

A Secreção Residual do Peptídeo C Faz Diferença no Tratamento do Diabetes Melito Tipo 1?

revisão

RESUMO

O diabetes melito tipo 1 (DM1) é uma doença crônica causada por destruição progressiva das células- β das ilhotas pancreáticas, o que leva à insulinopenia e à hiperglicemia. Uma proporção significativa de pacientes acometidos pode apresentar manutenção de alguma função secretora por longos períodos, identificada clinicamente por meio da detecção de peptídeo C sérico. Há evidências de que isso possa trazer alguns benefícios, como redução do risco de complicações crônicas, maior facilidade em atingir o controle metabólico adequado e menor frequência de hipoglicemias graves. É possível que o próprio peptídeo C, atuando diretamente em tecidos-alvo, contribua para esses efeitos. (Arq Bras Endocrinol Metab 2008;52/2:322-333)

Descritores: Peptídeo C; Diabetes tipo 1; Tratamento

ABSTRACT

C-Peptide Residual Secretion Makes Difference on Type 1 Diabetes Management?

Type 1 diabetes is a chronic disease characterized by progressive destruction of the pancreatic β cells, what leads to insulin deficiency and hyperglycemia. However, a significant secretory function may persist for long periods in a few patients, what is clinically evident through the detection of serum C peptide. This phenomenon might reduce the risk of chronic complications, severe hypoglycemias and allow easier metabolic control. It is possible that these advantages are caused, at least partially, by C peptide itself, acting directly in its target tissues. (Arq Bras Endocrinol Metab 2008;52/2:322-333)

Keywords: C-peptide; Type 1 diabetes; Treatment

INTRODUÇÃO

O DIABETES MELITO TIPO 1 (DM1) é uma doença crônica causada por destruição progressiva das células- β das ilhotas pancreáticas, o que leva à insulinopenia e à hiperglicemia. A velocidade deste processo destrutivo é extremamente variável, podendo levar desde alguns meses até anos. Quando a maior parte das células é acometida, a doença se manifesta clinicamente (1). A preservação ou a recuperação da massa de células- β e de sua capacidade secretória poderiam evitar a necessidade de insulinoterapia ou até curar o DM1. Diversas intervenções vêm sendo tentadas visando a atingir essas metas. Entretanto, mesmo sem alcançar esse objetivo, a manutenção de alguma função residual das células- β poderia ter vantagens para os pacientes com DM1, como melhor controle metabólico, menor frequência de hipoglicemia e menor risco de complicações microvasculares. Esta revisão abordará a função pancreática de indivíduos com DM1 e os possíveis benefícios da manutenção de alguma secreção de insulina e/ou peptídeo C nesse grupo.

Recebido em 09/12/2007

Aceito em 17/12/2007

AVALIAÇÃO DA SECREÇÃO RESIDUAL DE INSULINA EM PACIENTES COM DM

A avaliação da capacidade de secreção de insulina é uma ferramenta fundamental para pesquisas que buscam o entendimento da história natural do DM1 e do impacto de novas terapias na prevenção secundária da doença. Entretanto, do ponto de vista clínico, testes de rotina com essa finalidade ainda não devem ser solicitados em pacientes com DM1. É possível que essa conduta seja alterada no futuro, com a descoberta de novas medidas capazes de preservar ou recuperar a função da célula- β nesses indivíduos. Atualmente, a avaliação da capacidade de secreção de insulina para pacientes com DM é indicada nos casos em que a diferenciação entre DM1 e DM2 é difícil apenas com base na apresentação clínica, como exame complementar para auxiliar a classificação adequada da doença (2).

A forma mais utilizada para avaliação funcional da célula- β em humanos tem sido a mensuração de seus produtos no sangue periférico. A possibilidade de quantificar simultaneamente a massa de células- β pancreáticas e sua capacidade funcional seria extremamente interessante para elucidar diversos aspectos da fisiopatologia do DM1. Entretanto, biópsias pancreáticas são associadas à morbimortalidade elevadas e não devem ser utilizadas para este fim. Esta é uma importante limitação dos estudos que abordam a fisiopatologia do DM1 em humanos. Grande parte dos conhecimentos acerca da massa de células- β e da função pancreática do DM tem sido obtida de estudos com biópsias pancreáticas de modelos animais, mas nem sempre é possível extrapolar essas informações para a doença humana. De qualquer forma, de modo geral, a capacidade de secreção de insulina parece ter uma boa correlação com a massa de células- β em pacientes com DM1 (3,4). Contudo, um subgrupo de pacientes com DM1 pode apresentar disfunção de células- β poupadas pelo processo destrutivo, especialmente no início da doença, dificultando esta correlação (5).

