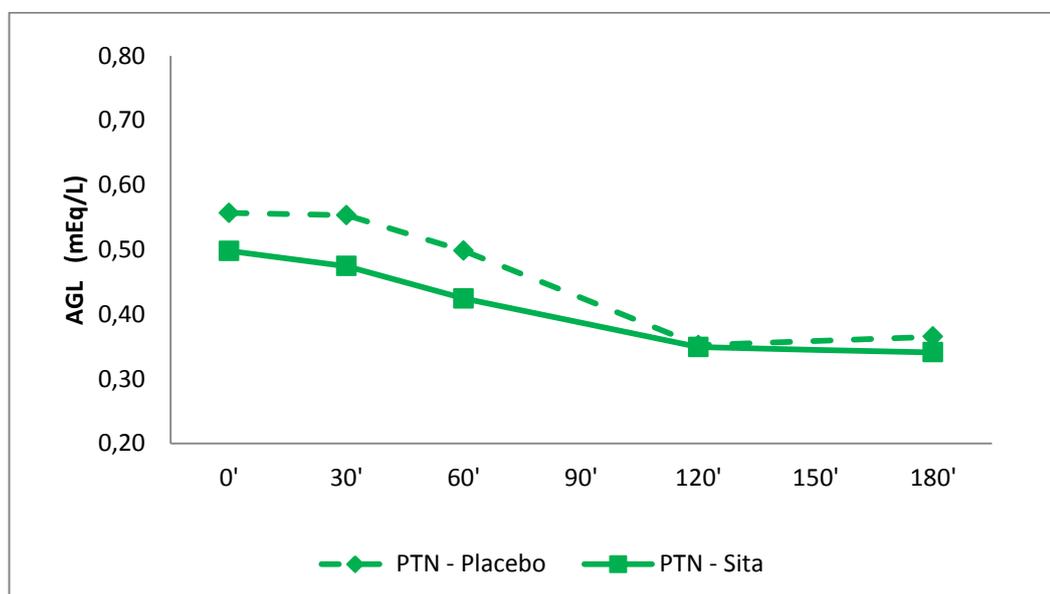


Figura 6D. Níveis de AGL após dieta PTN

5. Discussão

Este estudo demonstrou que a sitagliptina melhorou a glicemia de diabéticos tipo 2 recém-diagnosticados, independentemente da sobrecarga dietética utilizada. Além disso, provou que durante a sobrecarga hiperglicídica as glicemias são mais altas e que, durante o uso de sitagliptina, após a sobrecarga proteica as glicemias foram maiores quando se comparou à sobrecarga lipídica. Houve também diminuição de GLP-1 após a dieta CHO entre os tempos 0 e 120 minutos, mesmo com uso de sitagliptina e este decaimento foi significativo quando comparado às outras três dietas.

Sabe-se que, nos diabéticos tipo 2, a produção excessiva de glicose pelo fígado contribui para a hiperglicemia tanto pós-prandial quanto de jejum. Além disso, a concentração de glicose está inapropriadamente elevada e a supressão pela hiperglicemia da célula alfa, secretora de glucagon, inexistente. Assim, há maiores taxas de produção de glicose pelo fígado no estado de jejum e pós-prandial. Os inibidores da dipeptidil peptidase IV, como a sitagliptina, reduzem o glucagon no plasma, aumentam a secreção da insulina e induzem maior número de células L no intestino, produtoras de GLP-1, contribuindo assim com redução dos níveis glicêmicos ^(41,42).

No entanto, quando comparadas as curvas de glicemia após as três sobrecargas dietéticas, a dieta hiperglicídica demonstrou causar a maior curva glicêmica, mesmo com uso da sitagliptina. Estudos prévios demonstraram que a resposta glicêmica pós-prandial aos carboidratos é maior quando este prevalece na composição ^(43, 44).

Quanto ao glucagon, entre esses indivíduos estudados, tanto a sobrecarga proteica quanto a lipídica induziram maiores concentrações do hormônio quando comparadas à dieta hiperglicídica. Não houve diferença estatisticamente significativa nos níveis de glucagon entre placebo e sitagliptina. Porém, durante a dieta hiperproteica, o glucagon diminuiu significativamente após o tempo 60' com o uso de sitagliptina.

O glucagon, fisiologicamente, tem o papel de prevenir a possível hipoglicemia que acompanharia a elevação de insulina após a ingestão de proteína, no caso de ingestão de dieta sem hidratos de carbono⁽⁴⁴⁾. Estudos prévios demonstraram que pacientes diabéticos tipo 2 tiveram maiores concentrações de glucagon com a dieta rica em proteína. O efeito estimulante dos aminoácidos na secreção de glucagon é importante na homeostase da glicose, limitando a queda da glicemia causada por aumento da insulina em decorrência de sobrecarga proteica⁽⁴³⁾.

Nos pacientes diabéticos tipo 2 recém-diagnosticados, população estudada neste protocolo, os níveis de insulina e peptídeo C basais mantêm-se algo preservados, apesar de já diminuídos. A partir de nossa metodologia, observamos que a insulina esteve em níveis semelhantes quando usado placebo ou sitagliptina, mas que a dieta interferiu na secreção de insulina.

A dieta hiperglicídica elevou mais a insulina do que a dieta lipídica. Porém, entre os testes de dietas LPD e PTN, houve diferenças na secreção de insulina ao longo do tempo. Nos tempos iniciais (0' e 30') a secreção de

insulina foi maior na dieta LPD e nos tempos 60', 120' e 180' foi maior na dieta PTN do que na dieta LPD.

A insulina é secretada em pacientes saudáveis, de forma contínua após a ingestão ou administração de glicose, atingindo pico em 60 minutos e concomitantemente há queda dos níveis de hormônio de crescimento. O efeito da proteína quando somada à dieta rica em carboidrato seria o de aumentar a área de secreção de insulina em pacientes diabéticos, se comparado com o consumo de carboidrato isoladamente^(45, 46). Na nossa população a curva de insulina não foi diferente com a sobrecarga proteica, porém a glicemia foi menor com esta dieta e a curva de GLP-1 mais pronunciada.

