

**ROSA MARIA RAHMI GARCIA**

**Ação do inibidor da enzima dipeptidil peptidase 4  
sobre o pré-condicionamento isquêmico em  
pacientes portadores de diabetes *mellitus* tipo 2 e  
doença arterial coronariana estável**

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

Programa de: Cardiologia

Orientador: Prof. Dr. Whady Armino Hueb

**São Paulo**

**2012**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

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

©reprodução autorizada pelo autor

Garcia, Rosa Maria Rahmi

Ação da vildagliptina sobre o pré-condicionamento isquêmico em pacientes portadores de diabetes mellitus tipo 2 e doença arterial coronariana estável / Rosa Maria Rahmi Garcia. -- São Paulo, 2012.

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

Orientador: Whady Armindo Hueb.

Descritores: 1.Doença da artéria coronariana 2.Diabetes mellitus tipo 2.  
3.Inibidores da dipeptidil peptidase IV 4.Pré-condicionamento isquêmico miocárdico

USP/FM/DBD-272/12

## **Dedico**

aos meus amados filhos, Fernanda, Silvio e Renata, pelos abraços carinhosos, sorrisos largos, entusiasmo e incentivo em todas etapas vividas,

ao meu marido, Sérgio, com amor, admiração e gratidão por sua compreensão, carinho, participação e paciência ao longo do período de elaboração deste trabalho,

ao meu pai, que permanece vivo em meus pensamentos e sonhos, pelos primeiros ensinamentos sobre a medicina,

à minha mãe, Angelina, pelo exemplo de força e perseverança, lição utilizada durante a minha vida.

## **Agradeço**

ao meu orientador, Prof. Dr. Whady A. Hueb, homem de convicções firmes, mestre de mente brilhante, e líder com atitudes e habilidades inspiradoras. Minha eterna gratidão pelos preciosos ensinamentos sobre a verdadeira ciência e pelo riquíssimo convívio profissional e humano. Que a presença de Deus esteja sempre em sua vida!

aos pacientes, pela participação desapegada e a confiança depositada para a realização desse trabalho,

ao Dr. Augusto H. Uchida e ao Dr. Paulo Moffa por abrirem o serviço de ergometria e permitir a execução do trabalho.

Agradeço ainda, pelo companheirismo de todos os dias, pelas constantes palavras de incentivo, pelas sugestões preciosas e pelo apoio técnico e humano, aos amigos, médicos, enfermeiras, secretárias e funcionárias do Grupo MASS e da Unidade de Ergometria: Dr. Paulo Cury Rezende, Dra. Cibele L. Garzillo, Dr. Ricardo D. Vieira, Dr. Eduardo Lima, Dra. Neuza Lopes, Priscyla Girardi, Myrthes Takiuti, Teryo Nakano, Ana Carvalho, Eliana Lima, Marcela Silva e Laura Caringe, Ana Lúcia Sampaio Gomes, Ana M. de Oliveira, Paula Rosseto, Adriana Lucia B. da Silva, Luzia R. de Siqueira, Priscila Motta, Maria Aparecida de Andrade.

...era esboço também, nem por isso deixava de ser uma obra-prima. Todo embrião de ciência tem esse duplo aspecto: monstro, como feto, maravilha, como germe.

Victor Hugo, *Os trabalhadores do mar*

## NORMALIZAÇÃO

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Júlia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3ª ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

## SUMÁRIO

---

LISTA DE FIGURAS	
LISTA DE TABELAS	
LISTA DE GRÁFICOS	
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	
LISTA DE SÍMBOLOS	
RESUMO	
ABSTRACT	

1	INTRODUÇÃO .....	1
1.1	Pré - condicionamento isquêmico .....	2
1.2	Mecanismos celulares do pré-condicionamento isquêmico .....	5
1.3	Pré-condicionamento isquêmico e fármacos hipoglicemiantes orais .....	7
2	RACIONAL DO PROJETO .....	10
3	OBJETIVO .....	12
4	POPULAÇÃO DO ESTUDO .....	14
4.1	Critérios de inclusão.....	15
4.2	Critérios de não-inclusão.....	15
4.3	Preparo da amostra selecionada .....	16
5	MÉTODO .....	17
5.1	Protocolo do estudo .....	18
6	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	21
7	DELINEAMENTO DO ESTUDO .....	23
8	RESULTADOS.....	25
8.1	População do estudo .....	26
8.2	Análise do pré-condicionamento isquêmico.....	29
8.3	Resultados do T-1mm nos grupos com bloqueio do PCI (B) e com PCI preservado (NB) .....	30
8.4	Resultados da diferença (delta) de T-1mm entre TE2-TE1 e entre TE4-TE1.....	32

8.5	Resultados do duplo produto no momento do T-1mm nos grupos com bloqueio do PCI (B) e com PCI preservado (NB) .....	33
8.6	Resultados da frequência cardíaca basal .....	36
8.7	Resultados da frequência cardíaca máxima .....	38
8.8	Resultados da pressão arterial sistólica basal .....	40
8.9	Resultados da pressão arterial sistólica máxima .....	42
8.10	Resultados do tempo total de exercício.....	44
8.11	Resultados do duplo produto durante o pico do exercício.....	46
8.12	Presença de angina .....	48
9	DISCUSSÃO .....	49
10	CONSIDERAÇÕES CLÍNICAS .....	55
11	CONCLUSÃO .....	57
12	REFERÊNCIAS .....	59

**LISTAS**

---

## FIGURAS

Figura 1 - Diagrama representativo das duas janelas de proteção do PCI .....	4
Figura 2 - Delineamento do estudo .....	24
Figura 3 - Representação dos diferentes efeitos de dois fármacos hipoglicemiantes orais sobre o PCI .....	52

## TABELAS

Tabela 1 -	População do estudo.....	27
Tabela 2 -	Principais características demográficas, clínicas e laboratoriais da população do estudo.....	28
Tabela 3 -	Média e desvio padrão da glicemia capilar antes das fases 1 e 2.....	29
Tabela 4 -	Média e desvio padrão do T-1mm dos testes ergométricos TE1, TE2, TE3 e TE4 nos grupos com bloqueio do PCI (B) e com PCI preservado (NB) .....	31
Tabela 5 -	Valores de deltas para T-1mm em segundos nas fases 1 e 2 dos grupos com bloqueio (B) e com PCI preservado (NB) .....	33
Tabela 6 -	Média e desvio padrão do duplo produto no momento do T-1mm dos testes ergométricos TE1, TE2, TE3 e TE4 nos grupos com bloqueio do PCI (B) e com PCI preservado (NB) .....	35
Tabela 7 -	Média e desvio padrão da frequência cardíaca basal dos testes TE1, TE2, TE3 e TE4 nos grupos com bloqueio do PCI (B) e com PCI preservado (NB).....	37
Tabela 8 -	Média e desvio padrão da frequência cardíaca máxima, dos testes TE1, TE2, TE3 e TE4 nos grupos com bloqueio do PCI (B) e com PCI preservado (NB) .....	39
Tabela 9 -	Média e desvio padrão da pressão arterial sistólica basal dos testes TE1, TE2, TE3 e TE4 nos grupos com bloqueio do PCI (B) e com PCI preservado (NB) .....	41
Tabela 10 -	Média e desvio padrão de pressão arterial sistólica máxima, dos testes TE1, TE2, TE3 e TE4 nos grupos com bloqueio do PCI (B) e com PCI preservado (NB).....	43

Tabela 11 - Média e desvio padrão do tempo total de exercício dos testes TE1, TE2, TE3 e TE4 nos grupos com bloqueio do PCI (B) e com PCI preservado (NB).....	45
Tabela 12 - Média e desvio padrão do duplo produto no pico do exercício dos testes TE1, TE2, TE3 e TE4 nos grupos com bloqueio do PCI (B) e com PCI preservado (NB).....	47
Tabela 13 - Presença de angina nos grupos com bloqueio do PCI (B) e com PCI preservado (NB).....	48

## GRÁFICOS

- Gráfico 1 - Representação da média de T-1mm dos testes TE1, TE2, TE3 e TE4 nos grupos com bloqueio do PCI (B) e com PCI preservado (NB) ..... 31
- Gráfico 2 - Representação da média de Delta 1 (TE2 menos TE1) e Delta 2 (TE4 menos TE3) para T-1mm..... 33
- Gráfico 3 - Representação da média do duplo produto no momento do T-1mm dos testes TE1, TE2, TE3 e TE4 nos grupos com bloqueio do PCI (B) e com PCI preservado (NB)..... 35
- Gráfico 4 - Representação da média da frequência cardíaca basal dos testes TE1, TE2, TE3 e TE4 nos grupos com bloqueio do PCI (B) e com PCI preservado (NB) ..... 37
- Gráfico 5 - Representação da média da frequência cardíaca máxima dos testes TE1, TE2, TE3 e TE4 nos grupos com bloqueio do PCI (B) e com PCI preservado (NB) ..... 39
- Gráfico 6 - Representação da média da pressão arterial sistólica basal dos testes TE1, TE2, TE3 e TE4 nos grupos com bloqueio do PCI (B) e com PCI preservado (NB) ..... 41
- Gráfico 7 - Representação da média da pressão arterial sistólica máxima dos testes TE1, TE2, TE3 e TE4 nos grupos com bloqueio do PCI (B) e com PCI preservado (NB) ..... 43
- Gráfico 8 - Representação das médias do tempo total de exercício nos testes TE1, TE2, TE3 e TE4 dos grupos com bloqueio do PCI (B) e com PCI preservado (NB) ..... 45
- Gráfico 9 - Representação da média do duplo produto no pico do exercício dos testes TE1, TE2, TE3 e TE4 nos grupos com bloqueio do PCI (B) e com PCI preservado (NB)..... 47

## ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	análise de variância
ATP	adenosina trifosfato
AMPc	adenosina 3',5'-monofosfato cíclico
B	bloqueio
CAPPesq	Comitê de ética para análise de pesquisa
C <sub>máx.</sub>	concentração plasmática máxima
CT	colesterol total
DAC	doença arterial coronariana
DCV	doença cardiovascular
DM2	diabetes <i>mellitus</i> tipo 2
DPP-4	dipeptidil peptidase 4
DP	desvio padrão
Dp	duplo produto
ECG	eletrocardiograma
ET	<i>exercise test</i>
FC	frequência cardíaca
GIP	polipeptídio insulínico dependente de glicose
GLP-1	peptídeo-1 tipo glucagon
HDL	lipoproteína de alta densidade
IM	infarto do miocárdio
IMC	índice de massa corporal
IPC	<i>ischemic preconditioning</i>
K-ATP	potássio dependente de adenosina trifosfato

LDL	lipoproteína de baixa densidade
M/F	masculino / feminino
MASS	<i>Medicine, Angioplasty or Surgery Study</i>
n	número de indivíduos na amostra
NB	não bloqueio
PA	pressão arterial
PAS	pressão arterial sistólica
PCI	pré-condicionamento isquêmico
PI3K	fosfatidilinositol-3 quinase
$p$	valor descritivo de probabilidade
RVM	revascularização miocárdica
TE	teste ergométrico
$t_{1/2}$	meia-vida de eliminação
TG	triglicérides
UGDP	<i>The University Group Diabetes Program</i>
$\chi^2$	teste de qui-quadrado

## SÍMBOLOS

bpm	batimentos por minuto
mg/dL	miligrama por decilitro
kg/m <sup>2</sup>	quilograma por metro quadrado
mm	milímetros
mg	miligrama
mmHg	milímetro de mercúrio
$\Delta$	delta
=	igual
$\pm$	mais ou menos
>	maior que
<	menor que
%	porcentual

**RESUMO**

---

Garcia RMR. *Ação do inibidor da enzima dipeptidil peptidase-4 sobre o pré-condicionamento isquêmico em pacientes portadores de diabetes mellitus tipo 2 e doença coronariana estável* [Tese]. Faculdade de Medicina; Universidade de São Paulo; 2012.

O pré-condicionamento isquêmico (PCI) é um importante mecanismo de proteção celular, capaz de favorecer a diminuição da necrose dos cardiomiócitos durante isquemia aguda. Fármacos hipoglicemiantes orais, tais como glibenclamida e repaglinida, podem provocar a perda dessa proteção por sua propriedade bloqueadora de canais de potássio dependentes de adenosina trifosfato (K-ATP). Já a vildagliptina, pertencente à classe dos inibidores da enzima dipeptidil peptidase 4 (DPP-4), exerce seus efeitos sobre a glicemia principalmente via hormônio peptídeo-1 tipo glucagon (GLP-1). Receptores de GLP-1 estão presentes no miocárdio e seu papel nesse tecido é alvo de investigadores. Este estudo avaliou o efeito da vildagliptina sobre o pré-condicionamento isquêmico em portadores de diabetes *mellitus* 2 (DM2) e doença coronariana multiarterial estável (DAC). Foram admitidos 54 pacientes diabéticos com doença multiarterial coronariana estável, documentada pela angiografia e com teste ergométrico positivo para isquemia. Na fase 1, betabloqueadores e fármacos hipoglicemiantes orais foram suspensos por 7 dias, e todos os pacientes foram submetidos a 2 testes ergométricos (TE) sequenciais, com intervalo de descanso de 30 minutos entre eles (TE1 e TE2). Para a fase 2, os pacientes receberam vildagliptina 100mg/dia por 7 dias consecutivos e foram submetidos a mais 2 TE sequenciais (TE3 e TE4). Na fase 1, todos os pacientes desenvolveram isquemia esforço induzida (depressão de ST $\geq$ 1 mm) no TE1. O tempo para alcançar 1,0mm de depressão do segmento ST (T-1,0mm) em TE2 foi maior que em TE1, caracterizando a presença do PCI em todos os pacientes. Na fase 2, todos desenvolveram isquemia em TE3, e 76% apresentaram isquemia mais tardia em TE4, isto é, aumentaram a tolerância miocárdica em TE4 em comparação a TE3, caracterizando PCI preservado ( $p < 0,001$ ). Somente 24% dos pacientes revelaram bloqueio do PCI ( $p = 0,006$ ). A vildagliptina preservou o pré-condicionamento isquêmico em pacientes com DM2 e DAC.

**Palavras chaves:** Pré-condicionamento isquêmico miocárdico; Diabetes *mellitus* tipo 2; Doença arterial coronariana; Inibidor da dipeptidil peptidase-4.

## **ABSTRACT**

---

Garcia RMR. *Effect of dipeptidyl peptidase-4 enzyme inhibitor on ischemic preconditioning in patients with type 2 diabetes and symptomatic coronary artery disease* [Thesis]. "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2012.

