



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

JULIANE COLOMBO CARRER DE MACÊDO

A VILDAGLIPTINA MODULA A MICROBIOTA INTESTINAL E INDUZ UM PERFIL
IMUNO METABÓLICO DE NEUROPROTEÇÃO

CAMPINAS

2024

JULIANE COLOMBO CARRER DE MACÊDO

A VILDAGLIPTINA MODULA A MICROBIOTA E INDUZ UM PERFIL IMUNO
METABÓLICO DE NEUROPROTEÇÃO

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Doutora em Ciências.

ORIENTADOR: PROF. DR. MARIO JOSÉ ABDALLA SAAD

ESTE TRABALHO CORRESPONDE À VERSÃO
FINAL DA TESE DEFENDIDA PELA
ALUNA JULIANE COLOMBO CARRER DE MACÊDO, ORIENTADA PELO
PROF. DR. MARIO JOSÉ ABDALLA SAAD

CAMPINAS

2024

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)
Biblioteca da Faculdade de Ciências Médicas
Maristella Soares dos Santos - CRB 8402

M151v Macêdo, Juliane Colombo Carrer de, 1971-
A vildagliptina modula a microbiota e induz um perfil imuno metabólico de neuroproteção / Juliane Colombo Carrer de Macêdo. – Campinas, SP : [s.n.], 2024.

Orientador: Mario José Abdalla Saad.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Faculdade de Ciências Médicas.

1. Diabetes tipo 2. 2. Microbiota intestinal. 3. Metabolômica. 4. Interleucinas. 5. Vildagliptina. 6. Neuroproteção. I. Saad, Mario José Abdalla, 1956-. II. Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Informações complementares

Título em outro idioma: Vildagliptin modulates the microbiota and induces an immunometabolic neuroprotective profile

Palavras-chave em inglês:

Diabetes mellitus, Type 2
Gastrointestinal microbiome
Metabolomics
Interleukins
Vildagliptin
Neuroprotection

Área de concentração: Fisiopatologia Médica

Titulação: Doutora em Ciências

Banca examinadora:

Mario José Abdalla Saad [Orientador]
Lício Augusto Velloso
Alexandre Gabarra de Oliveira
Carla Roberta de Oliveira Carvalho
Regina Célia Mello Santiago Moisés

Data de defesa: 13-12-2024

Programa de Pós-Graduação: Fisiopatologia Médica

Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS)

ODS: 3. Saúde e bem-estar

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0009-0002-8388-9193>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/1170673294772363>

COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DOUTORADO

JULIANE COLOMBO CARRER DE MACÊDO

ORIENTADOR: PROF. DR. MARIO JOSÉ ABDALLA SAAD

MEMBROS TITULARES:

- 1. PROF. DR. MARIO JOSÉ ABDALLA SAAD**
 - 2. PROF. DR. LÍCIO AUGUSTO VELLOSO**
 - 3. PROF. DR. ALEXANDRE GABARRA DE OLIVEIRA**
 - 4. PROFA. DRA. CARLA ROBERTA DE OLIVEIRA CARVALHO**
 - 5. PROFA. DRA REGINA CÉLIA MELLO SANTIAGO MOISÉS**
-

Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

A ata de defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da FCM.

Data de Defesa: 13/12/2024

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todos aqueles que se importam com o ser humano e fazem da carreira científica um meio para tornar o mundo um lugar melhor para se viver.

AGRADECIMENTOS

Agradeço profundamente a Deus pela vida e por todas as oportunidades.

À minha família, pelo apoio incondicional.

Aos meus pais por todas as oportunidades que me proporcionaram.

Ao Admauro, pela parceria, companheirismo, incentivo e por cuidar dos nossos filhos na minha ausência.

Aos meus filhos, razão do meu viver.

Ao meu irmão: fonte de inspiração.

Em especial ao meu orientador Dr. Mario Saad que me ensinou o significado das palavras ciência, disciplina, comprometimento e acima de tudo me proporcionou a maior oportunidade de crescimento científico da minha trajetória.

Aos queridos: Dioze, Andrey, Heloisa que compartilharam comigo conhecimentos, dúvidas, experiências e a realização deste projeto.

Ao meu amigo Danilo que me socorreu tantas vezes nas minhas dificuldades com a informática.

E principalmente aos pacientes que se doaram inteiramente e tiveram fé.

“Tantas vezes pensamos ter chegado...
... Tantas vezes é preciso ir mais além”

Fernando Pessoa

RESUMO

Introdução: Os inibidores da dipeptidil peptidase 4 (iDPP4) são uma classe de antidiabéticos orais amplamente utilizados no tratamento do diabetes mellitus tipo 2 (DM2) e conhecidos por sua segurança cardiovascular e renal. Revisões sistemáticas demonstraram que os iDPP-4 estão associados a risco reduzido de demência por mecanismo ainda desconhecido.

Objetivo: Investigar o efeito da vildagliptina (iDPP4) na microbiota intestinal, na metabolômica plasmática e no perfil inflamatório em pacientes diabéticos tipo 2 não controlados com metformina, para identificar correlações com potenciais efeitos neuroprotetores.

Métodos: Foram examinados 29 pacientes com DM2 (não controlados com metformina) antes, 30 e 60 dias após a introdução da vildagliptina, e investigada a microbiota intestinal, a metabolômica plasmática e os perfis inflamatórios.

Resultados: Os resultados mostraram que o tratamento por 2 meses com a vildagliptina promoveu alterações discretas na microbiota, com aumento significativo de bactérias dos gêneros *Bariatricus* e *Butyricimonas* e bactérias da família *Marinifilaceae*, que são produtoras de ácidos graxos de cadeia curta. Apresentaram níveis reduzidos de insulina, HOMA-IR, MCP1 e interferon γ (IFN- γ) e níveis elevados de IL-4 e IL-10, caracterizando um perfil anti-inflamatório. As análises da metabolômica mostraram a redução significativa de leucina, 2-oxoisocaproato (metabólito de aminoácido de cadeia ramificada (BCAA)) e inosina após o uso da vildagliptina. Além disso, o tratamento com a vildagliptina promoveu o aumento significativo de colina, dimetilamina e betaína, metabólitos neuroprotetores.

Conclusões: Em nossa coorte de pacientes com DM2, a vildagliptina, além de melhorar o controle da glicose e a resistência à insulina, modulou a microbiota intestinal, os perfis de citocinas anti-inflamatórias e a metabolômica e quando combinados, esses dados podem explicar os efeitos neuroprotetores dos iDPP-4.

Palavras-chave: Diabetes tipo 2, microbiota intestinal, metabolômica, interleucinas, vildagliptina, neuroproteção.

ABSTRACT

Introduction: Dipeptidyl peptidase 4 (DPP-4) inhibitors (DPP-4i) are widely used to treat Type 2 diabetes (T2D) and are known for their cardiovascular and renal safety profiles. Systematic reviews have also shown that DPP-4i are associated with reduced dementia risk via unknown mechanisms.

Objectives. To examine vildagliptin (DPP-4i) effects on the intestinal microbiota in T2D patients, plasma metabolomics were conducted and inflammatory profiles collected to investigate correlations with potential neuroprotective effects.

Methods. We examined 29 patients with T2D (not controlled with metformin) before, and at 30 and 60 days after vildagliptin was introduced, and investigated intestinal microbiota, plasma metabolomic, and inflammatory profiles.

Results. In patients after 2 months, vildagliptin induced mild microbiota changes, represented by significant increases in *Bariatricus* and *Butyricimonas* genera and the *Marinifilaceae* family (short-chain fatty acids (SCFA) producers), reduced insulin, HOMA-IR, MCP1, and interferon (INF)- α levels, and elevated interleukin (IL)-4 and IL-10 levels, all of which represented an anti-inflammatory profile. Metabolomics results showed that leucine, 2-oxoisocaproate (branched-chain amino acid (BCAA) metabolite), and inosine were significantly reduced after vildagliptin was introduced. Additionally, choline, dimethylamine, and betaine levels were significantly higher, which may explain DPP-4i protective effects against dementia, as these metabolites are neuroprotective.

Conclusions. In our T2D patient cohort, vildagliptin, in addition to improved glucose control and improved insulin resistance, modulated the intestinal microbiota, anti-inflammatory cytokine profiles, and metabolomics, and when combined, may explain DPP-4i's neuroprotective effects.

Keywords: Type 2 diabetes, intestinal microbiota, metabolomics, interleukins, vildagliptin, neuroprotection

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Ilustração dos fatores que contribuem para a hiperglicemia	22
Figura 2 - Via incretínica, glicose-dependente, produção GLP-1	27
Figura 3 - Ações do GLP1	28
Figura 4 - Molécula de DPP4	30
Figura 5 - Enzima DPP4 com os sítios de ligação	31
Figura 6 - Fórmula molecular da Vildagliptina	31
Figura 7 - Fatores que causam disbiose na microbiota	34
Figura 8 - Fluxograma de execução do estudo	45
Figura 9 - Efeito da intervenção no P, IMC e CA ao longo do tempo.	52
Figura 10 - Efeitos da vildagliptina na glicemia, HbA1c e HOMA-IR ao longo do tempo. (0, 30, 60).....	54
Figura 11 - Alterações nos níveis de citocina (IL-10, IL-4, IFN- γ e MCP-1) ao longo do tempo.	57
Figura 12 - Alterações nos níveis dos metabólitos (leucina, 2-oxoisoacropato, colina, dimetilamina, betaína, aspartato, inosina e serina) ao longo do tempo (0,30,60).	61
Figura 13 - Box plot mostrando distâncias amostrais de cada ponto de tempo (T1, T2 e T3) para o grupo de base T1.....	62
Figura 14 - Box plots mostrando métricas da α -diversidade em diferentes pontos de tempo (T1, T2, T3).	63
Figura 15 - Pontuações de Análise Discriminante Linear (LDA) de táxons microbianos enriquecidos no período T3.....	64

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Principais filos na microbiota intestinal e suas características	35
Quadro 2 - Metodologia das dosagens laboratoriais	47
Quadro 3 - Interleucinas analisadas nesse estudo	56
Quadro 4 - Tabela da metabolômica analisada nesse estudo	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Critérios laboratoriais para diagnóstico de DM e pré-diabetes.....	23
Tabela 2 - Caracterização da amostra dos pacientes n=29.....	51
Tabela 3 – Tabela de Valores de Insulina (uU/ml)	55

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Símbolo	Significado
%	Porcentagem
<	Menor
>	Maior
±	Mais ou menos
AADE	<i>American Association of Diabetes Educators</i>
ADA	<i>American Diabetes Association</i>
CA	Circunferência Abdominal
DM	Diabetes Mellitus
DM1	Diabetes Mellitus tipo 1
DM2	Diabetes Mellitus tipo 2
DPP4	Dipeptidil Peptidase 4
G	Gramma
GJ	Glicemia de jejum
GLP-1	<i>glucagon-like peptide-1</i>
GLP-2	<i>glucagon-like peptide-2</i>
GPP	Glicemia pós-prandial
HbA1C	Hemoglobina glicada
HSJD	Hospital São João de Deus
IDF	<i>International Diabetes Federation</i>
IDPP4	Inibidor da enzima dipeptidil peptidase 4
IMC	Índice de massa corpórea
Kg	Quilograma
Mg/dl	Miligramma por decilitro
NPH	<i>Neutral Protamine Hagedorn</i> (Insulina Humana)
OMS	Organização Mundial da Saúde
p	valor de significância estatística
P	Peso
SBD	Sociedade Brasileira de Diabetes
SPSS	<i>Software Package Social Science</i>

SUS
TCLE

Sistema Único de Saúde
Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
2. OBJETIVOS	20
2.1 Geral	20
2.2 Específicos	20
3. REFERENCIAL TEÓRICO	21
3.1 Diabetes Mellitus Tipo 2	21
3.2 Fisiopatologia do DM2	22
3.3 Diagnóstico	23
3.4 Tratamento do Diabetes	24
3.4.1 Metformina	25
3.4.2 Incretinas	26
3.4.3 Enzima DPP4 ou CD26	29
3.4.4 Vildagliptina	31
3.5 Microbiota intestinal	33
3.6 Metabolômica	37
4. METODOLOGIA	41
4.1 Aspectos éticos	41
4.2 Local e duração do estudo	41
4.3 Cálculo Amostral	41
4.4 Critérios de inclusão	43
4.5 Critérios de exclusão	43
4.6 População e tamanho da amostra	43
4.7 Execução do estudo: Fluxograma	44

4.7.1 Acompanhamento médico.....	45
4.7.2 Padronização do tratamento medicamentoso	46
4.8 Metodologia das Análises	46
5. RESULTADOS	51
5.1 Caracterização da amostra	51
5.2 Medidas Antropométricas.....	52
5.3 Perfil glicêmico	53
5.4 Interleucinas.....	55
5.5 Metabolômica.....	58
5.6 Microbiota Intestinal	62
6. DISCUSSÃO	65
7. CONCLUSÃO.....	70
8. REFERÊNCIAS.....	71
9. ANEXOS.....	89
Anexo 1 - Parecer do CEP Unicamp.....	89
Anexo 2 - Regulamento do biorrepositório da FCM/UNICAMP	96
Anexo 3 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	98
Anexo 4 - Ficha de atendimento dos pacientes.	101
Anexo 5 - Autorização para execução e prescrição do medicamento Galvus no ambulatório.....	102
Anexo 6 - Autorização para o fornecimento gratuito do medicamento Galvus aos participantes do estudo.	103
Anexo 7 - Lista de medicações de uso dos pacientes.....	106

JUSTIFICATIVA DE ORIGINALIDADE DO TRABALHO

Embora alguns estudos tenham sugerido correlações entre DPP-4i e a microbiota intestinal, poucos foram realizados em humanos, e sem correlação clara com microbiota e efeito metabólico.

Além disso, em estudos anteriores, as correlações entre microbiota modulada por DPP-4i, metabólica plasmática, resistência à insulina e perfis inflamatórios não foram investigadas. Esse estudo é original porque investigou os efeitos da vildagliptina (DPP-4i) na microbiota intestinal, metabólica plasmática e perfis inflamatórios em pacientes com diabetes mellitus tipo 2.

Os resultados originais mostraram que esse medicamento induziu padrões metabólicos, de modulação da microbiota e imunológico que quando integrado têm grande potencial neuroprotetor.

1. INTRODUÇÃO

O Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) é uma doença que vem aumentando de forma alarmante. Dados da *International Diabetes Federation* (IDF) mostraram que a incidência da doença quadruplicou no mundo nas últimas três décadas e a perspectiva é que no futuro acometa ainda mais pessoas¹. Em 2021 existiam 537 milhões de pessoas portadoras de Diabetes em todo o mundo, em 2045 estima-se que existam 783 milhões de pessoas acometidas pela doença¹. O tratamento do DM2 requer uma abordagem interdisciplinar envolvendo mudanças no estilo de vida e intervenções farmacológicas como medicamentos orais e até mesmo insulino-terapia.

Dentre esses medicamentos, os inibidores da enzima dipeptidil peptidase 4 (iDPP4) são amplamente utilizados no tratamento do DM2 e são conhecidos por sua segurança cardiovascular e renal². Sua eficácia no diabetes foi demonstrada, melhorando o metabolismo da glicose e a função das ilhotas pancreáticas³⁻⁶. As terapias incretínicas que utilizam iDPP4 são baseadas na ação insulínica do glucagon-like peptide-1 (GLP-1)³. Os iDPP4 aumentam os níveis endógenos de GLP-1 inibindo a sua degradação, e levando a aumento na produção de insulina e redução na secreção de glucagon⁷ e com isso temos uma queda efetiva dos níveis de glicose sanguínea pós-prandial.

Apesar dos benefícios dos iDPP4 demonstrados no controle da glicemia em portadores de DM2, há lacunas significativas em nosso entendimento sobre seus efeitos em diversos outros aspectos. Por exemplo, pouco se sabe sobre o impacto desse medicamento na microbiota intestinal, um complexo ecossistema onde microrganismos são fundamentais na regulação do metabolismo e saúde do hospedeiro.

Alguns estudos sugerem uma ligação entre iDPP4 e microbiota intestinal, no entanto, poucos foram realizados em humanos e em modelos animais, e seus mecanismos permanecem obscuros⁸⁻²⁰. Além disso, nesses estudos citados anteriormente, os pesquisadores não investigaram as correlações entre a modulação da microbiota pelo iDPP4, a metabolômica plasmática, a resistência à insulina e o perfil inflamatório.

Uma revisão sistemática e meta-análise em rede comparou os resultados

cognitivos associados aos agentes antidiabéticos e demonstraram que os iDPP4 foram associados a um risco reduzido de demência²¹. Outra meta-análise de rede bayesiana que avaliou o impacto dos agentes antidiabéticos no risco de demência, mostrou que os iDPP4 tiveram um efeito protetor contra o Alzheimer em comparação com grupo controle sem antidiabético ²². Além disso, estudos em animais observaram um potencial efeito neuroprotetor dos iDPP4²³⁻³¹.

A vildagliptina é um representante dessa classe de medicamentos e é amplamente utilizada na prática clínica sendo prescrita em mais de 180 países desde sua aprovação em 2007 pela Agência Europeia de Medicamentos (EMA).

No presente estudo de abordagem longitudinal, pareada, incluindo avaliações antes, durante e após a intervenção, investigamos o efeito da vildagliptina na microbiota intestinal, na metabolômica plasmática e no perfil inflamatório em pacientes diabéticos tipo 2 não controlados com metformina, para identificar correlações com potenciais efeitos neuroprotetores.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Investigar o efeito da vildagliptina na microbiota intestinal, na metabolômica plasmática e no perfil inflamatório em pacientes com diabetes mellitus tipo 2 não controlados com metformina, para identificar correlações com potenciais efeitos neuroprotetores.

2.2 Específicos

- Avaliar a composição e diversidade da microbiota intestinal em pacientes com DM2 antes, durante e após o tratamento com vildagliptina.
- Avaliar a metabolômica em pacientes com DM2 antes, durante e após o tratamento com vildagliptina.
- Avaliar as alterações das interleucinas em pacientes com DM2 antes, durante e após o tratamento com vildagliptina.
- Avaliar o controle glicêmico em pacientes DM2 antes, durante e após o tratamento com vildagliptina.
- Correlacionar os resultados com melhora metabólica.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Diabetes Mellitus Tipo 2

Mais de 500 milhões de adultos até 79 anos são acometidos em todo o mundo pelo DM2, o Brasil é o 6º país em incidência no contexto mundial com aproximadamente 16 milhões de doentes, e estima-se que, no planeta, o número total de pessoas acometidas pelo diabetes será 643 milhões até 2030 e 783 milhões até 2045.¹

A alta prevalência se deve ao crescimento da população, seu envelhecimento, a urbanização das cidades, ao crescimento da obesidade em todas as faixas etárias, ao sedentarismo muito comum nos dias de hoje e a maior expectativa de vida das pessoas pelo surgimento de novos fármacos para prevenção e tratamento de doenças agudas e crônicas como infecções, doenças cardíacas, cânceres e doenças sistêmicas¹⁻³.

O diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2) é uma doença crônica, representando 90 a 95% dos casos de DM. Possui etiologia multifatorial e complexa, apresentando componentes poligênicos com herança familiar e fatores ambientais. Os principais fatores de risco para o seu desenvolvimento são obesidade, hábitos alimentares inadequados e o sedentarismo.³²

Geralmente é uma doença assintomática, porém os principais sintomas de hiperglicemia são emagrecimento inexplicado, poliúria, polidipsia, polifagia e desidratação. Os sinais e sintomas podem ser insidiosos, dificultando o diagnóstico precoce, e comprometendo o prognóstico do indivíduo³²⁻³⁴.

A evolução da doença sem o controle adequado possibilita o aparecimento de complicações decorrentes do comprometimento micro (retinopatia, nefropatia, neuropatia) e macro vascular (doença coronariana, cerebrovascular, e vascular periférica).^{32,35} Neste contexto, o diagnóstico rápido melhora a expectativa de vida e o prognóstico do doente, podendo minimizar os efeitos a curto, médio e longo prazo.³³

O DM2 é uma enfermidade metabólica complexa e degenerativa. Apesar dos avanços no tratamento, muitos pacientes ainda enfrentam dificuldades no

controle glicêmico e metas terapêuticas correndo o risco de desenvolverem comorbidades graves e crônicas.

3.2 Fisiopatologia do DM2

A fisiopatologia do DM2 é bastante complexa e se caracteriza por deficiência na síntese e secreção da insulina pela célula beta pancreática de forma variada com concomitante hiper glucagonemia. A fisiopatologia conta com resistência à ação da insulina no tecido adiposo e músculo esquelético, produção hepática de glicose resultante da resistência insulínica no fígado, disfunção na produção de hormônios incretínicos, aumento da lipólise e de ácidos graxos livres circulantes e ampliação da reabsorção renal de glicose^{32,34}. Um esquema das etapas fisiopatológicas que culminam com o aparecimento do DM2³⁶ pode ser observado na Figura 1.

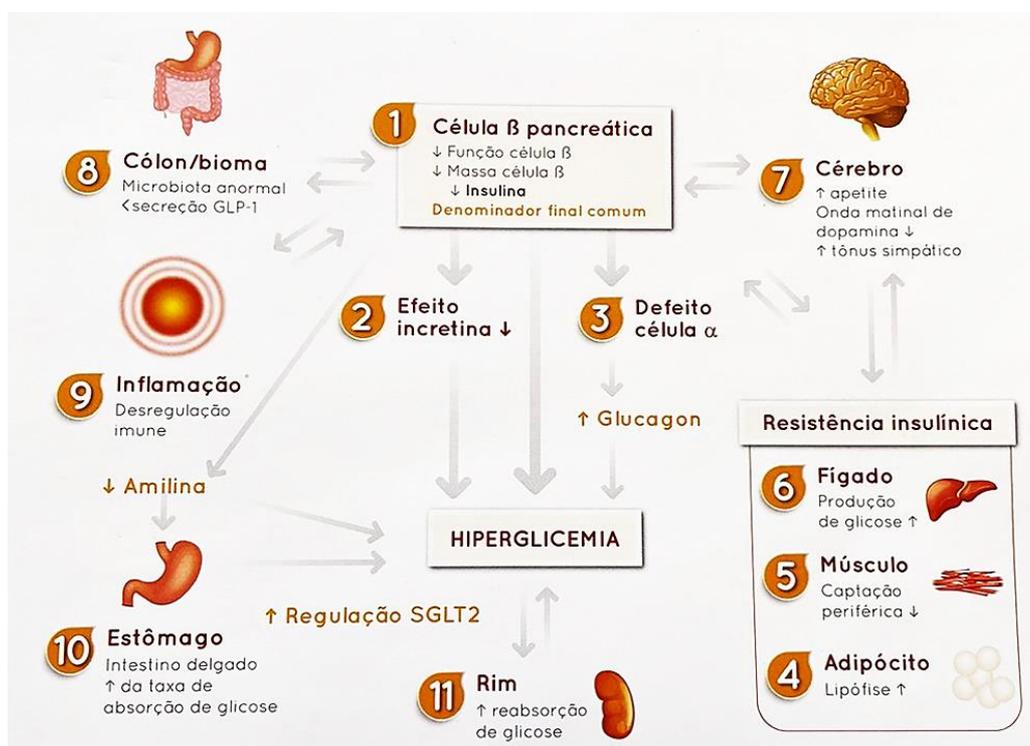


Figura 1 – Ilustração dos fatores conhecidos que contribuem para a hiperglicemia³⁶

A figura 1 mostra que o bioma intestinal é citado como um dos fatores que contribuem para o processo da hiperglicemia, através do sistema incretínico glicose dependente com produção de GLP-1 e posterior estímulo da célula beta pancreática.

3.3 Diagnóstico

Por ser uma doença de tamanha relevância e complexidade, os critérios diagnósticos devem ser seguidos para que se faça de forma eficiente a detecção precoce da doença na população em geral. Como podemos observar na tabela 1, segundo as Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2024, não só a glicemia de jejum, mas o teste de tolerância a glicose (TTGO) são utilizados como critério diagnóstico. Em julho de 2009, o *International Expert Committee* também sugeriu que a Hemoglobina glicada (HbA1c) fosse utilizada para confirmação de diabetes e pré-diabetes³².

Tabela 1 - Critérios laboratoriais para diagnóstico de DM e pré-diabetes³².

Crítérios	Normal	Pré-Diabetes	DM
Glicemia de jejum (mg/dl)	< 100	100-125	≥ 126
Glicemia ao acaso (mg/dl) + sintomas	-	-	≥ 200
Glicemia de 1 hora no TTGO (mg/dl)	< 155	155-208	≥ 209
Glicemia de 2 horas no TTGO (mg/dl)	< 140	140-199	≥ 200
HbA1c (%)	< 5,7	5,7-6,4	≥ 6,5

DM: diabetes mellitus; **TTGO:** teste de tolerância à glicose oral; **HbA1c:** hemoglobina glicada. *Considera-se como jejum a cessação de ingesta calórica de 8-12 horas. **Carga oral equivalente a 75 g de glicose anidra diluída em água.

Recentemente, um comitê de experts da IDF identificou que o valor de corte do TTGO-2h de 200 mg/dl é equivalente ao valor de corte no TTGO-1h de

209 mg/dl. Assim é recomendado pelo IDF que a glicemia no TTGO-1h \geq 209 mg/dl seja um critério diagnóstico para o DM³².

É recomendado o diagnóstico de DM quando houver glicemia de jejum maior ou igual a 126 mg/dl e simultaneamente HbA1c maior ou igual a 6,5%, nível de evidência B, e o uso de TTGO-1h para diagnóstico de DM2 e detecção de pré-diabetes, por ser um resultado superior e mais prático do que TTGO-2h, nível de evidência B³².

A partir do diagnóstico laboratorial inicia-se uma nova e desafiadora etapa como acontece com todas as doenças crônicas que acometem a população, e é de suma importância conhecer as características das drogas a serem utilizadas para que se faça a melhor escolha terapêutica e o tratamento seja individualizado.