Nos primeiros estudos de fisiologia, ainda em pacientes saudáveis, a ingestão de proteínas aumentou os níveis de insulina significativamente por ser o aminoácido que a constitui, estímulo à secreção do hormônio. Também ocorreu aumento da glicemia principalmente pela degradação dos aminoácidos, sendo que o aumento da secreção de insulina não esteve relacionado a mudanças na glicemia. Outros fatores influenciaram a secreção de insulina como, por exemplo, o aumento do hormônio do crescimento tardiamente após a refeição proteica^(47,48).

Em nosso estudo, a curva de ácidos graxos livres após dieta hiperlipídica foi menor com sitagliptina apesar de esse resultado não ter sido significativo quando comparado ao placebo.

Em estudo prévio, após sobrecarga hiperlipídica, os pacientes diabéticos não revelaram aumento da glicemia importante e houve

diminuição da curva de insulina⁽⁴⁹⁾. Dieta rica em gordura reduz o esvaziamento gástrico⁽⁵⁰⁾ sendo também o maior estímulo para a secreção de GIP^(51,52,53). Há relato de que a sitagliptina reduziu os níveis pós-prandiais de triglicérides, por aumentar os hormônios incretínicos, reduzindo ácidos graxos livres e melhorando sensibilidade a insulina e a função da célula beta⁽⁵⁴⁾.

Este estudo demonstrou uma tendência de interferência entre as três diferentes dietas e uso de sitagliptina ($p=0,065$) na secreção de GLP-1. Quando analisamos a diferença entre o tempo zero e 120 minutos nas três diferentes dietas, observou-se que com as sobrecargas proteica e lipídica há aumento do GLP-1 e na sobrecarga glicídica há uma diminuição do hormônio significativa no tempo 120 minutos, com o uso de sitagliptina.

O GLP-1 diminui a glicose plasmática com o aumento da secreção de insulina, diminuindo a liberação de glucagon e estimulando a utilização de glicose pelos tecidos periféricos^(55,56). Porém, para prever uma resposta normal ou anormal de GLP-1 em pacientes diabéticos tipo 2, dependemos do balanço individual de vários fatores como idade, secreção basal de AGL, peso do paciente e esvaziamento gástrico⁽⁵⁷⁾.

O efeito dos diferentes macronutrientes da dieta na glicemia e em outras secreções hormonais dos indivíduos diabéticos vem sendo estudado, com a finalidade de estabelecer melhores padrões alimentares no tratamento. Desde 1966, estuda-se qual o efeito de variados tipos de alimentos na secreção de insulina, peptídeo C, glucagon, glicemia, GLP-1 e

AGL⁽⁴⁷⁾ e a interferência dos variados tipos de dietas no peso, hemoglobina glicada e perfil lipídico de diabéticos.

Nos pacientes diabéticos, o efeito dos macronutrientes da dieta depende do tempo de diabetes, além de outros fatores como esvaziamento gástrico (presença de gastroparesia) e peso do paciente. Em pacientes diabéticos não insulino-pênicos, como os recém-diagnosticados, a resposta a insulina é semelhante aos indivíduos não diabéticos sendo maior quando há proteína na dieta. Em contraste, a sobrecarga lipídica não afeta a secreção de insulina da mesma forma⁽⁵⁸⁾. Além desses dados, revisão recente da literatura confirmou que, modificando a quantidade de macronutrientes da dieta dos diabéticos tipo 2, podemos melhorar o controle glicêmico, peso e o perfil lipídico⁵⁹.

Com sitagliptina, em ratos, houve supressão da lipólise, redução da gliconeogênese e da produção de glicose hepática consequentemente diminuindo a glicemia de jejum⁽⁶⁰⁾. Todos esses efeitos clínicos, no entanto não necessariamente devem-se ao GLP-1⁽⁶¹⁾. Estudo prévio demonstrou que a sitagliptina inibiu a produção de glicose endógena durante a refeição, a secreção de glucagon e melhorou a sensibilidade da célula beta e esses efeitos foram independentes do efeito incretino-mimético que não se alterou com uso de sitagliptina. Provavelmente o controle da glicose se deve, ao menos em parte, à diminuição da glicotoxicidade⁽⁶²⁾.

Outro achado importante é que a degradação do GLP-1 mediada por DPP-IV associada à liberação de outros dipeptídeos durante uma refeição pela atividade luminal e entérica da endopeptidase DPP-IV produziria uma

concentração importante de dipeptídeos para regular a secreção de glucagon⁽⁶³⁾. Essa observação também é consistente com achados prévios de que a liberação de dipeptídeos após a ingesta hiperproteica inibiria a atividade local da DPP-IV, aumentando o GLP-1 bioativo no intestino, regulando a glicemia e a saciedade⁽⁶⁴⁾.

Através do estudo de metodologias prévias^(65,66,67,68) e com o objetivo de controle dos possíveis vieses, buscamos homogeneizar ao máximo o grupo de pacientes, os três tipos de dieta, o tamanho da refeição, sua consistência, tempo de ingesta, dieta entre os testes, com o fornecimento de dietas congeladas, e a manutenção do peso dos pacientes.

Porém, como a população estudada apresentou nível mais baixo de hemoglobina glicada, nossos achados limitam-se a este subgrupo populacional. Além disso, o número de pacientes selecionados foi pequeno, devido à dificuldade para encontrar o diabético recém diagnosticado e sem tratamento. Outra limitação foi a impossibilidade de controlarmos a variável “esvaziamento gástrico”.