Ischemic preconditioning (IPC) refers to the phenomenon in which short periods of myocardial ischemia and reperfusion promote resistance to a subsequent prolonged ischemic insult. Some hypoglycemic drugs, such as glibenclamide and repaglinide, are able to inhibit this protective phenomenon probably by its effects as blockers of adenosine triphosphate-dependent potassium (K-ATP) channels. Moreover, vildagliptin, belonging to the class of dipeptidyl peptidase-4 enzyme (DPP-4) inhibitor, performs its action by incretin system, mainly by hormone glucagon-like peptide 1 (GLP-1). GLP-1 receptors are present in various body tissues, including myocardium. Multiple actions of GLP-1 and structurally related GLP-1 agonists have been reported in heart. We aimed to evaluate the effect of vildagliptin on IPC in patients with type 2 diabetes and symptomatic coronary artery disease. We evaluated 54 patients with DM2 and a positive exercise test that also had with multivessel coronary disease confirmed by coronary angiography. In phase I, without drug, all patients underwent 2 consecutive treadmill exercise tests (ET1 and ET2). After that, all patients received vildagliptin 100 mg per day for one week and underwent more 2 more sequential tests (ET3 and ET4). The time interval between the exercises tests was 30 minutes. In phase 1, all patients demonstrated IPC that was observed by the improvement in time to 1mm of ST segment depression (T-1.0mm) in ET2 compared with T1 In phase 2, with vildagliptin, all patients (54) developed ischemia in ET3, however, 76 % (41) of patients showed experienced later ischemia in ET4 compared with ET3 ( $p < 0.001$ ), characterizing IPC preserved. Only 24% (13) patients demonstrated T-1.0mm earlier in ET4 compared with ET3, indicating the cessation of IPC ( $p = 0.006$ ). Vildagliptin did not affect this protective mechanism in a relevant way in patients with type 2 diabetes and symptomatic coronary artery disease.

**Keywords:** Ischemic preconditioning, Type 2 diabetes, Coronary artery disease; Dipeptidil peptidase-4 inhibitors.

# 1 INTRODUÇÃO

---

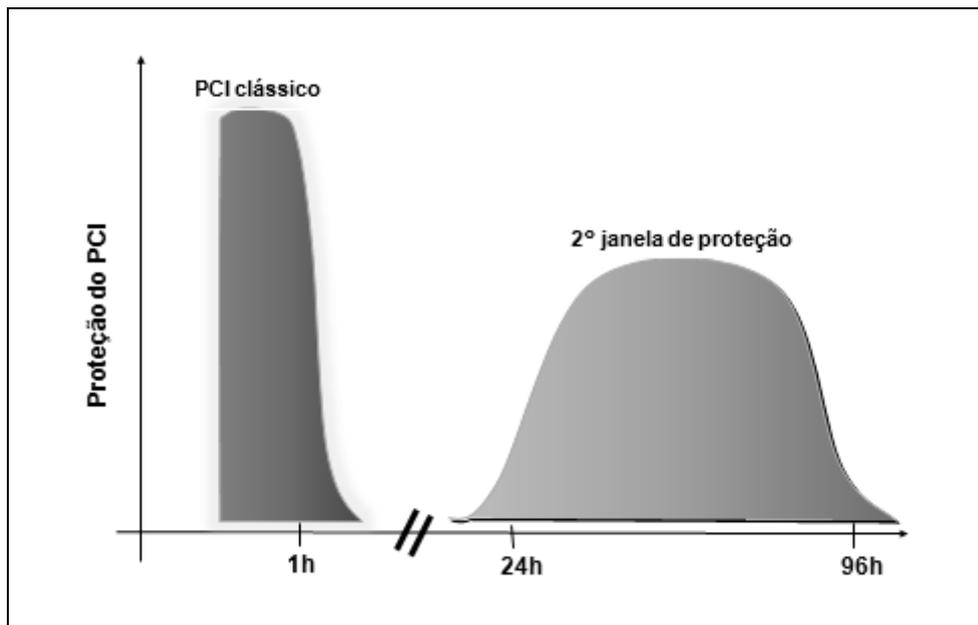
Cerca de quatro milhões de mortes ocorridas em 2010 são atribuídas ao diabetes, o que representa 6,8% da mortalidade geral. Aproximadamente 50 a 60% dos pacientes com diabetes morrem em decorrência de doença cardiovascular (DCV), sendo a doença arterial coronariana (DAC) a principal responsável por esse alto índice de mortalidade<sup>1,2</sup>. Nesse cenário, é admitido que o diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2) aumenta o risco de eventos por DAC em, pelo menos, duas a três vezes, comparativamente à população de não diabéticos<sup>3,4</sup>. Apesar do avanço na utilização de estratégias terapêuticas ideais, para ambas as condições, a taxa de morbidade e mortalidade permanece alta nos paciente com diabetes<sup>5</sup>. Por isso, novas estratégias cardioprotetoras são necessárias para melhorar os resultados clínicos nessa população. No âmbito dessa discussão, destaca-se a importância dos estudos sobre pré-condicionamento isquêmico (PCI).

### 1.1 Pré-condicionamento isquêmico

O pré-condicionamento isquêmico é descrito como um fenômeno de adaptação celular em que um ou vários episódios curtos de isquemia, intercalados por períodos curtos de reperfusão, favorecem maior resistência às células do miocárdio se submetidas a isquemia prolongada subsequente. Em 1986, Murry et al.<sup>6</sup> demonstraram esse fenômeno, originalmente em modelo experimental. Para o grupo pré-condicionado, submeteram cães anestesiados a quatro ciclos de isquemia/reperfusão, caracterizados por 5 minutos de oclusão da artéria coronária circunflexa, intercalados por 5 minutos de reperfusão. Em seguida, promoveram oclusão sustentada de 40 minutos. Os cães do grupo controle foram expostos apenas a oclusão prolongada de 40 minutos. Ambos os grupos permaneceram com perfusão sanguínea adequada por quatro dias após os procedimentos descritos. Os resultados das análises histológicas do miocárdio demonstraram redução de

---

70% na área infartada no grupo pré-condicionado comparativamente ao grupo controle. Após os resultados de Murry, inúmeras publicações acrescentaram novas informações sobre esse complexo mecanismo protetor. Nesse cenário, a resposta protetora do PCI, avaliada pela redução da necrose miocárdica, se expressa quando a isquemia prolongada não ultrapassa 40 a 60 minutos e deixa de se manifestar em períodos isquêmicos longos, superiores a 90 minutos. Para desencadear a proteção, é necessário que um ou mais ciclos estimuladores (quantidade e duração dos episódios isquêmicos) variem entre 2,5 a 10 minutos<sup>7,8</sup>. Essa proteção gerada pelo PCI tem característica transitória e, portanto, se ocorrer um intervalo muito longo entre o estímulo desencadeador e a isquemia prolongada, a proteção deixará de ocorrer. Além disso, o PCI apresenta-se temporalmente com padrão bifásico. Uma primeira janela de proteção inicia-se alguns minutos após o estímulo e apresenta duração máxima de duas horas<sup>8</sup>. Essa janela de proteção foi denominada “pré-condicionamento clássico”. Na sequência, aparece outra janela de proteção, em torno de 12 a 72 horas após sua indução e estendendo-se por 72 a 96 horas, que se denominou “pré-condicionamento tardio” ou “segunda janela de proteção”<sup>8-13</sup>. A figura 1 mostra esquematicamente essas duas janelas de proteção do PCI.



**Figura 1 -** Diagrama representativo das duas janelas de proteção do pré-condicionamento isquêmico (PCI)  
[modificado de Derek M. Yellon e James M. Downey 2003]<sup>21</sup>]

Além do padrão bitemporal, foram constatadas características protetoras distintas em uma janela e outra. A fase protetora precoce, pré-condicionamento clássico, possivelmente é responsável pela limitação da área isquêmica, porém, não protege o miocárdio da disfunção contrátil pós-isquemia<sup>10</sup>. Estudos sobre o pré-condicionamento tardio sugerem que essa fase confere proteção sobre a área do miocárdio atordoado<sup>14,15</sup>, reduz arritmias associadas à lesão da isquemia/reperfusão e limita de maneira menos expressiva a área infartada<sup>11,14,15</sup>.

A avaliação da redução na área do infarto, ocorrida após o PCI, pode ser facilmente demonstrada em achados experimentais com animais. Entretanto, esse resultado não pode ser totalmente reproduzido em humanos devido às diferenças fisiopatológicas inerentes à espécie e por razões éticas. Por isso, estudos clínicos sobre o PCI utilizam parâmetros de substituição que incluem análise da função contrátil, alterações isquêmicas eletrocardiográficas e evidências bioquímicas de danos celulares<sup>16,17</sup>. Tem-se verificado aumento da tolerância do miocárdio à isquemia durante cirurgia de revascularização miocárdica (RVM) após realização de clampe aórtico

intermitente<sup>18-21</sup> e durante insuflações repetidas do balão em angioplastia coronariana<sup>22-25</sup>. Dentre as expressões clínicas desse mecanismo protetor, observou-se que a presença de angina prévia ao infarto do miocárdio reduziu taxas de mortalidade, reinfarto, insuficiência cardíaca ou choque<sup>26-31</sup>. Outra manifestação clínica conhecida como “fenômeno do aquecimento” ou “*Warm-up*”, também relacionada ao PCI, foi identificada em pacientes com DAC, que relatavam presença de dor anginosa ao iniciarem um exercício físico e melhora ou cessação dos sintomas de dor ao reiniciá-lo após breve descanso<sup>32,33</sup>. Esse fenômeno foi descrito pela primeira vez há 50 anos, e por muito tempo acreditou-se que era mediado por vasodilatação coronariana e recrutamento de fluxo colateral, que resultariam em melhora do suprimento sanguíneo ao miocárdio isquêmico no segundo período de esforço<sup>33</sup>. No entanto, Williams et al.<sup>34</sup> e Okazaki et al.<sup>35</sup> constataram, em pacientes com DAC, que esse fenômeno se devia à redução do consumo miocárdico de O<sub>2</sub>, e não ao aumento do fluxo sanguíneo coronariano.

O fenômeno do aquecimento pode ser reproduzido em testes ergométricos sequenciais. Nesse modelo, observa-se melhora do desempenho miocárdico após isquemia esforço induzida durante o segundo de dois testes consecutivos<sup>36-41</sup>. Okasaki et al.<sup>35</sup> constataram melhora dos sintomas anginosos, menor consumo de O<sub>2</sub> miocárdico e aumento do tempo para iniciar 1,0 mm de depressão do segmento ST em 13 pacientes com DAC submetidos a 2 testes ergométricos (TE) sequenciais, intercalados por 15 minutos de repouso.

## **1.2 Mecanismos celulares envolvidos no pré-condicionamento isquêmico**

A complexa cascata de mecanismos celulares envolvida no PCI clássico não está totalmente elucidada<sup>42</sup>. Considera-se que suas vias celulares envolvam proteínas operadoras com funções específicas (desencadeadoras, mediadoras, de memória ou efetoras finais) para a

expressão da proteção celular miocárdica. Está estabelecido que receptores acoplados à proteína G participam das vias celulares iniciais, trabalhando em paralelo com outros receptores. Durante os curtos períodos de isquemia, ocorre liberação de vários peptídeos, entre eles, adenosina, bradicinina, norepinefrina e opioide, que se ligam aos seus respectivos receptores na membrana celular (receptores A1 e A3, quinina B2, EP3 e opioide  $\delta 1$ ) e promovem ativação da proteína G<sup>43</sup>. Esse processo ativa numerosas proteínas-C quinase, incluindo a fosfatidilinositol-3 quinase (PI3K). Consequentemente, ocorrem ativação e abertura dos canais de potássio dependente de adenosina trifosfato (K-ATP) em mitocôndrias e membrana celular, o que leva à formação de espécies reativas de oxigênio e óxido nítrico<sup>38</sup>. Esses compostos, por sua vez, ativam quinases distais, que incluem: proteína quinase ativadas por mitógenos, proteína-c quinase e tirosina quinase. Presumivelmente, as ativações dessas quinases atuam como produtos finais da cascata celular, responsável pela proteção miocárdica<sup>42,43</sup>. Existem evidências bem sustentadas sobre a expressiva participação dos canais K-ATP nesse mecanismo cardioprotetor<sup>44</sup>. Fármacos que ativam canais K-ATP, tais como nicorandil, diazóxido, cromacalina e pinacidil, comportam-se como miméticos ao PCI no miocárdio<sup>45-47</sup>. Contudo, quando foram utilizados fármacos com efeito bloqueador dos canais K-ATP, encontraram-se resultados divergentes<sup>48-50</sup>.

Dados sobre os mecanismos celulares envolvidos no PCI tardio são mais escassos e envolvem a ativação de genes e síntese de proteínas protetoras. Sabe-se que seus mecanismos celulares são igualmente complexos, com participação de vias celulares interligadas e vias distintas do PCI clássico<sup>15</sup>.

Resumidamente, o PCI é resultante da ação combinada de inúmeras vias celulares que, em conjunto, desencadeiam mecanismos de adaptação metabólica intracelular necessária para ocorrer proteção miocárdica.

### 1.3 Pré-condicionamento isquêmico e fármacos hipoglicemiantes orais

A utilização dos canais K-ATP por drogas hipoglicemiantes orais, durante o processo de liberação insulínica pelo pâncreas, remete à possibilidade de interferência desses fármacos em vias celulares subjacentes ao PCI. Os receptores de sulfonilureia são proteínas integrantes dos canais K-ATP. Os canais K-ATP são estruturas octâmeras compostas por 4 subunidades onde se ligam as sulfonilureias (SUR -#*sulfonylurea receptors*) e 4 subunidades Kir (*potassium inwardly rectifying*). Essas subunidades combinam-se de maneira variável, definindo a especificidade biofísica e farmacológica nos diferentes tecidos do organismo. Assim, no coração e no músculo esquelético, os canais K-ATP são compostos por Kir6.2/SUR2A; nas células beta do pâncreas, por Kir6.2/SUR1; nos miócitos vasculares, por Kir6.1/SUR2B. Já está estabelecido que a glibenclamida, fármaco da classe sulfonilureia, exerce seu efeito secretor de insulina via fechamento dos canais K-ATP, de maneira não seletiva, nas células pancreáticas. Em ensaios clínicos, a glibenclamida comportou-se como um fármaco capaz de eliminar o PCI por seu papel inibidor dos canais K-ATP<sup>48-50</sup>. Da mesma maneira, a repaglinida, composto não sulfonilureia, também atua como secretagogo de insulina utilizando mecanismos semelhantes à glibenclamida<sup>51,52</sup>. Estudos direcionados ao conhecimento das ações sistêmicas da repaglinida identificaram que ela é um eficiente inibidor pancreático e cardiovascular dos receptores dos canais K-ATP, que poderiam interferir no PCI<sup>47</sup>. Por isso, estudo clínico realizado em nosso meio, direcionado para avaliar o comportamento isquêmico de diabéticos portadores de doença arterial coronária estável, através de isquemia esforço induzida de forma repetitiva, revelou que a repaglinida piorou os índices de tolerância ao exercício e, portanto, bloqueou o PCI<sup>53</sup>.