3.4 Tratamento do Diabetes

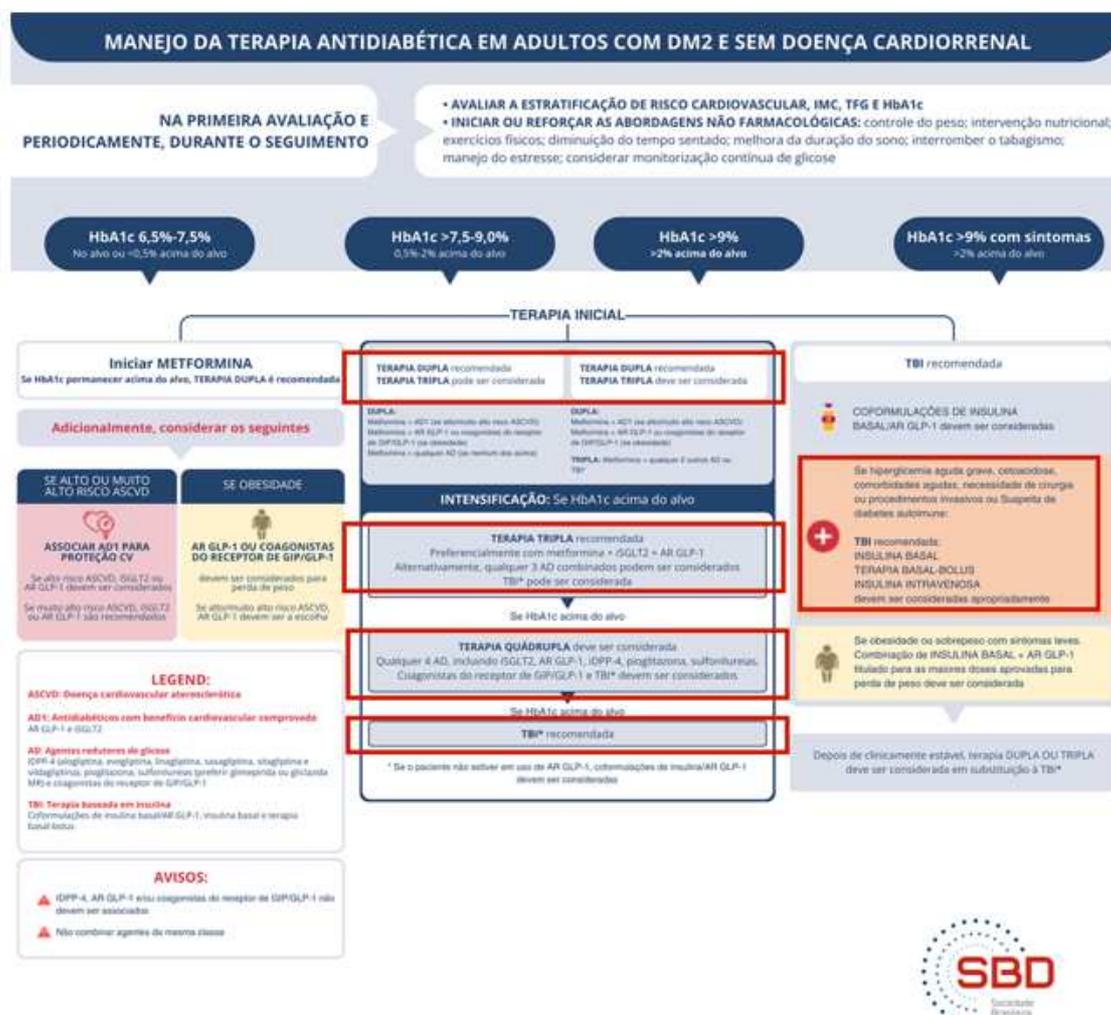
Estudos epidemiológicos mostram que a grande maioria dos pacientes portadores de DM2 não conseguem atingir e manter um controle glicêmico adequado, apesar dos avanços no tratamento. Estima-se que muitos indivíduos diagnosticados com DM2 permaneçam fora das metas terapêuticas estabelecidas. Essa falta de controle está associada ao aumento de complicações crônicas e mortalidade prematura, além de representar grande problema para o sistema de saúde. Essa realidade ressalta a urgência na adoção de estratégias e abordagens para o tratamento e manejo dessa condição³².

O sucesso no tratamento do diabetes depende da implementação de três modalidades de intervenção: educacional, automonitorização e farmacológica visando as metas glicêmicas de controle. As diretrizes internacionais inovaram o conceito de abordagem terapêutica, individualizando o tratamento e valorizando a participação do paciente na escolha e definição do seu tratamento ^{32 37-39}.

A seguir podemos observar o consenso de tratamento sugerido pela Sociedade Brasileira de Diabetes com os possíveis fármacos, associações e indicações. Esse manejo se refere ao paciente adulto portador de diabetes tipo

2 sem doença cardiorenal. Está destacado em vermelho as indicações dos iDPP4 e os melhores momentos para sua prescrição.

Tabela 1: Manejo do tratamento em DM2 adulto sem doença cardiorenal.



A seguir serão apresentadas 2 classes de medicamentos prescritas no tratamento do DM2: biguanidas e iDPP4.

3.4.1 Metformina

A metformina é uma medicação oral da classe das biguanidas que já completou cem anos de descoberta e mesmo assim, seu mecanismo de ação ainda não foi totalmente desvendado. É o antidiabético oral mais prescrito, sendo a primeira opção no tratamento dos pacientes portadores de DM2, devido a sua segurança, baixo custo, e redução na glicemia. O efeito hipoglicêmico se dá pela

supressão da neoglicogênese hepática que através do AMP ativa a proteína quinase (AMPK), melhorando a sensibilidade à insulina no tecido muscular e hepático, e se tornando importante no equilíbrio energético e metabolismo glicêmico, e assim reduzindo a glicemia e a A1c^{40 41}.

Estudos mostraram que a metformina regula a neoglicogênese hepática e reduz a glicemia por vias independentes da AMPK⁴² sugerindo a participação de outros fatores. Evidências recentes sugerem que o intestino é o principal alvo da ação da metformina e não o fígado⁴³. A metformina, quando administrada por via intravenosa, em vez de por via oral, foi menos eficaz na redução da glicemia^{44 45} mostrando a importância da mucosa intestinal para a ação da medicação⁴⁶. A metformina tem efeito rápido na composição e função da microbiota intestinal, sendo observado o crescimento de *Akkermansia muciniphila*⁴⁷ associada a atividade das células L-enteroendócrinas, levando a aumento na produção tanto de GLP-1 como de GLP-2⁴⁸.

Em outro estudo randomizado, duplo-cego, controlado, envolvendo indivíduos portadores de DM2 e virgens de tratamento, foi administrado placebo ou metformina. Observou-se que a droga modificou a microbiota intestinal interagindo com diferentes bactérias e reduzindo a glicemia e HbA1c. Esses estudos apontaram o intestino como importante sítio de ação desta medicação⁴¹.

Sabe-se ainda que pacientes tratados com metformina apresentaram níveis plasmático de DPP4 menores quando comparados a outros antidiabéticos orais. É citado que em diferentes experimentos, a concentração de metformina diminuiu a atividade plasmática endógena da DPP4 em pacientes portadores de DM2⁴⁹.

3.4.2 Incretinas

As incretinas são hormônios da família do glucagon, produzidos no intestino, e liberados após a ingestão de nutrientes (principalmente glicose e gordura). Eles exercem uma série de efeitos, incluindo a estimulação da secreção de insulina pancreática de maneira glicose dependente e desempenham um importante papel na fisiologia gastrointestinal local e de todo o corpo^{50 51}.

Dois hormônios intestinais medeiam o “efeito incretina” ou seja, maior

liberação de insulina em resposta à ingestão oral de glicose em comparação com uma carga intravenosa igual de glicose, são eles: o GIP e o GLP-1. O GIP (polipeptídeo insulínico dependente de glicose) é um polipeptídeo de 42 aminoácidos, clivado do precursor proGIP, secretado no duodeno e parte proximal do jejuno pelas células K e o GLP-1 (polipeptídeo 1 tipo glucagon) é um peptídeo de 30 aminoácidos, clivado do precursor de pró-glucagon, secretado no íleo e cólon pelas células L^{50 51}. Esses hormônios contribuem igualmente para o efeito incretínico e têm resultados cumulativos apresentando secreção simultânea⁵².

A liberação de GLP-1 tem uma fase inicial (15–30 min) e uma fase tardia (1–2 h); o GIP tem um perfil de secreção semelhante. Os níveis plasmáticos pós-prandiais aumentam aproximadamente duas a três vezes, sendo o pico dependente do tamanho e conteúdo da refeição⁵³. Acredita-se que a secreção precoce, responsável pela maior parte do efeito, seja desencadeada por vias locais de detecção e contato direto com os nutrientes⁵¹⁻⁵³. Na Figura 2 podemos observar a via incretínica glicose dependente e a molécula de GLP-1 estimulando a ilhota pancreática⁵⁴.

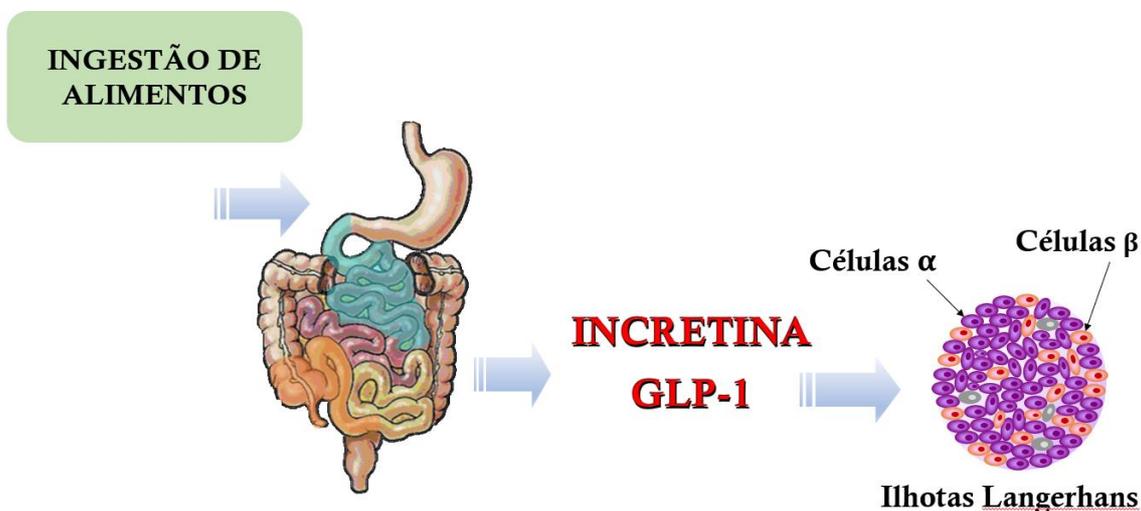


Figura 2 - Via incretínica, glicose-dependente, produção GLP-1⁵⁴.

As incretinas atuam ligando-se a receptores específicos acoplados à proteína G. O receptor GLP-1 (GLP-1R) é expresso nas células α e β das ilhotas pancreáticas, trato gastrointestinal, sistema nervoso central, coração, pulmão e rim⁵³⁻⁵⁵. As ações do GLP-1 e GIP não são apenas na fisiologia intestinal local,

mas também na homeostase da glicose e no controle do apetite⁵¹. Após sua secreção, as incretinas são rapidamente degradadas devido à ação da enzima DPP-4, onipresente, encontrada na superfície das células epiteliais, endoteliais, imunes e circulando no plasma⁵⁶. A meia-vida do GLP-1 é menor que 2 min, enquanto a do GIP é de 5 a 7 min, e ambos são rapidamente eliminados pelos rins⁵³.

O GLP-1 age em múltiplos órgãos e sistemas, de forma rápida e longa duração. Reduz a produção de glicose no fígado, inibe a secreção de glucagon pelas células alfa pancreáticas, atua no estômago lentificando o esvaziamento gástrico, estimula a produção de insulina glicose-dependente pelas células beta pancreáticas, melhora a saciedade, reduz o apetite, aumenta a captação e o armazenamento de glicose no adipócito e tecido muscular, além de melhorar a função cardíaca. A figura 3 a seguir mostra esquematicamente algumas das ações biológicas do GLP-1⁵⁴⁻⁵⁷⁻⁵⁹.

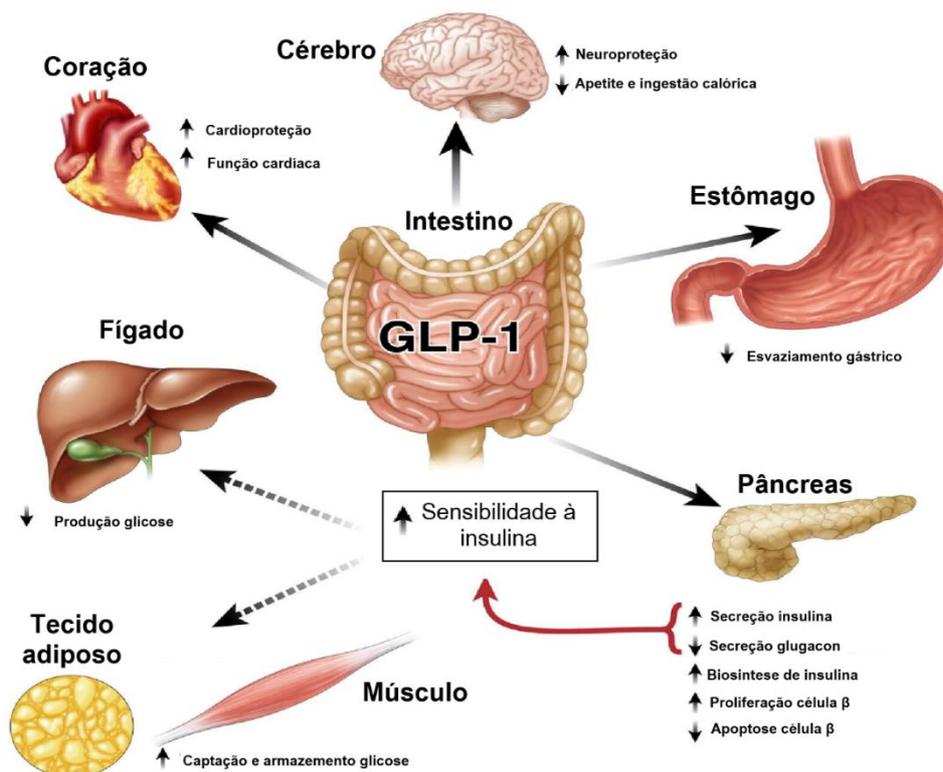


Figura 3 - Ações do GLP1 ⁵⁷

Quando a glicose da corrente sanguínea entra na célula beta pancreática e é metabolizada, o GLP-1 converte o ATP produzido em AMPc que ativa a

proteína quinase A (PKA) e Epac2 contribuindo para o fechamento do canal de potássio, e iniciando o processo de secreção de insulina. No entanto, em situação de normoglicemia, a entrada de glicose na célula beta é baixa evitando desta forma a hipoglicemia^{60 61}. O GLP-1 tem sua importância na neogênese das ilhotas pancreáticas e proliferação de célula beta⁶². A vildagliptina quando associada a pacientes já em uso de metformina, promoveu melhora da função de célula beta⁶³.

3.4.3 Enzima DPP4 ou CD26

A DPP4 é uma glicoproteína transmembrana de tamanho ~110 kDa, descoberta em 1966 e conhecida como marcador de superfície de células T CD26/DPP4. É expressa na superfície de células endoteliais, imunes e adipócitos e circula no sangue em sua forma solúvel sCD26/DPP4⁶⁴. A expressão de CD26/DPP4 em células T, foi maior em pacientes com DM2 quando comparado com o grupo controle de pessoas não diabéticas⁶⁵.

Esta enzima desempenha um papel primário na clivagem dos dipeptídeos N-terminais da molécula de GLP-1⁶⁴. Mais de 50% da concentração secretada é degradada antes da absorção plasmática. Pelo menos 40% do GLP-1 circulante sofre clivagem antes de chegar aos sítios de ação se tornando inativo e apenas 10% do GLP-1 produzido chegam ao seu destino⁶⁶. Vale lembrar que a concentração de DPP4 é maior em obesos que em pessoas com IMC normal⁶⁷.

A DPP4 ligada à membrana contém resíduos 1–766, enquanto a DPP4 solúvel contém resíduos 39–766. A DPP4 solúvel não possui o domínio citoplasmático [resíduos 1–6], o domínio transmembrana [resíduos 7–28] e o pedúnculo flexível [resíduos 29–39]. Tanto a DPP4 solúvel ligada à membrana quanto a circulante compartilham muitos domínios, incluindo a região glicosilada [resíduos 101–535, resíduos específicos 85, 92, 150], domínio de ligação ADA [340–343], domínio de ligação fibronectina [468–479], domínio rico em cisteína [351–506, ligações dissulfeto são formadas de 385–394, 444–472 e 649–762] e o domínio catalítico [507–766 incluindo resíduos que compõem o sítio ativo catalítico 630, 708 e 740]⁶⁸. Na figura 4 temos esquematizada a molécula de

DPP4 solúvel e a molécula de DPP4 acoplada a membrana celular. A DPP4 ativa é catalisada e liberada da membrana plasmática, produzindo uma forma circulante solúvel⁶⁸.

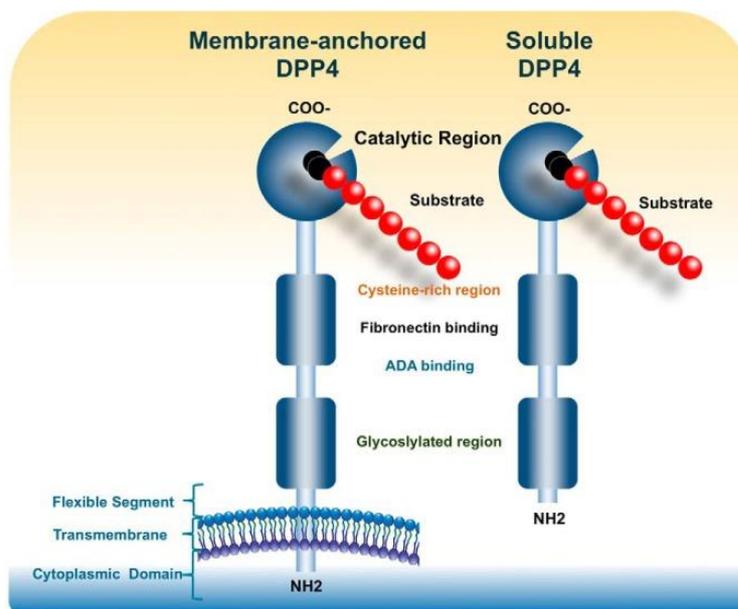


Figura 4 - Molécula de DPP4 ⁶⁸

Sabe-se que a enzima DPP4 é capaz de clivar dezenas de substratos, ou seja, polipeptídeos regulando assim diversos processos biológicos. Dentre eles podemos citar: Peptídeo Natriurético Cerebral (BNP), GLP-1, GLP-2, GIP, Peptídeo TT (PYY), Neuropeptídeo Y (NPY), Eritropoietina, Peptídeo Liberador de Gastrina (GRP)⁶⁸. Atua como uma enzima multifuncional que está associada a muitas doenças metabólicas, como doenças hepáticas gordurosas não alcoólicas (DHGNA), doenças cardiovasculares, obesidade, cânceres, rejeição de enxerto renal e osteoporose⁴⁹.

A DPP4 apresenta vários sítios de ligação que interagem especificamente com cada molécula de iDPP4. Figura 5⁶⁹.

Classe 1: Vildagliptina, Saxagliptina: sítio de ligação S1S2

Classe 2: Linagliptina, Alogliptina: sítio de ligação S1S2S1'S2'

Classe 3: Sitagliptina, Evogliptina: sítio de ligação S1S2S2extensivo

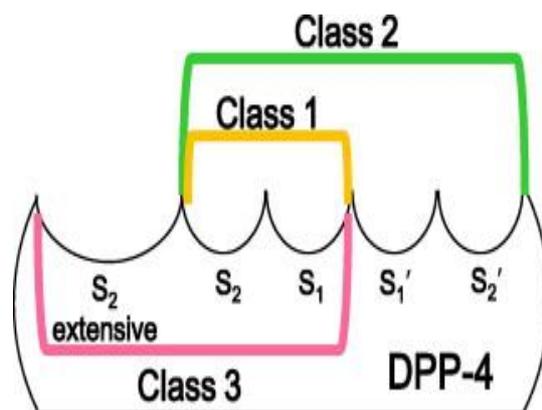


Figura 5 - Enzima DPP4 e seus sítios de ligação ⁶⁹.

3.4.4 Vildagliptina

A Vildagliptina é um antidiabético oral da classe dos iDPP4 comercializada em diversos países ao longo dos últimos 17 anos, constituindo uma classe terapêutica bastante conhecida e amplamente utilizada, principalmente pela segurança cardiovascular e renal.

A Vildagliptina possui o nome químico, segundo nomenclatura da IUPAC, de (S)-1-[N-(3-hidroxi-1-adamantil) glicil] pirrolidina-2-carbonitrila. É um pó cristalino branco a levemente amarelado, não-higroscópico, facilmente solúvel em água e solventes orgânicos polares e não possui polimorfos ou solvatos identificados. Essa substância possui somente um centro quiral e é comercializada na forma de enantiômero puro (S) ⁷⁰. A figura 5 a seguir representa a fórmula molecular da Vildagliptina.

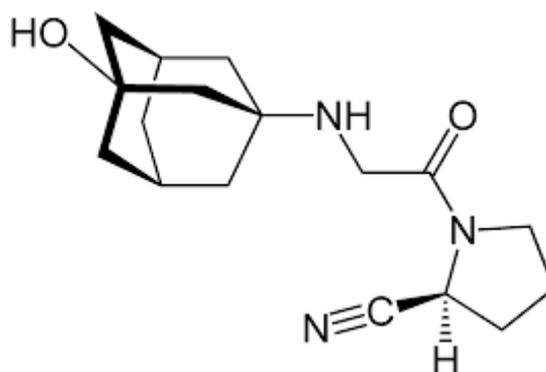


Figura 6 - Fórmula molecular da Vildagliptina ⁷⁰.

A medicação é rapidamente absorvida após ingestão oral, atingindo picos de concentração plasmáticos entre 1,5 e 1,7 horas. A distribuição sistêmica não é prejudicada pela ingestão de alimentos. É principalmente metabolizada pelos rins, em metabólitos inativos e cianoamida, sendo 85% eliminado na urina, com meia-vida de eliminação de 3 horas aproximadamente após a ingestão oral⁶⁷.

A Vildagliptina é um antidiabético oral de efeito incretínico baseado na ação insulínica do glucagon-like peptide-1 (GLP-1) que melhora a capacidade secretora de insulina pela célula beta pancreática e reduz a produção de glucagon pela célula alfa. Como consequência diminui a glicemia, a A1c, e melhora a variabilidade glicêmica por promover uma modulação na secreção de insulina e glucagon de forma glicose dependente ^{72,73}. Pode ser associada a outras classes de hipoglicemiantes orais levando ou não a um sinergismo de ação.

Não interfere no peso e apresenta baixo risco de hipoglicemia⁷⁴⁻⁷⁶. É segura e bem tolerada apresentando pouco ou nenhum efeito adverso⁷⁷⁻⁸⁰. Pode ser utilizada em todas as fases da doença, como monoterapia, terapia dupla, tripla, quádrupla ³² e até em pacientes hospitalizados. Seu uso é liberado em pacientes com disfunção renal moderada a grave, desde que, se faça o ajuste do medicamento para a dose recomendada⁸¹. Nesses pacientes a droga mostrou-se eficaz na redução da A1c. Pode ser utilizada em pacientes dialíticos com segurança ⁸².

É uma medicação com grande aceitação e indicação na população de idosos, inclusive em pacientes acima de 75 anos, demonstrando excelente perfil de tolerabilidade e segurança e baixo risco de efeitos adversos⁸³. Não está associada a aumento do risco cardiovascular (MACE) ⁸⁴⁻⁸⁸. Estudos de vida real confirmam esse cenário de eficácia clínica comprovada e ampla evidência científica ^{89 90}.

Embora alguns estudos sugiram uma ligação entre iDPP-4 e microbiota intestinal, poucos foram realizados com Vildagliptina em humanos e em modelos animais e assim seus mecanismos permanecem obscuros^{11 12 18 91-93}.

Uma revisão sistemática com meta-análise em rede comparou os resultados cognitivos associados aos antidiabéticos e demonstrou que os iDPP-4 foram associados a um risco reduzido de demência²¹. Em outra meta-análise examinando o impacto dos antidiabéticos no risco de demência, os iDPP-4

mostraram um efeito protetor contra a demência de Alzheimer comparado com os pacientes que não usaram antidiabético²².

3.5 Microbiota intestinal

O intestino humano é o sítio orgânico mais povoado por microrganismos na maioria não patogênicos. O intestino dos mamíferos abriga vírus, protozoários, arqueias e cerca de 10 trilhões de bactérias diferentes, principalmente anaeróbias, que aumentam de densidade à medida que se movem ao longo do trato gastrointestinal^{94,95}. O número de bactérias ultrapassa o número total de células que compõem os tecidos, sistemas e todo o corpo dos mamíferos. As bactérias da microbiota intestinal apresentam 2 milhões de genes comparado com o genoma humano que tem 20.000 genes, ou seja, 100 vezes mais genes do que o dos mamíferos, com 500 a 1000 espécies diferentes⁹⁶⁻⁹⁸.

O hospedeiro e a microbiota intestinal representam uma conexão simbiótica na qual o hospedeiro fornece um habitat rico em nutrientes para o microbioma, e os micróbios influenciam a fisiologia, a imunologia e o metabolismo do hospedeiro^{94,99}.

A complexidade dinâmica e a composição do ecossistema microbiano têm influência genética, individual e externa, como estilo de vida, uso de medicamentos¹⁰⁰, ingestão de álcool¹⁰¹, tipos de dietas¹⁰² e tem papel vital na manutenção da saúde do hospedeiro, regulando sistemas, metabolizando e produzindo substâncias¹⁰⁰. Além disso, o microbioma intestinal regula criticamente o eixo intestino-cérebro, onde metabólitos das bactérias intestinais, como ácidos graxos de cadeia curta e neurotransmissores, podem cruzar a barreira hematoencefálica e influenciar a função cerebral^{94,103}. A seguir na Figura 6 serão apresentados vários fatores ambientais capazes de modular a microbiota, considerados mais relevantes que o fator genético.

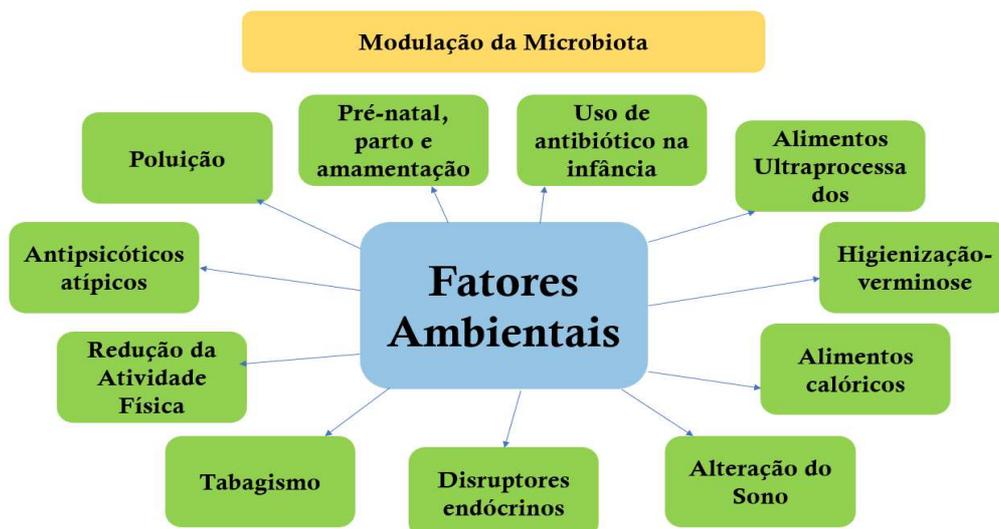


Figura 7 - Fatores que causam disbiose na microbiota ¹⁰⁰⁻¹⁰²

A microbiota intestinal é composta por bactérias que desempenham diferentes funções: transformam os carboidratos não digeríveis em ácidos graxos de cadeia curta, promovem o desenvolvimento e diferenciação do epitélio intestinal do hospedeiro, modulam o sistema imunológico, conferem proteção contra invasão por patógenos, e mantem a homeostasia tecidual⁹⁸. O quadro 1, mostra a classificação em filo e gênero da microbiota intestinal.