Apesar disto, neste protocolo, demonstramos pela primeira vez, interação farmacodinâmica entre a droga sitagliptina e a composição de macronutrientes da dieta influenciando no efeito final da droga, a diminuição da glicemia. Observou-se que durante a sobrecarga glicídica houve diminuição da concentração de GLP-1 significativa entre os tempos 0' e 120' e, mesmo com aumento da insulina e peptídeo-C naquele momento, as glicemias mostraram-se mais elevadas do que durante as outras dietas. Isso

ocorreu por provável influência negativa da sobrecarga glicídica no efeito metabólico desejado com o medicamento, sitagliptina.

Essa observação tem implicações clínicas importantes, pois, ao estudarmos a variação da secreção hormonal e glicemia sob efeito dos diversos macronutrientes, em estado de inibição da DPP-IV pela sitagliptina, podemos contribuir no entendimento dos mecanismos que levam ao controle terapêutico do diabetes *mellitus* por esta droga e demonstrar o efeito dos diversos macronutrientes da dieta durante este tratamento.

6. Conclusões

Houve diminuição da glicemia em todos os tempos com sitagliptina, independentemente da dieta testada.

Dieta rica em carboidrato diminuiu a secreção de GLP-1 em pacientes diabéticos tipo 2 recém-diagnosticados usando sitagliptina quando comparada a outras dietas.

Estes dados sugerem que a sitagliptina seja uma arma terapêutica complementar no tratamento do Diabetes Tipo 2.

7. Referências

1. Whiting DR, Guariguata L, Weil C, Shaw J. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diab Research ClinPract.* 2011;94:311-321.
2. Holman N, Forouhi NG, Goydert E, Wild SH. The association of APHO Diabetes Prevalence Model: estimates of total diabetes prevalence for England, 2010-2030. *Diabet Med.* 2011; 28:575-582.
3. Dias JCR, Campos JADB. Diabetes mellitus: razão de prevalências nas diferentes regiões geográficas no Brasil entre 2002 e 2007. *Ciência e Saúde Coletiva.* 2012; 17: 239-244.
4. American Diabetes Association – Position Statement. Diagnosis and classification of diabetes. *Diabetes Care.* 2012; 35: suppl 1.
5. Lipska KJ, De Rekeneire N, Van Ness PH, Johnson KC, Kanaya A, Koster A, Strotmeyer ES, Goodpaster BH, Harris T, Gill TM, Inzuchi SE,. Identifying Dysglycemic states in older adults: implications of the emerging use of hemoglobin A1C. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010; 95:5289-5295.
6. Tábak AG, Jokela, M, Akbaraly TN, Brunner EJ, Kivimäki M, Witte DR. Trajectories of glycaemia, insulin sensitivity, and insulin secretion before diagnosis of type 2 diabetes: an analysis from the Whitehall study. *Lancet.* 2009; 373:2215-2221.
7. Festa A, Willians K, Hanley AJG, Haffner SM. Beta cell dysfunction in subjects with impaired glucose tolerance and early type 2 diabetes. *Diabetes.* 2008; 57:1638-44.
8. U.K. prospective diabetes study 16. Overview of 6 years' therapy of type II diabetes: a progressive disease. U.K. Prospective Diabetes Study Group. *Diabetes.* 1995; 44:1249-58.

9. Karmakar RN, Khandakar MR, Gangopadhyay PK, Ghosh K, Babu AS. Albuminuria and neuropathy in newly detected diabetics: profile and correlation. *J Indian Med Assoc.* 2011; 109: 396-9.
10. Koopman JR, Mainous III AG, Liska HA, Colwell JA, Slate EH, Carnemolla MA, Everett CJ. Evidence of nephropathy and peripheral neuropathy in US adults with undiagnosed Diabetes. *Ann Fam Med.* 2006; 4: 427-32.
11. Ferrannini E, Nannipieri M, Williams K, Gonzales C, Haffner SM, Stern MP. Mode of onset of type 2 diabetes from normal or impaired glucose tolerance. *Diabetes.* 2004; 53: 160-3.
12. Del Prato S, Tiengo A. The importance of first-phase insulin secretion: implications for the therapy of type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Metab Res Rev* 2001; 17: 1164-174.
13. Wajchenberg BL. Beta cell failure in diabetes and preservation by clinical treatment. *Endocr Rev.* 2007; 28: 187-218.
14. Ebrick 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.
15. Drucker DJ. Enhancing incretin action for the treatment of type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2003; 26: 2928-40.
16. Hansen L, Holst JJ. The effects of duodenal peptides on glucagon-like peptide-1 secretion from the ileum: A duodeno-ileal loop? *Regul Pep.* 2002; 110: 39 – 45.
17. Deacon CF. Circulation and degradation of GIP and GLP-1. *Horm Metab Res.* 2004; 36:761-765.
18. Vahl TP, Paty BW, Fuller BD, Prigeon RL, D'Alessio DA. Effects of GLP-1-(7-36) NH₂, GLP-1-(7-37), and GLP-1-(9-36)NH₂ on intravenous glucose tolerance and glucose-induced insulin secretion in healthy humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003; 88:1772-9.