Uma das formas de avaliar a função das células- β seria a dosagem da própria insulina. O teste, para esta finalidade, tem utilidade limitada, pois a insulina apresenta meia-vida curta (4 minutos), extração hepática variável pelo fenômeno de primeira passagem (40% a 60%) e *clearance* intra e interindividual bastante variável. Assim, a insulinemia plasmática geralmente não reflete de maneira fidedigna a capacidade de secreção das células- β pancreáticas. Além disso, os testes para medir

insulinemia plasmática não distinguem insulina endógena de exógena, o que pode ser um importante problema no uso do teste em pacientes em insulino-terapia. Outro fator de confusão é a possibilidade de interferência de anticorpos antiinsulina nos níveis séricos de insulina. Entretanto, pela meia-vida curta da insulina, sua dosagem pode ser útil para avaliação de intervenções que causem mudanças rápidas no padrão de secreção da célula- β . Além disso, pode ser necessária para pesquisar alterações de fases específicas da secreção de insulina, como a disfunção da primeira fase de secreção que ocorre na fase pré-clínica do DM1 (6).

A dosagem de insulina pode ser basal ou após o estímulo com glucose endovenosa ou oral. O teste com estímulo endovenoso (com 0,5 g de glucose/kg de peso corporal até o máximo de 35 g) foi padronizado em 1990 pelo grupo Islet Cell Antibody Registered Users (Icarus) e é mais usado para avaliação da primeira fase de secreção insulínica (PFSI) em indivíduos com alto risco para DM1. A PFSI pode ser mensurada pela soma da insulina plasmática 1 e 3 minutos após a sobrecarga endovenosa de glucose, o que tem demonstrado uma boa associação com a progressão ao DM1 em indivíduos com alto risco para a doença (auto-anticorpos elevados e/ou marcadores genéticos de suscetibilidade). Entretanto, um problema com esse teste é sua reprodutibilidade, visto que há grande variabilidade intra-individual na primeira fase de secreção de insulina ao teste de tolerância à glucose endovenosa (7).

Outra forma de avaliar a capacidade de secreção da célula- β é dosar o peptídeo C sérico. Este é um peptídeo que conecta as cadeias A e B na pró-insulina e facilita seu processamento à insulina biologicamente ativa nos grânulos secretórios das ilhotas pancreáticas. Após a clivagem da pró-insulina, o peptídeo C intacto permanece armazenado com a insulina nesses grânulos e é subsequente-mente secretado com a insulina, em quantidades equimolares. Sendo assim, o peptídeo C pode ser considerado como um marcador independente da secreção de insulina (8). Entretanto, em algumas situações, a concentração sérica de peptídeo C não é proporcional às taxas de secreção de insulina. Um exemplo disso é a disfunção renal. Cerca de 85% do peptídeo C é metabolizado pelos rins, sendo o restante excretado intacto pela urina. Uma queda da função renal implica redução da metabolização do peptídeo C, com elevação de seus níveis séricos (9).

A dosagem de peptídeo C tem algumas vantagens em relação à determinação da insulina plasmática na

avaliação funcional da célula- β . Além de ter meia-vida mais longa (30 minutos), o que implica menor flutuação de níveis séricos, não sofre metabolização hepática significativa e possui *clearance* mais previsível. O teste para mensuração do peptídeo C apresenta baixa reatividade cruzada com a pró-insulina e seus intermediários (< 10%) e raramente sofre interferência de anticorpos anti-insulina. Por esses motivos, a dosagem de peptídeo C tem sido considerada como o método mais adequado, aceito e clinicamente validado para avaliação da função das células- β pancreáticas. Sua longa meia-vida, no entanto, dificulta a observação de mudanças na secreção de insulina em intervalos curtos. Nesse casos, a dosagem de insulina sob estímulo de glicose pode ser mais útil.