Quadro 1 - Principais filios presentes na microbiota intestinal e suas características ^{96,98,104}

Filo	Gêneros Representativos	Características
Reino bactéria		
Firmicutes	<i>Ruminococcus</i> <i>Clostridium</i> <i>Lactobacillus</i> <i>Enterococcus</i> <i>Mollicutes</i>	Um filo que compreende 274 gêneros de bactérias predominantemente gram-positivas. Compreende gêneros com atividade imunomodulatória benéfica (<i>Clostridium</i> , <i>Lactobacillus</i>), e gêneros que levam a inflamação e que estão associados a algumas doenças crônicas (<i>Mollicutes</i>)
Bacteroidetes	<i>Bacteroides</i> <i>Prevotella</i>	Um dos filios predominantes no intestino humano e consiste principalmente de bactérias gram negativas, com características fermentativas e que modulam beneficemente o sistema imune intestinal.
Proteobacteria	<i>Escherichia</i> <i>Helicobacter</i> <i>Salmonella</i>	São bactérias gram-negativas com formatos variados. O filo inclui grande diversidade de patógenos, e bactérias responsáveis por fixação de nitrogênio
Actinobacteria	<i>Bifidobacterium</i>	Consiste em bactérias gram-positivas e o seu principal gênero é comum no intestino humano, principalmente ao se consumir prebióticos
Cianobacteria	<i>Synergistes</i>	Conhecidas como bactérias azuis. Apresenta efeitos pouco conhecidos na microbiota Intestinal
Verrucomicrobia	<i>Chlamydia</i>	Este filo apresenta bactérias com grande potencial patogênico. O gênero <i>Chlamydia</i> já foi associado com câncer
Reino Archaea		
Euryarchaeota	<i>Methanobrevibacter</i>	Esses microrganismos promovem aumento da eficiência de fermentação das bactérias, por serem grandes consumidores de H ₂

O sistema imunológico do hospedeiro convive pacificamente com trilhões de bactérias garantindo harmonia e permanecendo alerta a qualquer patógeno que invada o trato intestinal. A imunidade intestinal evita o aumento da permeabilidade intestinal e, conseqüentemente, o surgimento da disbiose, situações que coexistem em algumas doenças crônicas¹⁰⁵. Apesar do vasto número de estudos sobre a microbiota intestinal, ainda nos deparamos com muitas lacunas sobre como esse ecossistema pode afetar o bem-estar do

hospedeiro¹⁰⁶. É importante sabermos como a microbiota pode ser modificada pelo uso de vários tipos de medicamentos¹⁰⁷. O conhecimento das espécies microbianas é necessário para decifrar seus papéis biológicos¹⁰⁸, sua simbiose com o hospedeiro e a promoção de doenças.

A análise metagenômica do intestino distal e fezes de humanos revelou que os principais filos bacterianos são os Bacteroidetes (gram negativos) que predominam em indivíduos magros e Firmicutes (gram positivos) mais observado em obesos. Mecanismos intestinais locais levam a uma alteração na permeabilidade da barreira intestinal desencadeando inflamação e resistência insulínica sistêmica¹⁰⁹. Sendo assim, a microbiota intestinal tem um papel relevante na fisiopatologia da obesidade e do DM2, desencadeada por uma mudança na diversidade bacteriana e aumento da permeabilidade intestinal¹¹⁰, mesmo em situações envolvendo cirurgia para perda de peso¹¹¹. Vários estudos têm demonstrado que pacientes com DM2, obesidade ou doenças inflamatórias intestinais apresentam frequentemente desequilíbrio na microbiota intestinal^{109 112-115}. Estudos mostraram que a população de Firmicutes em pacientes com DM2 foi menor do que no grupo controle, enquanto as de Bacteroidetes e Proteobacteria foram mais abundantes. Os *Lactobacillus* spp. foram mais abundantes em pacientes com DM2, quando comparado com indivíduos não diabéticos¹¹⁶⁻¹¹⁸.

Os *bacteroidetes* gram negativos abrigam um lipopolissacarídeo (LPS) em sua parede celular, que é uma grande molécula formada por um lipídeo e um polissacarídeo. O LPS é um ativador potente de respostas moleculares associada a patógenos (PAMP), principalmente via receptor Toll-like 4 (TLR4). Sabe-se que o TLR4 está envolvido na origem da resistência insulínica, o que reforça uma ligação entre as vias metabólicas e inflamatórias. O TLR4 ativa uma via de sinalização que induz a resposta inflamatória e a expressão e secreção de citocinas¹¹⁹⁻¹²¹. A permeabilidade intestinal aumenta devido uma redução das proteínas presentes nos complexos juncionais *tight junction* (localizados entre os enterócitos conectando-os e tornando o epitélio impermeável) como a zonula ocludens-1 (ZO-1) e a ocludina. Esses complexos se rompem ou ficam frouxos permitindo a translocação de bactérias e seus fragmentos, como o LPS, do lúmen intestinal para a corrente sanguínea. Esse processo é descrito como fundamental na gênese da resistência insulínica e inflamação em humanos e camundongos^{109 122-126}.

Akkermansia muciniphila compreende de 3 a 5% das bactérias intestinais em pessoas saudáveis. Mesmo sendo uma bactéria Gram negativa com LPS na superfície,

ela aumenta a espessura do muco do epitélio intestinal, reduzindo a endotoxemia. Sabe-se que a *A. muciniphila* está associada ao aumento na produção de GLP-1 e GLP-2 nas células L-enteroendócrinas, porém, este mecanismo ainda não está totalmente elucidado¹²⁷.

Estudos efetuados em camundongos submetidos a dieta hipergordurosa, levou a uma redução na quantidade de *A. muciniphila*, que posteriormente aumentou significativamente com uso de metformina por seis semanas, além de aumentar a produção de mucina pelas células caliciformes, sugerindo uma diminuição na permeabilidade intestinal¹²⁸.

Estudo em humanos mostrou que a suplementação oral de *A. muciniphila* por 3 meses foi segura e bem tolerada e revelou vários benefícios: redução da insulina e resistência insulínica, redução dos níveis de colesterol, redução da atividade da enzima DPP4, redução das enzimas hepáticas em especial gama GT, redução discreta do peso corporal e significativa redução do LPS plasmático¹²⁹.

3.6 Metabolômica

Sabe-se que a metabolômica é o estudo de metabólitos de pequenas moléculas produzidas pelo corpo humano e que fornecem informações sobre condições fisiológicas e fisiopatológicas de saúde e doença e tem por objetivo testar, analisar e estudar quantitativamente metabólitos. Esta prática está se tornando uma ferramenta clínica que avalia e estuda o risco de se desenvolver certas patologias, e é facilmente realizado em biofluidos como sangue e urina. Muitos estudos investigam as mudanças nos biomarcadores em pacientes com DM, contribuindo substancialmente para a compreensão dessas doenças metabólicas^{130,131}.

Os perfis metabólicos consistem em uma coleção de ensaios que caracterizam painéis de metabólitos relacionados a vias específicas. Esses ensaios podem ser estáticos tendo o perfil transversal em um determinado ponto de tempo ou dinâmicos que avalia a mudança nos padrões de perfil após um desafio metabólico específico¹³². Em combinação com métodos de separação, como cromatografia líquida ou gasosa, os metabólitos são caracterizados por espectrometria de massa ou espectroscopia de ressonância nuclear magnética¹³². No entanto, desconhecemos a influência da Vildagliptina sobre esses marcadores.

3.7 Interleucinas

“Citocina” é um grupo diverso de proteínas solúveis e peptídeos produzidas por leucócitos os quais atuam como reguladores tanto em condições patológicas como normais para modular as atividades funcionais de tecidos e células do indivíduo. Podem ser pró-inflamatórias ou anti-inflamatórias, dependendo do microambiente em que se encontram e são responsáveis por regular e mediar reações inflamatórias e imunológicas. Elas agem ligando-se a receptores específicos na superfície de células-alvo, o que provoca alterações intracelulares.

A Interleucina-4 (IL-4) é altamente pleiotrópica, estimula diferentes células-alvo e provoca diferentes respostas biológicas. Muitos tipos de células, principalmente de origem hematológica, expressam receptores para IL-4. Conseqüentemente, os efeitos da IL-4 foram descritos em linfócitos B e T, células Natural Killer, fagócitos, mastócitos, fibroblastos e células progenitoras hematopoiéticas. Atua em três áreas principais, regulando a expressão de anticorpos nas células B, estimulando o crescimento de células T, e suprimindo a indução de citotoxicidade celular por células Natural Killer e Lymphokine-activated Killer cell, e assim regulando respostas imunes celulares e por fim promovendo o crescimento e diferenciação de células hematopoiéticas¹³³.

A interleucina-10 (IL-10) é uma citocina anti-inflamatória produzida por uma variedade de células no sistema imunológico, incluindo macrófagos, células Natural Killer, células T e B em resposta a estímulos pró-inflamatórios. A IL-10 se liga à cadeia α de alta afinidade de seu receptor (IL-10R α) e ativa a via de sinalização para exercer sua função anti-inflamatória. No tecido adiposo, a IL-10 é produzida principalmente por macrófagos⁶⁴. Seus níveis séricos são significativamente reduzidos em pacientes com obesidade e síndromes metabólicas. Sugere-se que ela atenua a inflamação do tecido adiposo e melhora a resistência insulínica em obesos, modulando a ativação de macrófagos⁶⁴.

Vale lembrar que os macrófagos M1 inflamatórios produzem citocinas pró-inflamatórias, como IL-1, IL-6, IL-12, TNF- α e quimiocinas, e os macrófagos M2 regenerativos produzem citocinas anti-inflamatórias, como IL-10 e IL-13¹³³.

O interferon gama (IFN- γ) é uma proteína glicosilada que atua como uma citocina, desempenhando um papel importante na defesa imunológica. É produzido por células T CD4+ ou CD8+ ativadas e células Natural killer. Tem

efeito agindo em vírus, bactérias e células tumorais, e no controle da resposta das células B e T, sendo um importante mediador da imunidade, ativando células fagocíticas que destroem agentes invasores ⁶⁴.

MCP-1 ou CCL2 (proteína quimiotática de monócitos-1) é uma quimiocina de 11 kDa que recruta monócitos circulantes e linfócitos T para o tecido ligando-se ao receptor de quimiocina CC-2 (CCR2). Muitos estudos demonstraram o papel crítico do MCP-1 na obesidade promovendo infiltração de macrófagos no adipócito e suas contribuições para a fisiopatologia da inflamação presente na obesidade e resistência à insulina ⁶⁴.

3.8. Demência

A Doença de Alzheimer (DA) é um transtorno neurodegenerativo progressivo e fatal que se manifesta pela deterioração cognitiva, comprometimento da memória e das atividades diárias e sintomas neuropsiquiátricos com alterações comportamentais. É a causa mais comum de demência, sendo responsável por 60 a 80% das demências em idosos e esses números aumentam com a idade acometendo duas vezes mais as mulheres. A etiologia ainda é desconhecida, mas acredita-se que seja geneticamente determinada¹³⁴. O diagnóstico é clínico, e exames de imagem identificam achados específicos que sugerem DA. O tratamento é de suporte.

Fatores de risco vasculares, como hipertensão, diabetes, dislipidemia e tabagismo, podem aumentar o risco da DA. Evidências sugerem que o tratamento agressivo desses fatores de risco precocemente pode atenuar o risco de desenvolver comprometimento cognitivo na idade mais avançada.¹³⁵

As principais características patológicas da DA são depósitos extracelulares beta-amiloides (nas placas neuríticas) e emaranhados neurofibrilares intracelulares no córtex cerebral e na substância cinzenta subcortical (filamentos helicoidais emparelhados), o que resulta em atrofia total das áreas afetadas do cérebro, tipicamente começando no mesial do lobo temporal. O mecanismo pelo qual emaranhados peptídicos e neurofibrilares beta-amiloides causam esses danos não está totalmente compreendido, mas contribuem para os sintomas clínicos da demência¹³⁵.

Observou-se resposta imune sustentada e inflamação no encéfalo de pacientes com DA. Alguns especialistas propuseram que a inflamação é uma característica patológica central da DA¹³⁶. O distúrbio do metabolismo da glicose demonstrou ter um papel potencialmente importante no desenvolvimento DA¹³⁷.

A OMS demonstra preocupação com o envelhecimento populacional e o aumento da incidência de DM2 no mundo, pois são fatores de risco importantes para o desenvolvimento do Alzheimer. Estima-se que em 2030 o número de caso poderá chegar a 75 milhões. No momento o Brasil juntamente com Índia, China, Nigéria e México são os países mais afetados.

Segundo a OMS estima-se que a doença de Parkinson (DP) afete cerca de 1% da população mundial com mais de 65 anos sendo a segunda doença neurodegenerativa mais comum no mundo. Ela é caracterizada por uma diminuição na capacidade de pensar e raciocinar, que pode afetar a memória, a linguagem, a coordenação e o comportamento, levando a esquecimento, desorientação, confusão mental, perda da capacidade para tomar decisões, planejar, resolver problemas e da percepção visoespacial. Não existe cura para a doença de Parkinson, mas os tratamentos podem ajudar a estabilizar ou retardar a progressão da doença.

A Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) e a Organização Mundial da Saúde (OMS) alertam para o risco de demência vascular em pessoas com diabetes. A demência vascular diabética é um tipo de demência que ocorre quando o diabetes aumenta o risco de danos nos vasos sanguíneos do cérebro, levando à perda de função mental causada por uma redução ou bloqueio do suprimento de sangue no cérebro. Isso faz com que as células cerebrais fiquem privadas de oxigênio e morram. O diabetes pode afetar o cérebro de várias formas, incluindo: danos aos vasos sanguíneos do cérebro, aumento do risco de AVC, comprometimento cognitivo, como dificuldade de concentração e de lembrar informações. O controle do diabetes pode ajudar a prevenir ou retardar o desenvolvimento da demência vascular, segundo a OMS.

4. METODOLOGIA

Este é um estudo longitudinal, pareado, de intervenção, e os participantes foram avaliados antes, durante e após a intervenção. O participante era seu próprio controle, assim sendo não tivemos grupo controle duplo cego, controlado com placebo nesse estudo.

4.1 Aspectos éticos

O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Campinas (CAE: 84087617.0.0000.5404) (Anexo 1). Regulamento do biorrepositório da FCM/UNICAMP. (Anexo 2). Este trabalho está de acordo com as diretrizes da resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde para pesquisas em seres humanos. Todos os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo 3)

4.2 Local e duração do estudo

Os participantes deste estudo foram selecionados no Ambulatório de Doenças Endócrino Metabólicas do Hospital Filantrópico São João de Deus em Divinópolis, MG, no setor do Sistema Único de Saúde. Esse ambulatório é um serviço público que fornece atendimento especializado aos pacientes com diagnóstico de diabetes que são encaminhados exclusivamente das unidades básicas de saúde. O estudo teve duração de dois meses.

4.3 Cálculo Amostral

A população estudada foi de participantes com DM2 idade entre 18 e 75 anos, com HbA1c entre 6,5 e 10%, índice de massa corporal (IMC) entre 25 e 35 Kg/m², taxa de filtração glomerular (TFG) > 30ml/min/1,75m², que não estivesse em uso de IDPP4 e bloqueador da bomba de próton ou usado antibiótico nos 3 meses prévios ao início do estudo. Mensalmente, são atendidos no ambulatório de doenças endócrino metabólicas do hospital filantrópico São João de Deus na

cidade de Divinópolis em média 30 pacientes com as características descritas acima. Como não conhecemos o efeito dos IDPP4 na microbiota intestinal e nem sua correlação com os AGCC, consideramos como $p=0,50$, conforme padronizado na literatura. Nosso cálculo amostral foi de 28.

A fórmula para o cálculo amostral nesse caso foi:

$$n = \frac{N \cdot p \cdot q \cdot \left(Z \frac{\alpha}{2}\right)^2}{(N - 1) \cdot E^2 + p \cdot q \cdot \left(Z \frac{\alpha}{2}\right)^2}$$

Em que:

N: Tamanho da amostra

$z_{\alpha/2}$: Percentil de ordem $(1-\alpha)$ da distribuição gaussiana padrão = 1,96

P: Estimativa da proporção de interesse, quando desconhecida $p = 0,5$

Q: Estimativa da proporção de não interesse, complementar de p

N: Tamanho da população

E: Precisão (geralmente de 5% a 10%)

Substituindo os parâmetros chegamos a um tamanho de amostra de no mínimo 28 participantes considerando uma precisão de 5%.

$$n = \frac{N \cdot p \cdot q \cdot \left(Z \frac{\alpha}{2}\right)^2}{(N - 1) \cdot E^2 + p \cdot q \cdot \left(Z \frac{\alpha}{2}\right)^2} = \frac{60 \times 0,5 \times 0,5 \times (1,96)^2}{(60 - 1) \times 0,10^2 + 0,5 \times 0,5 \times (1,96)^2} \cong 28$$

4.4 Critérios de inclusão

Incluímos neste estudo participantes de ambos os sexos, com idade entre 32 e 70 anos, acometidos com DM2, com níveis de HbA1c eram de 6,5 a 10%, índice de massa corporal entre 25 e 35Kg/m², e taxa de filtração glomerular > 30ml/min/1,75m², não usando iDPP4, e que aceitaram fazer parte do estudo assinando o TCLE.

O diagnóstico de DM2 desses participantes foi feito em outro momento através de dois resultados de glicemia de jejum maiores ou iguais a 126mg/dl. Desta forma, como todos os pacientes já eram diagnosticados como portadores de DM2, eles já faziam uso de metformina, que foi mantida durante todo o acompanhamento e associada a Vildagliptina. Assim sendo, uma das limitações deste estudo foi selecionar participantes que não estivesse em uso de antidiabético oral já que o diagnóstico foi anterior ao início do estudo.

4.5 Critérios de exclusão

Excluímos os pacientes com DM tipo1, insuficiência renal e insuficiência hepática, gravidez, e pacientes acometidos por qualquer patologia intestinal. Foram também excluídos deste estudo os pacientes em uso prévio de iDPP4, inibidores da bomba de próton e antibiótico nos 3 meses que antecederam o início deste estudo.

4.6 População e tamanho da amostra

Foram selecionados 36 pacientes atendidos no Ambulatório do Hospital São João de Deus que preenchiam todos os critérios citados acima. Dos 36 participantes, 3 pacientes perderam uma coleta de amostra fecal, 2 pacientes tiveram a coleta de soro comprometida por problemas técnicos e 2 pacientes tiveram perdas nas amostras fecais e de soro e foram excluídos. Os 29 pacientes restantes concluíram o estudo.

4.7 Execução do estudo: Fluxograma

Após a seleção, os participantes foram instruídos a coletar uma amostra de fezes em seus lares reservando o material em recipiente específico para entregar no dia seguinte pela manhã no laboratório de análises clínicas em Divinópolis. No dia da entrega da amostra fecal, o paciente estava em jejum de 12 horas, teve o peso e a circunferência abdominal aferidos e foi coletado sangue para obtenção do soro.

O material biológico foi congelado a -80 graus celsius até ser encaminhado ao laboratório de Investigação Clínica e Resistência Insulínica da Unicamp para a realização das análises propostas.

Os pacientes foram orientados pela médica endocrinologista e pesquisadora a iniciar tratamento medicamentoso padrão com Galvus® (Vildagliptina) 50mg, fornecido pelo hospital imediatamente após a primeira coleta (T1). Foram mantidos os demais medicamentos de uso crônico, assim como a dieta habitual feita pelo participante.

Os pacientes mantiveram o tratamento medicamentoso inalterado durante todo o período do estudo (60 dias).

Trinta dias após o início do tratamento medicamentoso padrão foram realizadas novas aferições antropométricas e novas coletas de material biológico, fezes e soro, conforme realizado anteriormente (T2).

Sessenta dias após o início do tratamento medicamentoso padrão, no final do estudo, foram realizadas novamente as aferições e coleta de material biológico, conforme realizado anteriormente (T3).

Assim, após 60 dias de tratamento e a realização de 3 coletas de material biológico e dados antropométricos, o estudo foi finalizado. Os pacientes continuaram recebendo a medicação por um período de 5 meses. A seguir a Figura 8 mostra o fluxograma do estudo.

A adesão dos pacientes que concluíram o estudo foi de 100%. Eles foram orientados a entregar as cartelas vazias dos medicamentos consumidos como um critério de adesão ao tratamento. Atribuímos o sucesso da adesão por se tratar de um curto período de acompanhamento.

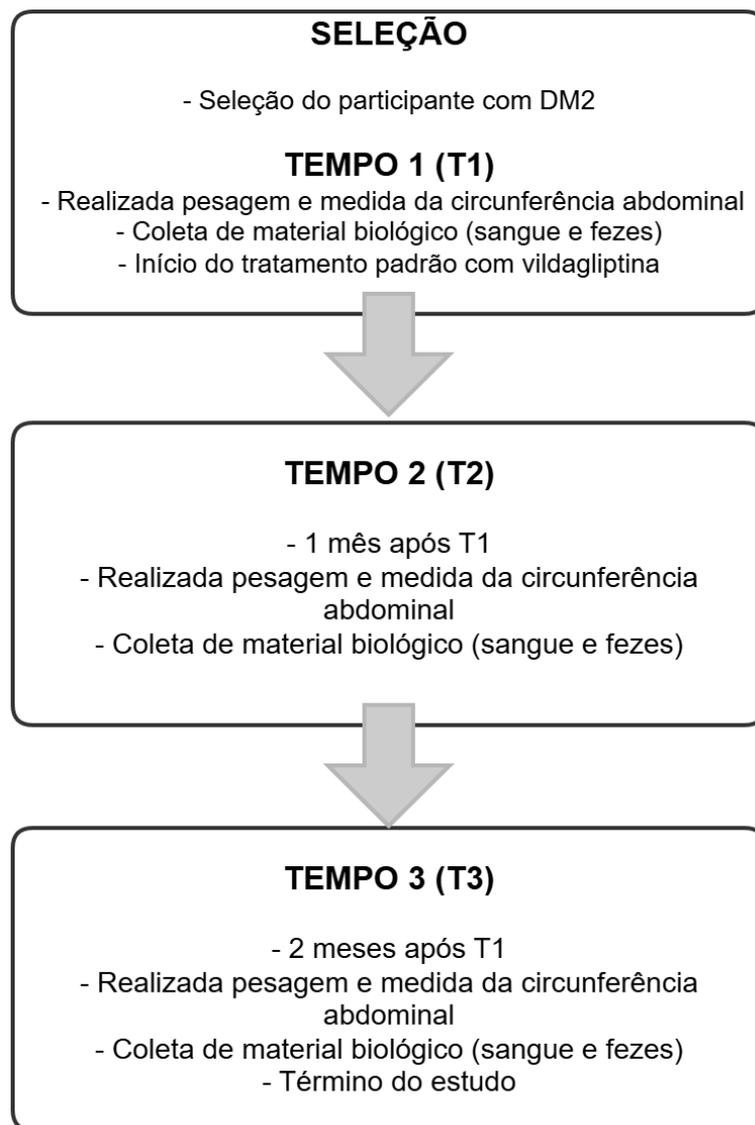


Figura 8 - Fluxograma de execução do estudo

4.7.1 Acompanhamento médico

Durante o estudo os participantes foram atendidos em três consultas endocrinológicas com duração de 30 minutos, em cada um dos momentos em que foram coletados seus dados antropométricos e os materiais biológicos (T1, T2 e T3).

No primeiro atendimento, foi preenchida a ficha de atendimento (Anexo 4) em que o participante foi questionado sobre tempo de doença, escolaridade, doenças associadas, cirurgias, vícios, hábitos de vida e de moradia, tratamentos prévios, queixas atuais, dificuldades com o tratamento, complicações, sintomas

de hipoglicemia, dieta atual e medicações em uso. No primeiro atendimento endócrino foi prescrito Galvus® 50mg de 12 em 12 horas.

No segundo e terceiro atendimentos, foram abordadas queixas atuais, dificuldades, dúvidas, intercorrências e sintomas de hipoglicemia.

Em todas as consultas foi realizado exame físico completo.

4.7.2 Padronização do tratamento medicamentoso

Foi prescrito e fornecido gratuitamente aos participantes o fármaco Vildagliptina, nome comercial Galvus® 50mg (Fabricado por Novartis Pharma GmbH em Nuremberg, Alemanha) após o atendimento no ambulatório de Doenças Endócrino Metabólicas do HSJD (Anexo 5 e 6). A aprovação dessa medicação foi em 2007 pela Agência Europeia de Medicamentos (EMA).

O tratamento dos participantes foi iniciado e mantido durante os dois meses do nosso trabalho e mantido por mais 5 meses após o término deste. Os pacientes mantiveram o uso dos medicamentos que usavam previamente. Lista das medicações usadas por cada paciente no Anexo 7.