19. Mentlein R. Dipeptidyl-peptidase IV (CD26) – role in the inactivation of regulatory peptides. *Regul Pept.* 1999; 85:9-24.
20. Muscelli E, Casolaro A, Gastaldelli A, Mari A, Seghieri G, Astiarraga B, Chen Y, Alba M, Holst J, Ferrannini E. Mechanisms for the antihyperglycemic effect of sitagliptin in patients with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012; 97: 2818-26.
21. Rizzo MR, Barbieri M, Marfella R, Paolisso G. Reduction of oxidative stress and inflammation by blunting daily acute fluctuations in patients with type 2 diabetes- role of dipeptidyl peptidase-IV inhibition. *Diabetes Care.* 2012; 35: 2076-82.
22. Miller S, St Onge EL. Sitagliptin: a dipeptidyl peptidase IV inhibitor for the treatment of type 2 diabetes. *Ann Pharmacother.* 2006; 40:1336-43.
23. Dicembrini I, Pala L, Rotella CM. From theory to clinical practice in the use of GLP-1 receptor agonist and DPP-4 inhibitors therapy. *Exp Diabetes Res.* 2011; article id: 898913; doi:10.1155/2011/898913
24. Zerilli T, Pyon EY. Sitagliptin phosphate: a DPP-IV inhibitor for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Clin Ther.* 2007; 29: 2614-34.
25. Ahrén B, Simonsson E, Larsson H, Landin-Olsson M, Torgeirsson H, Jansson PA, Sandqvist M, Bavenholm P, Efendic S, Eriksson JW, Dickinson S, Holmes D. Inhibition of dipeptidyl peptidase IV improves metabolic control over a 4-week study period in type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2002; 25:869-875.
26. Ahrén B, Landin-Olsson M, Jansson PA, Svensson M, Holmes D, Schweizer A. Inhibition of dipeptidyl peptidase-4 reduces glycemia, sustains insulin levels, and reduces glucagon levels in type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89:2078-2084.
27. Mu J, Woods J, Zhou Y-P, Roy RS, Li Z, Zycband E, Feng Y, Zhu L, Li C, Howard AD, Moller DE, Thornberry NA, Zhang BB. Chronic inhibition of Dipeptidyl peptidase –4 with a Sitagliptin analog preserves

- pancreatic β -cell mass and function in a rodent model of type 2 diabetes. *Diabetes*. 2006; 55:1695-704.
28. Herman GA, Stevens C, Van Dyck K, Bergman A, Yi B, De Smet M, Snyder K, Hilliard D, Tanen M, Tanaka W, Wang AQ, Zeng W, Musson D, Winchell G, Davies MJ, Ramael S, Gottesdiener KM, Wagner JA. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of Sitagliptin, an inhibitor of dipeptidyl peptidase IV, in healthy subjects: results from two randomized, double-blind, placebo-controlled studies with single oral doses. *Clin Pharmacol Ther*. 2005; 78:675-688.
 29. Aschner P, Kipnes M, Lunceford J, Mickel C, Davies M, Williams-Herman D. Sitagliptin monotherapy improved glycemic control in the fasting and postprandial states and beta-cell function after 24 weeks in patients with type 2 diabetes(T2DM). *Diabetes Care*. 2006; 26:32-37.
 30. Xu L, Dalla Man CD, Cobelli C, Williams-Herman D, Meininger G, Stein P. Effect of sitagliptin, a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, on beta-cell function in patients with type 2 diabetes: a model-based approach. *Diabetes Obes Metab*. 2008; 10: 1212-20.
 31. Sangle GV, Lauffer LM, Grieco A, Trivedi S, Iakoubov R, Brubaker PL. Novel biological action of the Dipeptidyl peptidase-IV inhibitor, Sitagliptin, as a Glucagon-Like Peptide 1 secretagogue. *Endocrinol*. 2012; 153: 564-573.
 32. Lejeune PGMM, Westerterp KR, Adam TCM, Luscombe-Marsh ND, Westerterp-Plantenga MS. Ghrelin and glucagon-like peptide 1 concentrations, 24-h satiety and energy and substrate metabolism during a high-protein diet and measured in a respiration chamber. *Am J Clin Nutr*. 2006; 83:89-94.
 33. Brynes AE, Frost GS, Edwards CMB, Ghatei MA, Bloom SR. Plasma glucagon-like peptide-1 (7-36) amide (GLP-1) response to liquid phase, solid phase, and meals of differing lipid composition. *Nutrition*. 1998; 14: 433-436.

34. Thomsen C, Storm H, Holst JJ, Hermansen K. Differential effects of saturated and monounsaturated fats on postprandial lipemia and glucagon-like peptide 1 responses in patients with type 2 diabetes. *Am J Clin Nutr.* 2003; 605-11.
35. Duncombe WG. The colorimetric micro-determination of non-esterified fatty acids in plasma. *Clin Chim Acta.* 1964; 122-125.
36. Morgan CR, Lazarow A. Imunoassay of insulin: Two antibody system. Plasma insulin levels in normal, subdiabetic and diabetic rats. *Diabetes.* 1963; 115-126.
37. Feldman H, Rodbard D. Mathematical theory of radioimmunoassay, in: WD Odell, Doughaday WH, editors. Principles of Competitive Protein-Binding Assays. J.B. Leppincott Company: Philadelphia; 1971. p. 158 – 203.
38. Nathan DM, Schreiber E, Fogel H, Mojsov S, Hebener JF. Insulinotropic action of Glucagon-like peptide 1(7-37) in Diabetic and non diabetic subjects. *Diabetes Care.* 1992; 15: 270-276.
39. Burtis AC, Ashwood. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 2nd ed. WB Saunders Company :WB Saunders Company;1994.
40. Clark PM. Assays for insulin, proinsulin(s) and C-peptide. *Ann Clin Biochem.* 1999; 332: 1144.
41. D'Alessio D. The role of dysregulated glucagon secretion in type 2 diabetes. *Diab Ob Metab.* 2011; 13 (Suppl.1): 126- 132.
42. Sangle GV, Lauffer LM, Grieco A, Trivedi D, Iakoubov R, Brubaker PL. Novel biological action of the dipeptidylpeptidase-IV inhibitor, sitagliptin, as a glucagon-like peptide-1 secretagogue. *Endocrinol.* 2012;153: 564-73.
43. Nordt TK, Besenthal I, Eggstein M, Jakober B. Influence of breakfasts with different nutrient contents on glucose, C peptide, insulin, glucagon, triglycerides, and GIP in non-insulin-dependent diabetics. *Am J Clin Nutr.*1991; 53: 155-60.