A dosagem de peptídeo C pode ser basal, randômica (em qualquer horário do dia) ou sob estímulo, com glucagon, refeição mista ou Sustacal® (suplemento nutricional comercializado contendo uma quantidade padronizada de nutrientes de aproximadamente 500 kcal, com 55% de carboidratos, 21% de gorduras e 24% de proteínas com 1 kcal por mL; 6 ml por kg de peso corporal até o máximo de 360 mL ingeridos em um período de, no máximo, 10 minutos). O teste com glucagon é feito por meio da dosagem plasmática de peptídeo C basal e 6 minutos após a administração de 1 mg (1UI) de glucagon endovenoso. Os testes com refeição mista e Sustacal® são mais prolongados, com coletas nos tempos 0, 30, 60, 90 e 120 minutos ou mais, após a ingestão oral da refeição ou do suplemento. Pacientes sem DM geralmente apresentam o pico de resposta entre 60 e 90 minutos, embora em pacientes com DM1 esse pico possa ser mais tardio e observado aos 120 minutos (6).

Apesar de haver boa correlação entre a dosagem basal e após o estímulo, a segunda é superior à primeira em detectar uma pequena função pancreática residual (6). Entretanto, um estudo demonstrou que a medida ocasional de peptídeo C (em qualquer horário do dia, sem estímulo e independentemente do horário da última refeição) é equivalente à dosagem sob estímulo (10). Em nossa população, a dosagem de peptídeo C após o estímulo tem mostrado vantagens claras em relação à dosagem basal (11). De modo geral, as medidas de peptídeo C após a refeição mista, Sustacal® ou glucagon apresentam boa correlação entre si (1). Nos dois primeiros, o estímulo à célula- β provoca a resposta pós-prandial típica, com interação entre diversos hormônios, sendo, dessa forma, mais fisiológico do que o teste com glucagon. Este, apesar de representar um es-

tímulo supra-fisiológico, pode ter algumas vantagens sobre os demais, como possibilitar um teste mais rápido (6 minutos *versus* 90 minutos ou mais), de simples padronização e com menor interferência por flutuações da glicemia (6). Pode provocar, por outro lado, alguns eventos adversos, como náuseas (por redução da motilidade gastrointestinal) e rubor, que geralmente são leves e transitórios. Outras formas de estímulo à célula- β têm sido sugeridas, como arginina, terbutalina e tolbutamida para avaliação, com papel ainda controverso. Na maioria das vezes, o peptídeo C é detectável se $\geq 0,5$ ng/mL (0,2 mmol/L) e considerado dentro da faixa de normalidade se entre 1,5 e 3,5 ng/mL (0,5 a 1,5 mmol/L). Além de valores absolutos, os resultados do teste podem ser interpretados como valor máximo após o estímulo, área sobre a curva, aumento após o estímulo ou soma dos valores obtidos na curva (6).

Para se evitarem resultados falso-negativos ou positivos na dosagem de peptídeo C são necessários alguns cuidados durante a coleta de sangue e seu processamento. Por ser o peptídeo C uma molécula pequena, linear e propensa à degradação por enzimas proteolíticas, é necessário que o sangue seja separado em um intervalo curto de tempo (não mais do que algumas horas) e o teste seja realizado dentro de um mês após a coleta. Da obtenção do soro até a dosagem propriamente dita, o material deve ser congelado ao menos a -20 °C. O armazenamento prolongado e os descongelamentos repetidos podem gerar resultados falsamente mais baixos. Alterações da glicemia também podem subestimar a capacidade de secreção. Tanto a hipoglicemia (< 70 mg/dL) aguda quanto a hiperglicemia crônica (provocando glicotoxicidade) podem inibir a secreção de insulina. Por outro lado, a hiperglicemia aguda (> 200 mg/dL) pode estimulá-la. Como uma única dosagem de peptídeo C pode não refletir a capacidade real de secreção de insulina, o ideal seria a repetição de teste para confirmação do seu resultado. Geralmente, o teste é feito em jejum e a dose matinal de insulina é atrasada até que o teste seja completo. Contudo, Clarson e cols. não encontraram problemas com a administração de insulina precedendo o teste (12).

FUNÇÃO DA CÉLULA- β PANCREÁTICA NO DM1

O DM1 cursa com destruição progressiva das células- β das ilhotas pancreáticas por células T auto-reativas. Na

fase pré-clínica, apenas anormalidades sutis da secreção de insulina são observadas. A alteração inicial geralmente é a perda da PFSI, seguida por hiperglicemia leve durante o teste de tolerância oral à glicose. Quando a destruição se torna mais acentuada (geralmente com perda de 80% a 90% da massa de células- β), anormalidades na glicemia se tornam mais evidentes, preenchendo os critérios para DM (1). Gottsater e cols. demonstraram que, em indivíduos normais sem DM, há um aumento da secreção endógena de insulina com a idade (13). É possível que uma incapacidade em aumentar essa produção com a idade seja ainda mais precoce do que as demais alterações identificadas.