4.8 Metodologia das Análises

O soro coletado dos pacientes nos três momentos de coleta, foi utilizado para as dosagens laboratoriais. As amostras fecais seguiram para a análise da microbiota

A seguir temos as dosagens realizadas e as respectivas metodologias:

Quadro 2 - Metodologia das dosagens laboratoriais

Dosagens Laboratoriais	Metodologia
Glicemia Jejum (mg/dl)	Enzimático
HbA1c (%)	HPLC (cromatografia líquida de alta performance)
Ureia (mg/dl)	Enzimático
Creatinina (mg/dl)	Picrato alcalino
Aspartato Aminotransferase (U/L)	Cinético-ultravioleta
Alanina Aminotransferase (U/L)	Cinético-ultravioleta
Gama Glutamil Transferase (U/L)	Cinético SZASZ modificado
Colesterol Total (mg/dl)	Colorimétrico enzimático
LDL-C (mg/dl)	Cálculo
HDL-C (mg/dl)	Colorimétrico enzimático
Triglicerídeos (mg/dl)	Colorimétrico enzimático
Albumina (g/dl)	Colorimétrico

Taxa de Filtração Glomerular; Fórmula CKD-EPI (2021)

4.7.1 - Análise da microbiota

Amostras de fezes foram coletadas antes, 30 e 60 dias após a introdução da vildagliptina, armazenadas a -80 °C e processadas em um ambiente controlado para minimizar a contaminação. O DNA genômico foi extraído de uma amostra de 200 mg usando o QIAamp DNA Stool Mini Kit (Qiagen, Hilden, Alemanha). Um controle negativo (água do mini kit) foi usado da extração até as etapas finais de sequenciamento, e um padrão de comunidade de DNA microbiano simulado foi usado como controle positivo (ZymoBIOMICS, Irvine, CA, EUA). Do DNA, a região hipervariável V3–V4 do rRNA 16S bacteriano foi amplificada, seguida pela Preparação da Biblioteca de Sequenciamento Metagenômico Illumina 16S, após a qual a composição taxonômica da comunidade foi obtida usando a plataforma Illumina® MiSeq. As bibliotecas de sequenciamento de DNA foram construídas seguindo as instruções do fabricante (Illumina, San Diego, CA, EUA) e o fluxo descrito por Caporaso.¹³⁸ As sequências Fastq foram analisadas no software Illumina 16S Metagenomics para

classificar taxonomicamente sequências 16S rRNA usando o banco de dados DADA2. Análises de abundância pareada foram realizadas usando o software IBM SPSS® v.20.0 (Wilcoxon Signed Ranks Tests). O Qiime2 v.2023.9 também foi usado para análises.¹³⁹ Inicialmente, os dados de sequenciamento passaram por pré-processamento, onde leituras pareadas foram mescladas (merge-paired) e ruído removido usando Deblur, com truncamento definido em 305 pares de bases, resultando em Variantes de Sequência Amplicon (ASVs) de alta qualidade. Posteriormente, análises de diversidade foram realizadas com base em ASVs. Para diversidade α , métricas como Faith's Phylogenetic Diversity, Evenness, Shannon, Observed Features, Simpson, Chao1, Inverted Simpson e índices Ace foram calculados. A análise de β -diversidade também foi conduzida usando distâncias unweighted_unifrac, weighted_unifrac, Jaccard e Bray–Curtis.

A classificação taxonômica foi conduzida usando a referência gg_2022_10_backbone.v4.nb.qza. Finalmente, os resultados foram visualizados usando um gráfico de análise de coordenadas principais, gerado usando dados de β -diversidade. Os dados foram transformados em logaritmo no R (v.4.4.1, lançado em 2024-06-14) para melhorar a interpretabilidade. Os gráficos foram gerados no GraphPad Prism 7.0 e R (v.4.3.1).

4.7.2 - Quantificação de metabólitos

Os metabólitos foram processados e quantificados usando o software Nuclear Magnetic Resonance Suite v.8.1 (Chenomx Inc™, Edmonton, AB, Canadá). O módulo do processador foi usado para ajustar a fase espectral e executar correções de linha de base. Uma função de alargamento de linha de 0,5 Hz foi usada para reduzir o ruído do sinal e ajustar os sinais dos metabólitos aos picos espectrais. O sinal da água foi suprimido e os espectros foram calibrados usando o sinal de referência TMSP-d4 a 0,5 mM. Os espectros foram então transferidos individualmente para um módulo de Profiling para determinar perfis metabolômicos. Os metabólitos foram identificados e as concentrações medidas. Os dados de concentração dos metabólitos foram exportados para o Excel® (Microsoft Office™ 365) e normalizados conforme necessário.¹⁴⁰

4.7.3 - Análise da metabolômica (Protocolo LnBio):

Aproximadamente 500ul de soro dos pacientes foram filtrados em filtros da Millipore (Amicon Ultra - Centrifugal Filters) por meio de centrifugação a 14.000 rpm e a 4°C. O filtrado foi coletado, secado, utilizando-se Speed Vac, e armazenado em -80°C. Para a avaliação por RMN, a amostra foi ressuspensa em 540 µL de água deuterada e 60 µL de tampão fosfato a 100 mM contendo TMSP a 0.5mM.

Para a análise de perfil metabólico e determinação das concentrações de metabólitos utilizamos o Espectrômetro *Varian-Agilent Inova (Agilent Technologies Inc.™, Santa Clara, EUA)* do Laboratório Nacional de Biociências do CNPEM. Os espectros ¹H RMN das amostras foram adquiridos utilizando um Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear equipado com sonda criogênica de tripla ressonância operando na frequência de ¹H de 600 MHz e temperatura constante de 298 K (25°C). Um total de 256 varreduras, dependendo da concentração dos metabólitos, foram coletadas com 32000 pontos, tempo de aquisição de 4s em uma janela de largura espectral de 16 ppm. Um tempo de espera de 1.5s foi incorporado entre as varreduras, durante o qual um campo contínuo de radiofrequência de pré-saturação de água será aplicado.

As correções da fase espectral, da linha base, bem como a identificação e quantificação dos metabólitos presentes nas amostras, foram realizadas com a ajuda do *software Chenomx NMR Suite® (Chenomx Inc.™, Edmonton, Canadá)*.

O módulo de processamento deste software foi utilizado para ajuste da fase espectral e realizar correções de linha de base. Uma função de alargamento de linha de 0,5 Hz foi aplicada para reduzir o ruído de sinal e facilitar o ajuste dos sinais dos metabólitos aos picos espectrais. O sinal da água foi suprimido, e os espectros foram calibrados usando o sinal de referência do TMSP-d4 a 0,5 mM. Os espectros foram então transferidos individualmente para o módulo de perfilação do software para determinar o perfil metabolômico de cada grupo. Os metabólitos foram identificados e suas concentrações foram medidas. Os dados de concentração dos metabólitos foram exportados para o Excel® (Microsoft Office™ 365) e normalizados conforme necessário”.

4.7.4 - Análise dos níveis séricos de lipopolissacarídeos (LPS) e interleucinas

O soro foi separado do sangue, diluído a 20% (v/v) em água livre de endotoxinas e aquecido a 70°C por 10 min para inativar proteínas séricas. O LPS foi quantificado usando um kit comercial Limulus Amebocyte Assay (Cambrex, Walkersville, MD, EUA) seguindo as instruções do fabricante.¹⁴¹ As amostras foram aliquotadas para imunoenaios multiplex (Bio-Plex 200; Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, EUA), que usaram painéis de esferas magnéticas para analisar IFN- γ , IL-1- α , IL-1- β , IL-1RA, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, IL-17A, IL-18, MCP-1, MCSF e TNF- α (HCYTOMAG-60K e HMMP2MAG-55K-01, MILLIPLEX MAP Human; Millipore Sigma, Merck KGaA).

4.7.5 - Análise da Insulina

Os níveis circulantes de insulina dos pacientes foram quantificados no soro pelo teste imuno enzimático ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) que detecta e quantifica substâncias solúveis, como proteínas, anticorpos, peptídeos e hormônios. Neste caso, as moléculas de insulina presentes no soro se ligam aos anticorpos anti-insulina que estão previamente 'marcados' na placa do teste formando ligação antígeno-anticorpo, detectada pela adição de um segundo anticorpo biotilado. Este conjugado é mensurado em espectrofotômetro sendo que a absorbância aumenta diretamente proporcional a concentração de insulina da amostra analisada e de acordo com a curva padrão conhecida. Os resultados são expressos em microunidade por mililitro (μ U/mL). O kit utilizado foi: ELISA Kit Human Insulin da marca Merck Millipore.

4.7.6 – Análise do HOMA-IR

Fórmula para cálculo do HOMA-IR:

Insulina jejum (MICRO UI/ml) x Glicemia jejum (mmol/L) / 22,5.

Valor de referência é menor que 2,5.

5. RESULTADOS

5.1 Caracterização da amostra

As características dos pacientes que participaram do estudo estão descritas na Tabela 2. No total 7 pacientes foram excluídos do estudo: os pacientes 9 e 11 perderam a terceira amostra de sangue e fezes, o paciente 21 perdeu a segunda amostra de sangue, o paciente 26 perdeu 2 amostras de sangue e os pacientes 31, 32 e 33 perderam uma das amostras fecais. Assim o n final foi de 29.

Tabela 2 - Caracterização da amostra dos pacientes n=29

Variáveis	n *	Média (%)
Idade*	29	56,4(9,2)
Tempo de doença	29	8,1 (8,3)
Sexo		
Feminino	20	68,7
Masculino	09	31,1
Raça		
Branca	21	72,4
Negra	3	10,3
Parda	5	17,3
Dieta	7	24,1
Atividade Física	13	44,8
Etilismo	17	58,6
Tabagismo	3	10,2
Comorbidades		
HAS	17	58,6
Dislipidemia	13	44,8
Outras	6	

* n: número de pacientes.

Observa-se a maior frequência em pacientes do sexo feminino (68,7%). A idade média foi de $56,4 \pm 9,2$ anos, variando de 32 a 70 anos. O tempo médio de diagnóstico foi de 8,1 anos, mínimo 6 meses e máximo 33 anos. Maioria brancos, etilistas (58,6%), com HAS (58,6%). Apenas 10,2% tabagistas e 44,8%

faziam atividade física. Em relação à alimentação, a maioria dos pacientes não faziam dieta (75,9%).

5.2 Medidas Antropométricas

As medidas antropométricas como peso (P), índice de massa corporal (IMC) e circunferência abdominal (CA) não se alteraram ao longo do estudo como pode ser visto na Figura 9

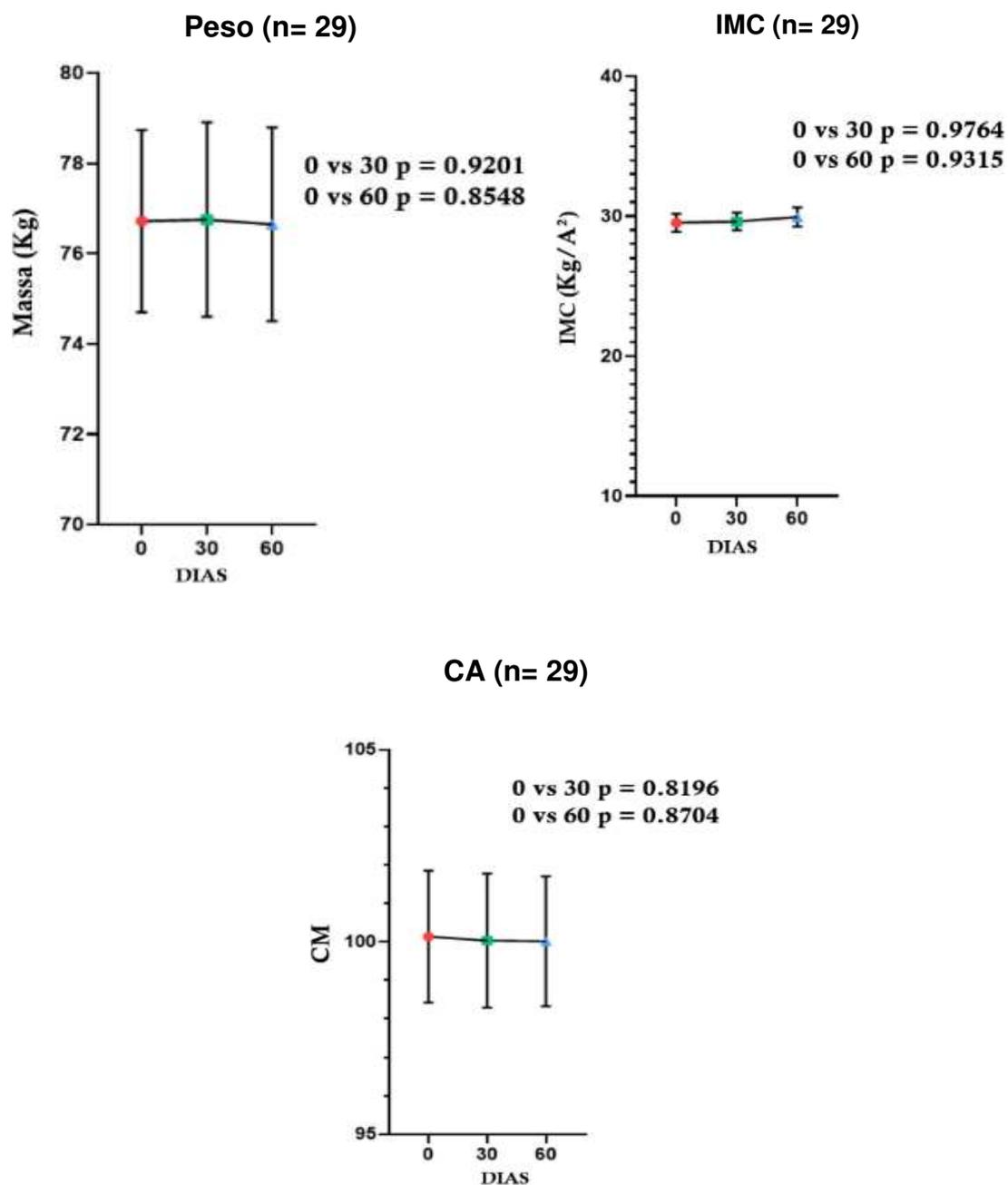
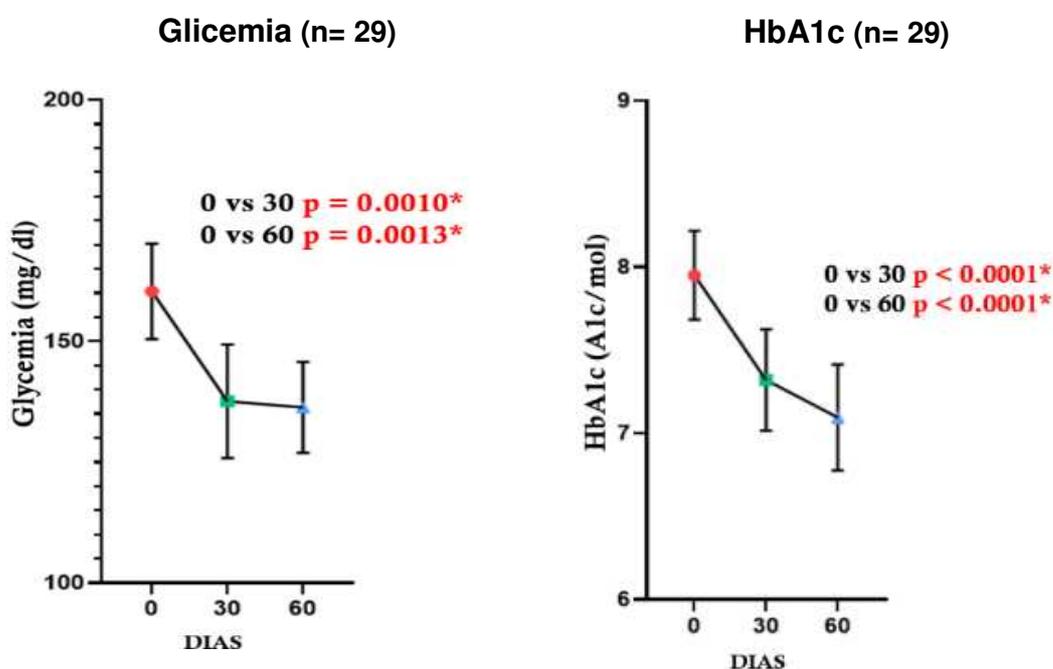


Figura 9 - Efeito da intervenção no P, IMC e CA ao longo do tempo.

Os pontos representam valores médios, com barras indicando desvio padrão. Comparações estatísticas entre pontos de tempo (0, 30 e 60 dias) são mostradas, com valores de p indicando que não observamos diferença estatística. **Peso** entre dia 0 e 60 ($p = 0,854$). **IMC** entre dia 0 e 60 ($p = 0,931$). **CA** entre dia 0 e 60 ($p = 0,870$).

5.3 Perfil glicêmico

Os resultados mostraram que o uso da vildagliptina por dois meses em pacientes não bem controlados com metformina melhorou o controle metabólico, evidenciado por uma diminuição significativa na glicemia de jejum (GJ) e, mais importante, nos níveis de Hemoglobina Glicada (HbA1c). Embora os níveis de insulina de jejum não tenham mudado após a administração da vildagliptina, uma redução clara e significativa no HOMA IR foi registrada, indicando melhora na sensibilidade à insulina. (Figura 10). Esse cálculo foi feito utilizando os valores de insulina dos 23 pacientes que não usavam insulina.



HOMA IR (n=23)

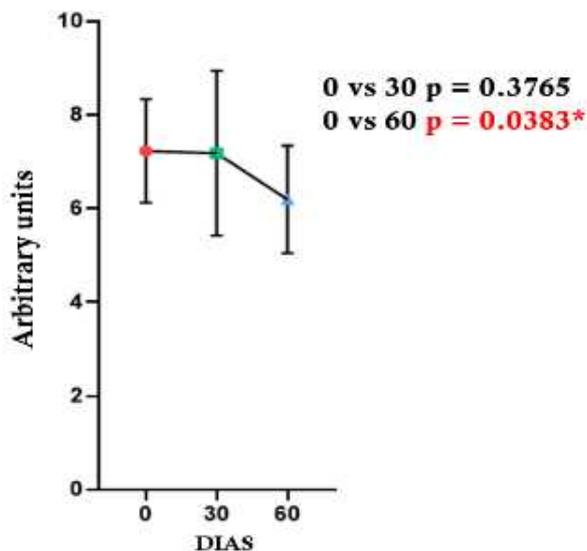


Figura 10- Efeitos da vildagliptina na glicemia, HbA1c e HOMA-IR ao longo do tempo. (0, 30, 60). Resultado da insulina nos tempos 0,30, 60

Os pontos de dados representam valores médios, com barras de erro indicando o desvio padrão. Comparações estatísticas entre os pontos de tempo (0, 30 e 60 dias) são mostradas, com valores de p indicando diferenças significativas: **Glicemia:** Redução significativa do tempo 0 ao tempo 30 ($p = 0,0142$) e do tempo 0 ao tempo 60 ($p = 0,0194$). **HbA1c:** Diminuição significativa do tempo 0 ao tempo 30 ($p = 7,41e-07$) e do tempo 0 ao tempo 60 ($p = 2,85e-07$). **HOMA-IR:** Nenhuma diferença significativa do tempo 0 ao tempo 30 ($p = 0,3865$) e uma tendência do tempo 0 ao tempo 60 ($p = 0,0492$).

Tabela 3 – Tabela de Valores de Insulina (uU/ml)

Pacientes	T1	T2	T3
1	17,80	11,98	18,42
2	35,90	52,43	34,25
3	13,40	13,40	5,28
4	29,24	36,65	15,29
5	38,45	35,15	26,48
6	29,69	37,40	35,15
7	15,45	8,16	21,54
8	14,03	11,50	24,02
9	12,93	11,98	7,68
10	11,66	27,09	8,80
11	7,52	9,92	11,34
12	8,80	12,29	12,45
13	24,02	19,36	23,86
14	10,71	9,28	15,92
15	4,64	10,39	3,68
16	20,61	19,83	18,27
17	8,48	8,32	8,64
18	20,45	16,08	19,36
19	15,92	24,63	20,61
20	11,27	10,58	6,76
21	35,65	44,43	34,20
22	10,41	6,94	7,81
23	10,41	12,65	10,75

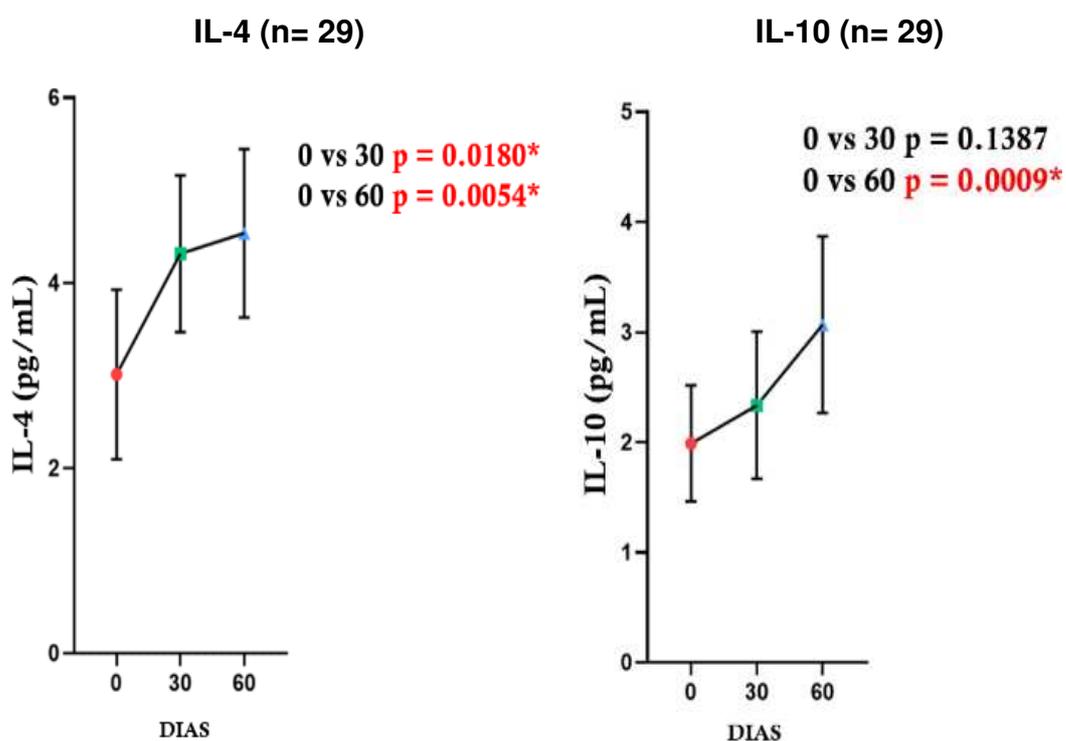
5.4 Interleucinas

Os níveis de LPS não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre os tempos analisados. Para investigar o padrão inflamatório de nossos pacientes, determinamos as 14 interleucinas seguintes: IFN- γ , IL-1 alfa, IL-1 beta, IL-1RA, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, IL-17A, IL-18, MCP-1, MCSF e TNF alfa (Quadro 3)

Quadro 3 - Interleucinas analisadas nesse estudo

Interleucinas	
IFN-γ (pg/mL)	IL-10 (pg/mL)
IL-1 α (pg/mL)	IL-13 (pg/mL)
IL-1 β (pg/mL)	IL-17A (pg/mL)
IL-1RA (pg/mL)	IL-18 (pg/mL)
IL-4 (pg/mL)	MCP-1 (pg/mL)
IL-6 (pg/mL)	MCSF (pg/mL)
IL-8 (pg/mL)	TNF α (pg/mL)

Os resultados mostraram que a maioria dessas interleucinas foram semelhantes, mas 4 delas, representadas na cor vermelha, apresentaram mudança ao longo do estudo. As IL-4 e IL-10, que são interleucinas anti-inflamatórias, aumentaram. Podemos observar que as citocinas inflamatórias IFN γ e MCP1 reduziram após 60 dias de intervenção. (Figura 11).



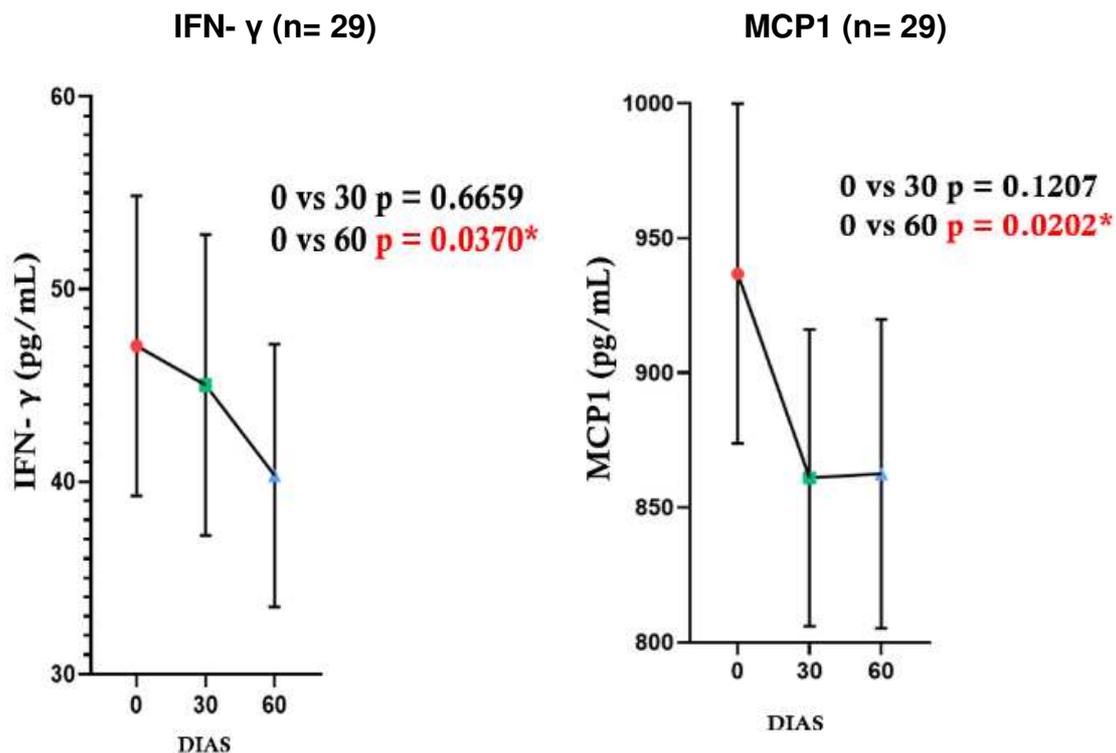


Figura 11 - Alterações nos níveis de citocina (IL-10, IL-4, IFN- γ e MCP-1) ao longo do tempo.

Os pontos de dados representam valores médios, com barras de erro indicando o desvio padrão. Comparações estatísticas entre pontos de tempo (0, 30 e 60 dias) são mostradas, com valores de p indicando diferenças significativas: **IL-10**: Aumento do dia 0 ao dia 60 ($p = 0,00097$), sem diferenças significativas do dia 0 ao dia 30 ($p = 0,1387$). **IL-4**: Aumento do dia 0 ao dia 30 ($p = 0,0187$) e do dia 0 ao dia 60 ($p = 0,00542$). **IFN- γ** : Nenhuma diferença significativa do dia 0 ao dia 30 ($p = 0,6659$), diminuição do dia 0 ao dia 60 ($p = 0,0370$). **MCP-1**: Nenhuma diferença significativa do dia 0 ao dia 30 ($p = 0,1207$), diminuição do dia 0 ao dia 60 ($p = 0,0202$).

5.5 Metabolômica

Foi realizada análise metabolômica de 55 metabólitos em 29 pacientes antes, 30 dias e 60 dias após a introdução da vildagliptina. Tivemos 8 metabólitos que se destacaram ao longo do estudo e estão representados no Quadro 4.