44. Felig P, Wahren J, Scherwin R, Hendler R. Insulin, glucagon and somatostatin in normal physiology and diabetes mellitus. *Diabetes*. 1976; 25:1091-9.
45. Rabinowitz D, Merimee TJ, Maffezzoli R, Burgess JA. Patterns of hormonal release after glucose, protein, and glucose plus protein. *Lancet*. 1966; 2:454-6.
46. Nutall FQ, Mooradian AD, Gannon MC, Billington C, Krezowski P. Effect of protein ingestion on the glucose and insulin response to a standardized oral glucose load. *Diabetes Care*. 1984; 7: 465-70.
47. Floyd JJC, Fajans SS, Conn JW, Knopf RF, Rull JA. Insulin secretion in response to protein. *J Clin Inv*. 1966; 45 (9): 1479-1485.
48. Knopf RF, Conn JW, Fajans SS, Floyd JJC, Guntsche EM, Rull JA. Plasma growth hormone response to intravenous administration of aminoacids. *J Clin Endocr*. 1965, 25, 1140.
49. Nordt TK, Besenthal I, Eggstein M, Jakober B. Influence of breakfasts with different nutrient contents on glucose, C peptide, insulin, glucagon, triglycerides, and GIP in non-insulin-dependent diabetics. *Am J Clin Nutr*. 1991; 53: 155-60.
50. Thomas JE. Mechanics and regulation of gastric emptying. *Physiol Rev*. 1957; 37: 453-74.
51. Collier G, O'Kea K. The effect of coingestion of fat on the glucose, insulin and gastric inhibitory polypeptide responses to carbohydrate and protein. *Am J Clin Nutr*. 1983; 37: 941-4.
52. Brown JC, Dryburgj JR, Ross SE, Dupre J. Identification and actions of gastric inhibitory polypeptide. *Recent Prog Horm Res*. 1975; 31: 487-532.
53. Falko JM, Crockett SE, Cataland S, Mazzaferri EL. Gastric inhibitory polypeptide (GIP) stimulated by fat ingestion in man. *J Clin Endocrinol Metab*. 1975; 41: 260-5.

54. Tremblay AJ, Lamarche B, Deacon CF, Weisnagel SJ, Couture P. Effect of Sitagliptin therapy on postprandial lipoprotein levels in patients with type 2 diabetes. *Diab Ob Metab.* 2011; (13) 366-373.
55. Gutniak M, Orskov C, Holst JJ, Ahren B, Efendic S. Antidiabetogenic effect of glucagon-like peptide 1 (7-36) in normal subjects and patients with diabetes mellitus. *N Eng J Med.* 1992; 326: 1316-22.
56. D'Alessio DA, Kahn SE, Leusner CR, Ensink JW. Glucagon like peptide 1 enhances glucose tolerance both by stimulation of insulin release and by increasing insulin-independent glucose disposal. *J Clin Invest.* 1994; 93: 2263-66.
57. Nauck MA, Vardarli I, Deacon CF, Holst JJ, Meier JJ. Secretion of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) in type 2 diabetes: what is up, what is down? *Diabetologia.* 2011; 54: 10-18.
58. Simpson RW, McDonald J, Wahlqvist ML, Atley L, Outch K. Macronutrients have different metabolic effects in nondiabetics and diabetics. *Am J Clin Nutr.* 1985; 449-453.
59. Ajala O, English P, Pinkney J. Systematic review and meta-analysis of different dietary approaches to the management of type 2 diabetes. *Am J Clin Nutr.* 2013; 97: 505-16.
60. Lu Y, Zhou D, Zhai H, Wu H, Guo Z. Decreased hepatic glucose production in obese rats by dipeptidyl peptidase-IV inhibitor Sitagliptin. *Chin Med J.* 2012; 125: 1690-94.
61. Nauck MA, El Ouaghli A. The therapeutic actions of DPP-IV inhibition are not mediated by glucagon-like peptide-1. *Diabetologia.* 2005; 48: 608-11.
62. Muscelli E, Casolaro A, Gastaldelli A, Mari A, Seghieri G, Astiarraga B, Chen Y, Alba M, Holst J, Ferrannini. Mechanism for the antihyperglycemic effect of Sitagliptin in patients with type 2 diabetes. *J Clin EndocrinolMetab.* 2012; 97: 2818-26.

63. Waget A, Cabou C, Masseboeuf M, Cattan P, Armanet M, Karaca M, Castel J, Garret C, Payros G, Maida A, Sulpice T, Holst JJ, Drucker D, Magnan C, Burcelin R. Physiological and pharmacological mechanisms through which the DPP-4 inhibitor Sitagliptin regulates glycemia in mice. *Endocrinol.* 2011; 152:3018-29.
64. Gunarsson PT, Winzel MS, Deacon CF, Larsen MO, Jelic K, Carr RD, Ahrén B. Glucose-induced incretin hormone release and inactivation are differently modulated by oral fat and protein in mice. *Endocrinol.* 2006; 147:3173-80.
65. Thomsen C, Rasmussen O, Lousen T, Fenselau S, Schrezenmeir J, Hermansen K. Differential effects of saturated and monounsaturated fatty acids on postprandial lipemia and incretin responses in healthy subjects. *Am J Clin Nutr.* 1999; 69:1135-43.
66. Vilsboll T, Krarup T, Sonne J, Madsbad S, Volund A, Juul AG, Holst JJ. Incretin secretion in relation to meal size and body weight in healthy subjects and people with type 1 and type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003; 88:2706-13.
67. Galgani J, Aguirre C, Díaz E. Acute effect of meal glycemic index and glycemic load on blood glucose and insulin responses in humans. *Nutr J.* 2006; 5:22.
68. Lairon D, Lopez-Miranda J, Williams C. Methodology for studying postprandial lipid metabolism. *Eur J Clin Nutr.* 2007; 61:1145-61.

8. Apêndice

APÊNDICE 1. Análise descritiva da área sob a curva de GLICEMIA por Dieta e Droga e resultado da Análise de Variância para medidas Repetidas.