Independentemente de componentes celulares, reológicos e hemodinâmicos provocados pelo estímulo do pré-condicionamento, é lícito supor, pelos dados descritos acima, que a abertura dos canais de potássio localizados na superfície da membrana celular e nas mitocôndrias dos

cardiomiócitos é um dos principais mecanismos celulares para ocorrer proteção cardíaca<sup>54</sup>. Porém, eles remetem ao possível dano metabólico desses fármacos sobre o pré-condicionamento isquêmico e, portanto, prenunciam pior prognóstico da enfermidade nessa população. Dessa maneira, a interpretação dos dados anteriores reforça a possibilidade de alguns fármacos hipoglicêmicos interferirem no aumento da incidência de eventos cardiovasculares<sup>55</sup>.

A discussão sobre os possíveis efeitos cardiovasculares de drogas hipoglicêmicas ocorre desde os resultados do estudo *The University Group Diabetes Program* (UGDP), em 1970. Esse estudo demonstrou elevada taxa de mortalidade cardiovascular em pacientes tratados com sulfonilureia (tolbutamida) quando comparados ao grupo placebo<sup>56,57</sup>. Mais recentemente, em 2007, Nissen et al.<sup>58</sup> verificaram que o tratamento com rosiglitazona pode aumentar a mortalidade em pacientes portadores de diabetes e doença cardiovascular. Apesar de não terem sido totalmente elucidadas as razões para esse aumento de mortalidade, esse estudo reacendeu a preocupação sobre segurança cardiovascular de fármacos orais utilizados com o objetivo de reduzir a hiperglicemia.

Há alguns anos, assistimos ao surgimento dos inibidores da enzima dipeptidil peptidase-4 (DPP-4), pertencentes à nova classe de fármacos hipoglicemiantes orais que atuam modulando o sistema incretínico. A enzima DPP-4 é responsável pela inativação das incretinas. Incretinas são hormônios secretados pelas células endócrinas localizadas no epitélio do intestino delgado, entre os quais o GLP-1 (*glucagon-like peptide-1*) e o GIP (*glucose-dependent insulinotropic peptide*). O GLP-1 é o mais importante na patogenia do DM-2 e suas ações, entre outras, incluem estimulação de secreção insulínica e inibição da secreção de glucagon<sup>59,60</sup>. Os inibidores da DPP-4 são ativos por via oral. Após a ingestão oral, a vildagliptina (agente pertencente à classe dos inibidores da DPP-4) atinge sua concentração plasmática máxima ( $C_{máx}$ ) em 1,75 horas. Alcança cerca de 100% da sua ação enzimática inibitória após 15 a 30 minutos de sua ingestão, que é mantida por aproximadamente 16 horas (80% de sua atividade). Além disso,

---

apresenta baixa ligação com as proteínas plasmáticas; e sua excreção ocorre pela urina (85%) e o restante pelas fezes. A meia-vida de eliminação ( $t_{1/2}$ ) é curta, porém, possui duração efetiva graças à sua cinética de inibição lenta. A inibição enzimática da DPP-4 acarreta aumento da meia-vida do GLP-1, com elevação de duas a três vezes do seu valor circulante. Estudos pré-clínicos mostraram que GLP-1 promove a redução da glicemia via estimulação de secreção insulínica pelas células  $\beta$ -pancreáticas e a inibição da secreção de glucagon pelas células  $\alpha$ -pancreáticas<sup>59,60</sup>. Ao contrário de outros secretagogos, que atuam principalmente através do canal de K-ATP, o GLP-1 também reabastece os estoques de insulina por mecanismos diferentes. Isso ocorre após a ligação do GLP-1 a receptores específicos na membrana celular das células pancreáticas. Os receptores de GLP-1 foram identificados originalmente em células das ilhotas pancreáticas, e posteriormente se constatou sua forte presença também em tecidos extrapancreáticos, incluindo pulmão, rim, sistema nervoso central e periférico, intestino, linfócitos, vasos sanguíneos e coração<sup>61</sup>. Nos últimos anos, os efeitos do GLP-1 sobre o sistema cardiovascular têm suscitado grande interesse, como indica o número crescente de publicações a respeito. Entretanto, ainda são escassos estudos clínicos com inibidores da DPP-4.

## **2 RACIONAL DO PROJETO**

---

Os dados descritos anteriormente sugerem que fármacos inibidores da enzima DPP-4 exercem efeitos sobre o mecanismo protetor do pré-condicionamento isquêmico. Estudos clínicos abordando a ação dessa classe de medicamentos sobre o PCI são escassos. De fato, as ações desses fármacos não estão totalmente esclarecidas em indivíduos portadores de diabetes com doença arterial coronária.

### **3 OBJETIVO DO PROJETO**

---

O objetivo do projeto é avaliar a interferência do fármaco inibidor da enzima dipeptidil-peptidase-4, a vildagliptina, no pré-condicionamento isquêmico clássico em pacientes portadores de diabetes com doença multiarterial coronariana estável.

## **4 POPULAÇÃO DO ESTUDO**

---

Foram selecionados 197 pacientes do banco de dados do estudo MASS (*Medicine, Angioplasty or Surgery Study*) com diagnóstico clínico e laboratorial de diabetes *mellitus* tipo 2 e doença multiarterial coronariana estável confirmada por estudo de isquemia miocárdica esforço-induzida e cinecoronariográfico. Desses pacientes, 159 preencheram os critérios descritos a seguir e, portanto, foram admitidos para o estudo.

#### 4.1 Critérios de inclusão

- Doença multiarterial coronária estável.
- Função ventricular preservada.
- Diabetes *mellitus* tipo 2 em tratamento medicamentoso.

#### 4.2 Critérios de não-inclusão

- Doença renal – creatinina > 1,5 mg/dL.
- Doença hepática – valores 2 vezes  $\geq$  o valor de referência da transaminase glutâmico oxalacético e aspartato aminotransferase.
- Angina instável.
- Infarto agudo do miocárdio nos últimos seis meses.
- Miocardiopatia hipertrófica ou dilatada diagnosticada por ecocardiografia.
- Estenose aórtica.
- Limitações motoras impedindo a realização do exame.
- Presença de alterações eletrocardiográficas limitando a análise para definição de: isquemia miocárdica – PR curto e pré-excitação ventricular; sobrecarga ventricular esquerda; persistência de bloqueio de ramo direito; síndrome de Wolff-Parkinson White; bloqueio de ramo

---

esquerdo (fixo ou intermitente); estimulação cardíaca artificial; intervalo QT prolongado; efeito digitálico; depressão basal do segmento ST > 2,0mm; fibrilação atrial.

### **4.3 Preparo da amostra selecionada**

Os pacientes foram orientados a não fumar e não ingerir chá, café ou álcool no dia dos testes ergométricos (TE1, TE2 e TE3, TE4). Sete dias antes dos exames (TE1 e TE2), foram suspensas drogas orais utilizadas para o controle da glicemia, medicações betabloqueadoras e fármacos vasoativos. A insulino terapia poderia ter sido indicada em qualquer fase do estudo para aperfeiçoar o controle da glicemia; entretanto, esse procedimento não foi necessário em nenhum caso. Estabeleceu-se um contato telefônico disponível 24 horas por dia para o caso de dúvidas ou de qualquer intercorrência. Foram coletadas amostras sanguíneas para análise de glicemia plasmática em jejum, hemoglobina glicada, colesterol total, HDL-colesterol, LDL-colesterol e triglicérides.

## **5 MÉTODO**

---

## 5.1 Protocolo do estudo

Fase 1 – Após a retirada dos medicamentos, os pacientes foram submetidos a dois testes ergométricos (TE1 e TE2), de forma sequencial e com intervalo de trinta minutos entre os dois exames. Os que alcançaram o pré-condicionamento foram encaminhados para a segunda fase do estudo.

Fase 2 – Todos os pacientes que alcançaram o PCI na fase 1 utilizaram vildagliptina na dose de 50 mg, via oral, duas vezes ao dia, durante seis dias consecutivos. No sétimo dia, foram submetidos a dois testes de esforço sequenciais (TE3 e TE4), com intervalo de trinta minutos entre os dois exames. Nesse dia, a medicação foi administrada na dose de 100 mg, 1,75 horas<sup>62</sup> antes do início dos testes TE3 e TE4.

As fases 1 e 2 foram iniciadas sempre no período das 13 às 14 horas. Os pacientes receberam uma dieta padronizada: Glucerna SR®, do Laboratório Abbott, nutrição oral formulada para diabético<sup>63</sup>, dose de 230 ml conforme instrução de preparo, ingerida uma hora antes do início do primeiro teste ergométrico das fases 1 e 2.

Os testes foram considerados sintomas-limitados, adotando-se o protocolo de Bruce em todos os exames<sup>64</sup>. O ergômetro utilizado foi a esteira rolante MAT 2100, acoplada ao sistema ML 800 *Stress Test System* da Fukuda Denshi Co. Ltda. O sistema de registro eletrocardiográfico foi o de 15 derivações simultâneas, sendo 12 derivações clássicas do sistema Mason–Likar e 3 derivações do sistema ortogonal de Frank (X, Y, Z). A monitorização eletrocardiográfica foi realizada sistematicamente no repouso (em pé), no início da depressão de 1 milímetro do segmento ST, no momento da maior alteração desse segmento, no pico do esforço, no primeiro minuto da recuperação, no momento da normalização do desvio do segmento ST e no sexto minuto após o exercício.

A pressão arterial (PA) foi aferida sistematicamente a cada noventa segundos, no início da depressão de 1 milímetro do segmento ST, no momento de maior alteração do segmento ST, no pico do esforço e a cada sessenta segundos na fase pós-exercícios.

A frequência cardíaca (FC) foi monitorizada continuamente e documentada a cada quinze segundos. A frequência cardíaca máxima desejada foi calculada pela fórmula  $(220 - \text{idade})$  em anos.

Os critérios de interrupção do exame e de positivities foram aqueles recomendados pelas Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia<sup>65</sup>.

A fase de recuperação foi monitorizada e considerada concluída quando ocorreu reversão total das alterações eletrocardiográficas e/ou hemodinâmicas.

Para obtenção dos dados clínicos, hemodinâmicos e eletrocardiográficos, foram observados os seguintes critérios:

- Capacidade funcional: o tempo total de exercício, considerado como o tempo total de esforço, aferido em segundos.
- Dados hemodinâmicos: a pressão arterial sistólica máxima, aferida em mmHg no pico do esforço físico. A frequência cardíaca máxima atingida foi aferida em batimentos por minuto, no pico do esforço físico. O duplo produto (Dp) foi calculado pelo produto da pressão arterial sistólica e da frequência cardíaca atingida no momento da depressão de 1 mm do segmento ST.
- Dados eletrocardiográficos: a magnitude da depressão do segmento ST foi medida em milímetros e classificada em três categorias: inferior a 1,0 mm; entre 1,0 a 1,9 mm e superior a 2,0 mm. A morfologia da depressão do segmento ST foi classificada em três padrões: horizontal, descendente ou ascendente. O tempo considerado para iniciar o desnível do segmento ST foi medido em segundos e utilizado para a documentação da depressão do segmento ST de morfologia horizontal ou descendente, com magnitude de pelo menos 1,0 mm. A confirmação visual foi realizada por dois cardiologistas experientes e independentes,

estranhos ao protocolo, com base na análise dos pontos referenciais J e Y. O ponto Y foi considerado a oitenta milissegundos do ponto J.

- Dados clínicos: a angina do peito foi qualificada e quantificada por dois cardiologistas experientes e considerada no exato momento do relato; o duplo produto foi obtido no momento inicial em que a angina foi referida. A classificação de intensidade de dor anginosa obedeceu à seguinte classificação: ausente, muito leve, leve, moderada, forte e limitante (critério para interrupção do exame).

## **6 ANÁLISE ESTATÍSTICA**

---

As variáveis são apresentadas descritivamente em tabelas contendo média e desvio padrão. As variáveis foram mensuradas em mais de uma condição de avaliação. Para medidas repetidas, foram avaliadas com análise de variância (ANOVA).

Três hipóteses básicas foram testadas:

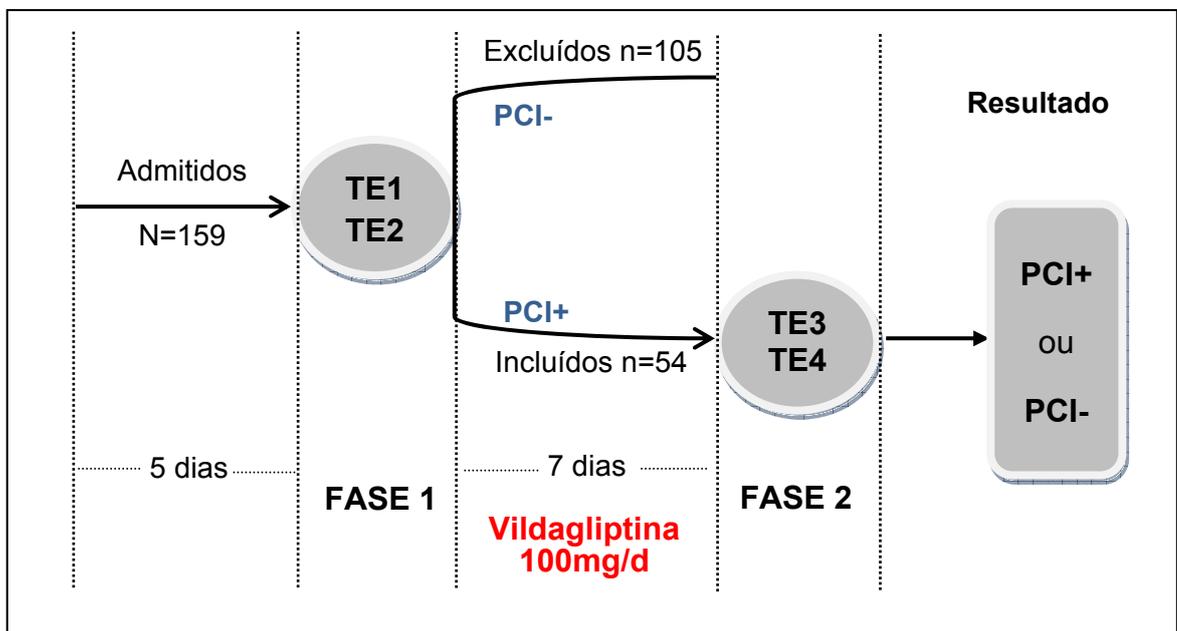
- Hipótese 1: os perfis de médias são paralelos, ou seja, o comportamento dos grupos é igual ao longo do tempo.
- Hipótese 2: os perfis de médias são coincidentes, ou seja, não existe diferença de médias entre os grupos.
- Hipótese 3: não há efeito de tempo, ou seja, os perfis são paralelos ao eixo das abscissas.