O modelo clássico de destruição das células- β das ilhotas pancreáticas pressupõe que esse processo seja contínuo e progressivo, acompanhado de uma redução proporcional da secreção de insulina (14). Entretanto, nem sempre há uma correlação tão perfeita entre a massa de células- β pancreáticas e a capacidade de secreção de insulina. Tem sido sugerido que alguns pacientes com DM1 apresentem não só perda da massa de células- β , mas também alguma disfunção secretória nas células remanescentes, ao menos transitória (5). Estimar a massa de células- β com base na capacidade de secreção de insulina, nesta situação, poderia levar a erros de interpretação. Parte desta disfunção poderia ser causada pela hiperglicemia vista ao diagnóstico de DM1, com conseqüente glicotoxicidade. Com tratamento adequado e restauração da normoglicemia, a função destas células seria recuperada. De fato, uma melhora da secreção de insulina nos primeiros meses de evolução do DM1 foi observada por Snorgaard e cols. (15). Infelizmente, isso geralmente não é suficiente para permitir a cura da doença, mas pode permitir uma remissão clínica parcial transitória (16). Outras possibilidades para explicar essa melhora da função de célula- β seriam a resolução do processo inflamatório e a remissão do processo auto-imune. Recentemente, von Herath e cols. propuseram a hipótese de que o curso da destruição de células- β no DM1 não seja linear, e sim caracterizado por períodos de remissões e recidivas, da mesma forma que ocorre em outras doenças auto-imunes, como a esclerose múltipla. De acordo com essa teoria, a progressão da destruição de células- β ocorreria em ciclos ou “ondas”. O acesso limitado ao estudo de pâncreas humano na fase pré-clínica do DM1 dificulta o entendimento da natureza precisa dos eventos implicados em seu desenvolvimento. Nosso conhecimento atual desse processo se fundamenta, em grande parte,

em estudos com modelos animais, que apresentam características próprias e exposição a fatores ambientais diferentes de humanos (17).

Tradicionalmente, o DM1 é considerado como uma doença caracterizada por uma ausência completa de células- β e falência total da secreção de insulina. Entretanto, estudos clínicos e anatomopatológicos, especialmente das duas últimas décadas, têm chamado atenção para a existência de células pancreáticas residuais contendo insulina, assim como manutenção de alguma capacidade secretória em uma proporção significativa dos pacientes, tanto com doença recém-diagnosticada quanto de longa duração (18,19). Células positivas para insulina foram encontradas em pâncreas de 13 de 26 indivíduos com DM1 de duração variável (2 a 54 anos), incluindo todos com duração do DM < 11 anos e quase 40% daqueles com duração superior (18). Mais recentemente, Meier e cols. identificaram células- β em 88% dos pacientes com DM1 de duração entre 4 e 67 anos (19). Entretanto, o significado fisiológico desses achados ainda não é bem conhecido.

Diversos estudos clínicos têm avaliado a secreção pancreática em pacientes com DM1, em diferentes fases da doença. A maioria dos autores tem encontrado níveis detectáveis de peptídeo C ao diagnóstico em grande parte dos pacientes, especialmente naqueles diagnosticados após a puberdade (20). No *Diabetes Prevention Trial 1* (DPT 1), todos os pacientes com DM1 recém-diagnosticado apresentavam peptídeo C > 0,2 pmol/mL, mas a secreção de insulina em resposta a uma refeição mista era de 52% da observada em indivíduos sem DM. Com estímulo suprafisiológico, um déficit de secreção mais pronunciado foi evidenciado (com manutenção de cerca de 30% da resposta normal) (21). No *Diabetes Control and Complications Trial* (DCCT), em indivíduos com diagnóstico \leq 5 anos, o peptídeo C após o estímulo com refeição mista foi detectável (maior que 0,2 nmol/L) em 33% dos pacientes com < de 18 anos e 48% nos adultos (22). Em nossa casuística, resultados preliminares indicam que o peptídeo C é detectável (\geq 0,5 ng/mL) após o estímulo com glucagon em uma proporção ainda maior de pacientes com tempo de doença \leq 5 anos (68,2% dos casos) (11). Pozzan e cols. também encontraram uma proporção elevada de pacientes brasileiros com DM1 com peptídeo C detectável nos dois primeiros anos de doença (23). Alterações qualitativas, e não só quantitativas, da secreção de insulina também foram descritas em pacientes com DM1 recém-diagnosticados. Steele e cols. demonstraram

maior preservação da secreção de insulina basal, com alterações mais evidentes na secreção estimulada por glicose do que a outros secretagogos. Uma resposta máxima retardada à refeição mista também foi observada (21).