AUC pordieta e droga	GLICEMIA		Placebo			Sita		
			CHO	LPD	PTN	CHO	LPD	PTN
Média	±	Desvio	11186,3 ±	1484,1 ±	1903,1 ±	9090,9 ±	1693,1 ±	2895 ±
padrão			5363	2782	2688,3	4195,1	2910	2213,4
Total			16	16	16	16	16	16
Comparações		p-valor						
Dieta		<0,001						
Droga		0,702						
Dieta x Droga		0,079						

APÊNDICE2. Análise descritiva de GLICEMIA por Droga, Dieta e Tempo e resultado da Análise de Variância para medidas Repetidas

GLICEMIA droga,dieta e tempo	por	Placebo			Sitagliptina		
		CHO	LPD	PTN	CHO	LPD	PTN
0'							
Média ± Desvio padrão		160,94 ± 55,58	164,38 ± 54,45	153,44 ± 51,51	142,31 ± 38,92	136,13 ± 35,05	135,25 ± 34,79
Total		16	16	16	16	16	16
30'							
Média ± Desvio padrão		186,5 ± 48,86	167,38 ± 53,76	152,69 ± 46,51	167,38 ± 39,39	140,63 ± 35,96	143,06 ± 41,33
Total		16	16	16	16	16	16
60'							
Média ± Desvio padrão		232,94 ± 53,39	176,44 ± 56,21	168,31 ± 46,77	200,88 ± 56,94	149,25 ± 41,53	160,5 ± 49,23
Total		16	16	16	16	16	16
120'							
Média ± Desvio padrão		245,81 ± 62,59	177,94 ± 56,2	171,31 ± 51,09	207,44 ± 67,27	149,81 ± 44,88	156,63 ± 47,41
Total		16	16	16	16	16	16
180'							
Média ± Desvio padrão		230,5 ± 74,56	165,63 ± 50,93	159,56 ± 51,67	202,19 ± 68,02	141 ± 41,71	143,31 ± 42,82
Total		16	16	16	16	16	16

ANOVA paramedidasrepetidas p-valor

GLICEMIA

Dieta	<0,001*
CHO X LPD	<0,001#
CHO X PTN	<0,001#
LPD X PTN	0,666
Droga	<0,001*
Tempo	<0,001*
0' X 30'	0,006+
0' X 60'	<0,001+
0' X 120'	<0,001+
0' X 180'	0,003+
30' X 60'	<0,001+
30' X 120'	0,004+
30' X 180'	0,450
60' X 120'	1,000
60' X 180'	1,000
120' X 180'	0,005+
Dieta X Droga	0,030*
Dieta X Tempo	0,001*
Droga X Tempo	0,435
Droga X Dieta X Tempo	0,198

*Diferença significativa ao nível de 5%. #Diets que diferem ao nível de significância de 5%.

+Tempos que diferem ao nível de significância de 5%.

APÊNDICE3. Análise descritiva da área sob a curva de GLUCAGON por Dieta e Droga e resultado da Análise de Variância para medidas Repetidas

AUC GLUCAGON por dieta e droga	Placebo			Sita		
	CHO	LPD	PTN	CHO	LPD	PTN
Média ± Desvio padrão	-1907 ± 1647,2	1753,4 ± 1872,7	2470,3 ± 1824,4	-1926,8 ± 1730,9	1472,5 ± 2443,6	2809,8 ± 2496,2
Total	16	16	16	16	16	16
Comparações	p-valor					
Dieta	<0,001					
Droga	0,976					
Dieta x Droga	0,652					

APÊNDICE4. Análise descritiva de GLUCAGON por Droga, Dieta e Tempo e resultado da Análise de Variância para medidas Repetidas

GLUCAGON por droga, dieta e tempo			Placebo			Sita		
			CHO	LPD	PTN	CHO	LPD	PTN
0'								
Média	±	Desvio	76,43 ±	75,69 ±	66,55 ±	74,35 ±	74,76 ±	68,84 ±
padrão			32,84	33,54	27,08	23,94	28,42	28,47
Total			16	16	16	16	16	16
30'								
Média	±	Desvio	78,38 ±	83,21 ±	74,27 ±	78,21 ±	81,06 ±	78,13 ±
padrão			35,78	33,47	26,28	29,28	29,35	29,99
Total			16	16	16	16	16	16
60'								
Média	±	Desvio	72,69 ±	87,19 ± 31	86,1 ±	69,44 ±	84,28 ±	93,66 ±
padrão			30,39		26,61	24,79	32,16	34,7
Total			16	16	16	16	16	16
120'								
Média	±	Desvio	56,65 ±	86,17 ±	80,06 ±	53,99 ±	84,04 ±	84,92 ±
padrão			29,1	31,38	31,41	21,84	29,71	29,13
Total			16	16	16	16	16	16
180'								
Média	±	Desvio	56,09 ±	88,44 ±	84,84 ±	54,35 ±	84,7 ±	83,81 ±
padrão			29,26	33,94	34,95	22,22	32,53	29,49
Total			16	16	16	16	16	16

ANOVA**paramedidasrepetidas****p-valor****GLUCAGON**

Dieta	<0,001<0,001*
CHO X LPD	<0,001[#]
CHO X PTN	<0,001[#]
LPD X PTN	0,565
Droga	0,908
Tempo	0,002*
0' X 30'	0,196
0' X 60'	0,016⁺
0' X 120'	1,000
0' X 180'	1,000
30' X 60'	0,534
30' X 120'	0,148
30' X 180'	1,000
60' X 120'	<0,001⁺
60' X 180'	0,073
120' X 180'	1,000
Dieta X Droga	0,087
Dieta X Tempo	<0,001*
Droga X Tempo	0,726
Droga X Dieta X Tempo	0,370

*Diferença significativa ao nível de 5%.

[#]Dietas que diferem ao nível de significância de 5%.⁺Tempos que diferem ao nível de significância de 5%.