Os valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significante<sup>66</sup>.

## **7 DELINEAMENTO DO ESTUDO**

---

A figura 2 ilustra o delineamento do estudo desde a admissão dos pacientes, selecionados no banco de dados do estudo MASS (*Medicine, Angioplasty or Surgery Study*), até o término da fase 2. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética para análise de Pesquisa em 07/12/2007 (CAPPesq: 0946/94/056).



**Figura 2 -** Delineamento do estudo  
N/n: número de pacientes; TE: teste ergométrico; PCI: pré-condicionamento isquêmico

## **8 RESULTADOS**

---

---

## 8.1 População do estudo

Um total de 159 pacientes foi submetido a dois testes ergométricos sequenciais (TE1 e TE2) na fase 1 do estudo. Desses, 54 expressaram o pré-condicionamento isquêmico e, portanto, foram encaminhados para realizar a fase 2.

Após a fase 1, 105 pacientes foram excluídos do protocolo pelas razões seguintes:

- 39 apresentaram teste esforço negativo para isquemia em TE1,
- 21 não demonstraram o pré-condicionamento isquêmico na fase 1,
- 11 apresentaram teste positivo para isquemia apenas na fase de recuperação,
- 5 tiveram arritmias ventriculares,
- 3 foram considerados de alto risco para o teste,
- 26 por motivos diversos: hipotensão arterial durante o teste, bloqueio atrioventricular grau I, uso de isordil por recuperação lenta após o esforço, presença de interferências no registro do eletrocardiograma (ECG), falta de condicionamento físico para realização completa dos testes, má adaptação à esteira.

As tabelas 1 e 2 descrevem a população do estudo.

**Tabela 1 -** População do estudo

<b>Pacientes</b>		<b>n</b>
SELECIONADOS		159
INCLUÍDOS		54
EXCLUÍDOS		105
TE negativo	39	
Não PCI	21	
TE + apenas na recuperação	11	
Arritmia ventricular	5	
Elevação do segmento ST	3	
Não completaram o exame	26	
TOTAL	105	159

n: número de pacientes; TE: teste ergométrico;  
PCI: pré-condicionamento isquêmico

**Tabela 2 -** Principais características demográficas, clínicas e laboratoriais da população do estudo

<b>Características basais</b>	<b>n=54</b>
<b>Sexo (M/F)</b>	49/5
<b>Idade (anos <math>\pm</math> DP)</b>	63,4 $\pm$ 7,4
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup> <math>\pm</math> DP)</b>	27 $\pm$ 3
<b>Tabagismo (%)</b>	05 (12 %)
<b>Glicemia plasmática (mg/dL <math>\pm</math> DP)</b>	144 $\pm$ 60
<b>Hemoglobina A1c (% <math>\pm</math> DP)</b>	7,2 $\pm$ 1,8
<b>Colesterol Total (mg/dL <math>\pm</math> DP)</b>	153 $\pm$ 37
<b>HDL colesterol (mg/dL <math>\pm</math> DP)</b>	38 $\pm$ 10
<b>LDL colesterol (mg/dL <math>\pm</math> DP)</b>	89 $\pm$ 29
<b>Triglicérides (mg/dL <math>\pm</math> DP)</b>	146 $\pm$ 84
<b>Infarto prévio (%)</b>	23 (56%)
<b>Hipertensão arterial (%)</b>	37(68 %)
<b>Biarterial (%)</b>	46%
<b>Triarterial (%)</b>	54%
<b>Fração de ejeção (% <math>\pm</math> DP)</b>	62 $\pm$ 4

DP: desvio padrão; n: número de pacientes; M/F: masculino/feminino; Kg/m<sup>2</sup>: quilograma por metro quadrado; %: percentual; mg/dL: miligrama por decilitro

Glicemias capilares foram realizadas imediatamente antes das fases 1 e 2 nos 54 pacientes. Os resultados foram obtidos com glicosímetros distintos e por observadores diferentes. A tabela 3 apresenta a média e o desvio padrão das glicemias capilares antes das fases 1 e 2.

**Tabela 3** - Média e desvio padrão da glicemia capilar antes das fases 1 e 2

Glicemia capilar*		<i>p</i>
n=54		
Fase 1	Fase 2	
163 ± 39	158 ± 34	0,09

\* glicemia capilar média (mg/dl ± DP) ± desvio padrão;  
n: número de pacientes; *p*: valor descritivo de probabilidade

## 8.2 Análise do pré-condicionamento isquêmico

O PCI foi evidenciado pelo maior tempo para alcançar 1 milímetro de depressão do segmento ST (T-1mm) no segundo teste em comparação com o primeiro teste, em ambas as fases – fase 1: T-1mm em TE2 > TE1 e fase 2: T-1mm em TE4 > TE3. A análise do duplo produto (Dp) no momento do T-1mm ST também foi maior no segundo teste comparado ao primeiro, em ambas as fases – fase 1: Dp em TE2 > TE1 e fase 2: Dp em TE4 > TE3. Desse modo, as médias do T-1mm ST e do Dp no momento do T-1mm ST foram maiores no segundo teste comparadas às do primeiro quando o PCI estava preservado (tabelas 3 e 4).

---

### 8.3 Resultados do T-1mm nos grupos com bloqueio do PCI (B) e com PCI preservado (NB)

Durante a fase 1, sem influência de qualquer medicação, a média do T-1mm foi maior no TE2 ( $355 \pm 111$ ) do que no TE1 ( $278 \pm 104$ ) nos 54 pacientes avaliados ( $p < 0,0001$ ).

Nessa variável, a análise de variância de dados repetidos mostra que existe diferença significativa entre a média de T-1mm dos testes TE1 e TE2 nos dois grupos (B:  $p < 0,001$  e NB:  $p < 0,001$ ), sendo que a média de T-1mm do TE2 é maior que a do TE1.

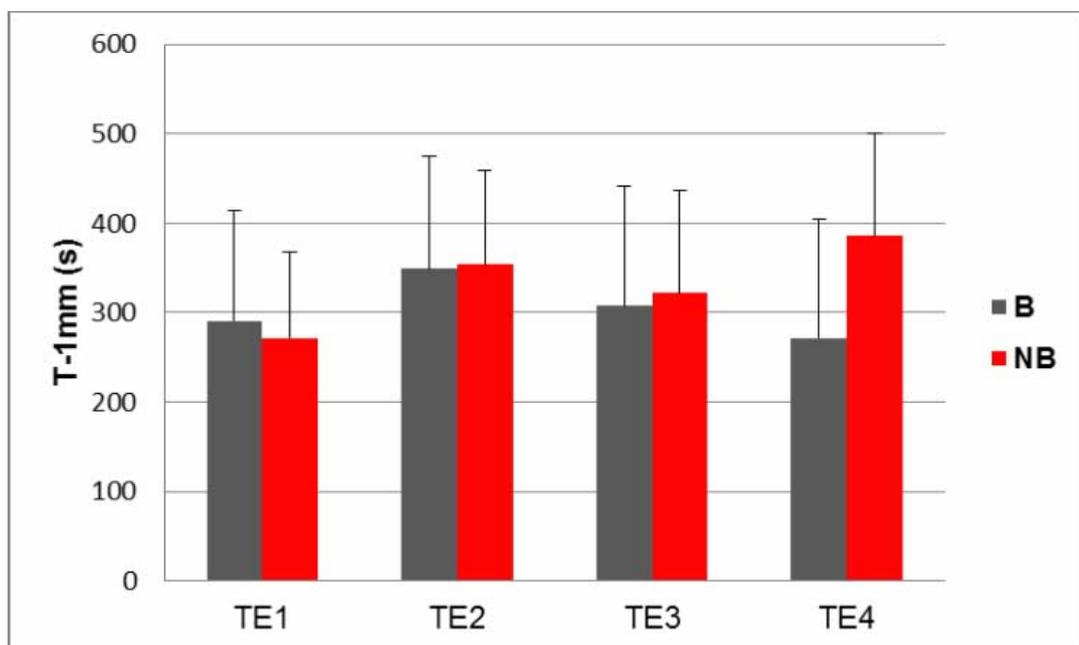
Constata-se também diferença significativa entre a média de T-1mm dos testes TE3 e TE4 nos dois grupos (B:  $p = 0,006$  e NB:  $p < 0,001$ ). Ou seja, em ambos os grupos, as médias diferem nas duas medidas consecutivas; porém, nos testes TE3 e TE4, a média de TE4 aumenta em NB e diminui em B.

A tabela 4 e o gráfico 1 ilustram esses resultados.

**Tabela 4** - Média e desvio padrão do T-1mm dos testes ergométricos TE1, TE2, TE3 e TE4 nos grupos com bloqueio do PCI (B) e com PCI preservado (NB)

		B (n=13)		NB (n=41)	
		T-1mm* (s)	P	T-1mm* (s)	p
Fase 1	TE1	291 ± 123	< 0,001	271 ± 96	<0,001
	TE2	349 ± 126		354 ± 105	
Fase 2	TE3	307 ± 135	0,006	322 ± 114	<0,001
	TE4	272 ± 133		386 ± 114	

TE: teste ergométrico 1, 2, 3, 4; NB: não-bloqueio; B: bloqueio; n: número de pacientes; T-1mm: tempo para iniciar 1 mm de depressão do segmento ST; s: segundo; p: valor descritivo de probabilidade; \*valores em média ± desvio padrão



**Gráfico 1** - Representação da média do T-1mm dos testes TE1, TE2, TE3 e TE4 nos grupos com bloqueio do PCI (B) e com PCI preservado (NB)

---

#### **8.4 Resultados da diferença (delta) do T-1mm obtidas entre TE1-TE2 e entre TE3-TE4**

Foram realizadas análises das diferenças (delta) entre a média de T-1mm ST nos dois testes da mesma fase. Assim, foram obtidos os valores de Delta-1 da fase 1 (TE2 menos TE1) e Delta-2 da fase 2 (TE4 menos TE3).

Esses valores de delta foram submetidos a análise de variância para dados repetidos, por se tratar dos mesmos pacientes nas duas comparações. Essa análise mostrou que Delta-1 é maior que Delta-2 ( $p < 0,001$ ) no grupo B, enquanto no grupo NB essa diferença não é significativa ( $p = 0,112$ ).

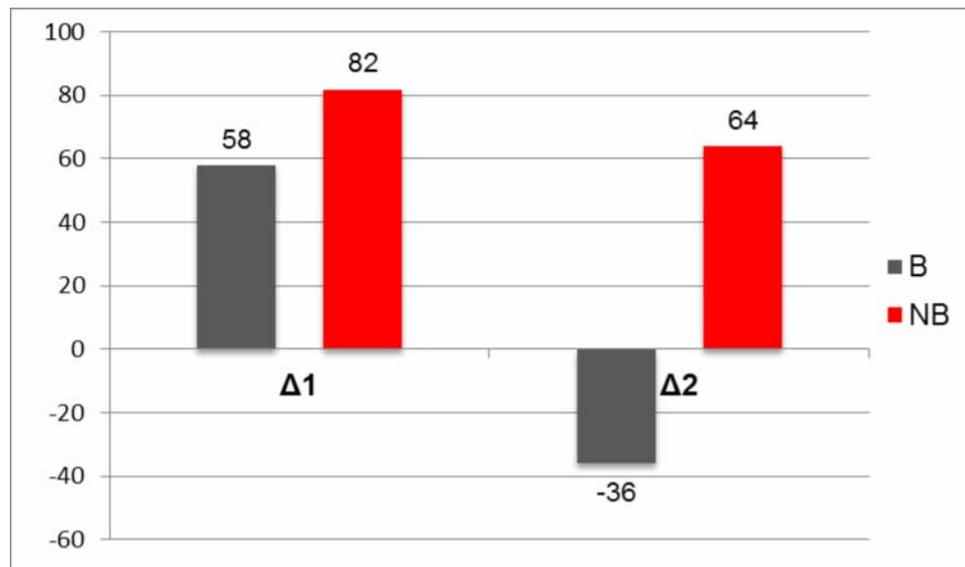
Na tabela 5, observa-se que o delta do grupo B diminuiu muito mais na segunda fase do que o delta do grupo NB.

A tabela 5 e o gráfico 2 ilustram esses resultados.

**Tabela 5** - Valores de deltas para T-1mm em segundos nas fases 1 e 2 dos grupos com bloqueio (B) e PCI preservado (NB)

	B (n=13)		NB (n=41)	
	$\Delta^*$	<i>P</i>	$\Delta^*$	<i>p</i>
<b>Fase 1 (TE2-TE1)</b>	58 ± 32	<0,001	82 ± 49	0,112
<b>Fase 2 (TE4-TE3)</b>	-36 ± 38		64 ± 57	

\*Valores em média ± desvio padrão;  $\Delta$ :Delta; TE: teste ergométrico 1, 2, 3, 4, *p*: valor descritivo de probabilidade; n: número de pacientes



**Gráfico 2** - Representação da média dos deltas 1 (TE2-TE1) e 2 (TE4-TE3) para T-1mm. B: bloqueio do pré-condicionamento isquêmico; NB:pré-condicionamento isquêmico preservado

---

### **8.5 Resultados do duplo produto no momento do T-1mm nos grupos com bloqueio do PCI (B) e com PCI preservado (NB)**

A análise de variância de dados repetidos mostrou que existe diferença significativa entre as médias do duplo produto dos testes TE1 e TE2 nos dois grupos: B ( $p=0,004$ ) e NB ( $p<0,001$ ); sendo que a média do duplo produto do TE2 é maior que a do TE1, nos dois grupos (B e NB).