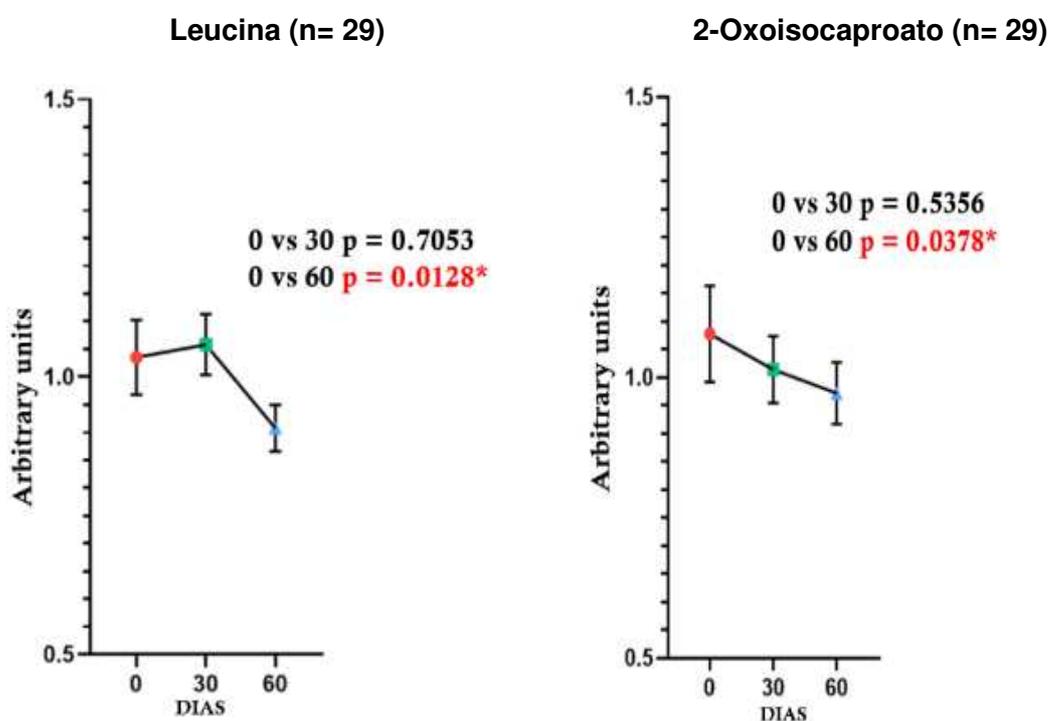
Quadro 4 - Tabela da metabolômica analisada nesse estudo

Tabelas da metabolômica			
2-Aminobutyrate	Cellobiose	Glycine	Phenylalanine
2-Hydroxybutyrate	Choline	Histidine	Proline
2-Hydroxyisovalerate	Citrate	Hypoxanthine	Pyroglutamate
2-Oxoisocaproate	Creatine	Inosine	Pyruvate
3-Hydroxybutyrate	Creatinine	Isobutyrate	Serine
3-Methyl-2-oxovalerate	DSS-d6 (Chemical Shape Indicator)	Isoleucine	Succinate
Acetate	Dimethyl sulfone	Lactate	Taurine
Alanine	Dimethylamine	Leucine	Threonine
Arginine	Ethanol	Lysine	Tryptophan
Ascorbate	Formate	Mannose	Tyrosine
Asparagine	Glucose	Methionine	Uridine
Aspartate	Glutamate	N-Methylhydantoin	Valine
Betaine	Glutamine	O-Acetylcarnitine	Trans-4-Hydroxy-L-proline
Carnitine	Glycerol	Ornithine	

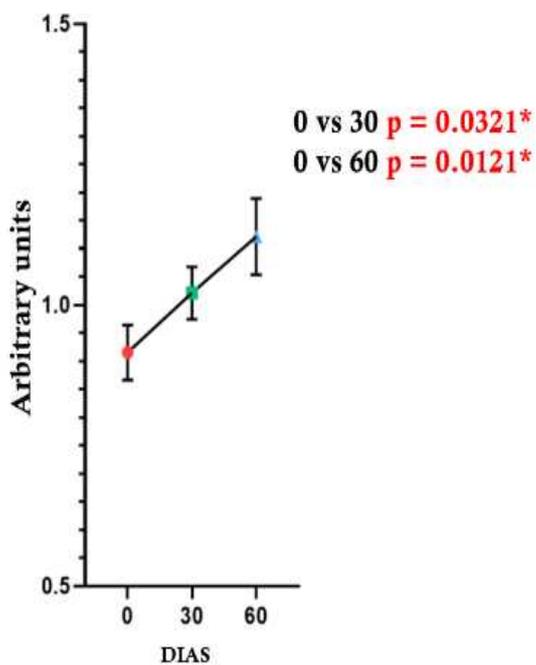
Os resultados mostraram que o aminoácido de cadeia ramificada leucina e BCAA 2-oxoisocaproato foram significativamente reduzidos após 60 dias do uso da vildagliptina, $p=0,012$ e $p=0,037$ respectivamente. (Figura12)

Os metabólitos colina e dimetilamina foram significativamente maiores após 30 dias da introdução da vildagliptina, $p=0,032$ e $p=0,032$. A betaína aumentou significativamente após 60 dias do início do estudo $p=0,045$.

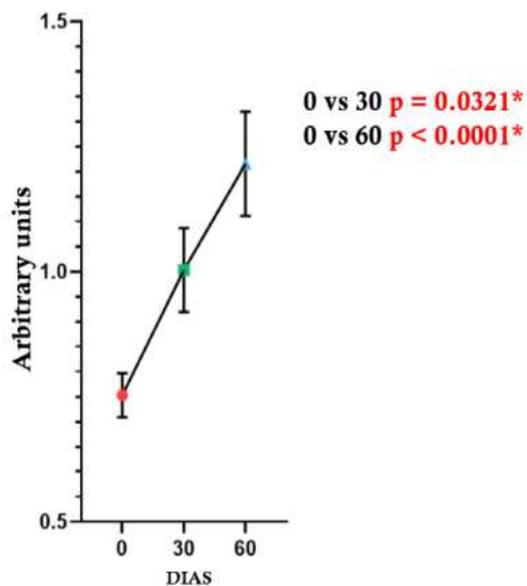
Já os demais, inosina apresentou redução significativa aos 60 dias com $p=0,038$, a serina e aspartato aumentaram 30 dias após a intervenção, $p=0,012$ e $p=0,038$ respectivamente. (Figura 12)



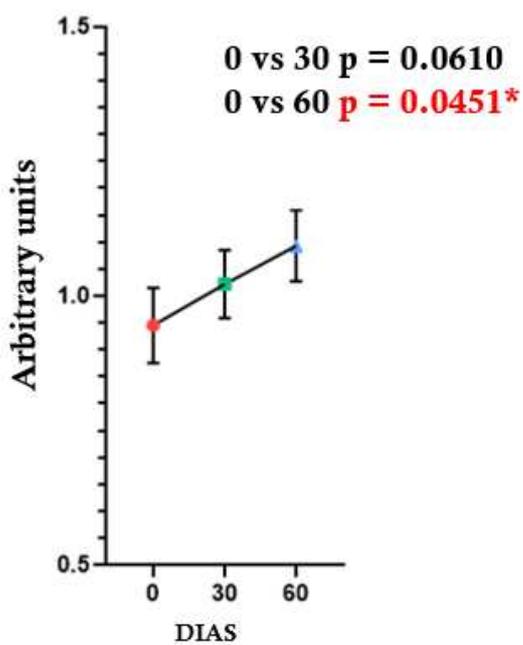
Colina (n= 29)



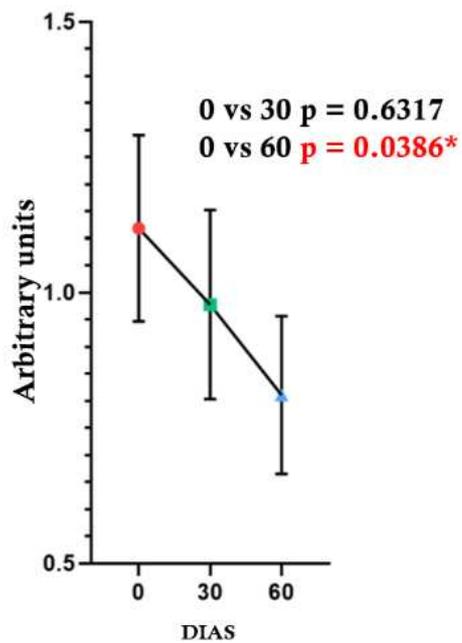
Dimetilamina (n= 29)



Betaína (n = 29)



Inosina (n=29)



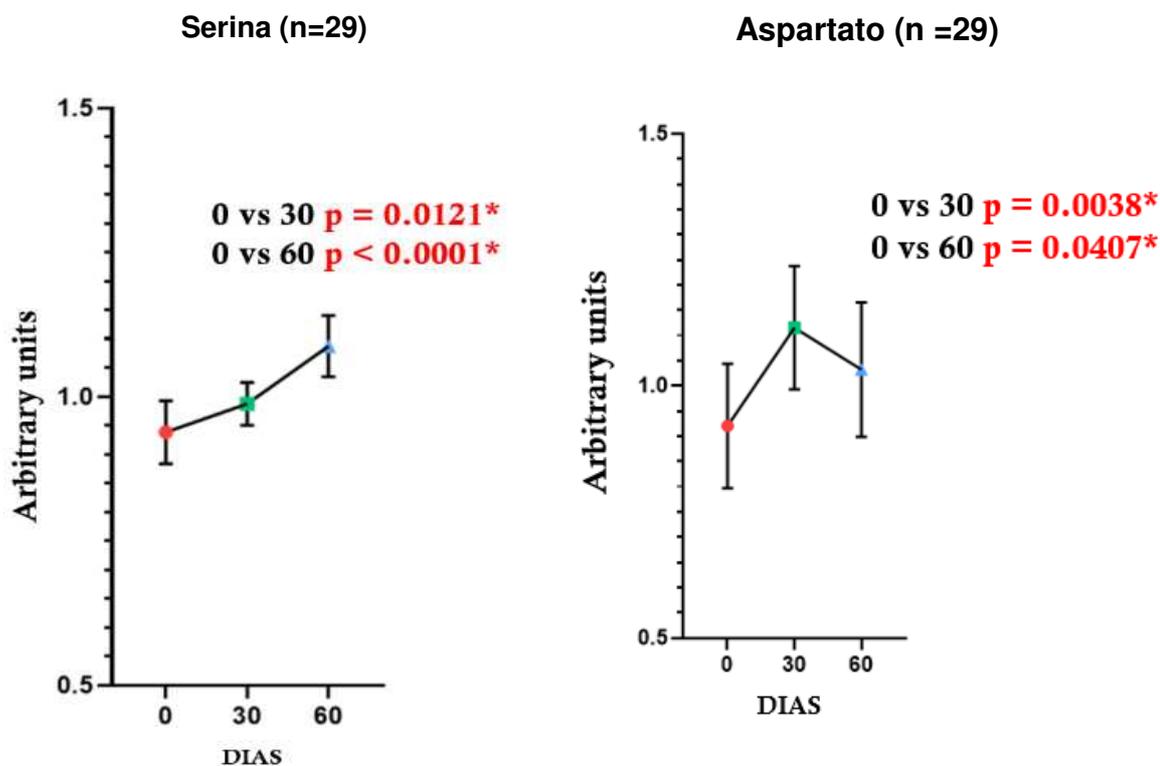


Figura 12 - Alterações nos níveis dos metabólitos (leucina, 2-oxoisoacropato, colina, dimetilamina, betaína, aspartato, inosina e serina) ao longo do tempo (0,30,60).

Os pontos de dados representam valores médios, erro da média ou desvio padrão. Comparações estatísticas entre os pontos de tempos (0,30,60 dias) são mostradas, com valores de p indicando diferenças significativas: **Leucina:** Nenhuma alteração significativa do dia 0 ao dia 30 ($p = 0,7053$) e diminuição do dia 0 ao dia 60 ($p = 0,0129$). **2-Oxoisoacropato:** Aumento do dia 0 ao dia 30 ($p = 0,0321$) e do dia 0 ao dia 60 ($p = 0,0122$). **Colina:** Aumento significativo do dia 0 ao dia 60 ($p = 0,0077$). **Dimetilamina:** Aumento do dia 0 ao dia 30 ($p = 0,0321$) e do dia 0 ao dia 60 ($p = 0,0002$). **Betaína:** Nenhuma diferença significativa do dia 0 ao dia 30 ($p = 0,0610$), mas aumento do dia 0 ao dia 60 ($p = 0,0451$). **Aspartato:** Aumento significativo do dia 0 ao dia 30 ($p = 0,0038$) e aumento significativo do dia 0 ao dia 60 ($p = 0,0408$). **Inosina:** Nenhuma alteração significativa do dia 0 ao dia 30 ($p = 0,6317$), mas diminuição do dia 0 ao dia 60 ($p = 0,0386$). **Serina:** Aumento do dia 0 ao dia 30 ($p = 0,0122$) e do dia 0 ao dia 60 ($p = 0,0003$).

5.6 Microbiota Intestinal

Foi analisada a composição da microbiota nos 29 pacientes antes, 30 e 60 dias após o início da vildagliptina. O Bray-Curtis mede a β -diversidade que avalia a diversidade na composição entre as comunidades microbianas, levando em consideração a presença e abundância das espécies. O valor pseudo-F de 1,2655 indicou uma leve diferença entre os grupos T1 e T3, com um valor p de 0,053, sugerindo uma tendência potencial para uma diferença significativa. No entanto, o valor q de 0,159 indicou que essa diferença não foi estatisticamente significativa após a correção para testes múltiplos. (Figura 13)

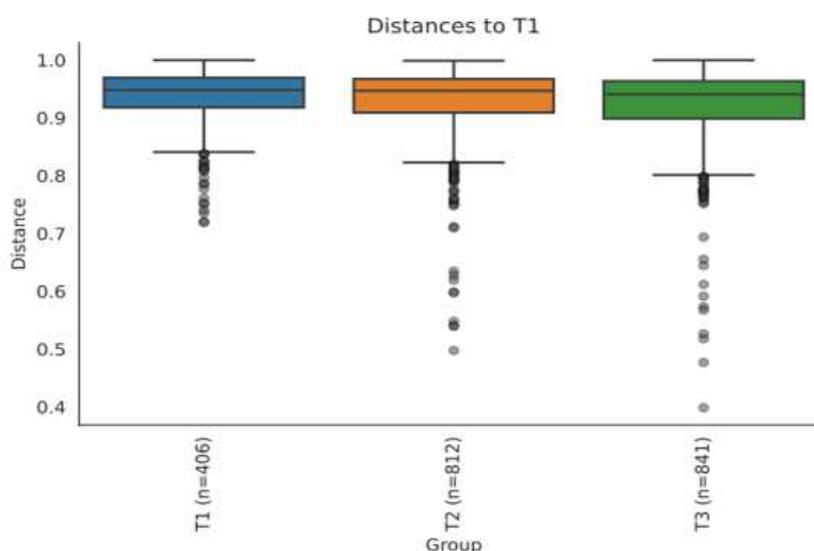


Figura 13 - Box plot mostrando distâncias amostrais de cada ponto de tempo (T1, T2 e T3) para o grupo de base T1.

Os grupos são representados por uma cores diferentes: T1 é azul, T2 é laranja e T3 é verde. (Valor pseudo-valor F de 1,2655 T1 e T3, com um valor p de 0,053, e valor q = 0,159).

Foi analisada a α -diversidade usando vários índices, mas apenas o índice Simpson_evenness mostrou uma diferença significativa entre os períodos. O índice Simpson_evenness, uma variante do índice Simpson, mede a α -diversidade baseado na dominância e uniformidade das espécies. Os testes de Kruskal-Wallis mostraram diferenças significativas na distribuição das variáveis entre os grupos. Comparações pareadas revelam que T1 foi significativamente diferente de T2 e T3 (valor p: 0,0338 e valor q: 0,0506; valor p: 0,0032; valor q:

0,0096, respectivamente), enquanto T2 e T3 não mostram diferenças significativas entre eles. A redução no índice Simpson_e indicou que houve perda de diversidade ou uma mudança na composição da microbiota, resultando em menor uniformidade em T3. (Figura 14)

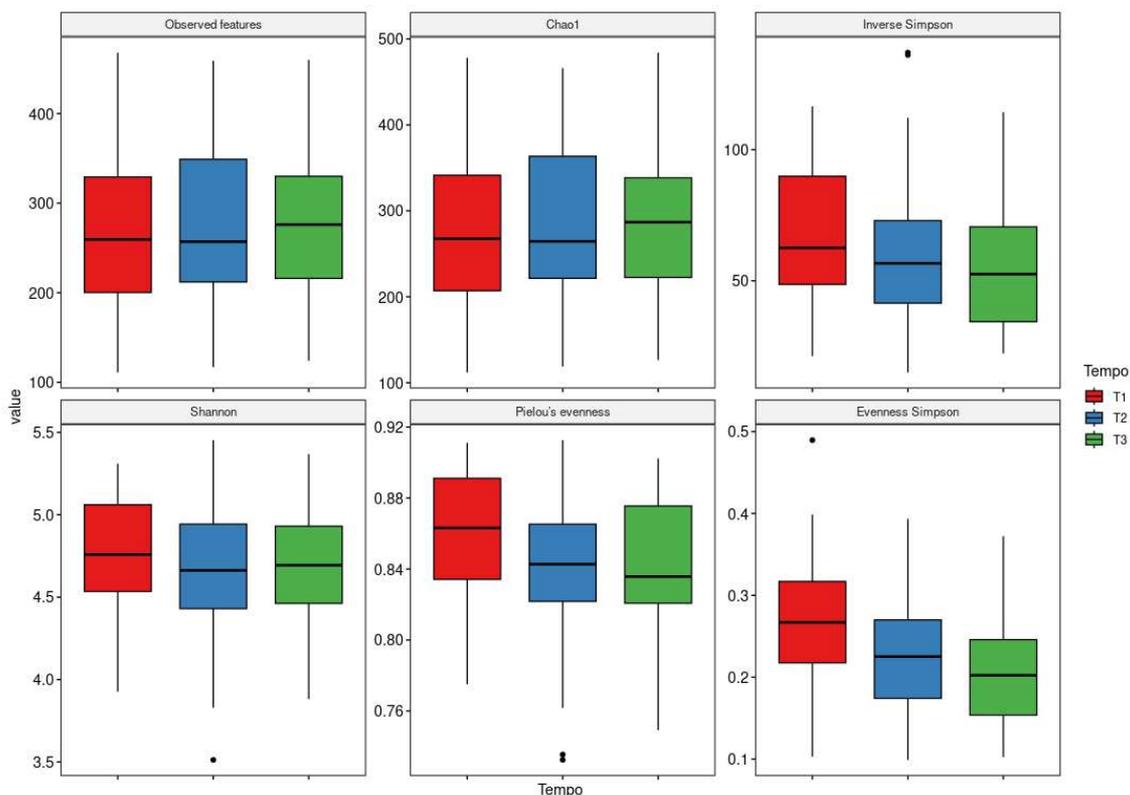


Figura 14 - Box plots mostrando métricas da α -diversidade em diferentes pontos de tempo (T1, T2, T3).

As métricas incluíam **Características Observadas** (canto superior esquerdo), **Chao1** (centro superior), **Simpson Inverso** (canto superior direito), **Shannon** (canto inferior esquerdo), **Uniformidade de Pielou** (centro inferior) e **Uniformidade de Simpson** (canto inferior direito). Os box plots mostram a distribuição de valores para cada período de tempo, com T1 em vermelho, T2 em azul e T3 em verde. Essas métricas destacaram a riqueza, diversidade e uniformidade das espécies em diferentes pontos de tempo.

Em T3, foi observado um aumento significativo nos gêneros *Bariatricus*, *Butyricimonas* e na família *Marinifilaceae* em comparação ao período T1. Esses táxons apresentaram valores de p e valores de p ajustados (p_{adj}) indicando

significância estatística ($p < 0,05$), juntamente com altos escores de Análise Discriminante Linear (LDA) (\log_{10}), reforçando seu enriquecimento neste ponto de tempo. (Figura 15).

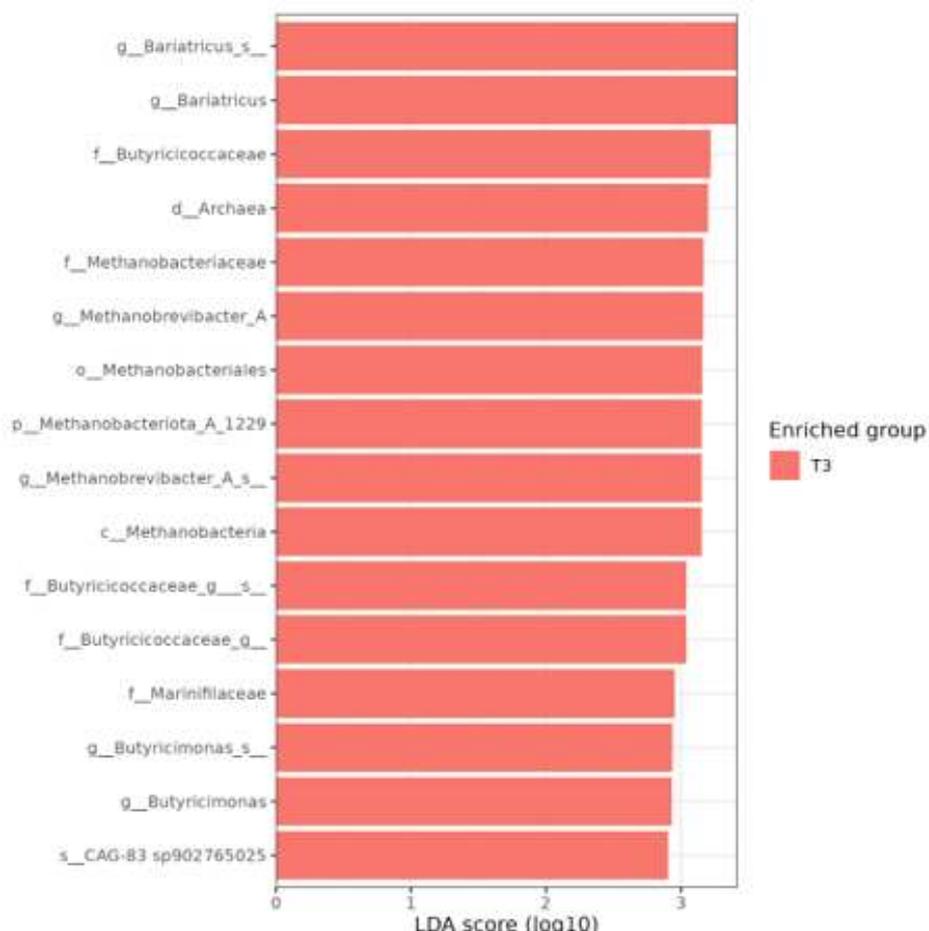


Figura 15 - Pontuações de Análise Discriminante Linear (LDA) de táxons microbianos enriquecidos no período T3.

Os táxons apresentados incluem os gêneros Bariatricus e Butyricimonas, e a família Marinifilaceae. Pontuações LDA mais altas (\log_{10}) indicaram uma maior contribuição dos táxons para o perfil microbiano único neste período, sugerindo seu enriquecimento significativo quando comparado a outros períodos.

6 - DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo mostraram que em pacientes diabéticos tipo 2 não controlados com metformina, a associação da vildagliptina, além da melhora já conhecida no controle glicêmico, também melhorou a resistência insulínica, modulou a microbiota intestinal e alterou os perfis das citocinas anti-inflamatórias e metabólica. A integração desses dados pode contribuir para explicar os efeitos neuroprotetores dos iDPP4

As medidas antropométricas não mudaram ao longo do estudo, lembrando que os pacientes mantiveram seus hábitos inalterados como alimentação e atividade física, sendo a única intervenção o uso da vildagliptina. A enzima DPP4 inibe uma série de substratos dentre eles o Neuropeptídeo Y (NPY) e Peptídeo YY (PYY), que são hormônios peptídicos que desempenham papéis importantes regulando o apetite e a saciedade, respectivamente⁶⁸. O NPY é produzido no cérebro, principalmente no hipotálamo e pode aumentar a proporção de energia armazenada como gordura. Já o PYY é produzido no intestino em resposta a ingestão alimentar regulando a fome e a saciedade⁶⁸. A inibição da DPP4 causada pela vildagliptina aumenta esses dois hormônios, causando neutralidade em relação ao peso, que é uma característica já descrita dessa classe de medicamentos.

A melhora que observamos na resistência à insulina demonstrada pelo aumento do HOMA-IR (Índice de Homeostasis Model Assessment - Resistência à Insulina, cálculo feito a partir de um exame de sangue que avalia a resistência à insulina), também foi acompanhada pela melhora nos marcadores de resistência à insulina, como BCAAs e/ou seus metabólitos. Os BCAAs são claramente correlacionados com causadores de resistência à insulina e, em algumas situações, podem prever o desenvolvimento do DM2^{142 143}. Nossos resultados mostraram que a vildagliptina reduziu a leucina e o 2-oxoisocaproato que são metabólitos da valina, sugerindo que a melhora na resistência à insulina não estava relacionada apenas ao metabolismo da glicose, mas também pode ser um fenômeno mais amplo que também envolva o metabolismo dos aminoácidos.

A introdução da vildagliptina não causou grandes alterações na composição geral da microbiota intestinal, embora tenha havido um aumento em alguns gêneros bacterianos específicos. O índice de Simpson é uma medida de diversidade da microbiota. A redução observada no índice Simpson_e sugere que houve uma diminuição na diversidade, ou seja, a microbiota ficou mais concentrada em poucos tipos de bactérias. Isso provavelmente aconteceu devido ao aumento dos gêneros *Bariatricus* e *Butyricimonas*, e da família *Marinifilaceae*. Esse aumento do subconjunto microbiano sugeriu uma composição microbiana distinta em 60 dias, marcada por uma maior presença desses gêneros. Essa mudança indicou que, embora a diversidade tenha diminuído, a microbiota estava dominada por um grupo específico de microrganismos. Essas alterações poderiam levar ao aumento de certos metabólitos.

A análise LDA foi utilizada para identificar quais taxonomias (grupos de microrganismos) estavam enriquecidas aos 60 dias. Os resultados mostraram que essas bactérias enriquecidas contribuíram significativamente para as características únicas do grupo de pacientes. A mudança no perfil microbiano após 60 dias foi considerada positiva, pois pode estar associada a funções benéficas, como a produção de ácidos graxos de cadeia curta (SCFA), especialmente o butirato¹⁴⁴. O butirato é conhecido por suas propriedades anti-inflamatórias e seu papel na promoção da integridade da barreira intestinal.

Dados recentes mostraram que a microbiota intestinal expressa DPP4, mas os iDPP-4 humanos não bloqueiam eficientemente essa expressão¹⁴⁵⁻¹⁴⁷. Embora a vildagliptina tenha a menor afinidade de ligação ao DPP-4 bacteriano em comparação com outros iDPP-4 humanos¹⁴⁷, não podemos excluir a possibilidade de que alguns de nossos resultados sejam secundários ao bloqueio parcial do DPP-4 bacteriano, além do bloqueio eficiente no DPP4 humano.