APÊNDICE 5 – Análise descritiva da área sob a curva de INSULINA por Dieta e Droga e resultado da Análise de Variância para medidas Repetidas

AUC INSULINA por dieta e droga	Placebo			Sita		
	CHO	LPD	PTN	CHO	LPD	PTN
Média ± Desvio padrão	4128,4 ± 2985,9	2121,5 ± 1310,2	2721,9 ± 2097,4	4236,8 ± 2087,4	2067,8 ± 1618,8	3246,7 ± 2455
Total	16	16	16	16	16	16
Comparações	p-valor					
Dieta	0,001					
Droga	0,555					
Dieta x Droga	0,697					

APÊNDICE 6 – Análise descritiva de INSULINA por Droga, Dieta e Tempo e resultado da Análise de Variância para medidas Repetidas

INSULINA droga, dieta e tempo	por	Placebo			Sita			
		CHO	LPD	PTN	CHO	LPD	PTN	
0'								
Média	±	Desvio	19,59 ±	16,96 ±	14,21 ±	15,36 ±	15,84 ±	16,98 ±
padrão			14,04	10,22	7,74	8,19	8,24	11,49
Total			16	16	16	16	16	16
30'								
Média	±	Desvio	31,28 ±	23,42 ±	20,44 ±	30,08 ±	20,04 ± 9,2	25,26 ±
padrão			16,49	17,27	11,97	12,84		16,38
Total			16	16	16	16	16	16
60'								
Média	±	Desvio	41,59 ±	29,01 ±	31,03 ±	37,41 ±	27,22 ±	41,31 ±
padrão			17,13	15,01	16,96	12,36	14,18	24,77
Total			16	16	15	16	16	16
120'								
Média	±	Desvio	51,29 ±	33,79 ±	35,5 ±	44,64 ±	34,13 ±	40,99 ±
padrão			25,93	16,77	20,54	16,39	21,73	29,41
Total			16	16	16	16	15	16
180'								
Média	±	Desvio	49,13 ±	29,46 ±	30,76 ±	50,26 ±	28,85 ±	32,41 ±
padrão			23,7	14,29	21,1	25,27	14,89	20,99
Total			16	16	16	16	15	16
ANOVA paramedidasrepetidas		p-valor						
<i>INSULINA</i>								
Dieta		0,005*						
CHO X LPD		0,003[#]						
CHO X PTN		0,063						
LPD X PTN		0,700						
Droga		0,756						
Tempo		<0,001*						
0' X 30'		0,007⁺						
0' X 60'		<0,001⁺						
0' X 120'		<0,001⁺						
0' X 180'		<0,001⁺						
30' X 60'		<0,001⁺						
30' X 120'		0,001⁺						
30' X 180'		0,016⁺						
60' X 120'		0,128						
60' X 180'		1,000						
120' X 180'		1,000						
Dieta X Droga		0,158						
Dieta X Tempo		0,007*						
Droga X Tempo		0,666						
Droga X Dieta X Tempo		0,314						

*Diferença significativa ao nível de 5%.

[#]Dietas que diferem ao nível de significância de 5%.

⁺Tempos que diferem ao nível de significância de 5%.

APÊNDICE7 –Análise descritiva da área sob a curva de PEPTÍDEO C por Dieta e Droga e resultado da Análise de Variância para medidas Repetidas

AUC PEPTÍDEO C por dieta e droga	Placebo			Sita		
	CHO	LPD	PTN	CHO	LPD	PTN
Média ± Desvio padrão	499,5 ± 386,8	292,6 ± 193,2	261,8 ± 134,1	545,1 ± 270,6	239,3 ± 137,3	294,6 ± 182,6
Total	16	16	16	16	16	16
Comparações	p-valor					
Dieta	0,002					
Droga	0,806					
Dieta x Droga	0,509					

APÊNDICE 8 – Análise descritiva de PEPTÍDEO C por Droga, Dieta e Tempo e resultado da Análise de Variância para medidas Repetidas

PEPTÍDEO C por droga, dieta e tempo	Placebo			Sita		
	CHO	LPD	PTN	CHO	LPD	PTN
0'						
Média ± Desvio padrão	3,83 ± 1,84	3,94 ± 2,48	3,49 ± 1,48	3,57 ± 1,58	3,72 ± 1,63	3,57 ± 1,71
Total	16	16	16	16	16	16
30'						
Média ± Desvio padrão	4,73 ± 1,72	4,65 ± 3,5	3,85 ± 1,67	4,89 ± 1,64	4,2 ± 1,74	4,11 ± 1,8
Total	16	16	16	16	16	16
60'						
Média ± Desvio padrão	5,94 ± 1,82	5,39 ± 3,38	4,84 ± 1,75	6,08 ± 1,88	4,82 ± 1,72	5,37 ± 2,24
Total	16	16	16	16	16	16
120'						
Média ± Desvio padrão	7,91 ± 3,25	6,28 ± 3,44	5,65 ± 1,61	7,63 ± 2,25	5,77 ± 2,05	5,82 ± 1,9
Total	16	16	16	16	15	16
180'						
Média ± Desvio padrão	8,27 ± 2,72	6,16 ± 3,24	5,54 ± 1,86	8,54 ± 3,14	5,89 ± 1,96	5,64 ± 1,68
Total	16	16	16	16	15	16
ANOVA paramedidasrepetidas		p-valor				
<i>PEPTÍDEO C</i>						
Dieta		<0,001*				
CHO X LPD		0,259				
CHO X PTN		0,015[#]				
LPD X PTN		0,335				
Droga		0,836				
Tempo		<0,001*				
0' X 30'		0,008⁺				
0' X 60'		<0,001⁺				
0' X 120'		<0,001⁺				
0' X 180'		<0,001⁺				
30' X 60'		<0,001⁺				
30' X 120'		<0,001⁺				
30' X 180'		<0,001⁺				
60' X 120'		<0,001⁺				
60' X 180'		<0,001⁺				
120' X 180'		1,000				
Dieta X Droga		0,557				
Dieta X Tempo		0,003*				
Droga X Tempo		0,307				
Droga X Dieta X Tempo		0,271				

*Diferença significativa ao nível de 5%. [#]Dietas que diferem ao nível de significância de 5%.