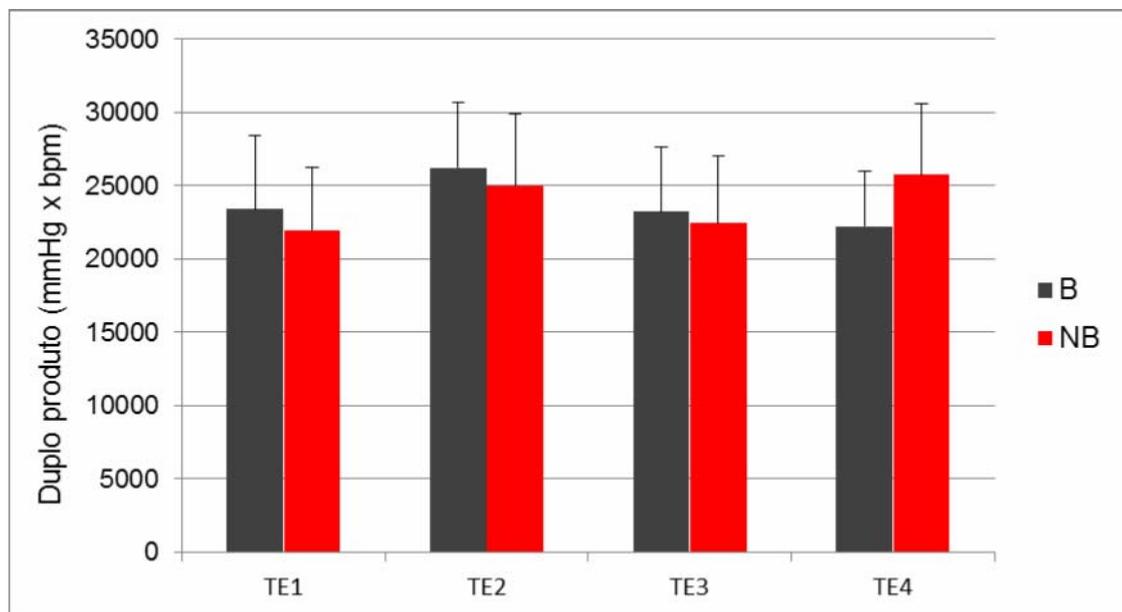
A análise obtida com a média do duplo produto dos testes TE3 e TE4 mostrou diferença significativa somente no grupo NB ( $p<0,001$ ), sendo que no grupo B a diferença não chega a ser significativa ( $p=0,144$ ). A média do duplo produto do TE4 é aparentemente menor que a do TE3.

A tabela 6 e o gráfico 3 ilustram esses resultados.

**Tabela 6** - Média e desvio padrão do duplo produto no momento do T-1mm dos testes ergométricos TE1, TE2, TE3 e TE4 nos grupos com bloqueio do PCI (B) e com PCI preservado (NB)

		B (n=13)		NB (n=41)	
		Duplo produto*	<i>p</i>	Duplo produto*	<i>p</i>
Fase 1	TE 1	23413 ± 5011	0,004	21964 ± 4332	< 0,001
	TE2	26250 ± 4478		25008 ± 4861	
Fase 2	TE3	23232 ± 4380	0,144	22447 ± 4563	< 0,001
	TE4	22245 ± 3780		25734 ± 4884	

Duplo produto: mmHg x bpm; TE: teste ergométrico 1, 2, 3, 4, n: número de pacientes; *p*: valor descritivo de probabilidade; \*valores em média ± desvio padrão



**Gráfico 3** - Representação da média do duplo produto do T-1mm dos testes TE1, TE2, TE3 e TE4 nos grupos com bloqueio do PCI (B) e com PCI preservado (NB)

### **8.6 Resultados da frequência cardíaca basal**

A análise de variância de dados repetidos mostrou que existe diferença significativa entre as médias da frequência cardíaca basal nos testes TE1 e TE2 (77 e 86, respectivamente) apenas no grupo NB ( $p < 0,001$ ).

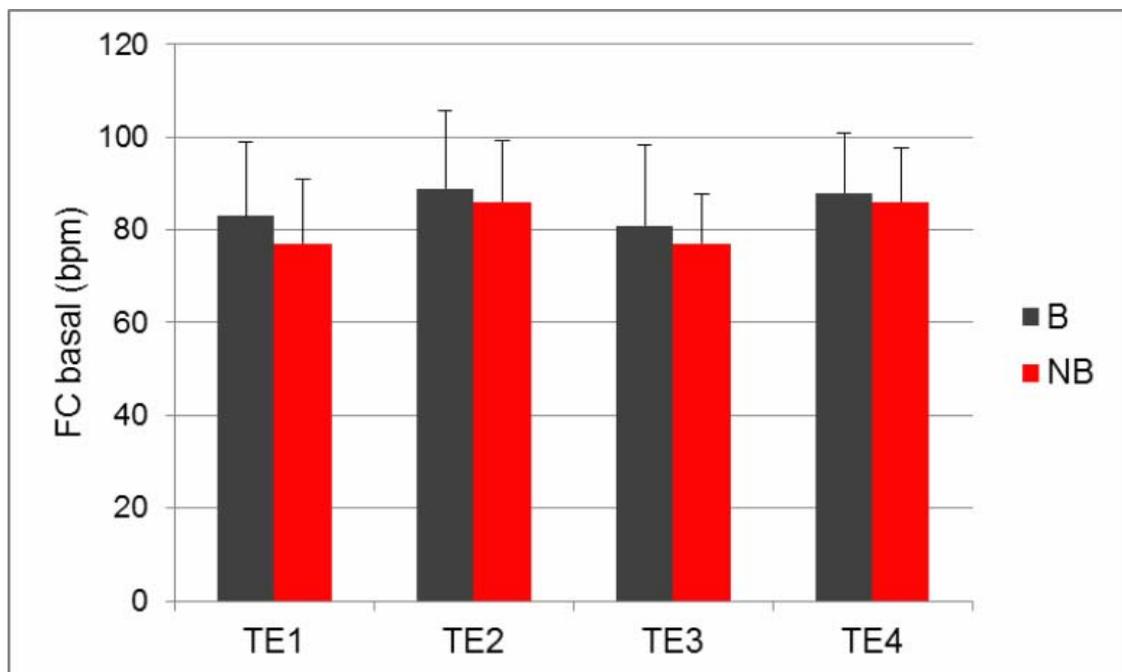
Nos testes TE3 e TE4, a diferença é significativa nos dois grupos: B ( $p = 0,008$ ) e NB ( $p < 0,001$ ).

A tabela 7 e o gráfico 4 ilustram esses resultados.

**Tabela 7** - Média e desvio padrão da frequência cardíaca basal dos testes ergométricos TE1, TE2, TE3 e TE4 nos grupos com bloqueio do PCI (B) e com PCI preservado (NB)

		B (n=13)		NB (n=41)	
		FC basal*	<i>p</i>	FC basal*	<i>p</i>
Fase 1	TE1	83 ± 16	0,094	77 ± 14	< 0,001
	TE2	89 ± 17		86 ± 13	
Fase 2	TE3	81 ± 17	0,008	77 ± 11	< 0,001
	TE4	88 ± 13		86 ± 12	

FC: Frequência cardíaca (batimentos por minuto); TE: teste ergométrico 1, 2, 3, 4, n: número de pacientes; *p*: valor descritivo de probabilidade; \*valores em média ± desvio padrão



**Gráfico 4** - Representação da média da frequência cardíaca basal dos testes TE1, TE2, TE3 e TE4 nos grupos com bloqueio do PCI (B) e com PCI preservado (NB)

### 8.7 Resultados da frequência cardíaca máxima

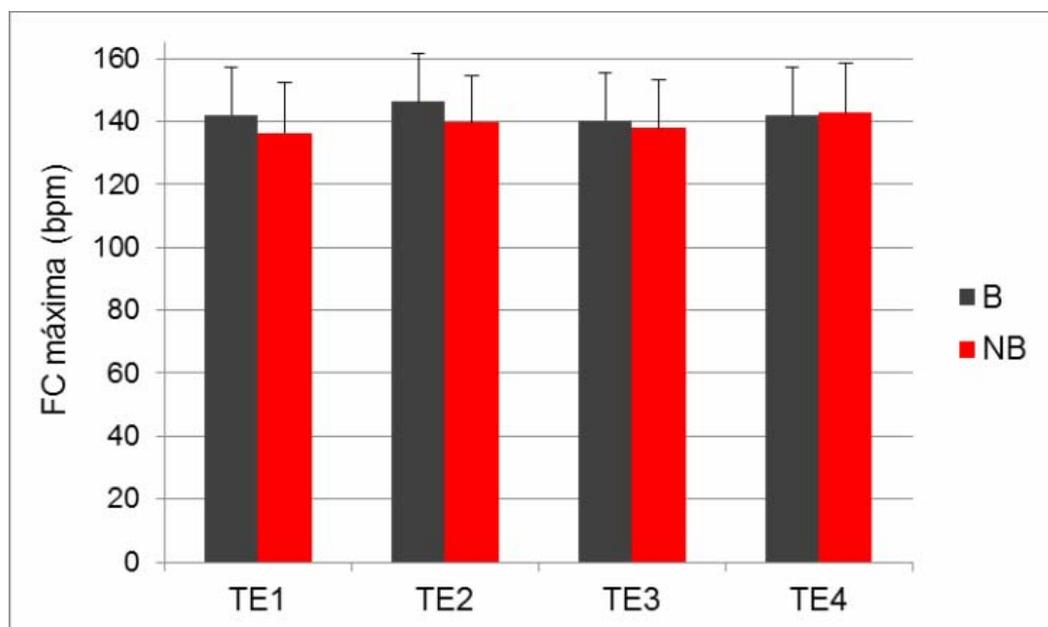
A análise de variância de dados repetidos mostrou que existe diferença significativa entre a média da frequência cardíaca máxima dos testes TE1 e TE2 nos dois grupos: B ( $p=0,022$ ) e NB ( $p=0,001$ ). Nos testes TE3 e TE4, constatou-se diferença significativa apenas no grupo NB ( $p=0,002$ ).

A tabela 8 e o gráfico 5 ilustram esses resultados.

**Tabela 8** - Média e desvio padrão da frequência cardíaca máxima, dos testes ergométricos TE1, TE2, TE3 e TE4 nos grupos com bloqueio do PCI (B) e com PCI preservado (NB)

		B (n=13)		NB (n=41)	
		FC máxima*	P	FC máxima*	p
Fase 1	TE1	142 ± 15	0,022	136 ± 16	0,001
	TE2	146 ± 16		140 ± 15	
Fase 2	TE3	140 ± 15	0,078	138 ± 15	0,002
	TE4	142 ± 15		143 ± 16	

FC: frequência cardíaca (batimentos por minuto); TE: teste ergométrico 1, 2, 3, 4, n: número de pacientes; p: valor descritivo de probabilidade; \*valores em média ± desvio padrão



**Gráfico 5** - Representação da média da frequência cardíaca máxima dos testes TE1, TE2, TE3 e TE4 nos grupos com bloqueio do PCI (B) e com PCI preservado (NB)

### **8.8 Resultados da pressão arterial sistólica basal**

A análise de variância de dados repetidos da pressão arterial sistólica basal mostrou que existe diferença significativa entre as médias da PAS basal dos testes TE1 e TE2 nos dois grupos: B ( $p=0,037$ ) e NB ( $p=0,009$ ).

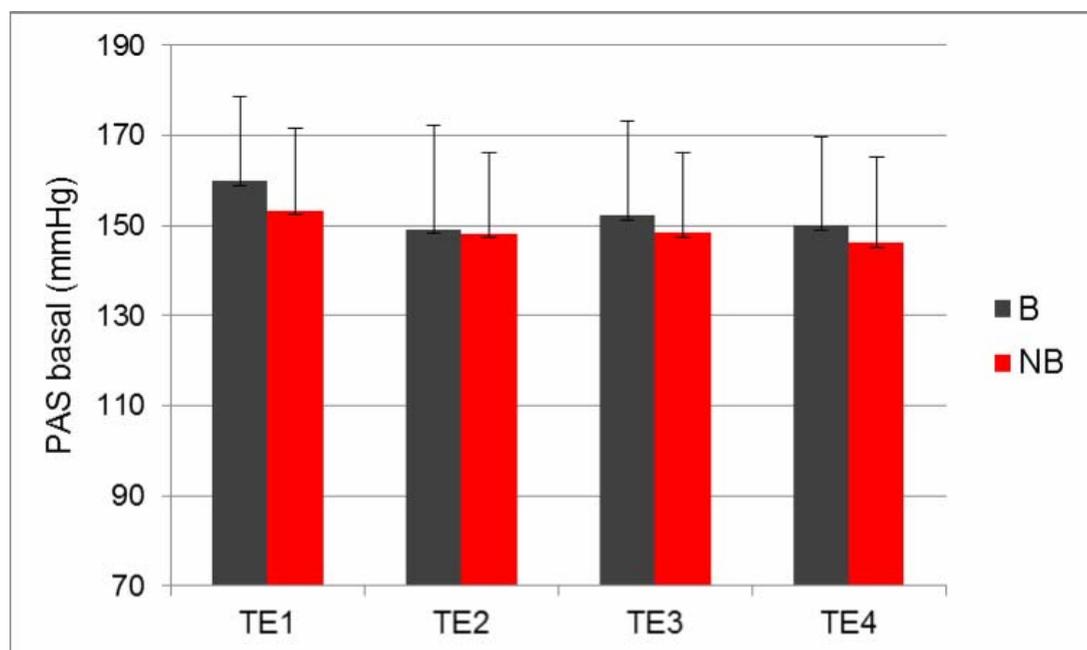
Nos testes TE3 e TE4, nos dois grupos, não se constatou diferença significativa: B ( $p=0,584$ ) e NB ( $p=0,197$ ).

A tabela 9 e o gráfico 6 ilustram esses resultados.

**Tabela 9** - Média e desvio padrão da pressão arterial sistólica basal dos testes TE1, TE2, TE3 e TE4 nos grupos com bloqueio do PCI (B) e com PCI preservado (NB)

		B (n=13)		NB (n=41)	
		PAS basal*	<i>p</i>	PAS basal*	<i>p</i>
Fase 1	TE1	160 ± 19	0,037	153 ± 18	0,009
	TE2	149 ± 23		148 ± 18	
Fase 2	TE3	152 ± 21	0,584	148 ± 18	0,197
	TE4	150 ± 20		146 ± 19	

PAS: pressão arterial sistólica (mmHg); TE: teste ergométrico 1, 2, 3, 4, n: número de pacientes; *p*: valor descritivo de probabilidade; \*valores em média ± desvio padrão



**Gráfico 6** - Representação da média da pressão arterial sistólica basal dos testes TE1, TE2, TE3 e TE4 nos grupos com bloqueio do PCI (B) e com PCI preservado (NB)

### **8.9 Resultados da pressão arterial sistólica máxima**

A análise de variância de dados repetidos da pressão arterial sistólica máxima mostrou que não existe diferença significativa entre as médias dos testes TE1 e TE2 nos dois grupos: B ( $p=0,931$ ) e NB ( $p=0,888$ ).