Evidências recentes indicam que as gliptinas podem exercer efeitos neuroprotetores quando usadas para o tratamento do diabetes. Pacientes com DM2 tratados com iDPP-4 mostraram melhores resultados funcionais e mortalidade reduzida após acidente vascular cerebral isquêmico agudo^{148 149}. Além disso, pacientes diabéticos idosos com doença de Alzheimer que

receberam sitagliptina, um iDPP4, demonstraram melhora da função cognitiva¹⁵⁰.

Os efeitos neuroprotetores das gliptinas também são comprovados por estudos em animais. Vildagliptina e sitagliptina atenuaram a disfunção mitocondrial do hipocampo e melhoraram o aprendizado em ratos adultos alimentados com uma dieta rica em gordura^{23 24}. O pré-tratamento com linagliptina também reduziu o tamanho do infarto cerebral após oclusão transitória da artéria cerebral média em camundongos com DM2²⁵. Assim, a neuroproteção induzida pela gliptina se estendeu além dos modelos diabéticos com anormalidades induzidas pela dieta, pois esses agentes mostraram efeitos protetores em modelos de doença de Alzheimer^{26 27} e Parkinson²⁸. Em animais não diabéticos, as gliptinas reduziram a neurodegeneração após isquemia cerebral focal aguda²⁵ e hipoperfusão cerebral crônica²⁹. Pesquisas recentes em um modelo de crio-lesão estereotáxica revelaram que a administração pré-cirúrgica de sitagliptina reduziu o tamanho da lesão e ativou uma via de proteína de ligação do elemento de resposta ao AMPc neuroprotetor em camundongos fêmeas C57BL/6J³⁰.

Todas essas descobertas em conjunto, sugerem que as gliptinas podem exercer efeitos neuroprotetores preventivos em modelos diabéticos e não diabéticos. Além disso, a administração crônica ou profilática da vildagliptina preveniu a neurodegeneração em modelos animais de doença de Alzheimer²⁷ doença de Parkinson²⁸ demência vascular diabética³¹ e resistência à insulina periférica e central induzida por uma dieta rica em gordura^{23 24}.

Nossos resultados mostraram que após o uso da vildagliptina houve aumento nos níveis de colina, que é um precursor do neurotransmissor acetilcolina, e betaína sugerindo um possível mecanismo, responsável, pelo menos em parte, pelos efeitos neuroprotetores dos iDPP4. Esses metabólitos podem ser aumentados pela dieta, fonte endógena e no caso da betaína também pode ser produzida pela microbiota intestinal¹⁵¹. Dados anteriores mostraram relação entre a redução na ingestão de colina e o aumento dos riscos de declínio cognitivo e doença de Alzheimer¹⁵²⁻¹⁵⁴ enquanto uma redução na colina sérica foi associada a pacientes com doença de Alzheimer quando comparados aos seus controles¹⁵². Além disso, pacientes com angiopatia amiloide cerebral e

rarefação da substância branca cerebral também apresentaram níveis mais baixos de colina quando comparados aos controles, enfatizando uma suposta ligação da colina à integridade da substância branca. Pacientes com comprometimento cognitivo leve apresentaram redução nos níveis de colina circulante, com níveis de acetilcolina inalterados, sugerindo que o início do desenvolvimento da doença de Alzheimer pode estar associada a reduções nos níveis de colina, e somente em estágios posteriores da doença há redução da acetilcolina ¹⁵².

Dados recentes também sugeriram que a betaína exerceu efeitos benéficos em doenças prevalentes como obesidade, diabetes e câncer e também em doenças neurodegenerativas¹⁵⁵. O papel neuroprotetor da betaína pode estar relacionado aos seus efeitos anti-inflamatórios, inibindo a atividade do fator nuclear- κ B, ativando o inflamossomo NLRP3, neutralizando o estresse oxidativo, e do retículo endoplasmático e inibindo a apoptose celular¹⁵⁵.

Nossos dados mostraram níveis aumentados de IL-10 e IL-4 acompanhados por diminuição nos níveis de MCP-1 e IFN- γ o que sugeriu um perfil imunológico com efeitos potencialmente neuroprotetores ¹⁵⁶. IL-10 é uma citocina anti-inflamatória com efeitos neuroprotetores contra esclerose múltipla, traumatismo cranioencefálico, esclerose lateral amiotrófica, doença de Alzheimer e doença de Parkinson ¹⁵⁷, com efeitos parcialmente mediados pela atenuação das respostas neuroinflamatórias ¹⁵⁸ e promoção da remielinização do axônio¹⁵⁹.

A redução nos níveis circulantes de MCP-1 induzida pela vildagliptina também podem contribuir para os efeitos neuroprotetores deste medicamento, uma vez que a MCP-1 é uma citocina pró-inflamatória que destrói a barreira hematoencefálica, recruta e ativa células gliais e macrófagos ¹⁶⁰.

A IL-4 é secretada por células TH2 e tem um papel crítico na modulação de funções fisiológicas no sistema nervoso central e na ação de processos neuroinflamatórios¹⁶¹⁻¹⁶⁴. A IL-4 também modula respostas imunes e a neuroinflamação e demonstrou induzir efeitos neuroprotetores e de neuroreparo em diferentes modelos experimentais de doenças do Sistema nervosa central. ¹⁵⁹. Esses mecanismos de neuroproteção não são completamente compreendidos, mas podem incluir um fenótipo microglia/macrófago polarizado induzido e a expressão gênica refletindo um fenótipo microglia M2 ¹⁶⁵.

Embora o aumento observado nos níveis de colina possam exercer efeitos neuroprotetores, esse aumento associado a um aumento nos níveis de dimetilamina, também pode aumentar o risco de doenças cardiovasculares. Uma meta-análise recente mostrou que níveis mais altos de colina circulante estavam associados a um risco maior de DCV e mortalidade por todas as causas ¹⁶⁶. Além disso, o aumento nos níveis circulantes de dimetilamina, que é dependente da metilamina da microbiota intestinal, também pode ter efeitos prejudiciais no risco cardiovascular¹⁶⁷.

Por outro lado, dados anteriores também mostraram que os níveis circulantes de aspartato e serina têm correlações negativas com doenças cardiovasculares^{168 169}. Assim, o aumento nos níveis de aspartato e serina induzidos pela vildagliptina podem exercer efeitos benéfico no risco cardiovascular. Observando em conjunto, esses dados sugerem que, embora os iDPP-4 melhore o controle glicêmico e a resistência à insulina e aumente os níveis de aspartato e serina, o aumento nos níveis circulantes de colina e dimetilamina podem impedir quaisquer efeito benéfico cardiovascular desses medicamentos, contribuindo para explicar o efeito neutro no MACE ⁸⁶⁻⁸⁸.

Em resumo, os resultados do presente estudo mostraram que a vildagliptina melhorou a resistência à insulina, induziu um perfil microbiano intestinal associado a funções benéficas, como a produção de ácidos graxos de cadeia curta, acompanhado de um perfil anti-inflamatório de citocinas. A leve modulação da microbiota também foi acompanhada por um aumento de metabólitos associados à neuroproteção. Combinados, esses dados supostamente explicam alguns dos efeitos neuroprotetores associados aos iDPP-4.

7. CONCLUSÃO

Podemos concluir que esses medicamentos interferem na microbiota intestinal e nas demais situações interligadas a ela. Desta forma observamos influência nas células inflamatórias, nos metabólitos e nos possíveis prognóstico neurológicos.

Em se tratando de uma patologia crônica é imprescindível conhecermos detalhes e particularidades das drogas disponíveis para que a escolha do tratamento, vise o controle adequado, o bom prognóstico e a qualidade de vida dos usuários. Assim finalizo, dizendo que a intervenção mostrou resultados que ainda poderão ser mais aprofundados num próximo momento, deixando claro que encontramos pontos positivos que deverão ser considerados ao escolhermos a vildagliptina como uma opção terapêutica.

8. REFERÊNCIAS

1. Magliano DJ, Boyko, EJ, & Atlas, I. D. What is diabetes? In IDF DIABETES ATLAS [Internet]. 10th edition. International Diabetes Federation.
2. Carr RD, Solomon A. Inhibitors of dipeptidyl peptidase-4 as therapeutic agents for individuals with type 2 diabetes: a 25-year journey. *Diabet Med* 2020;37(8):1230-33. doi: 10.1111/dme.14325 [published Online First: 20200608]
3. Mulvihill EE, Drucker DJ. Pharmacology, physiology, and mechanisms of action of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors. *Endocr Rev* 2014;35(6):992-1019. doi: 10.1210/er.2014-1035 [published Online First: 20140912]
4. Kushwaha RN, Haq W, Katti SB. Sixteen-years of clinically relevant dipeptidyl peptidase-IV (DPP-IV) inhibitors for treatment of type-2 diabetes: a perspective. *Curr Med Chem* 2014;21(35):4013-45.
5. Waget A, Cabou C, Masseboeuf M, et al. Physiological and pharmacological mechanisms through which the DPP-4 inhibitor sitagliptin regulates glycemia in mice. *Endocrinology* 2011;152(8):3018-29. doi: 10.1210/en.2011-0286 [published Online First: 20110614]
6. Mulvihill EE, Varin EM, Gladanac B, et al. Cellular Sites and Mechanisms Linking Reduction of Dipeptidyl Peptidase-4 Activity to Control of Incretin Hormone Action and Glucose Homeostasis. *Cell Metab* 2017;25(1):152-65. doi: 10.1016/j.cmet.2016.10.007 [published Online First: 20161110]
7. He YL. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of vildagliptin. *Clin Pharmacokinet* 2012;51(3):147-62. doi: 10.2165/11598080-000000000-00000
8. Reimer RA, Grover GJ, Koetzner L, et al. Combining sitagliptin/metformin with a functional fiber delays diabetes progression in Zucker rats. *J Endocrinol* 2014;220(3):361-73. doi: 10.1530/JOE-13-0484 [published Online First: 20140210]
9. Yan X, Feng B, Li P, et al. Microflora Disturbance during Progression of Glucose Intolerance and Effect of Sitagliptin: An Animal Study. *J Diabetes Res* 2016; 2016:2093171. doi: 10.1155/2016/2093171 [published Online First: 20160818]
10. Wang L, Li P, Tang Z, et al. Structural modulation of the gut microbiota and the relationship with body weight: compared evaluation of liraglutide and

saxagliptin treatment. *Sci Rep* 2016; 6:33251. doi: 10.1038/srep33251 [published Online First: 20160916]

11. Zhang Q, Xiao X, Li M, et al. Vildagliptin increases butyrate-producing bacteria in the gut of diabetic rats. *PLoS One* 2017;12(10): e0184735. doi: 10.1371/journal.pone.0184735 [published Online First: 20171016]

12. Olivares M, Neyrinck AM, Pötgens SA, et al. The DPP-4 inhibitor vildagliptin impacts the gut microbiota and prevents disruption of intestinal homeostasis induced by a Western diet in mice. *Diabetologia* 2018;61(8):1838-48. doi: 10.1007/s00125-018-4647-6 [published Online First: 20180525]

13. Liao X, Song L, Zeng B, et al. Alteration of gut microbiota induced by DPP-4i treatment improves glucose homeostasis. *EBioMedicine* 2019; 44:665-74. doi: 10.1016/j.ebiom.2019.03.057 [published Online First: 20190326]

14. Ryan PM, Patterson E, Carafa I, et al. Metformin and Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitor Differentially Modulate the Intestinal Microbiota and Plasma Metabolome of Metabolically Dysfunctional Mice. *Can J Diabetes* 2020;44(2):146-55.e2. doi: 10.1016/j.jcjd.2019.05.008 [published Online First: 20190527]

15. Zhang M, Feng R, Yang M, et al. Effects of metformin, acarbose, and sitagliptin monotherapy on gut microbiota in Zucker diabetic fatty rats. *BMJ Open Diabetes Res Care* 2019;7(1):e000717. doi: 10.1136/bmjdr-2019-000717 [published Online First: 20190920]

16. Smits MM, Fluitman KS, Herrema H, et al. Liraglutide and sitagliptin have no effect on intestinal microbiota composition: A 12-week randomized placebo-controlled trial in adults with type 2 diabetes. *Diabetes Metab* 2021;47(5):101223. doi: 10.1016/j.diabet.2021.101223 [published Online First: 20210108]

17. Silva-Veiga FM, Miranda CS, Vasques-Monteiro IML, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor-alpha activation and dipeptidyl peptidase-4 inhibition target dysbiosis to treat fatty liver in obese mice. *World J Gastroenterol* 2022;28(17):1814-29. doi: 10.3748/wjg.v28.i17.1814

18. Zhang X, Ren H, Zhao C, et al. Metagenomic analysis reveals crosstalk between gut microbiota and glucose-lowering drugs targeting the gastrointestinal tract in Chinese patients with type 2 diabetes: a 6 month, two-arm randomised trial. *Diabetologia* 2022;65(10):1613-26. doi: 10.1007/s00125-022-05768-5 [published Online First: 20220805]

19. Martínez-López YE, Neri-Rosario D, Esquivel-Hernández DA, et al. Effect of metformin and metformin/linagliptin on gut microbiota in patients with prediabetes. *Sci Rep* 2024;14(1):9678. doi: 10.1038/s41598-024-60081-y [published Online First:

20240427]

20. Tang Y, Yan M, Fang Z, et al. Effects of metformin, saxagliptin and repaglinide on gut microbiota in high-fat diet/streptozocin-induced type 2 diabetic mice. *BMJ Open Diabetes Res Care* 2024;12(3) doi: 10.1136/bmjdr-2023-003837 [published Online First: 20240506]
21. Tian S, Jiang J, Wang J, et al. Comparison on cognitive outcomes of antidiabetic agents for type 2 diabetes: A systematic review and network meta-analysis. *Diabetes Metab Res Rev* 2023;39(7):e3673. doi: 10.1002/dmrr.3673 [published Online First: 20230611]
22. Zhou JB, Tang X, Han M, et al. Impact of antidiabetic agents on dementia risk: A Bayesian network meta-analysis. *Metabolism* 2020;109:154265. doi: 10.1016/j.metabol.2020.154265 [published Online First: 20200522]
23. Pipatpiboon N, Pintana H, Pratchayasakul W, et al. DPP4-inhibitor improves neuronal insulin receptor function, brain mitochondrial function and cognitive function in rats with insulin resistance induced by high-fat diet consumption. *Eur J Neurosci* 2013;37(5):839-49. doi: 10.1111/ejn.12088 [published Online First: 20121212]
24. Pintana H, Apaijai N, Chattipakorn N, et al. DPP-4 inhibitors improve cognition and brain mitochondrial function of insulin-resistant rats. *J Endocrinol* 2013;218(1):1-11. doi: 10.1530/JOE-12-0521 [published Online First: 20130528]
25. Darsalia V, Ortsäter H, Olverling A, et al. The DPP-4 inhibitor linagliptin counteracts stroke in the normal and diabetic mouse brain: a comparison with glimepiride. *Diabetes* 2013;62(4):1289-96. doi: 10.2337/db12-0988 [published Online First: 20121203]
26. Kosaraju J, Gali CC, Khatwal RB, et al. Saxagliptin: a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor ameliorates streptozotocin induced Alzheimer's disease. *Neuropharmacology* 2013;72:291-300. doi: 10.1016/j.neuropharm.2013.04.008 [published Online First: 20130417]
27. Kosaraju J, Murthy V, Khatwal RB, et al. Vildagliptin: an anti-diabetes agent ameliorates cognitive deficits and pathology observed in streptozotocin-induced Alzheimer's disease. *J Pharm Pharmacol* 2013;65(12):1773-84. doi: 10.1111/jphp.12148 [published Online First: 20131010]
28. Abdelsalam RM, Safar MM. Neuroprotective effects of vildagliptin in rat rotenone Parkinson's disease model: role of RAGE-NFκB and Nrf2-antioxidant signaling pathways. *J Neurochem* 2015;133(5):700-7. doi: 10.1111/jnc.13087 [published Online First: 20150326]
29. Tsai TH, Sun CK, Su CH, et al. Sitagliptin attenuated brain damage and cognitive impairment in mice with chronic cerebral hypo-perfusion through suppressing oxidative stress and inflammatory reaction. *J Hypertens* 2015;33(5):1001-13. doi:

10.1097/HJH.0000000000000529

30. DellaValle B, Brix GS, Brock B, et al. Oral Administration of Sitagliptin Activates CREB and Is Neuroprotective in Murine Model of Brain Trauma. *Front Pharmacol* 2016;7:450. doi: 10.3389/fphar.2016.00450 [published Online First: 20161201]
31. Jain S, Sharma B. Neuroprotective effect of selective DPP-4 inhibitor in experimental vascular dementia. *Physiol Behav* 2015;152(Pt A):182-93. doi: 10.1016/j.physbeh.2015.09.007 [published Online First: 20150915]
32. Sociedade Brasileira De Diabetes (SBD). Diretrizes da sociedade brasileira de diabetes 2019-2020. Editora científica CLANAD. Disponível em: Acesso em 22 de nov. de 2019.
33. American Diabetes Association. (2020). 2. Classification and diagnosis of diabetes: standards of medical care in diabetes—2020. *Diabetes care*, 43(Supplement_1), S14-S31.
34. Vilar, L. *Endocrinologia clínica*. Editora: Guanabara Koogan 7. ed., Rio de Janeiro 2016.
35. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. (1998). Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *The lancet*, 352(9131), 837-853.
36. Schwartz, SS., Epstein, S., Corkey, BE., Grant, SF., Gavin III, JR., & Aguilar, RB. The time is right for a new classification system for diabetes: rationale and implications of the β -cell-centric classification schema. *Diabetes care*, 39(2), 179-186.
37. American Diabetes Association. (2011). Standards of medical care in diabetes—2011. *Diabetes care*, 34(Supplement_1), S11-S61.
38. Inzucchi, SE., Bergenstal, RM., Buse, JB., Diamant, M., Ferrannini, E., Nauck, M., ... & Matthews, DR. Management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a patient-centered approach: position statement of the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Diabetes Spectrum*, (2012) 154-171
39. Garber, AJ., Abrahamson, MJ., Barzilay, JI., Blonde, L., Bloomgarden, ZT., Bush, MA., ... & American Association of Clinical Endocrinologists. AACE comprehensive diabetes management algorithm 2013. *Endocrine practice: official journal of the American College of Endocrinology and the American*

Association of Clinical Endocrinologists, 19(2), 327-336.

40. Wu, H., Esteve, E., Tremaroli, V., Khan, MT., Caesar, R., Mannerås-Holm, L., ... & Bäckhed, F. Metformin alters the gut microbiome of individuals with treatment-naive type 2 diabetes, contributing to the therapeutic effects of the drug. 2017. *Nature medicine*, 23(7), 850-858.

41. Lee, H., & Ko, G. Effect of metformin on metabolic improvement and gut microbiota. 2014. *Applied and environmental microbiology*, 80(19), 5935-5943.

42. Foretz, M., Hébrard, S., Leclerc, J., Zarrinpashneh, E., Soty, M., Mithieux, G., ... & Viollet, B. Metformin inhibits hepatic gluconeogenesis in mice independently of the LKB1/AMPK pathway via a decrease in hepatic energy state. 2010. *The Journal of clinical investigation*, 120(7), 2355-2369.

43. Lee, CB., Chae, SU., Jo, S. J., Jerng, UM., & Bae, SK. The relationship between the gut microbiome and metformin as a key for treating type 2 diabetes mellitus. *International journal of molecular sciences* .2021, 22(7), 3566.

44. Bonora, E., Cigolini, M., Bosello, O., Zancanaro, C., Capretti, L., Zavaroni, I., & Butturini, U. Lack of effect of intravenous metformin on plasma concentrations of glucose, insulin, C-peptide, glucagon and growth hormone in non-diabetic subjects. 1984. *Current medical research and opinion*, 9(1), 47-51.

45. Stepensky, D., Friedman, M., Raz, I., & Hoffman, A. Pharmacokinetic-pharmacodynamic analysis of the glucose-lowering effect of metformin in diabetic rats reveals first-pass pharmacodynamic effect. *Drug Metabolism and Disposition*, 2002, 30(8), 861-868.

46. Bailey, CJ., Mynett, KJ., & Page, T. Importance of the intestine as a site of metformin-stimulated glucose utilization. *British journal of pharmacology*, 1994, 112(2), 671.

47. Shin, NR., Lee, JC., Lee, HY., Kim, MS., Whon, TW., Lee, MS., & Bae, JW. An increase in the *Akkermansia* spp. population induced by metformin treatment improves glucose homeostasis in diet-induced obese mice. 2014. *Gut*, 63(5), 727-735.

48. Everard, A., Belzer, C., Geurts, L., Ouwerkerk, J. P., Druart, C., Bindels, L. B., ... & Cani, P. D. Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. 2013. *Proceedings of the national academy of sciences*, 110(22), 9066-9071. doi: 10.1073/pnas.1219451110.

49. Nargis, T., & Chakrabarti, P. Significance of circulatory DPP4 activity in metabolic diseases. 2018. *IUBMB life*, 70(2), 112-119.
50. Cernea S, Raz I. Therapy in the early stage: incretins. *Diabetes Care*. 2011 May;34 Suppl 2(Suppl 2):S264-71. doi: 10.2337/dc11-s223. PMID: 21525466; PMCID: PMC3632190.
51. Parker HE, Reimann F, Gribble FM. Molecular mechanisms underlying nutrient-stimulated incretin secretion. *Expert Rev Mol Med*. 2010 Jan 5;12:e1. doi: 10.1017/S146239940900132X. PMID: 20047700.
52. Mortensen K, Christensen LL, Holst JJ, Orskov C. GLP-1 and GIP are colocalized in a subset of endocrine cells in the small intestine. *Regul Pept*. 2003 Jul 15;114(2-3):189-96. doi: 10.1016/s0167-0115(03)00125-3. PMID: 12832109.
53. Baggio LL, Drucker DJ. Biology of incretins: GLP-1 and GIP. *Gastroenterology*. 2007 May;132(6):2131-57. doi: 10.1053/j.gastro.2007.03.054. PMID: 17498508.
54. Drucker, D. J. Enhancing incretin action for the treatment of type 2 diabetes. *Diabetes care*, 2003, 26(10), 2929-2940.
55. Abu-Hamdah R, Rabiee A, Meneilly GS, Shannon RP, Andersen DK, Elahi D. Clinical review: The extrapancreatic effects of glucagon-like peptide-1 and related peptides. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009 Jun;94(6):1843-52. doi: 10.1210/jc.2008-1296. Epub 2009 Mar 31. PMID: 19336511; PMCID: PMC2690432.
56. Hansen L, Deacon CF, Orskov C, Holst JJ. Glucagon-like peptide-1-(7-36)amide is transformed to glucagon-like peptide-1-(9-36)amide by dipeptidyl peptidase IV in the capillaries supplying the L cells of the porcine intestine. *Endocrinology*. 1999 Nov;140(11):5356-63. doi: 10.1210/endo.140.11.7143. PMID: 10537167.
57. Deacon, CF., Pridal, LONE., Klarskov, LETTY., Olesen, METTE., & Holst, JJ. Glucagon-like peptide 1 undergoes differential tissue-specific metabolism in the anesthetized pig. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 1996, 271(3), E458-E464.
58. Drucker, DJ . Development of glucagon-like peptide-1-based pharmaceuticals as therapeutic agents for the treatment of diabetes. 2001. DOI 10.2174/1381612013397401
59. Vilsbøll^T, Holst JJ. Incretins, insulin secretion and Type 2 diabetes

mellitus doi: 10.1007/s00125-004-1342-6. Epub 2004 Feb 13

60. Meloni AR, Young MB, Lowe C, Parkes DG. GLP-1 receptor activated insulin secretion from pancreatic β -cells: mechanism and glucose dependence. 2012. *Diabetes Obes*

61. Holst JJ. Therapy of type 2 diabetes mellitus based on the actions of glucagon-like peptide-1. *Diabetes Metab Res Rev*. 2002 Nov-Dec;18(6):430-41. doi: 10.1002/dmrr.328. PMID: 12469357.

62. Drucker, DJ. Glucagon-like peptides: regulators of cell proliferation, differentiation, and apoptosis. *Molecular endocrinology*, 2003, 17(2), 161-171.

63. Ahren, B., Pacini, G., Foley, JE., & Schweizer, A. Improved meal-related β -cell function and insulin sensitivity by the dipeptidyl peptidase-IV inhibitor vildagliptin in metformin-treated patients with type 2 diabetes over 1 year. *Diabetes care*, 2005, 28(8), 1936-1940.

64. Yakun R, Hao Z, Chunyan Y, Xi L, Litao W, Xiaojuan D, Helen RG, Dan G. Review *Front Endocrinol Adipokines, Hepatokines and Myokines: Focus on Their Role and Molecular Mechanisms in Adipose Tissue Inflammation*. 2022 Jul 14:13:873699.

65. Lee SA, Kim YR, Yang EJ, Kwon EJ, Kim SH, Kang SH, Park DB, Oh BC, Kim J, Heo ST, Koh G, Lee DH. CD26/DPP4 levels in peripheral blood and T cells in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013 Jun;98(6):2553-61. doi: 10.1210/jc.2012-4288. Epub 2013 Mar 28. PMID: 23539735.

66. Ahrén, B. Gut peptides and type 2 diabetes mellitus treatment. *Current diabetes reports*, 2003, 3(5), 365-372.

67. Stengel A, Goebel-Stengel M, Teuffel P, Hofmann T, Buße P, Kobelt P, Rose M, Klapp BF. Obese patients have higher circulating protein levels of dipeptidyl peptidase IV. *Peptides*. 2014 Nov;61:75-82. doi: 10.1016/j.peptides.2014.09.006. Epub 2014 Sep 8. PMID: 25219943.

68. Mulvihill, EE., & Drucker, DJ.. Pharmacology, physiology, and mechanisms of action of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors. 2014, *Endocrine reviews*, 35(6), 992-1019.

69. Nabeno M, Akahoshi F, Kishida H, Miyaguchi I, Tanaka Y, Ishii S, Kadowaki T. A comparative study of the binding modes of recently launched dipeptidyl peptidase IV inhibitors in the active site. *Biochem Biophys Res Commun*. 2013

May 3;434(2):191-6. doi: 10.1016/j.bbrc.2013.03.010. Epub 2013 Mar 15. PMID: 23501107.

70. Barden, A. T. Desenvolvimento e validação de métodos analíticos para determinação de vildagliptina em comprimidos. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. 2010.

71. Croxtall, JD., & Keam, SJ Vildagliptin: a review of its use in the management of type 2 diabetes mellitus. *Drugs*, 2008, 68, 2387-2409.

72. Drucker, DJ. Development of glucagon-like peptide-1-based pharmaceuticals as therapeutic agents for the treatment of diabetes. *Current pharmaceutical design*, 2001, 7(14), 1399-1412.

73. Drucker, DJ. Glucagon-like peptides: regulators of cell proliferation, differentiation, and apoptosis. *Molecular endocrinology*, 2003,17(2), 161-171

74. Vora, J. Combining incretin-based therapies with insulin: realizing the potential in type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 2013, 36(Suppl 2), S226.