Algumas semanas após o diagnóstico e início do tratamento do DM1, freqüentemente há um período de remissão completa ou parcial da doença com aumento da secreção residual de insulina, conforme visto anteriormente. Nesta fase de “lua-de-mel”, há uma redução temporária da necessidade de insulina (< 0,5 unidades/kg de peso/dia) e melhora do controle glicêmico, que podem durar até 24 meses. Há evidências de que esse fenômeno ocorra em 42% a 56% das crianças com DM1 (24,25). Martin e cols. relataram maior probabilidade de desenvolver um período de “lua-de-mel” em pacientes com alguma secreção residual de insulina ao diagnóstico. Entretanto, surpreendentemente, não encontraram associação entre o início ou o término dessa fase com alterações na dosagem sérica de peptídeo C estimulado (26).

A perda progressiva da capacidade de secreção residual de insulina no DM1 geralmente se dá nos anos subseqüentes. Snorgaard e cols. demonstraram que o peptídeo C médio de jejum após o diagnóstico de DM1 era de 0,17 pmol/mL, aumentava subseqüentemente em 0,16 pmol/mL ao ano até o pico de 0,28 pmol/mL, para, então, declinar nas taxas de 0,08 (basal) e 0,03 (estimulado) pmol/mL ao ano, de modo homogêneo (15). Steele e cols. identificaram uma queda contínua mensal da secreção de insulina nos dois primeiros anos após o diagnóstico, com resposta aproximadamente 28% mais baixa do que ao diagnóstico (21).

A velocidade da queda da função pancreática no DM1 é variável e parece ser influenciada por alguns fatores, entre os quais a idade de diagnóstico. Indivíduos com diagnóstico de DM1 no início da infância apresentam menor período sintomático precedendo o diagnóstico, menor função residual de célula- β e progressão mais rápida à falência completa de células- β do que aqueles diagnosticados mais tardiamente (27-29). Algumas vezes, a destruição em adultos é tão lenta que possibilita um curso clínico mais brando, sem necessidade de insulina nos primeiros anos e denominado *Late Autoimmune Diabetes in Adults* (LADA). Sexo masculino, presença e altos títulos de ICA, cetoacidose grave ao diagnóstico e curta duração dos sintomas precedendo o diagnóstico também têm sido associados a uma perda mais rápida da secreção de peptídeo C, com

resultados ainda conflitantes (1). Infelizmente, atualmente ainda não há marcadores capazes de identificar indivíduos com progressão lenta ou rápida da perda da produção de insulina. Entretanto, o reconhecimento desses marcadores e o entendimento dos fatores capazes de modificar e prever a velocidade de queda da função de célula- β no DM1 são extremamente importantes, pois poderão permitir o desenvolvimento de estratégias imunológicas capazes de interromper esse processo.

Há evidências de que o controle intensivo da glicemia possa reduzir, ao menos temporariamente, a falência da secreção de insulina no DM1. Entretanto, é possível que a manutenção de alguma secreção residual facilite a obtenção do controle metabólico adequado, como abordaremos adiante (22). Os mecanismos pelos quais a insulinoterapia intensiva prolongaria a função de célula- β no DM1 são ainda desconhecidos. As hipóteses prováveis seriam uma redução da glicotoxicidade ou ainda uma ação direta na destruição auto-imune.