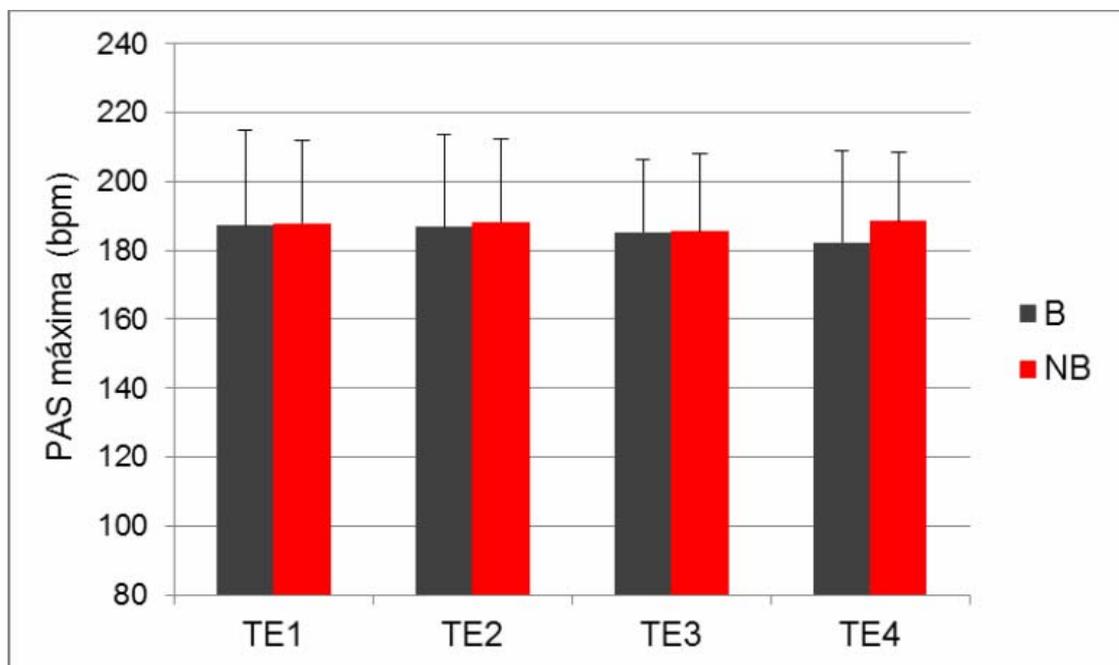
Não há também diferença significativa entre a média dos testes TE3 e TE4 nos dois grupos: B ( $p=0,487$ ), NB ( $p=0,188$ ).

A tabela 10 e o gráfico 7 ilustram esses resultados.

**Tabela 10** - Média e desvio padrão da pressão arterial sistólica máxima dos testes TE1, TE2, TE3 e TE4 nos grupos com bloqueio do PCI (B) e com PCI preservado (NB)

		B (n=13)		NB (n=41)	
		PAS máxima*	<i>p</i>	PAS máxima*	<i>p</i>
Fase 1	TE1	187 ± 27	0,931	188 ± 24	0,888
	TE2	187 ± 27		188 ± 24	
Fase 2	TE3	185 ± 21	0,487	186 ± 22	0,188
	TE4	182 ± 27		188 ± 20	

PAS: pressão arterial sistólica (mmHg); TE: teste ergométrico 1, 2, 3, 4, n: número de pacientes; *p*: valor descritivo de probabilidade; \*valores em média ± desvio padrão



**Gráfico 7** – Representação da média da pressão arterial sistólica máxima dos testes TE1, TE2, TE3 e TE4 nos grupos com bloqueio do PCI (B) e com PCI preservado (NB)

### 8.10 Resultados do tempo total de exercício

A análise de variância de dados repetidos do tempo total de exercício mostrou que não existe diferença significativa entre as médias nos testes TE1 e TE2 ( $p=0,1207$ ) e TE3 e TE4 ( $p=0,1344$ ) no grupo B.

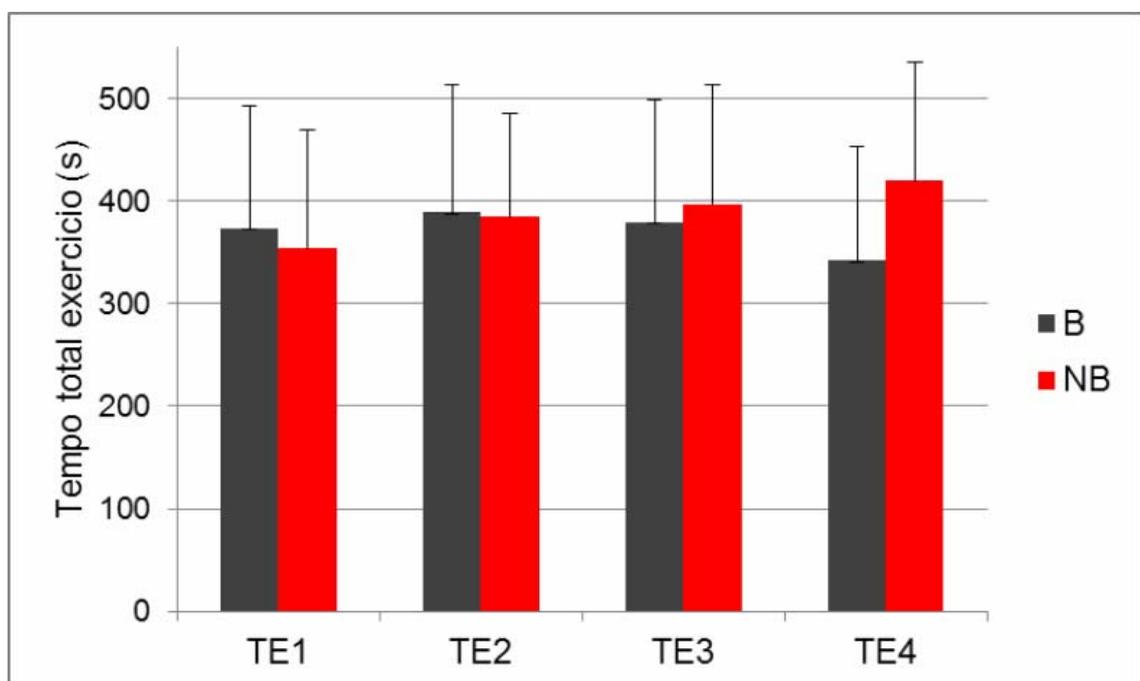
Entretanto, há diferença significativa entre as médias de TE1 e TE2 ( $p= 0,0014$ ) e de TE3 e TE4 ( $p= 0,0004$ ) no grupo NB.

A tabela 11 e o gráfico 8 ilustram esses resultados.

**Tabela 11** - Média e desvio padrão do tempo total de exercício dos testes TE1, TE2, TE3 e TE4 nos grupos com bloqueio do PCI (B) e com PCI preservado (NB)

		B (n=13)		NB (n=41)	
		Tempo total* (s)	<i>p</i>	Tempo total* (s)	<i>p</i>
Fase 1	TE1	374 ± 119	0,1207	354 ± 116	0,0014
	TE2	389 ± 124		385 ± 101	
Fase 2	TE3	379 ± 121	0,1344	397 ± 117	0,0004
	TE4	342 ± 111		420 ± 116	

TE: teste ergométrico 1, 2, 3, 4, n: número de pacientes; p: valor descritivo de probabilidade; s: segundos; \*valores em média ± desvio padrão



**Gráfico 8** - Representação da média do tempo total de exercício dos testes TE1, TE2, TE3 e TE4 nos grupos com bloqueio do PCI (B) e com PCI preservado (NB)

### **8.11 Resultados do duplo produto máximo durante o pico do exercício**

A análise de variância de dados repetidos do duplo produto máximo durante o pico do exercício mostrou que não existe diferença significativa entre as médias nos testes TE1 e TE2 ( $p= 0,3740$ ) e TE3 e TE4 ( $p=0,8582$ ) no grupo com bloqueio do PCI (B).

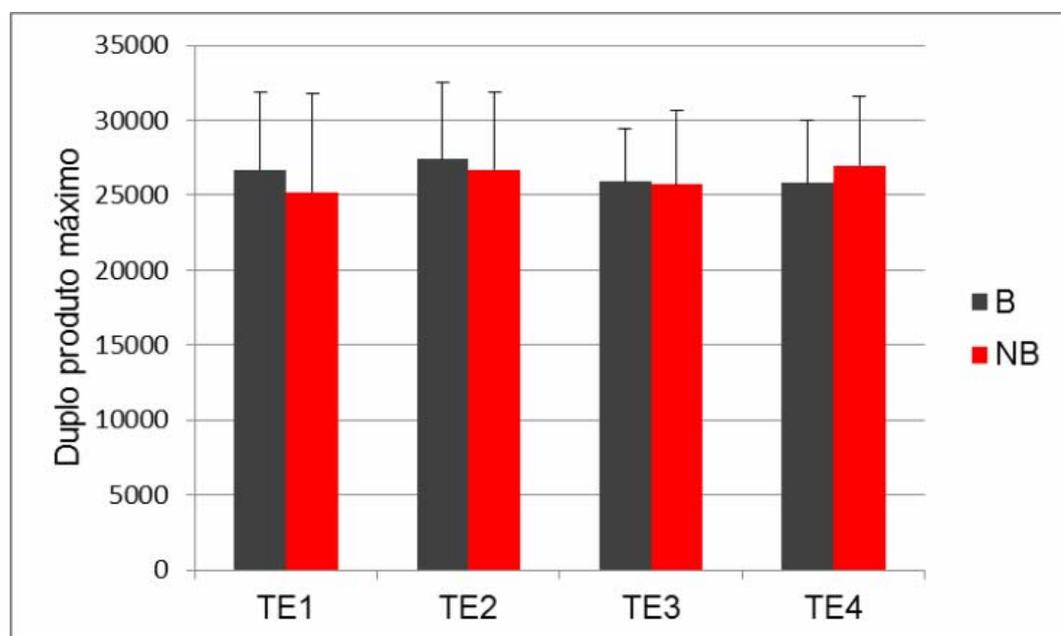
Entretanto, há diferença significativa nas médias de TE1 e TE2 ( $p=0,0414$ ) e TE3 e TE4 ( $p=0,0116$ ) no grupo NB.

A tabela 12 e o gráfico 9 ilustram esses resultados.

**Tabela 12** - Média e desvio padrão do duplo produto durante o pico do exercício (máximo) nos testes TE1, TE2, TE3 e TE4 dos grupos com bloqueio do PCI (B) e com PCI preservado (NB)

		B (n=13)		NB (n=41)	
		Duplo produto máximo*	<i>P</i>	Duplo produto máximo*	<i>p</i>
<b>Fase 1</b>	<b>TE1</b>	26689 ± 5225	0,3740	25185 ± 6604	0,0414
	<b>TE2</b>	27391 ± 5149		26685 ± 5208	
<b>Fase 2</b>	<b>TE3</b>	25926 ± 3479	0,8582	25734 ± 4932	0,0116
	<b>TE4</b>	25812 ± 4233		26999 ± 45518	

Duplo produto: mmHg x bpm; TE: teste ergométrico 1, 2, 3, 4, n: número de pacientes; *p*: valor descritivo de probabilidade; \*valores em média ± desvio padrão



**Gráfico 9** - Representação da média do duplo produto máximo nos testes TE1, TE2, TE3 e TE4 dos grupos com bloqueio do PCI (B) e com PCI preservado (NB)

### 8.12 Presença da angina

A amostra é composta de dois grupos, a saber: B: bloqueio do PCI, com 13 pacientes (24,1%); e NB: com PCI preservado, com 41 pacientes (75,9%). A angina ocorreu em 9 pacientes, dos quais 2 eram do grupo B e 7 do grupo NB. O teste de qui-quadrado mostrou que não existe associação estatisticamente significativa entre a presença de angina entre os dois grupos (  $\chi^2=0,020$ ;  $p=0,887$  ).

A tabela 13 representa esses dados.

**Tabela 13** - Presença de angina nos grupos com bloqueio do PCI (B) e com PCI preservado (NB)

<b>Angina</b>	<b>B n=13</b>	<b>NB n=41</b>	<b>Total N=54</b>
<b>Não</b>	11 (20,4%)	34 (63%)	45 (83%)
<b>Sim</b>	2 (3,7%)	7 (13%)	9 (17%)

n: número de pacientes; %: percentual

## **9 DISCUSSÃO**

---

Este estudo confirmou que, em pacientes com diabetes *mellitus* tipo 2 e doença arterial coronariana estável, a isquemia miocárdica esforço induzida durante dois testes ergométricos sequenciais pode ser atenuada na presença do fenômeno do pré-condicionamento. A demonstração do fenômeno do aquecimento por TE sequenciais e comparativos comprovou que esse é um modelo clínico adequado para avaliar de forma fundamentada os mecanismos de adaptação miocárdica à isquemia.

Para o reconhecimento da resposta adaptativa do miocárdio isquêmico, o T-1mm foi de fácil análise e registro, tanto para a identificação da depressão do segmento ST quanto para a demarcação das medidas de tempo. O T-1mm é considerado índice de tolerância do miocárdio à isquemia e é obtido no momento em que a depressão do segmento ST atinge 1mm, em morfologias horizontais ou descendentes, durante o exercício. O DP no momento do T-1mm é descrito como índice objetivo de limiar isquêmico, pois reflete o consumo de oxigênio do miocárdio no início da isquemia.

Esse estudo demonstrou que o tempo para o início da isquemia (T-1mm) é mais longo no segundo de dois TE na presença do PCI. Com o PCI ausente, esse índice de tolerância à isquemia ocorreu mais precocemente. Já o DP no momento do T-1mm mostrou comportamento semelhante ao T-1mm tanto na presença quanto na ausência do PCI. Em resumo, ambos os índices, T-1mm e DP no momento do T-1mm, expressaram simultaneamente a resposta protetora ao miocárdio na presença do PCI.

Outros autores, como Tomai et al.<sup>67</sup> e Övünç<sup>49</sup>, relataram melhora do T-1,5mm, durante TE sequenciais, como índice de expressão do fenômeno do aquecimento. Estudos prévios descreveram que o DP no início da isquemia mostrou-se um índice representativo e não invasivo para avaliação do PCI<sup>35,37,49,68,69</sup>.

No presente estudo, após análise dos índices descritos acima, o PCI foi demonstrado em todos pacientes, na fase 1 do estudo, sem interferência de medicações. Entretanto, admitindo-se que o PCI oferece proteção ao

miocárdio isquêmico e que é mediado por receptores que sofrem efeitos de drogas, é razoável inferir que medicamentos com potencial ação nesses receptores interferem em seus mecanismos. Por se tratar de um fenômeno dinâmico, fármacos que operem em sítios interligados aos seus mecanismos podem exercer efeitos positivos ou negativos.

Nossos resultados evidenciam que a vildagliptina preservou o PCI em pacientes com diabetes e DAC. A presença do PCI foi demonstrada pela melhora no índice de tolerância miocárdica à isquemia (T-1mm) e pelo DP no início da isquemia (índice de limiar isquêmico) no segundo de 2 TE, após uma semana com vildagliptina, em 76% de 54 pacientes estudados.