75. Kozlovski, P., Foley, J., Shao, Q., Lukashevich, V., & Kothny, W. Vildagliptin-insulin combination improves glycemic control in Asians with type 2 diabetes. *World Journal of Diabetes*, 2013, 4(4), 151.

76. Ahrén, B., Schweizer, A., Dejager, S., Villhauer, EB., Dunning, BE., & Foley, JE. Mechanisms of action of the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor vildagliptin in humans. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 13(9), 2011, 775-783

77. Schweizer, A., Dejager, S., Foley, JE., & Kothny, W. Assessing the general safety and tolerability of vildagliptin: value of pooled analyses from a large safety database versus evaluation of individual studies. *Vascular Health and Risk Management*, 49-57.

78. Scheen, A.J. The safety of gliptins: updated data in 2018. *Expert opinion on drug safety*, 2018, 17(4), 387-405.

79. Strain, WD., Lukashevich, V., Kothny, W., Hoellinger, MJ., & Paldánus, PM. Individualised treatment targets for elderly patients with type 2 diabetes using vildagliptin add-on or lone therapy (INTERVAL): a 24 week, randomised, double-blind, placebo-controlled study. *The Lancet*, 2013, 382(9890), 409-416.

80. Gooßen, K., & Gräber, S. Longer term safety of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in patients with type 2 diabetes mellitus: systematic review and meta-analysis. *Diabetes, obesity and metabolism*, 2012, 14(12), 1061-1072.

81. Cheng, D., Fei, Y., Liu, Y., Li, J., Chen, Y., Wang, X., & Wang, N. Efficacy and safety of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in type 2 diabetes mellitus patients with moderate to severe renal impairment: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*, 2014, 9(10), e111543.
82. Kume S, Uzu T, Takagi C, Kondo M, Okabe T, Araki S, Isshiki K, Takeda N, Kondo K, Haneda M, Koya D, Nishio Y, Kashiwagi A, Maegawa H. Efficacy and tolerability of vildagliptin in type 2 diabetic patients on hemodialysis. *J Diabetes Investig*. 2012 Jun 6;3(3):298-301. doi: 10.1111/j.2040-1124.2011.00169. x. PMID: 24843580; PMCID: PMC4014953.
83. Schweizer, A., Dejager, S., Foley, JE., Shao, Q., & Kothny, W. Clinical experience with vildagliptin in the management of type 2 diabetes in a patient population ≥ 75 years: a pooled analysis from a database of clinical trials. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 2011, 13(1), 55-64.
84. Williams, RV, F., Kothny, W., Serban, C., Lopez-Leon, S., Chu, C., & Schlienger, R. Cardiovascular safety of vildagliptin in patients with type 2 diabetes: a European multi-database, non-interventional post-authorization safety study. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 19(10), 2017, 1473-1478
85. Monami, M., Ahrén, B., Dicembrini, I., & Mannucci, E. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors and cardiovascular risk: a meta-analysis of randomized clinical trials. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 15(2), 112-120.
86. Green JB, Bethel MA, Armstrong PW, et al. Effect of Sitagliptin on Cardiovascular Outcomes in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med* 2015;373(3):232-42. doi: 10.1056/NEJMoa1501352 [published Online First: 20150608]
87. Scirica BM, Bhatt DL, Braunwald E, et al. Saxagliptin and cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes mellitus. *N Engl J Med* 2013;369(14):1317-26. doi: 10.1056/NEJMoa1307684 [published Online First: 20130902]
88. Scirica BM, Braunwald E, Bhatt DL. Saxagliptin, alogliptin, and cardiovascular outcomes. *N Engl J Med* 2014;370(5):483-4. doi: 10.1056/NEJMc1313880
89. Rosales, R., Abou Jaoude, E., Al-Arouj, M., Fawwad, A., Orabi, A., Shah, P., & Latif, ZA. Clinical effectiveness and safety of vildagliptin in > 19 000 patients with type 2 diabetes: the GUARD study. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 2015, 17(6), 603-607.
90. Mathieu, C., Barnett, AH., Brath, H., Conget, I., de Castro, JJ., Göke, R., &

- Bader, G. Effectiveness and tolerability of second-line therapy with vildagliptin vs. other oral agents in type 2 diabetes: a real-life worldwide observational study (EDGE). *International journal of clinical practice*, 2013, 67(10), 947-956.
91. Gut microbiota DPP4-like enzymes are increased in type-2 diabetes and contribute to incretin inactivation doi: 10.1186/s13059-024-03325-4.
92. Huahui R, Zhun S, Fangming Y, Shujie W, Fengyi Y, Tingting L, Min L, Jiahui Z, Junhua L, Kui W, Yifei Z, Guang N, Karsten K, Weiqing W, Yanyun G, Huanzi Z. Deciphering unique and shared interactions between the human gut microbiota and oral antidiabetic drugs. 2024 Mar 13;3(2):e179. doi: 10.1002/imt2.179. eCollection 2024 Apr.
93. Balakumar M, Prabhu D, Sathishkumar C, Prabu P, Rokana N, Kumar R, Raghavan S, Soundarajan A, Grover S, Batish VK, Mohan V, Balasubramanyam M. Improvement in glucose tolerance and insulin sensitivity by probiotic strains of Indian gut origin in high-fat diet-fed C57BL/6J mice. *Eur J Nutr.* 2018 Feb;57(1):279-295. doi: 10.1007/s00394-016-1317-7. Epub 2016 Oct 18. PMID: 27757592.
94. Patra, D., Banerjee, D., Ramprasad, P., Roy, S., Pal, D., & Dasgupta, S. (2023). Recent insights of obesity-induced gut and adipose tissue dysbiosis in type 2 diabetes. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 10, 1224982.
95. Cani P. D., Van Hul M., Lefort C., Depommier C., Rastelli M., Everard A. Microbial regulation of organismal energy homeostasis. *Nat. Metab.* 1, 2019, 34–46. 10.1038/s42255-018-0017-4
96. Qin J, Li R, Raes J, et al. Um catálogo de genes microbianos intestinais humanos estabelecido por sequenciamento metagenômico. *Nature*, vol. 464, no. 7285, pp. 59–65, 2010.
97. Xu J, Gordon JI, Honor thy symbionts. *Proceedings of the National Academy of Sciences dos Estados Unidos da América*, vol. 100, não. 18, pp. 10452–10459, 2003.
98. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, Mendes DR, et al Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature.* 2011; 437(7346):174-80.
99. Thursby E., Juge N.. Introduction to the human gut microbiota. *Biochem. J.* 474, 2017, 1823–1836. 10.1042/BCJ20160510.
100. Hou K., Wu ZX., Chen XY., Wang JQ., Zhang D., Xiao C., et al. Microbiota in health and diseases. *Signal Transduct. Target Ther.* 7 Ther. 2022 Apr

23;7(1):135. 10.1038/s41392-022-00974-4

101. Haas EA, Saad MJA, Santos A, Vitulo N, Lemos WJF, Martins MAM, Picossi CRC, Favarato D, Gaspar RS, Magro DO, Libby P, Laurindo FRM, Da Luz PL. WineFlora Study A red wine intervention does not modify plasma trimethylamine N-oxide but is associated with broad shifts in the plasma metabolome and gut microbiota composition. *Randomized Controlled Trial Am J Clin Nutr.* 2022 Dec 19;116(6):1515-1529.

102. Garcia-Mantrana I, Royo MS, Alcantara C, Collado MC. Shifts on Gut Microbiota Associated to Mediterranean Diet Adherence and Specific Dietary Intakes on General Adult Population. *Front Microbiol.* 2018 May 7;9:890. doi: 10.3389/fmicb.2018.00890.

103. Silva YP., Bernardi A., Frozza RL. The role of short-chain fatty acids from gut microbiota in gut-brain communication. *Front. Endocrinol.* 11, 25, 2020. 10.3389/fendo.2020.00025

104. Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature.* 2010; 464:59-65.

105. Cani PD, Delzenne NM. The gut microbiome as therapeutic target. *Pharmacol Ther.* 2011; 130:202-12.

106. Huttenhoer C, Gevers D, Knight R, Abubucker S, Badger JH, Chinalla AT, et al. Structure,function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature.* 2012; 486(7402):207-14.

107. Weersma RK, Zhernakova A, Fu J. Interaction between drugs and the gut microbiome. *Gut.* 2020 Aug;69(8):1510-1519. doi: 10.1136/gutjnl-2019-320204. Epub 2020 May 14. PMID: 32409589; PMCID: PMC7398478.

108. Almeida A, Mit AL, Boland M, Fosters SC, Gloor GB, Tarkoska A, Laley TD, Finn RD. *Nature.* 2019;568(7753):499-504.

109. Carvalho BM, Saad MJA. Influence of Gut Microbiota on Subclinical Inflammation and Insulin Resistance. *Mediators of Inflammation.* 2013, 986734

110. Tilg H, Moschen AR, Kaser A. Obesity and the gut microbiota. *Gastroenterology.*2009;136:1476-83.

111. Furet JP, Kong LC, Tap J, Poitou C, Basdevant A, Bouillot JL et al. Differential adaptation of human gut microbiota to bariatric surgery-induced

weight loss: links with metabolic and low-grade inflammation markers. *Diabetes*. 2010; 59:3049-57.

112. Morgan XC., Tickle TL., Sokol H., Gevers D., Devaney KL., Ward DV., Reyes JA., Shah SA., LeLeiko N., Snapper SB., et al. Dysfunction of the intestinal microbiome in inflammatory bowel disease and treatment. *Genome Biol*. 2012;13:R79. doi: 10.1186/gb-2012-13-9-r79.

113. Turnbaugh PJ., Ley RE., Mahowald MA., Magrini V., Mardis ER., Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*. 2006; 444:1027–1031. doi: 10.1038/nature05414.

114. Turnbaugh PJ., Hamady M., Yatsunencko T., Cantarel BL., Duncan A., Ley RE., Sogin ML., Jones WJ., Roe BA., Affourtit JP., et al. A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature*. 2009; 457:480–484. doi: 10.1038/nature07540.

115. Koliada A., Syzenko G., Moseiko V., Budovska L., Puchkov K., Perederiy V., Gavalko Y., Dorofeyev A., Romanenko M., Tkach S., et al. Association between body mass index and firmicutes/bacteroidetes ratio in an adult ukrainian population. *BMC Microbiol*. 2017; 17:120. doi: 10.1186/s12866-017-1027-1

116. Sato J., Kanazawa A., Ikeda F., Yoshihara T., Goto H., Abe H., Komiya K., Kawaguchi M., Shimizu T., Ogihara T., et al. Gut dysbiosis and detection of “live gut bacteria” in blood of japanese patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2014; 37:2343–2350. doi: 10.2337/dc13-2817.

117. Karlsson FH., Tremaroli V., Nookaew I., Bergstrom G., Behre CJ., Fagerberg B., Nielsen J., Backhed F. Gut metagenome in european women with normal, impaired and diabetic glucose control. *Nature*. 2013; 498:99–103. doi: 10.1038/nature12198.

118. Larsen N., Vogensen FK., van den Berg FW., Nielsen DS., Andreasen AS., Pedersen BK., Al-Soud WA., Sorensen SJ., Hansen LH., Jakobsen M. Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults. *PLoS ONE*. 2010;5:e9085. doi: 10.1371/journal.pone.0009085

119. Saad MJA, Santos A, Prada PO. Linking Gut Microbiota and Inflammation to Obesity and Insulin Resistance. *Review. Physiology (Bethesda)*. 2016 Jul;31(4):283-93. doi: 10.1152/physiol.00041.2015.

120. Akira S, Takeda K. Toll-like receptor signaling. *Nature Reviews Immunology* vol. 4, pp. 499-511, 2004.

121. Medzhitov R, Horng T. Transcriptional control of the inflammatory response.

Nat Rev Immunol. 2009 Oct;9(10):692-703. doi: 10.1038/nri2634. PMID: 19859064.

122. Caricilli AM, Picardi PK, de Abreu LL, Ueno M, Prada PO, Ropelle ER, Hirabara SM, Castoldi Â, Vieira P, Camara NO, Curi R, Carnevali JB, Saad MJ. Retraction: Gut Microbiota Is a Key Modulator of Insulin Resistance in TLR 2 Knockout Mice. *PLoS Biol.* 2016 May 23;14(5):e1002479. doi: 10.1371/journal.pbio.1002479. PMID: 27213533; PMCID: PMC4876994.

123. Cani PD, Bibiloni R, Knauf C, Waget A, Neyrinck AM, Delzenne NM, Burcelin R. Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. *Diabetes.* 2008 Jun;57(6):1470-81. doi: 10.2337/db07-1403. Epub 2008 Feb 27. PMID: 18305141.

124. Brun P, Castagliuolo I, Di Leo V, Buda A, Pinzani M, Palù G, Martines D. Increased intestinal permeability in obese mice: new evidence in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2007 Feb;292(2):G518-25. doi: 10.1152/ajpgi.00024.2006. Epub 2006 Oct 5. PMID: 17023554.

125. Burcelin R, Garidou L, Pomie C. Immuno-microbiota cross and talk: the new paradigm of metabolic disease. *Seminars in Immunology*, vol. 24, não. 1, pp. 67–74, 2012.

126. Amar J, Chabo C, Waget A, Klopp P, Vachoux C, Bermúdez-Humarán LG, Smirnova N, Bergé M, Sulpice T, Lahtinen S, Ouwehand A, Langella P, Rautonen N, Sansonetti PJ, Burcelin R. Intestinal mucosal adherence and translocation of commensal bacteria at the early onset of type 2 diabetes: molecular mechanisms and probiotic treatment. *EMBO Mol Med.* 2011 Sep;3(9):559-72. doi: 10.1002/emmm.201100159. Epub 2011 Aug 3. PMID: 21735552; PMCID: PMC3265717.

127. Martins DC, Baptista C, Carrilho F, Microbiota Intestinal e Diabetes Mellitus: Associações Intrínsecas. *Rev Port Endocrinol Diabetes Metab.* 2018;13(2)

128. Shin NR, Lee JC, Lee HY, Kim MS, Whon TW, Lee MS, et al. An increase in the *Akkermansia* spp. population induced by metformin treatment improves glucose homeostasis in diet-induced obese mice. *Gut.* 2014; 63:727-35. doi: 10.1136/gutjnl-2012-303839.

129. Depommier C, Everard A, Druart C, Plovier H, Van Hul M, Vieira-Silva S, Falony G, Raes J, Maiter D, Delzenne NM, Barsey M, Lomaye A, Hermans MP, Thissen JP, Vos WM, Cani PD. Supplementation with *Akkermansia muciniphila* in overweight and obese human volunteers: a proof-of-concept exploratory study. *Randomized Controlled Trial Nat Med*. 2019 Jul;25(7):1096-1103. doi: 10.1038/s41591-019-0495-2. Epub 2019 Jul 1.
130. Weiss RH, Kim K. Metabolomics in the study of kidney diseases. *Nat Rev Nephrol*. 2011 Oct 25;8(1):22-33. doi: 10.1038/nrneph.2011.152. PMID: 22025087.
131. Wei Q, Xiao X, Fogle P, Dong Z. Changes in metabolic profiles during acute kidney injury and recovery following ischemia/reperfusion. *PLoS One*. 2014 Sep 5;9(9):e106647. doi: 10.1371/journal.pone.0106647. PMID: 25191961; PMCID: PMC4156324.
132. Holmes E, Wilson ID, Nicholson JK. Metabolic phenotyping in health and disease. *Cell*. 2008 Sep 5;134(5):714-7. doi: 10.1016/j.cell.2008.08.026. PMID: 18775301.
133. de Oliveira, C. M. B., Sakata, R. K., Issy, A. M., Gerola, L. R., & Salomão, R. (2011). Citocinas e dor. *Rev. Bras. Anesthesiol*, 61, 255-265.
134. Gaugler, J., James, B., Johnson, T., Reimer, J., Solis, M., Weuve, J., ... & Hohman, T. J. (2022). 2022 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers & Dementia*, 18(4), 700-789.
135. PorJuebin Huang, MD, PhD, Department of Neurology, University of Mississippi Medical Center Revisado/Corrigido: fev. 2023)
136. Kinney JW, Bemiller SM, Murtishaw AS, Leisgang AM, Salazar AM, Lamb BT. Inflammation as a central mechanism in Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement (N Y)*. 2018 Sep 6; 4:575-590. doi: 10.1016/j.trci.2018.06.014. PMID: 30406177; PMCID: PMC6214864.
137. González, A., Calfío, C., Churruca, M., & Maccioni, RB. Glucose metabolism and AD: evidence for a potential diabetes type 3. *Alzheimer's research & therapy*, 2022,14(1), 56.
138. Caporaso, JG., Lauber, CL., Walters, WA., Berg-Lyons, D., Huntley, JF, N., & Knight, R. Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. *The ISME journal*, 2012, 6(8), 1621-1624.
139. Bolyen E, Rideout JR, Dillon MR, et al. Reproducible, interactive, scalable

and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nat Biotechnol* 2019;37(8):852-57. doi: 10.1038/s41587-019-0209-9

140. Tobar N, Rocha GZ, Santos A, et al. Metformin acts in the gut and induces gut-liver crosstalk. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2023;120(4): e2211933120. doi: 10.1073/pnas.2211933120 [published Online First: 20230119]

141. Assalin HB, De Almeida KCG, Guadagnini D, et al. Proton Pump Inhibitor Pantoprazole Modulates Intestinal Microbiota and Induces TLR4 Signaling and Fibrosis in Mouse Liver. *Int J Mol Sci* 2022;23(22) doi: 10.3390/ijms232213766 [published Online First: 20221109]

142. Wang TJ, Larson MG, Vasani RS, Cheng S, Rhee EP, McCabe E, Lewis GD, Fox CS, Jacques PF, Fernandez C, O'Donnell CJ, Carr SA, Mootha VK, Florez JC, Souza A, Melander O, Clish CB, Gerszten RE. Metabolite profiles and the risk of developing diabetes. *Nat Med*. 2011 Apr;17(4):448-53. doi: 10.1038/nm.2307. Epub 2011 Mar 20. PMID: 21423183; PMCID: PMC3126616.

143. Langenberg C, Savage DB. An amino acid profile to predict diabetes? *Nat Med*. 2011 Apr;17(4):418-20. doi: 10.1038/nm0411-418. PMID: 21475231.

144. Yuille S, Reichardt N, Panda S, et al. Human gut bacteria as potent class I histone deacetylase inhibitors in vitro through production of butyric acid and valeric acid. *PLoS One* 2018;13(7): e0201073. doi: 10.1371/journal.pone.0201073 [published Online First: 20180727]

145. Clausen DJ, Kanitra J, Bendix S. Hybrid staged approach to subclavian artery aneurysm repair with aberrant dominant left vertebral artery. *J Surg Case Rep* 2023;2023(7): rjad405. doi: 10.1093/jscr/rjad405 [published Online First: 20230729]

146. Yasuda T, Harada N, Inagaki N. Effects of dipeptidyl peptidase-4 inhibition in vivo: Dipeptidyl peptidase-4 inhibitor/gut microbiome crosstalk suggests novel therapeutic options for diabetes management. *J Diabetes Investig* 2024;15(6):704-06. doi: 10.1111/jdi.14157 [published Online First: 20240207]

147. Carpio LE, Olivares M, Benítez-Paez A, et al. Comparative Binding Study of Gliptins to Bacterial DPP4-like Enzymes for the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM). *Int J Mol Sci* 2024;25(11) doi: 10.3390/ijms25115744 [published Online First: 20240525]

148. Chen DY, Wang SH, Mao CT, et al. Sitagliptin After Ischemic Stroke in Type 2 Diabetic Patients: A Nationwide Cohort Study. *Medicine (Baltimore)*

2015;94(28): e1128. doi: 10.1097/MD.0000000000001128

149. Tziomalos K, Bouziana SD, Spanou M, et al. Prior treatment with dipeptidyl peptidase 4 inhibitors is associated with better functional outcome and lower in-hospital mortality in patients with type 2 diabetes mellitus admitted with acute ischaemic stroke. *Diab Vasc Dis Res* 2015;12(6):463-6. doi: 10.1177/1479164115597867 [published Online First: 20150821]

150. Isik AT, Soysal P, Yay A, et al. The effects of sitagliptin, a DPP-4 inhibitor, on cognitive functions in elderly diabetic patients with or without Alzheimer's disease. *Diabetes Res Clin Pract* 2017; 123:192-98. doi: 10.1016/j.diabres.2016.12.010 [published Online First: 20161221]

151. Haikonen R, Kärkkäinen O, Koistinen V, et al. Diet- and microbiota-related metabolite, 5-aminovaleric acid betaine (5-AVAB), in health and disease. *Trends Endocrinol Metab* 2022;33(7):463-80. doi: 10.1016/j.tem.2022.04.004 [published Online First: 20220502]

152. Judd JM, Jasbi P, Winslow W, et al. Inflammation and the pathological progression of Alzheimer's disease are associated with low circulating choline levels. *Acta Neuropathol* 2023;146(4):565-83. doi: 10.1007/s00401-023-02616-7 [published Online First: 20230807]

153. Yuan J, Liu X, Liu C, et al. Is dietary choline intake related to dementia and Alzheimer's disease risks? Results from the Framingham Heart Study. *I am J Clin Nutr* 2022;116(5):1201-07. doi: 10.1093/ajcn/nqac193 [published Online First: 20230210]

154. Liu L, Qiao S, Zhuang L, et al. Choline Intake Correlates with Cognitive Performance among Elder Adults in the United States. *Behav Neurol* 2021; 2021:2962245. doi: 10.1155/2021/2962245 [published Online First: 20211029]

155. Zhang A, Pan C, Wu M, et al. Causal association between plasma metabolites and neurodegenerative diseases. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2024; 134:111067. doi: 10.1016/j.pnpbp.2024.111067 [published Online First: 20240621]

156. Hung YW, Wang Y, Lee SL. DPP-4 inhibitor reduces striatal microglial deramification after sensorimotor cortex injury induced by external force impact. *FASEB J* 2020;34(5):6950-64. doi: 10.1096/fj.201902818R [published Online First: 20200404]

157. Porro C, Cianciulli A, Panaro MA. The Regulatory Role of IL-10 in

- neurodegenerative diseases. *Biomolecules* 2020;10(7) doi: 10.3390/biom10071017 [published Online First: 20200709]
158. Ewen T, Qiuting L, Chaogang T, et al. Neuroprotective effect of atorvastatin involves suppression of TNF- α and upregulation of IL-10 in a rat model of intracerebral hemorrhage. *Cell Biochem Biophys* 2013;66(2):337-46. doi: 10.1007/s12013-012-9453-z
159. Atkins S, Loescher AR, Boissonade FM, et al. Interleukin-10 reduces scarring and enhances regeneration at a site of sciatic nerve repair. *J Peripher Nerv Syst* 2007;12(4):269-76. doi: 10.1111/j.1529-8027.2007.00148.x
160. Manley NC, Bertrand AA, Kinney KS, et al. Characterization of monocyte chemoattractant protein-1 expression following a kainate model of status epilepticus. *Brain Res* 2007;1182:138-43. doi: 10.1016/j.brainres.2007.08.092 [published Online First: 20070922]
161. Zhang J, Rong P, Zhang L, et al. IL4-driven microglia modulate stress resilience through BDNF-dependent neurogenesis. *Sci Adv* 2021;7(12) doi: 10.1126/sciadv.abb9888 [published Online First: 20210317]
162. Hasan M, Seo JE, Rahaman KA, et al. Increased levels of brain serotonin correlated with MMP-9 activity and IL-4 levels resulted in severe experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) in obese mice. *Neuroscience* 2016; 319:168-82. doi: [published Online First: 20160125]
163. Wang J, Wang L, Wu Q, et al. Interleukin-4 Modulates Neuroinflammation by Inducing Phenotypic Transformation of Microglia Following Subarachnoid Hemorrhage. *Inflammation* 2024;47(1):390-403. doi: 10.1007/s10753-023-01917-z [published Online First: 20231029]
164. Gärtner Y, Bitar L, Zipp F, et al. Interleukin-4 as a therapeutic target. *Pharmacol Ther* 2023; 242:108348. doi: 10.1016/j.pharmthera.2023.108348 [published Online First: 20230116]
165. Zhao X, Wang H, Sun G, et al. Neuronal Interleukin-4 as a Modulator of Microglial Pathways and Ischemic Brain Damage. *J Neurosci* 2015;35(32):11281-91. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1685-15.2015
166. Yang Q, Han H, Sun Z, et al. Association of choline and betaine with the risk of cardiovascular disease and all-cause mortality: Meta-analysis. *Eur J Clin Invest* 2023;53(10):e14041. doi: 10.1111/eci.14041 [published Online First: 20230615]
167. Hsu CN, Chang-Chien GP, Lin S, et al. Association of Trimethylamine,

Trimethylamine N-oxide, and Dimethylamine with Cardiovascular Risk in Children with Chronic Kidney Disease. *J Clin Med* 2020;9(2) doi: 10.3390/jcm9020336 [published Online First: 20200125]

168. Hu S, Lin Z, Hu MJ, et al. Causal relationships of circulating amino acids with cardiovascular disease: a trans-ancestry Mendelian randomization analysis. *J Transl Med* 2023;21(1):699. doi: 10.1186/s12967-023-04580-y [published Online First: 20231007]

169. Prechtel L, Carrard J, Gallart-Ayala H, et al. Circulating amino acid signature features urea cycle alterations associated with coronary artery disease. *Sci Rep* 2024;14(1):25848. doi: 10.1038/s41598-024-76835-7 [published Online First: 20241028]

9. ANEXOS

Anexo 1: Parecer do CEP Unicamp



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: TESE DE DOUTORADO SOBRE AVALIAÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL EM PACIENTES PORTADORES DE DIABETES MELLITUS TIPO 2 USANDO VILDAGLIPTINA

Pesquisador: Mario Jose Abdalla Saad

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 84087617.0.0000.5404

Instituição Proponente: Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.658.552

Apresentação do Projeto:

Resumo:

O Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) é uma condição patológica crônica que representa um importante problema de saúde pública, com prevalência crescente e incidência preocupante na população. A metformina é um hipoglicemiante oral amplamente utilizado no tratamento do DM2, mas só recentemente surgiram evidências que tenha também como sítio de ação a microbiota intestinal. Na última década surgiram novas classes de medicamentos para o tratamento do DM2, dentre elas os inibidores da enzima dipeptidil peptidase 4 (DPP4), cujo mecanismo de ação é aumentar a produção do GLP-1 (glucagon-like peptide 1) pelas células intestinais, ocasionando um incremento na produção de insulina e supressão na produção de glucagon. O presente estudo tem como objetivo avaliar se o inibidor da DPP4 teria também algum efeito sobre a composição da microbiota intestinal de participantes portadores de DM2. Serão acompanhados 30 participantes portadores de DM2, por um período de 2 meses, no qual usarão inibidor da DPP4. A composição da microbiota intestinal destes participantes será avaliada pré uso do inibidor da DPP4 (vildagliptina) e após 1 mês e 2 meses do início da medicação.