⁺Tempos que diferem ao nível de significância de 5%.

APÊNDICE 9 –Análise descritiva da área sob a curva de GLP-1 por Dieta e Droga e resultado da Análise de Variância para medidas Repetidas

AUC GLP-1 por dieta e droga	Placebo			Sita		
	CHO	LPD	PTN	CHO	LPD	PTN
Média ± Desvio padrão	-2224,5 ± 4237,5	1490,2 ± 3565,8	-289,3 ± 3114,5	-2671,9 ± 4820,2	762,2 ± 4205,9	877,8 ± 4263,7
Total	16	16	16	16	16	16
Comparações	p-valor					
Dieta	0,004					
Droga	0,996					
Dieta x Droga	0,677					

APÊNDICE 10 –Análise descritiva de GLP-1 por Droga, Dieta e Tempo e resultado da Análise de Variância para medidas Repetidas

GLP1 por droga, dieta e tempo	Placebo			Sita		
	CHO	LPD	PTN	CHO	LPD	PTN
0'						
Média ± Desvio padrão	219,06 ± 54,56	231,15 ± 54,56	221,89 ± 50,66	218,66 ± 53,52	229,93 ± 43,38	227,87 ± 45,08
Total	16	16	16	16	16	16
30'						
Média ± Desvio padrão	212,99 ± 50,94	235,55 ± 48,5	215,77 ± 50,49	224,08 ± 53,34	233,56 ± 43,51	223 ± 38,47
Total	16	16	16	16	16	16
60'						
Média ± Desvio padrão	216,1 ± 68,11	240,55 ± 52,54	219,31 ± 47,21	212,44 ± 44,97	234,83 ± 42,57	230,61 ± 38,37
Total	16	16	16	16	16	16
120'						
Média ± Desvio padrão	198,57 ± 64,66	242,55 ± 47,12	219,68 ± 55,02	191,5 ± 48,29	235,78 ± 48,7	238,03 ± 51,71
Total	16	16	16	16	16	16
180'						
Média ± Desvio padrão	196,41 ± 64,44	239,53 ± 42,65	226,66 ± 56,98	187,85 ± 43,78	232,63 ± 47,13	237,54 ± 52,53
Total	16	16	16	16	16	16

ANOVA paramedidasrepetidas	p-valor
<i>GLP1</i>	
Dieta	0,013*
CHO X LPD	0,012#
CHO X PTN	0,81
LPD X PTN	0,083
Droga	0,785
Tempo	0,204
Dieta X Droga	0,065
Dieta X Tempo	0,003*
Droga X Tempo	0,506
Droga X Dieta X Tempo	0,699

*Diferença significativa ao nível de 5%. #Diets que diferem ao nível de significância de 5%.

APÊNDICE 11 – Análise descritiva da área sob a curva de NEFA por Dieta e Droga e resultado da Análise de Variância para medidas Repetidas

AUC NEFA por dieta e droga	Placebo			Sita		
	CHO	LPD	PTN	CHO	LPD	PTN
Média ± Desvio padrão	-35,4 ± 32,5	-29,8 ± 30,7	-20,7 ± 26,3	-33,6 ± 31,1	-20,4 ± 22,1	-17,7 ± 24
Total	16	16	16	16	16	16
Comparações	p-valor					
Dieta	0,043					
Droga	0,409					
Dieta x Droga	0,641					

APÊNDICE 12 – Análise descritiva de NEFA por Droga, Dieta e Tempo e resultado da Análise de Variância para medidas Repetidas

NEFA por droga, dieta e tempo			Placebo			Sita		
			CHO	LPD	PTN	CHO	LPD	PTN
0'								
Média	±	Desvio	0,61 ± 0,19	0,7 ± 0,21	0,56 ± 0,17	0,6 ± 0,18	0,58 ± 0,21	0,5 ± 0,14
Total			16	16	16	16	16	16
30'								
Média	±	Desvio	0,57 ± 0,15	0,61 ± 0,15	0,55 ± 0,13	0,55 ± 0,14	0,56 ± 0,18	0,47 ± 0,13
Total			16	16	16	16	16	16
60'								
Média	±	Desvio	0,47 ± 0,12	0,58 ± 0,13	0,5 ± 0,16	0,48 ± 0,14	0,5 ± 0,16	0,42 ± 0,06
Total			16	16	16	16	16	16
120'								
Média	±	Desvio	0,32 ± 0,14	0,46 ± 0,1	0,35 ± 0,13	0,33 ± 0,13	0,41 ± 0,16	0,35 ± 0,12
Total			16	16	16	16	16	16
180'								
Média	±	Desvio	0,26 ± 0,1	0,47 ± 0,09	0,37 ± 0,13	0,26 ± 0,12	0,4 ± 0,15	0,34 ± 0,12
Total			16	16	16	16	16	16
ANOVA paramedidasrepetidas			p-valor					
<i>NEFA</i>								
Dieta			0,003*					
CHO X LPD			0,005#					
CHO X PTN			1,000					
LPD X PTN			0,002#					
Droga			0,135					
Tempo			<0,001*					
0' X 30'			0,072					
0' X 60'			0,017*					
0' X 120'			0,001*					
0' X 180'			<0,001*					
30' X 60'			0,024*					
30' X 120'			<0,001*					
30' X 180'			<0,001*					
60' X 120'			<0,001*					
60' X 180'			<0,001*					
120' X 180'			0,756					
Dieta X Droga			0,401					
Dieta X Tempo			0,040*					
Droga X Tempo			0,639					
Droga X Dieta X Tempo			0,192					

*Diferença significativa ao nível de 5%. #Diets que diferem ao nível de significância de 5%.

*Tempos que diferem ao nível de significância de 5%.