Nessa mesma direção, estudos recentes direcionados a avaliar o papel de fármacos hipoglicemiantes com potencial para interferir nos mecanismos celulares do PCI revelaram deterioração desse mecanismo protetor em pacientes submetidos a TE em uso de glibenclamida<sup>49,50</sup> e repaglinida<sup>53</sup>.

Inúmeras evidências sugerem o expressivo papel da ativação dos canais K-ATP como fundamental para a expressão do mecanismo protetor do PCI<sup>70-72</sup>. Admite-se que a abertura dos canais K-ATP no miocárdio seja responsável pela saída do potássio de dentro da célula. Isso determina muitas das respostas do miocárdio à isquemia, particularmente a diminuição da duração do potencial de ação. Ocorre, então, encurtamento da duração da fase de platô, que corresponde à fase de maior entrada de cálcio na célula. Assim, há redução no influxo de cálcio, o que causa vasodilatação e decréscimo na contratilidade miocárdica. A redução da atividade mecânica do miocárdio conserva energia e ATP e, desse modo, age como cardioprotetor durante a isquemia.

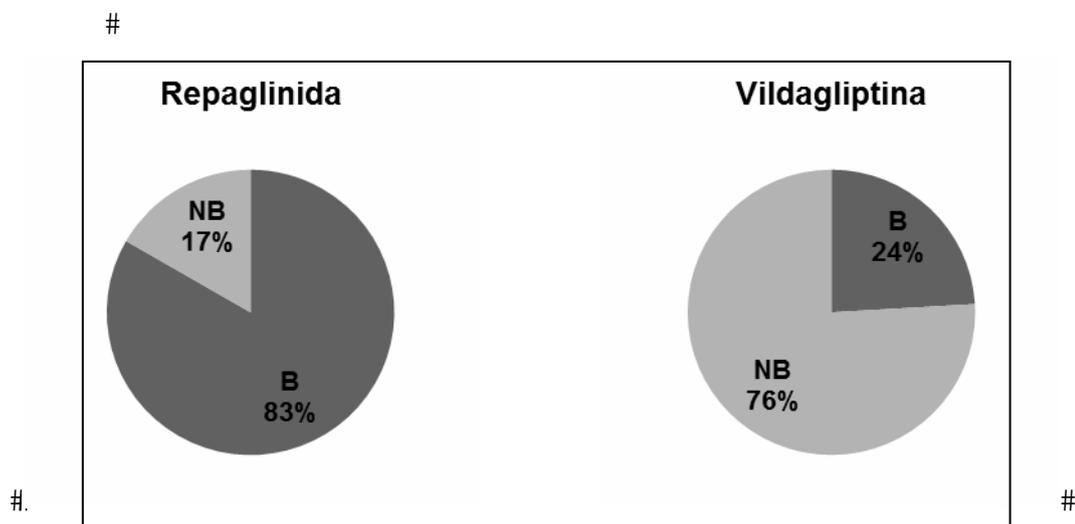
Tomai et al.<sup>17</sup> e Ferreira et al.<sup>50</sup> demonstraram bloqueio do PCI com uso de glibenclamida, atribuindo esse resultado ao bloqueio dos canais de K-ATP miocárdicos. Já o uso da repaglinida, segundo estudo de Hueb et al.<sup>53</sup>, piorou a tolerância miocárdica à isquemia e não promoveu melhora no limiar isquêmico em 83% da população composta por 42 pacientes com DM2 e DAC estável. A deterioração da resposta protetora pela repaglinida

provavelmente ocorreu por mecanismos similares aos da glibenclamida no coração.

Esses estudos que demonstram perda do PCI durante uso de fármacos hipoglicemiantes em pacientes portadores de diabetes e DAC sugerem piora de prognóstico para populações com alto risco para infarto miocárdico. Nesse caso, é necessário identificar mecanismos endógenos, subjacentes à proteção miocárdica, a fim de preservar ou aumentar a resposta protetora do PCI, utilizando fármacos com tal propriedade.

O principal objetivo do presente estudo foi avaliar se a vildagliptina, fármaco da classe dos inibidores da enzima DPP-4, poderia interferir no PCI miocárdico e se, conforme os resultados obtidos, a utilização sistemática da vildagliptina preservou a resposta protetora do miocárdio na maioria dos pacientes estudados.

Esses dados tornam-se muito expressivos quando comparados aos que foram obtidos no estudo com a repaglinida. A comparação entre os dois resultados é exequível, pois apresentam populações e metodologias semelhantes, como mostra a figura 3, a seguir.##



**Figura 3** - Representação dos diferentes efeitos de dois fármacos hipoglicemiantes orais sobre o PCI.  
B: bloqueio do PCI; NB: PCI preservado

#

#

Desse modo, fica evidente o comportamento distinto de drogas hipoglicemiantes no miocárdio, especificamente sobre o PCI.

Apesar de a vildagliptina também estimular a secreção de insulina pelas células beta pancreáticas, ela utiliza mecanismos diferentes das sulfonilureias e da repaglinida para exercer essa função. Como amplamente descrito, os inibidores da enzima DPP-4 (entre eles, a vildagliptina) aumentam a meia-vida dos hormônios incretinas, representados principalmente pelo GLP-1<sup>60</sup>.

O GLP-1 liga-se a receptor específico na membrana celular. Os receptores de GLP-1 estão presentes no miocárdio humano<sup>61</sup> e, portanto participam de mecanismos inerentes ao coração. É conhecido que o GLP-1 liga-se a receptores específicos pertencentes à família dos receptores vinculados à proteína G<sup>73</sup>. Nessa grande família, estão presentes os receptores de adenosina, bradicinina, norepinefrina e opióide. Tais peptídeos foram relacionados ao mecanismo desencadeador do PCI<sup>43,74,75</sup>.

A similaridade existente entre os receptores de GLP-1 e a adenosina, principalmente, remete à possibilidade de o GLP-1 apresentar potencial papel de desencadeador do PCI. A avaliação dessa possibilidade requer estudos experimentais específicos e complementares. Entretanto, fármacos com capacidade de ativar receptores acoplados a proteína G, entre eles o receptor de adenosina, com objetivo de estratégia terapêuticas desencadeadoras do PCI (PCI farmacológico), suscita grande interesse entre os pesquisadores<sup>76</sup>.

De outra perspectiva, foi amplamente descrito que o GLP-1 atua em mecanismo intracelular ativando adenosina 3',5'-monofosfato cíclico (AMPc) e fosfatidilinositol-3 quinase<sup>77-82</sup>. Essa quinase ocupa papel relevante em vias celulares responsáveis pela proteção miocárdica durante a isquemia/reperfusão<sup>80</sup> e também pela proteção relacionada ao PCI<sup>77,79,81</sup>.

Nikolaidis et al.<sup>83</sup> relataram que análogo de GLP-1, administrado até 72 horas após a angioplastia, promoveu efeito cardioprotetor em pacientes com infarto agudo do miocárdio. Ademais, a utilização de GLP-1 em pacientes com diabetes e doença arterial coronária promoveu melhora da

---

pressão arterial e da função cardíaca no pós-operatório imediato de revascularização miocárdica<sup>84</sup>.

A maioria dos estudos com o objetivo de avaliar GLP-1 e sistema cardiovascular utilizou GLP-1 mimético ou análogo de GLP-1, cuja concentração plasmática farmacológica é maior que GLP-1 intacto circulante, após inibição da DPP-4. Estudos experimentais e clínicos para avaliação do efeito de inibidores da DPP-4 sobre o miocárdio são escassos.

Sauvé et al.<sup>85</sup> observaram que a inibição química ou eliminação genética da atividade da DPP-4 em camundongos diabéticos não piorou a função cardiovascular após o infarto do miocárdio. Ye et al.<sup>86</sup> mostraram que o pré-tratamento com sitagliptina (fármaco inibidor da DPP-4) reduziu o tamanho do infarto, pela ligação da artéria coronária, em ratos não-diabéticos. Recente avaliação clínica conduzida por Read et al.<sup>87</sup>, em pacientes portadores de DAC com e sem diabetes, demonstraram melhora da função ventricular regional e redução do stunning pós-isquêmico após sitagliptina. Esse resultado foi obtido em resposta ao estresse farmacológico com dobutamina, e seus autores o atribuíram ao aumento da concentração de GLP-1 após inibidor da DPP-4.

A atividade da enzima DPP-4 é ampla e, além das incretinas, ela cliva cadeias peptídicas nas quais a prolina ou a alanina é o segundo aminoácido, a partir da extremidade N-terminal. Assim, existem inúmeros peptídeos considerados substratos da DPP-4, entre outros, substância P, neuropeptídeo Y, GLP-2 e peptídeo natriurético tipo B. Alguns desses peptídeos já foram descritos com atividade no sistema cardiovascular, entretanto, escassamente elucidados. Por isso, são ainda necessários mais estudos para avaliar seus mecanismos nesse sistema.

O presente trabalho observou, originalmente, que a vildagliptina preservou importante mecanismo cardioprotetor do miocárdio e, na maioria dos casos, aumentou o limiar de isquemia durante duas TE sequenciais.

## **10 CONSIDERAÇÕES CLÍNICAS**

---

O delicado equilíbrio alcançado pelo miocárdio isquêmico em repouso e os mecanismos protetores desenvolvidos durante a isquemia coronária esforço induzida podem sofrer interferências de fármacos hipoglicemiantes orais e aumentar o risco de eventos cardiovasculares. Por essa razão, a terapêutica medicamentosa em pacientes diabéticos portadores de doença arterial coronária estável deve passar por uma criteriosa seleção, prevalecendo a escolha de fármacos hipoglicemiantes com menor efeito adverso. A vildagliptina pareceu ser uma droga com pouca interferência em miocárdio e, em condições de insulto isquêmico, capaz de preservar o PCI.

## **11 CONCLUSÃO**

---

Os resultados obtidos permitem concluir que a vildagliptina é um fármaco capaz de preservar o pré-condicionamento isquêmico em pacientes portadores de diabetes *mellitus* tipo 2 e doença multiarterial coronariana estável.

## **12 REFERÊNCIAS**

---

1. Roglic G, Unwin N. Mortality attributable to diabetes: estimates for the year 2010. *Diabetes Res Clin Pract.* 2010;87(1):15-9.
2. Global Atlas on Cardiovascular Disease Prevention and Control. Mendis S, Puska P, Norrving B editors. World Health Organization, Geneva 2011.
3. Haffner SM, Lehto S, Rönnemaa T, Pyörälä K, Laakso M. Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. *N Engl J Med.* 1998;339(4):229-34.
4. Laakso M: Diabetes and cardiovascular disease in type 2 diabetes: challenge for treatment and prevention. *J Intern Med.* 2001;249:225–235.
5. Preis SR, Hwang SJ, Coady S, Pencina MJ, D'Agostino RB Sr, Savage PJ, Levy D, Fox CS. Trends in all-cause and cardiovascular disease mortality among women and men with and without diabetes mellitus in the Framingham Heart Study, 1950 to 2005. *Circulation.* 2009 Apr 7;119(13):1728-35
6. Murry CE, Jennings RB, and Reimer KA. Preconditioning with ischemic: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation.* 1986;74:1124-36.
7. Van Winkle DM, Thornton JD, Downey DM, Downey JM. The natural history of preconditioning: cardioprotection depends on duration of transient ischemia and time to subsequent ischemia. *Coronary Artery Dis.* 1991;2:613–619

8. Ghosh S, Nicholas B Standen NB, Galiñanes M. Preconditioning the human myocardium by simulated ischemia: studies on the early and delayed protection. *Cardiovasc Res* 2000; 45(2): 339-350
9. Murry CE, Richard VJ, Jennings RB, Reimer KA. Myocardial protection is lost before contractile function recovers from ischemic preconditioning. *Am J Physiol.* 1991;260(3 Pt 2):H796-804.
10. Marber MS, Latchman DS, Walker JM, and Yellon DM. Cardiac stress protein elevation 24 hours after brief ischemia or heart stress is associated with resistance to myocardial infarction. *Circulation.* 1993;88:1264-1272.
11. Kuzuya T, Hoshida S, Yamashita N, Fuji H, Oe H, Hori M, Kamada T, and Tada M. Delayed effects of sublethal ischemia on the acquisition of tolerance to ischemia. *Circ Res* 72: 1293–1299, 1993.
12. Baxter GF. Ischemic preconditioning of myocardium. *Ann Med* 1997;29:345–52.
13. Noda T, Minatoguchi S, Fujii K, Hori M, Ito T, Kanmatsuse K, Matsuzaki M, Miura T, Nonogi H, Tada M, Tanaka M, Fujiwara H. Evidence for the delayed effect in human ischemic preconditioning: prospective multicenter study for preconditioning in acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 1999;34(7):1966-74.
14. Sun J-Z, Tang X-L, Knowlton AA, Park S-W, Qiu Y, and Bolli R. Late preconditioning against myocardial stunning: an endogenous protective mechanism that confers resistance to postischemic dysfunction 24 h after brief ischemia in conscious pigs. *J Clin Invest.* 1995;95: 388–403.
15. Bolli R. The late phase of preconditioning. *Circ Res.* 2000;87(11):972-83.

- 
16. Kloner RA, Yellon D. Does ischemic preconditioning occur in patients? *J Am Coll Cardiol.* 1994;24(4):1133-42.
  17. Tomai F, Crea F, Chiariello L, Giofrè PA. Ischemic preconditioning in humans: models, mediators, and clinical relevance. *Circulation.* 1999 Aug 3;100(5):559-63.
  18. Yellon DM, Alkhulaifi AM, and Pugsley WB. Preconditioning the human myocardium. *Lancet.* 1993;342:276–277.
  19. Alkhulaifi AM, Yellon DM and Pugsley WB. Preconditioning the human heart during aorto-coronary bypass surgery. *Eur J Cardiothorac Surg* 1994;8:270-275.
  20. Jenkins DP, Pugsley WB, Alkhulaifi AM, Kemp M, Hooper J, Yellon DM. Ischemic preconditioning reduces troponin T release in patients undergoing coronary artery bypass surgery. *Heart.* 1997;77:314 –318.
  21. Yellon DM and Downey JM. Preconditioning the myocardium: From cellular Physiology to Clinical Cardiology. *Physiol Rev.* 2003;83:1113-51
  22. Deutsch E, Berger M, Kussmaul WG, Hirshfeld JW Jr, Herrmann HC, Laskey WK. Adaptation to ischemia during percutaneous transluminal coronary angioplasty. Clinical, hemodynamic, and metabolic features. *Circulation.* 1990;82(6):2044-51.
  23. Cribier A, Korsatz L, Koning R, Rath P, Gamra H, Stix G, Merchant S, Chan C, and Letac B. Improved myocardial ischemic response and enhanced collateral circulation with long repetitive coronary occlusion during angioplasty: a prospective study. *J Am Coll Cardiol.* 1992;20: 578–586.