Introdução:

Atualmente estamos vivendo uma grave epidemia mundial de Diabetes Mellitus (DM). Segundo dados do International Diabetes Federation (IDF) estima-se que existam 415 milhões de indivíduos

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 2.658.552

portadores de DM no planeta, ou seja, um a cada onze adultos possui a doença. Acredita-se que em 2030 existirão aproximadamente 552 milhões de pessoas convivendo com o DM. Isto se deve ao crescimento e envelhecimento populacional, a urbanização, ao aumento dos fatores de risco como obesidade e sedentarismo, bem como a maior expectativa de vida da população mundial e a maior sobrevivência dos pacientes com DM. (Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2015-2016) Diante desta situação vem surgindo nas últimas décadas novas classes de antidiabéticos orais para o tratamento do Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2). Dentre elas temos a classe dos agentes que aumentam a secreção de insulina dependente de glicose e diminuem a secreção de glucagon, são os chamados inibidores da enzima dipeptidil peptidase 4 (DPP4). O mecanismo de ação dessas drogas é representado pelo aumento da vida média do GLP-1 (glucagon-like peptídeo -1) endógeno ativo em até três vezes, por meio da inibição da enzima DPP4, principal responsável pela degradação do GLP-1. E desta forma, são capazes de melhorar o controle glicêmico e a hemoglobina glicada (A1C), sendo seus efeitos colaterais pouco comuns, inclusive o risco de hipoglicemia. (AHRÉN, 2005.)

Hipótese:

Sabe-se que muitos fatores intrínsecos e extrínsecos do ser humano são capazes de modificar a microbiota intestinal. Dentre os fatores extrínsecos podemos citar o uso de medicamentos. Acredita-se que o uso da vildagliptina (IDPP4) levará a uma alteração na composição e função da microbiota intestinal, ampliando o efeito de ação desta droga no sítio intestinal.

Metodologia Proposta:

A abordagem dos participantes que preencherem os critérios de inclusão será realizada pela endocrinologista responsável pela pesquisa, após os participantes assinarem o TCLE. No primeiro atendimento médico os participantes serão examinados, e avaliados peso, IMC, circunferência abdominal, e aferição de pressão arterial. Os participantes serão orientados a manterem todas as medicações que estiverem fazendo uso para controle de sua doença e demais patologias associadas. E também continuarão seguindo a dieta que já faziam, seja ela adequada ou não. Serão orientados também de que forma farão a coleta da amostra fecal em seus domicílios em recipiente específico fornecido pela pesquisadora. Logo após a coleta, a amostra fecal será congelada na casa do participante até o dia seguinte pela manhã. Quando o participante retornar com a amostra fecal congelada, será encaminhado ao laboratório de análises clínicas intitulado Divinópolis, para coleta de sangue para exames de glicemia jejum, A1C, lipidograma, função renal, função hepática, albumina. O laboratório reservará 1ml de soro do participante devidamente identificado e congelará a - 20°C, a amostra fecal conservada em recipiente específico também será

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 2.658.552

devidamente identificada e congelada a -20°C , conforme protocolo de conservação e cuidados, até o posterior envio das amostras de sangue e fezes congelados para o laboratório de fisiopatologia da Unicamp aos cuidados do Dr o Mario Saad e sua equipe, onde será dosado o peptídeo C e demais exames que se fizerem necessários no soro do participantes, e onde também será analisada as bactérias da microbiota intestinal da amostra fecal. Logo após a coleta dos exames, será fornecido ao participantes gratuitamente a medicação vildagliptina 50 pelo Hospital em que a pesquisa será realizada, onde a medicação é padronizada. Os participantes usarão a medicação por um período de 60 dias, duas vezes ao dia, sendo que 01 mês e 02 meses após o início do tratamento todo o procedimento de atendimento médico, coleta de material biológico, análise e envio para a Unicamp serão repetidos. Após o termino do estudo, os exames sanguíneos e a microbiota intestinal serão comparados nos 3 momentos citados, para se avaliar o impacto da vildagliptina sobre a composição da microbiota intestinal destes indivíduos. Ao final do estudo, caso a medicação tenha trazido benefícios ao paciente, ela continuará sendo fornecida gratuitamente por um período de 03 meses. Durante todo o estudo o participantes não terá gastos financeiros de nenhuma natureza.

Critério de Inclusão:

Participantes de ambos os sexos, com idade compreendida entre 18 e 75 anos, A1C entre 6,5 e 10%, índice de massa corporal (IMC) entre 25 e 35kg/m², com clearance de creatinina acima de 30ml/min/1,73m² e que não estejam utilizando para tratamento de sua doença a medicação da classe dos inibidores da enzima DPP4.

O exame de A1C para inclusão no estudo, será considerado o resultado do ultimo mês trazidos pelo participantes, assim como o clearance de creatinina

Critério de Exclusão:

Participantes portadores de qualquer patologia intestinal, gestantes, participantes portadores de Diabetes Mellitus tipo 1, insuficiência renal e hepática graves, em uso de qualquer tipo e classe de antibióticos e medicamentos da classe dos inibidores da bomba de prótons.

Os exames para exclusão do estudo, serão considerados os resultados do ultimo mês trazidos pelo participantes.

Metodologia de Análise de Dados:

Após o termino do estudo, os exames sanguíneos e a microbiota intestinal serão comparados nos 3 momentos citados, para se avaliar o impacto da vildagliptina sobre a composição da microbiota intestinal destes indivíduos

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 2.658.552

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar a microbiota intestinal dos participantes portadores de DM2, atendidos no ambulatório de doenças endócrino metabólicas de um Hospital Filantrópico na cidade de Divinópolis-MG, antes de iniciar o uso do hipoglicemiante oral da classe dos inibidores da DPP4 (vildagliptina), e após um e dois meses de uso da medicação.

Objetivo Secundário:

Realizar durante o período do estudo o acompanhamento dos participantes avaliando: glicemia sanguínea, A1C, peptídeo C, lipidograma, função renal, função hepática, albumina, peso, circunferência abdominal, pressão arterial, antes do início da medicação e após um e dois meses de uso da mesma.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os pesquisadores informam o que segue:

Riscos:

A presente pesquisa apresenta riscos mínimos aos participantes, porém para amenizar este desconforto será disponibilizado pela instituição um local que oferece conforto e confidencialidade dos dados coletados. Em relação ao uso do medicamento o mesmo apresenta riscos mínimos uma vez que é bem estudado na literatura médica científica e os critérios de inclusão delimitando o perfil dos participantes do estudo não apresentam contra indicação e caso o participante apresente algum evento relacionado ao uso do medicamento recebe toda a assistência necessária.

Benefícios:

Os benefícios da pesquisa são para melhora da qualidade de vida dos portadores da doença uma vez que é uma doença que acomete grande parte da população.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se do projeto de Doutorado "AVALIAÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL EM PACIENTES PORTADORES DE DIABETES MELLITUS TIPO 2 USANDO VILDAGLIPTINA", da aluna Juliane Colombo Carrer de Macedo, sob a orientação do Prof. Dr. Mario Jose Abdalla Saad, sendo outros pesquisadores participantes Dioze Guadagnini e Andrey dos Santos. Trata-se de um estudo longitudinal, de intervenção, a ser realizado com um centro co-participante (FUNDAÇÃO GERALDO CORREA- cnpj 20.146.064/0001-02), no ambulatório de doenças endócrino metabólicas de um

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 2.658.552

Hospital Filantrópico da cidade de Divinópolis-MG, onde 30 participantes serão avaliados em três momentos e coletadas amostras de sangue e fezes: imediatamente pré intervenção, 1 mês e 2 meses após intervenção - uso do inibidor da DPP4 (vildagliptina), com o objetivo de avaliar se essa medicação teria algum efeito sobre a composição da microbiota intestinal de pacientes portadores de Diabetes Mellitus tipo 2. O cronograma foi alterado, informando início da coleta de dados para 01 de junho de 2018. O orçamento informado é de R\$ 3.300,00 e os recursos orçamentários serão disponibilizados pelo CNPQ- INCT de Obesidade e diabetes para exames realizados no laboratório de resistência insulínica da UNICAMP".

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Constam as seguintes documentações, em anexo:

PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1022193.pdf

cartarespsotaJuliane.pdf: referente às pendências solicitadas em parecer prévio;

TCLEJulianne.pdf;

Instituicao.pdf: assinada por Túlio Nogueira Valente Marins, Diretor Clínico do Hospital São João de Deus;

Vinc;ulo.pdf: carteira funcional do Prof.Dr Mário Saad Filho;

Biorrepositorio.pdf: assinada pelo Prof.Dr Mário Saad

PROJETO.pdf

Declaracao02.pdf: assinada pelo responsável técnico do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital de Divinópolis;

folhaok.pdf: assinada pelo Prof.Dr Roberto Teixeira Mendes, Diretor Associado FCM/Unicamp;

Recomendações:

Aprovado, com as seguintes recomendações:

No TCLE:

- a) acrescentar riscos relacionados à coleta de sangue;
- b) acrescentar contato do CEP/Unicamp;

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado, com recomendações (Vide item acima RECOMENDAÇÕES).

Considerações Finais a critério do CEP:

- O participante da pesquisa deve receber uma via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (quando aplicável).

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126	CEP: 13.083-887
Bairro: Barão Geraldo	
UF: SP	Município: CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936	Fax: (19)3521-7187
	E-mail: cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 2.658.552

- O participante da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (quando aplicável).

- O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado. Se o pesquisador considerar a descontinuação do estudo, esta deve ser justificada e somente ser realizada após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou. O pesquisador deve aguardar o parecer do CEP quanto à descontinuação, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao participante ou quando constatar a superioridade de uma estratégia diagnóstica ou terapêutica oferecida a um dos grupos da pesquisa, isto é, somente em caso de necessidade de ação imediata com intuito de proteger os participantes.

- O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo. É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

- Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas e aguardando a aprovação do CEP para continuidade da pesquisa. Em caso de projetos do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma, junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial.

- Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, inicialmente seis meses após a data deste parecer de aprovação e ao término do estudo.

- Lembramos que segundo a Resolução 466/2012, item XI.2 letra e, "cabe ao pesquisador apresentar dados solicitados pelo CEP ou pela CONEP a qualquer momento".

- O pesquisador deve manter os dados da pesquisa em arquivo, físico ou digital, sob sua guarda e responsabilidade, por um período de 5 anos após o término da pesquisa.

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 2.658.552

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1022193.pdf	10/05/2018 15:49:36		Aceito
Outros	cartarespsotaJuliane.pdf	10/05/2018 15:49:14	Juliane Colombo Carrer de Macedo	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEJulianne.pdf	10/05/2018 15:49:01	Juliane Colombo Carrer de Macedo	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Instituicao.pdf	02/05/2018 11:16:47	Mario Jose Abdalla Saad	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Vinculo.pdf	02/05/2018 11:15:54	Mario Jose Abdalla Saad	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Biorrepositorio.pdf	02/05/2018 11:00:04	Mario Jose Abdalla Saad	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO.pdf	14/02/2018 13:33:00	Mario Jose Abdalla Saad	Aceito
Declaração do Patrocinador	Declaracao02.pdf	14/02/2018 13:29:49	Mario Jose Abdalla Saad	Aceito
Folha de Rosto	folhaok.pdf	30/10/2017 23:11:13	Mario Jose Abdalla Saad	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CAMPINAS, 16 de Maio de 2018

Assinado por:
Renata Maria dos Santos Celeghini
(Coordenador)

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br

Anexo 2: Regulamento do biorrepositório da FCM/UNICAMP



Universidade Estadual de Campinas
Faculdade de Ciências Médicas
Campinas, 09 de janeiro de 2017.



REGULAMENTO DO BIORREPOSITÓRIO

Pesquisa: AVALIAÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL EM PACIENTES PORTADORES DE DIABETES MELLITUS TIPO 2 USANDO VILDAGLIPTINA

1. Armazenamento e uso do material biológico:

a) O material biológico será armazenado em natura e na forma de DNA. As amostras serão armazenadas em freezer -20°C e freezer -80°C específicos e utilizados somente para este fim. As amostras serão codificadas apenas por números e a chave de ligação entre números e nomes de pacientes será armazenada em programa de computador protegido por senha. Somente 4 pessoas terão acesso a esta chave de código (pela posse da senha) o Prof. Dr. Mario José Abdalla Saad (matrícula UNICAMP 143405), docente do departamento de Clínica Médica, FCM-UNICAMP e os biólogos Andrey dos Santos (matrícula 303797), Dioze Guadagnini (matrícula 292078) e Heloísa Balan Assalín (matrícula 312599) biólogos do laboratório LICRI.

b) A guarda e a autorização do uso do referido material estará sob a responsabilidade exclusiva do Prof. Mario José Abdalla Saad (matrícula 143405) Docente do Departamento de Clínica Médica, FCM-UNICAMP.

c) Será assegurado a todos os sujeitos de pesquisa, doadores do material, a garantia de que resultados obtidos e que sejam de seu interesse lhes seja comunicada (e/ou ao médico responsável por seu tratamento, quando for o caso). Para tanto informações sobre endereço para contato e telefone serão armazenadas em um programa de computador protegido por senha, e utilizado como descrito no **item a**.

2. Com relação ao funcionamento do Biorrepositório:

a) O sujeito da pesquisa, ou seu representante legal, a qualquer tempo e sem quaisquer ônus ou prejuízos, pode retirar o consentimento de guarda e utilização do material biológico armazenado no Biorrepositório, valendo a desistência a partir da data de formalização desta.

- a₁ - A retirada do consentimento será formalizada por manifestação, por escrito e assinada, pelo sujeito da pesquisa ou seu representante legal, cabendo-lhe a devolução das amostras existentes.
- b) O prazo de armazenamento do material biológico humano no Biorrepositório consta no cronograma da pesquisa correspondente e será por dois anos após a data de publicação dos resultados.
- c) Renovações da autorização de armazenamento serão permitidas após autorização do CEP/FCM/Unicamp.
- d) Ao final do período de realização da pesquisa, o material biológico humano armazenado (DNA bacteriano de fezes e soro) deverá ser descartado em lixo apropriado para material biológico e autoclavado, mediante aprovação do CEP.

3- Sob a utilização das amostras do Biorrepositório em outros projetos concomitantes:

- a) as amostras armazenadas podem ser utilizadas em novas pesquisas aprovadas pelo CEP e, quando for o caso, pela CONEP;
- b) Poderá haver um TCLE específico para nova pesquisa ou a solicitação de sua dispensa, conforme disposto no TCLE de formação do biorrepositório.
- c) Quando fundamentada a impossibilidade de obtenção do consentimento específico para a nova pesquisa, mediante opção do sujeito em ser consultado a cada pesquisa, cabe ao CEP autorizar, ou não, a utilização do material biológico humano armazenado no Biorrepositório.

Regulamento em vigor a partir de 05/2012.



Prof. Dr. MARIO JOSÉ ABDALLA SAAD
Responsável pelo Biorrepositório
FCM-UNICAMP

Anexo 3: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) (Obrigatório para Pesquisas Científicas em Seres Humanos-Resolução CNS/MS nº 466/12)**

Eu, _____,

RG _____ declaro ter sido informado detalhadamente sobre a pesquisa intitulada "Avaliação da microbiota e controle glicêmico em pacientes portadores de diabetes mellitus tipo 2, em uso de IDPP4", que tem como objetivo avaliar o efeito do antidiabético oral da classe dos inibidores da enzima DPP4 (vildagliptina) na microbiota intestinal de pacientes portadores de Diabetes Mellitus tipo 2, atendidos no ambulatório de doenças endócrino metabólicas do Hospital Filantrópico de Divinópolis.

Declaro também estar devidamente esclarecido sobre as questões da pesquisa, bem como minha participação nela. Compreendo que sou livre para me retirar do estudo em qualquer momento, sem perda de benefício ou outra penalidade. Sei que durante o estudo serei submetido a exames, consultas clínicas e que me será fornecido o medicamento antidiabético oral (vildagliptina) durante todo o período de 2 meses eu durará o estudo e nos 3 meses seguintes do estudo, caso o medicamento tenha causado benefício. Em caso de despesas decorrentes de minha participação neste estudo, sei que será garantido o ressarcimento delas.

A presente pesquisa apresenta riscos mínimos aos participantes, porém para amenizar este desconforto será disponibilizado pela instituição um local que oferece conforto e confidencialidade dos dados coletados.

Assinatura do sujeito de pesquisa: _____

Data: ____ / ____ / ____

Assinatura do pesquisador(a): _____

Data: ____ / ____ / ____

Em relação ao uso do medicamento ele apresenta riscos mínimos uma vez que é bem estudado na literatura médica científica e os critérios de inclusão delimitando o perfil dos pacientes do estudo não apresentam contraindicação e caso o participante apresente algum evento relacionado ao uso do medicamento recebe toda a assistência necessária.

É importante ressaltar que o grupo será avaliado pré e pós-intervenção. Desta forma não se trata de um estudo para analisar a eficácia do fármaco em questão, mas o efeito dele na microbiota intestinal.

Os benefícios da pesquisa são para melhora da qualidade de vida dos portadores da doença uma vez que é uma doença que acomete grande parte da população.

Caso ocorra algum dano não previsto, serão garantidas formas de indenização em relação aos mesmos.

Recebi garantias de total sigilo e de obter esclarecimentos sempre que o desejar. Concordo em participar voluntariamente deste estudo sabendo que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem nenhum prejuízo em qualquer momento com o pesquisador e/ou com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital São João de Deus/FGC ou com o Comitê de Ética da Unicamp.

Estou ciente que meus dados serão tratados com absoluta segurança para garantir a confidencialidade, privacidade e anonimato em todas as etapas do estudo, e de que a pesquisadora manterá estes dados arquivados durante um período mínimo de 5 anos a contar da data inicial. Os resultados do estudo serão divulgados em publicações, artigos ou eventos científicos.

Assinatura do sujeito de pesquisa: _____

Data: ____/____/____

Assinatura do pesquisador(a): _____

Data: ____/____/____

Eu, _____ declaro que obtive espontaneamente o consentimento deste sujeito de pesquisa para realizar este estudo.

Juliane Colombo Carrer de Macêdo – CRM 33281/MG

Rua Santo Antônio, 420, sala 1.401, Ed. Mileniun. Divinópolis-MG

Hospital São João de Deus, Rua do Cobre, 900, Divinópolis-MG

Telefones para contato: (37) 3221-1011 / (37) 988239299

Comité de Ética em Pesquisa do Hospital São João de Deus. Nº 800, Bairro São João de Deus, CEP 35500-227 – Divinópolis/MG, telefone: (37) 3229-7661.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS – UNICAMP

Faculdade de Ciências médicas – FCM Rua Tessália Vieira de Camargo, nº 162, Cidade Universitária “Zeferino Vaz”, Distrito de Barão Geraldo – Campinas/SP Cep. 13.083-887.

Eu, _____ após ter sido suficiente e devidamente esclarecido (a), pelo (a) pesquisador (a), sobre a realização desta pesquisa, como está escrito neste termo, declaro que consinto em participar da pesquisa em questão por livre vontade não tendo sofrido nenhuma forma de pressão ou influência indevida.

Assinatura do sujeito de pesquisa: _____

Data: ____/____/____

Assinatura do pesquisador(a): _____

Data: ____/____/____

Nota: este termo de Consentimento livre e esclarecido foi elaborado em duas vias, ficando uma com o sujeito participante da pesquisa e a outra com o pesquisador responsável.

Anexo 4: Ficha de atendimento dos pacientes.

NOME:			
DATA DE NASCIMENTO:			
ENDEREÇO:			
SEXO: MASC () FEM ()			
ESTADO CIVIL:			
RESIDE SOZINHO: SIM () NÃO ()			
ESCOLARIDADE: ANALFABETO () ENS. FUNDAMENTAL () ENSINO MÉDIO () ENS. SUPERIOR ()			
TEMPO DOENÇA (DM)			
OUTRAS DOENÇAS: () HAS () IAM PRÉVIO () IRC () RETINOPATIA () NEFROPATIA () NEUROPATIA PERIFÉRICA () MENOPAUSA			
CIRURGIAS PREVEAS:			
VÍCIOS: TABAGISMO () ETILISMO ()			
DISFUNÇÃO SEXUAL: SIM () NÃO ()			
DIETA: SIM () NÃO ()			
ATIVIDADE FÍSICA: SIM () NÃO ()			
MEDICAÇÃO PREVEA :			
DIAGNÓSTICO:			
CONDUTA:			
	M1	M2	M3
PESO/ ALT			
IMC			
CIRC. ABD.			
PA:			
GLIC. J.			
GLIC. P. P.			
A1C			
CT+ F			
TRIGL			
TGO			
TGP			
GAMA GT			
UREIA			
CREAT			
TFG			
PEPT C			
ST			
Sintomas de Hipoglicemia:			
Ex. dos pés:			

Anexo 5 - Autorização para execução e prescrição do medicamento Galvus no ambulatório.

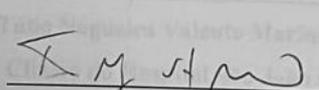
HOSPITAL
SÃO JOÃO DE DEUS
FUNDAÇÃO GERALDO CORRÊA

DECLARAÇÃO

Venho por meio desta, autorizar que o projeto intitulado **“AVALIAÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL EM PACIENTES PORTADORES DE DIABETES MELITUS TIPO 2 USANDO VILDAGLIPTINA”** seja realizado no ambulatório de doenças endócrino metabólicas do Hospital São João de Deus onde os pacientes serão avaliados pela endocrinologista Juliane Colombo Carrer de Macedo, onde a mesma irá prescrever o medicamento Galvus 50mg (Vildagliptina 50 mg) conforme necessidade do paciente, uma vez que o mesmo já é padronizado na instituição.

Divinópolis, 27 de abril de 2018.

Divinópolis, 27 de abril de 2018.


Túlio Nogueira Valente Marins

Túlio Nogueira Valente Marins
Diretor Clínico do Hospital São João de Deus



Anexo 6 - Autorização para o fornecimento gratuito do medicamento Galvus aos participantes do estudo.

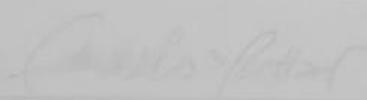
HOSPITAL
SÃO JOÃO DE DEUS
 FUNDAÇÃO GERALDO CORRÊA

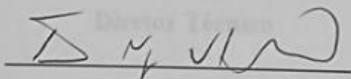
DECLARAÇÃO

DECLARAÇÃO

Eu Túlio Nogueira Valente Marins, Diretor Clínico do Hospital São João de Deus afirmo que o medicamento padronizado na nossa Instituição *Galvus 50 mg (Vildagliptina 50mg)* será fornecido pelo Hospital São João de Deus para os pacientes participantes da pesquisa **“AVALIAÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL EM PACIENTES PORTADORES DE DIABETES MELITUS TIPO 2 USANDO VILDAGLIPTINA”** e esclareço que o fornecimento do mesmo será gratuito e fornecido ao longo do estudo e após, caso traga benefícios a este.

Divinópolis, 27 de abril de 2018.


 Eduardo Gomes Mattar
 Diretor Técnico

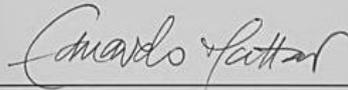

Túlio Nogueira Valente Marins
 Diretor Clínico do Hospital São João de Deus



DECLARAÇÃO

Eu **Eduardo Gomes Mattar**, Diretor Técnico do Hospital São João de Deus, afirmo que o medicamento padronizado na nossa instituição *Galvus 50mg (Vildagliptina 50mg)* será fornecido pelo Hospital São João de Deus para os pacientes participantes da pesquisa " **AVALIAÇÃO DA INTESTINAL EM PACIENTES PORTADORES DE DIABETES MELLITUS TIPO 2 USANDO VILDAGLIPTINA**" e esclareço que o fornecimento do mesmo será gratuito e fornecido ao longo do estudo e após, caso traga benefícios a este.

Divinópolis, 20... de OUTUBRO... de 2017



Eduardo Gomes Mattar
Diretor Técnico



Eduardo Gomes Mattar
Diretor Técnico



Rita Regina Guimarães
Superintendente

DECLARAÇÃO

Eu **Juliane Colombo Carrer de Macedo**, Responsável Clínico do ambulatório de Doenças Endócrino Metabólicas do Hospital São João de Deus, declaro que aceito a realização da pesquisa do projeto intitulado “**AVALIAÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL EM PACIENTES PORTADORES DE DIABETES MELLITUS TIPO 2 USANDO VILDAGLIPTINA**” neste ambulatório.

Esta pesquisa terá início após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital São João de Deus.

Divinópolis, 20 de OUTUBRO de 2017.

Juliane Colombo Carrer de Macedo

Juliane Colombo Carrer de Macedo

Endocrinologista

Hospital São João de Deus

Anexo 7: Lista de medicações de uso dos pacientes.

PACIENTES	MEDICAMENTOS
1	Sertralina / Clonazepam/ AAS / Gingobiloba / Glifage XR 500
2	NPH /Anlodipina / AAS / Caverdilol / Losartana/ Sinvastatina/ Amitryl / Glifage XR 500
3	NPH / sinvastatina / Azukon MR30 / Glifage XR 500
4	Captopril / Clorana/ Angipress / Rosuvastatina / Glifage XR 500
5	Sinvastatina / Enalapril / Depakene / Glifage XR 500
6	Losartana / HCTZ / AAS / Glifage XR 500
7	Glifage XR 500
8	NPH / Regular / sinvastatina / Glifage XR 500
10	Sinvastatina / Valsartana / HCTZ / Lasix / Glifage XR 500
12	Glifage XR 500
13	Losartana / Anlodipina / Gliclazida MR 30 / Lasix / Glifage XR 500
14	Sinvastatina / Glifage XR 500
15	Losartana / Anlodipina / Fibrato / AAS / Glifage XR 500
16	Gliclazida MR 30 / Glifage XR 500
17	Forxiga / Glifage XR 500 / Valsartana
18	HCTZ / Losartana / Atenolol / Sinvastatina / Glifage XR500
19	HCTZ / Losartana /Puran 88 / Glifage XR 500
20	HCTZ / Losartana / LANTUS / Glifage XR 500
22	Glifage XR 500 / Diamicron / Forxiga / Janúvia
23	Losartana / Sinvastatina/ glifage XR 500
24	Glifage XR 500 / AAS / HCTZ / Captopril / Sinvastatina
25	Glifage XR 500 / HCTZ / Sinvastatina
27	NPH/ Glifage XR 500 / Atenolol / Lasix / Losartana / Sinvastatina / AAS / Sertralina / Hidralazina
28	Anlodipina / Lasix / Losartana / Sinvastatina / Glifage XR 500/ Complexo B
29	NPH / Glifage XR 500
33	Sertralina / Losartana / Ciclobenzaprina / Condrofler / Diclofenaco / Glifage XR 500
34	Glifage XR 500
35	Glifage XR 500/ Marevan / Tensaliv / HCTZ / Atenolol / Losartana / Sinvastastina
36	Glifage XR 500