- 
24. Airaksinen KE and Huikuri HV. Antiarrhythmic effect of repeated coronary occlusion during balloon angioplasty. *J Am Coll Cardiol.* 1997;29: 1035.
  25. Eltchaninoff H, Cribier A, Tron C, Derumeaux G, Koning R, Hecketsweiler B, and Letac B. Adaptation to myocardial ischemia during coronary angioplasty demonstrated by clinical, electrocardiographic, echocardiographic, and metabolic parameters. *Am Heart J.* 1997;133:490–506.
  26. Kloner RA, Shook T, Przyklenk K, Davis VG, Junio L, Matthews RV, Burstein S, Gibson CM, Poole WK, Cannon CP, McCabe CH, and Braunwald E. Previous angina alters in-hospital outcome in TIMI 4: a clinical correlate to preconditioning? *Circulation.* 1995;91:37–45.
  27. Iwasaka T, Nakamura S, Karakawa M, Sugiura T, and Inada M. Cardioprotective effect of unstable angina prior to acute anterior myocardial infarction. *Chest.* 1994;105:57–61.
  28. Ottani F, Galvani M, Ferrini D, Sorbello F, Limonetti P, Pantoli D, Rusticali F. Prodromal angina limits infarct size. A role for ischemic preconditioning. *Circulation.* 1995;91:291-7.
  29. Kloner RA, Shook T, Antman EM, Cannon CP, Przyklenk K, Yoo K, McCabe CH, Braunwald E. Prospective temporal analysis of the onset of preinfarction angina versus outcome: an ancillary study in TIMI-9B. *Circulation.* 1998 Mar 24;97(11):1042-5.
  30. Napoli C, Liguori A, Chiariello M, Di Leso N, Condorelli M, and Ambrosio G. New-onset angina preceding acute myocardial infarction is associated with improved contractile recovery after thrombolysis. *Eur Heart J.* 1998;19:411–419.

31. Solomon SD, Anavekar NS, Greaves S, Rouleau JL, Hennekens C, Pfeffer MA. Angina pectoris prior to myocardial infarction protects against subsequent left ventricular remodeling. *J Am Coll Cardiol*. 2004;43:1511-4.
32. Joy M, Cairns AW, Springings D. Observations on the warm up phenomenon in angina pectoris. *Br HeartJ* 1987;58:116-21.
33. Marber MS, Joy MD, Yellon DM. Is warm-up in angina ischaemic preconditioning? *Br Heart J*. 1994;72:213–5.
34. Williams DO, Bass TA, Gewirtz H, Most AS. Adaptation to the stress of tachycardia in patients with coronary artery disease: insight into the mechanism of the warm-up phenomenon. *Circulation*. 1985 Apr;71(4):687-92.
35. Okazaki Y, Kodama K, Sato H, Kitakaze M, Hirayama A, Mishima M, Hori M, Inoue M. Attenuation of increased regional myocardial oxygen consumption during exercise as a major cause of warm-up phenomenon. *J Am Coll Cardiol*. 1993;21(7):1597-604.
36. Jaffe MD, Quinn NK. Warm-up phenomenon in angina pectoris. *Lancet* 1980;2:934–6
37. Waters DD, McCans JL, Crean PA. Serial exercise testing in patients with effort angina: variable tolerance, fixed threshold. *J Am Coll Cardiol* 1985; 6: 1011–5.
38. Maybaum S, Ilan M, Mogilevsky J, Tzivoni D. Improvement in ischemic parameters during repeated exercise testing: a possible model for myocardial preconditioning. *Am J Cardiol* 1996;78:1087–1091.

- 
39. Tzivoni D and Maybaum S. Attenuation of severity of myocardial ischemia during repeated daily ischemic episodes. *J Am Coll Cardiol.* 1997;30:119–124.
  40. Bogaty P, Kingma JG Jr, Robitaille NM, Plante S, Simard S, Charbonneau L, Dumesnil JG. Attenuation of myocardial ischemia with repeated exercise in subjects with chronic stable angina: relation to myocardial contractility, intensity of exercise and the adenosine triphosphate-sensitive potassium channel. *J Am Coll Cardiol.* 1998 Nov 15;32(6):1665-71.
  41. Tomai F. Warm up phenomenon and preconditioning in clinical practice. *Heart*, February 1, 2002; 87(2): 99 – 100.
  42. Yang X, Cohen MV, Downey JM. Mechanism of cardioprotection by early ischemic preconditioning. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2010 Jun;24(3):225-34.
  43. Tong H, Rockman HA, Koch WJ, Steenbergen C, Murphy E. G protein-coupled receptor internalization signaling is required for cardioprotection in ischemic preconditioning. *Circ Res.* 2004;94(8):1133-41.
  44. Patel HH, Gross GJ. Mitochondrial KATP channels and cardioprotection. *Drug Dev. Res* 2002;55:17-21.
  45. Imagawa J, Baxter GF, Yellon DM. Myocardial protection afforded by nicorandil and ischaemic preconditioning in a rabbit infarct model in vivo. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1998;31(1):74-9.
  46. Seifalian AM, Chaloupka K, Lohn JW, Gürke L, Heberer M, Hamilton G. The effect of pretreatment with ischaemic preconditioning or cromakalim on perfusion in skeletal muscle during ischaemia-reperfusion injury. *Int Angiol.* 2001;20(2):174-80.

- 
47. Saltman AE, Krukenkamp IB, Gaudette GR, Horimoto H, Levitsky S. Pharmacological preconditioning with the adenosine triphosphate-sensitive potassium channel opener pinacidil. *Ann Thorac Surg.* 2000;70(2):595-601.
  48. Tomai F, Crea F, Gaspardone A, Versaci F, De Paulis R, Penta de Peppo A, Chiariello L, Giofrè PA. Ischemic preconditioning during coronary angioplasty is prevented by glibenclamide, a selective ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel blocker. *Circulation.* 1994 Aug;90(2):700-5.
  49. Övünç K. Effects of glibenclamide, a KATP channel blocker, on warm-up phenomenon in type 2 diabetic patients with chronic stable angina pectoris. *Clin Cardiol.* 2000;23:535–539.
  50. Ferreira BM, Moffa PJ, Falcão A, Uchida A, Camargo P, Pereira P, Soares PR, Hueb W, Ramires JA. The effects of glibenclamide, a K (ATP) channel blocker, on the warm-up phenomenon. *Ann Noninvasive Electrocardiol.* 2005;10(3):356-62.
  51. Dabrowski M, Wahl P, Holmes WE, Ashcroft FM. Effect of repaglinide on cloned beta cell, cardiac and smooth muscle types of ATP-sensitive potassium channels. *Diabetologia.* 2001 Jun;44(6):747-56.
  52. Stephan D, Winkler M, Kühner P, Russ U, Quast U. Selectivity of repaglinide and glibenclamide for the pancreatic over the cardiovascular K(ATP) channels. *Diabetologia.* 2006;49(9):2039-48
  53. Hueb W, Uchida A, Gersh BJ, Betti RT, Lopes N, Moffa PJ, Ferreira BM, Ramires JA, Wajchenberg BL. Effect of a hypoglycemic agent on ischemic preconditioning in patients with type 2 diabetes and stable angina pectoris. *Coron Artery Dis.* 2005;18(1):55-9.

- 
54. Hanley PJ, Daut J.K(ATP) channels and preconditioning: a re-examination of the role of mitochondrial K(ATP) channels and an overview of alternative mechanisms. *J Mol Cell Cardiol.* 2005 Jul;39(1):17-50.
  55. Simpson SH, Majumdar SR, Tsuyuki RT, Eurich DT, Johnson JA. Dose-response relation between sulfonylurea drugs and mortality in type 2 diabetes mellitus: a population-based cohort study. *CMAJ.* 2006;174(2):169-74.
  56. Klimt CR, Knatterud GL, Meinert CL, Prout TE. A study of the effects of hypoglycemic agents on vascular complications in patients with adult-onset diabetes (UGDP). *Diabetes.* 1970;19:747–830.
  57. University Group Diabetes Program: A study of the effects of hypoglycemic agents on vascular complications in patients with adult-onset diabetes. VI. Supplementary report on nonfatal events treated with tolbutamide. *Diabetes.* 1976 Dec;25(12):1129-53.
  58. Nissen SE, Wolski K. Effect of rosiglitazone on the risk of myocardial infarction and death from cardiovascular causes. *N Engl J Med.* 2007;356(24):2457-71.
  59. 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.
  60. Drucker DJ. Dipeptidyl peptidase-4 inhibition and the treatment of type 2 diabetes: Preclinical biology and mechanism of action. *Diabetes Care.* 2007;30(6):1335-43.

- 
61. Wei Y, Mojsov S: Tissue-specific expression of the human receptor for glucagon-like peptide-I: brain, heart and pancreatic forms have the same deduced amino acid sequences. *FEBS Lett.* 1995;358:219–24.
  62. Campbell RK. Rationale for dipeptidyl peptidase 4 inhibitors: a new class of oral agents for the treatment of type 2 diabetes mellitus *Ann Pharmacother.* 2007;41(1):51-60.
  63. Monografia do Produto Glucerna SR. Abbot Nutrition, Laboratório Abbott. 2007.
  64. Bruce RA, Kusumi F, Hosomer D. Maximal oxygen uptake and monographic assessment of functional aerobic impairment in cardiovascular disease. *Am. Heart J.* 1973;85:546-62.
  65. III Guidelines of Sociedade Brasileira de Cardiologia on the exercise test. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia.* 2010;95(5 Suppl 1):1-26.
  66. Rosner B. *Fundamentals of Biostatistics.* 4<sup>a</sup> ed. New York: Duxbury Press; 1994. p.682.
  67. Tomai F, Crea F, Danesi A, Perino M, Gaspardone A, Ghini AS, Cascarano MT, Chiariello L, Gioffrè PA. Mechanisms of the warm-up phenomenon. *Eur Heart J.* 1996 Jul;17(7):1022-7.
  68. Stewart RA, Simonds MB, Williams MJ. Time course of “warm-up” in stable angina. *Am J Cardiol.* 1995;76(1):70-73.
  69. Gobel FL, Nordstrom LA, Nelson RR, Jorgensen CR, Wang Y. The rate-pressure product as an index of myocardial oxygen consumption during exercise in patients with angina pectoris. *Circulation.* 1978; 57: 549–56.

- 
70. Gross GJ and Auchampach JA. Blockade of ATP-sensitive potassium channels prevents myocardial preconditioning in dogs. *Circ Res* 1992; 70: 223–233.
  71. Gross GJ and Fryer RM. Sarcolemmal versus mitochondrial ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels and myocardial preconditioning. *Circ Res* 84: 973–979, 1999.
  72. Suzuki M, Sasaki N, Miki T et al. Role of sarcolemmal K(ATP) channels in cardioprotection against ischemia/reperfusion injury in mice. *J Clin Invest* 2002; 109: 509–516.
  73. Thorens B, Porret A, Bühler L, Deng SP, Morel P, Widmann C. Cloning and functional expression of the human islet GLP-1 receptor: demonstration that exendin-4 is an agonist and exendin-(9–39) an antagonist of the receptor. *Diabetes*.1993; 42:1678–1682.
  74. Gether U. Uncovering molecular mechanisms involved in activation of G protein-coupled receptors. *Endocr Rev*. 2000;21:90-113.
  75. Schulz R, Cohen MV, Behrends M, Downey JM, and Heusch G. Signal transduction of ischemic preconditioning. *Cardiovasc Res*. 2001;52: 181–198.
  76. Fryer RM, Auchampach JA, Gross GJ. Therapeutic receptor targets of ischemic preconditioning. *Cardiovasc Res*. 2002 Aug 15;55(3):520-525
  77. Yang XM, Sato H, Downey JM, Cohen MV..Protection of ischemic preconditioning is dependent upon a critical timing sequence of protein kinase C activation. *J Mol Cell Cardiol*. 1997 Mar;29(3):991-9

- 
78. Buteau J, Roduit R, Susini S, Prentki M. Glucagon-like peptide-1 promotes DNA synthesis, activates phosphatidylinositol 3-kinase and increases transcription factor pancreatic and duodenal homeobox gene 1 (PDX-1) DNA binding activity in beta (INS-1)-cells. *Diabetologia*. 1999; 42:856–864.
  79. Tong H, Chen W, Steenbergen C, Murphy E: Ischemic preconditioning activates phosphatidylinositol-3-kinase upstream of protein kinase C. *Circ Res*. 2000;87:309 –315.
  80. Saurin A.T., Pennington D.J., Raat N.J.H., Latchman D.S., Owen M.J., Marber M.S. Targeted disruption of the protein kinase C epsilon gene abolishes the infarct size reduction that follows ischaemic preconditioning of isolated buffer-perfused mouse hearts. *Cardiovasc. Res*. 2002;55:672–680.
  81. Mocanu MM, Bell RM, Yellon DM: PI3 kinase and not p44/42 appears to be implicated in the protection conferred by ischemic preconditioning. *J Mol Cell Cardiol*. 2002;34:661– 668.
  82. Hui H, Nourparvar A, Zhao X, Perfetti R: Glucagon-like peptide-1 inhibits apoptosis of insulin-secreting cells via a cyclic 5'-adenosine monophosphate-dependent protein kinase A- and a phosphatidylinositol 3-kinasedependent pathway. *Endocrinology*. 2003;144:1444 –1455.
  83. Nikolaidis LA, Mankad S, Sokos GG, Miske G, Shah A, Elahi D, Shannon RP: Effects of glucagon-like peptide-1 in patients with acute myocardial infarction and left ventricular dysfunction after successful reperfusion. *Circulation*. 2004;109:962–65.

- 
84. Müssig K, Oncü A, Lindauer P, Heininger A, Aebert H, Unertl K, Ziemer G, Häring HU, Holst JJ, Gallwitz B. Effects of intravenous glucagon-like peptide-1 on glucose control and hemodynamics after coronary artery bypass surgery in patients with type 2 diabetes. *Am J Cardiol.* 2008;102:646-647.
  85. Sauvé M, Ban K, Momen MA, et al. Genetic deletion or pharmacological inhibition of dipeptidyl peptidase-4 improves cardiovascular outcomes after myocardial infarction in mice. *Diabetes* 2010;59:1063–1073
  86. Ye Y, Keyes KT, Zhang C, Perez-Polo JR, Lin Y, Birnbaum Y. The myocardial infarct size-limiting effect of sitagliptin is PKA-dependent, whereas the protective effect of pioglitazone is partially dependent on PKA. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2010;298(5):H1454-65.
  87. Read PA, Khan FZ, Heck PM, Hoole SP, Dutka DP. DPP-4 inhibition by sitagliptin improves the myocardial response to dobutamine stress and mitigates stunning in a pilot study of patients with coronary artery disease. *Circ Cardiovasc Imaging.* 2010;3(2):195-201.