Uma função residual de célula- β também tem sido reconhecida em pacientes com DM1 de longa duração, especialmente naqueles diagnosticados com mais de 18 anos de idade. No DCCT, peptídeo C estimulado > 0,2 pmol/mL foi encontrado em 3% dos adolescentes e 8% dos adultos com duração do DM > 5 anos. Tanto o peptídeo C basal quanto o estimulado foram negativamente correlacionados com a duração da doença (22). Por outro lado, Steele e cols. identificaram peptídeo C detectável em todos pacientes avaliados 6 meses após o diagnóstico de DM1, mas, em cerca de metade destes, a secreção se tornou indetectável em dois anos. Em um estudo em andamento, nosso grupo encontrou, até o momento, peptídeo C detectável, após estímulo com glucagon, em 14,3% dos pacientes com DM1 de duração DM1 > 5 anos (11). Uma proporção surpreendentemente elevada (18%) de indivíduos com DM1 por mais de 50 anos e peptídeo C detectável foi mostrada recentemente por Keenan e cols. (30). Curiosamente, no estudo anatomopatológico de Meier e cols., o número de células- β encontrado em pacientes com DM1 não foi associado com duração da doença, mas, sim, com controle glicêmico, sendo tanto maior quanto menor a glicemia (19).

O motivo pelo qual algumas células- β são mantidas por anos após o diagnóstico de DM1 ainda não foi esclarecido. É possível que nem todas células sejam igualmente suscetíveis à destruição ou ainda que o processo lesivo seja atenuado com o tempo. O entendimento dos mecanismos dessa resistência podem ser úteis para

criar estratégias visando a prevenção primária ou secundária do DM1. Outra possibilidade para explicar essa persistência seria uma recuperação de células- β por replicação, o que parece pouco provável.

IMPORTÂNCIA DA CAPACIDADE DE SECREÇÃO RESIDUAL DE INSULINA NO CONTROLE METABÓLICO DE PACIENTES COM DM1

Alguns estudos clínicos mostram que, em pacientes com DM1, a persistência de alguma secreção residual de insulina é associada com melhor controle glicêmico (22,31-33). Entre estes, certamente merece destaque o DCCT, um longo estudo prospectivo desenvolvido para avaliar os benefícios do controle intensivo no DM1, em que todos os participantes foram submetidos à dosagem de peptídeo C após o estímulo. Embora a presença de peptídeo C $> 0,5$ nmol/L tenha sido adotada como critério de exclusão, este estudo permitiu avaliar importantes aspectos da associação entre a manutenção de alguma secreção pancreática e a evolução clínica do DM1. Em uma avaliação transversal inicial com os participantes do estudo, os pacientes foram divididos em grupos conforme os níveis de peptídeo C após o estímulo com refeição mista: 1) $\leq 0,05$; 2) $> 0,05-0,10$; 3) $> 0,10-0,20$; e 4) $> 0,20$ nmol/L. Pacientes na última categoria apresentaram glicemia de jejum e hemoglobina glicada (HbA1c) mais baixas do que os demais. Embora não tenham sido observadas diferenças nesses parâmetros entre pacientes com peptídeo C $> 0,10$ nmol/L e o restante, estes utilizavam doses de insulina significativamente mais baixas (34). O DCCT iniciou então uma avaliação longitudinal para investigar os possíveis benefícios da preservação de níveis detectáveis de peptídeo C em pacientes com DM1 de duração ≤ 5 anos à entrada do estudo. Entre os 1.441 participantes do estudo, 855 apresentavam DM por até 5 anos. Destes, 303 apresentavam peptídeo C entre 0,20 e 0,50 nmol/L após o estímulo (138 incluídos no grupo de tratamento intensivo e 165 no tratamento convencional) e 552 abaixo desse nível (274 no grupo de tratamento intensivo e 278 no convencional). Em primeiro lugar, essa análise demonstrou que o controle intensivo da glicemia reduziu de maneira significativa a perda de função da célula- β em relação ao tratamento convencional. Além disso, pacientes com peptídeo C $\geq 0,20$ nmol/L no grupo de tratamento intensivo apresentaram menor HbA1c inicialmente e

em quatro anos de *follow-up*. Ao contrário, no grupo em tratamento convencional, ao final de dois anos de seguimento, pacientes com peptídeo C $\geq 0,20$ nmol/L e os demais apresentavam níveis similares de HbA1c (22). Outros autores relataram ainda que a manutenção de alguma capacidade secretória também é associada à redução da necessidade de insulina e glicemias mais estáveis, com menor variabilidade (31-33,35).

Embora seja provável a associação entre a manutenção de alguma secreção de insulina e o bom controle metabólico em pacientes com DM1, é difícil estabelecer qual seria a relação causal definitiva entre estes. A insulinoterapia intensiva pode promover sobrevivência de células- β , reduzindo a demanda metabólica e a glicotoxicidade. A secreção residual de insulina, nesses pacientes, poderia ser uma consequência do bom controle metabólico e não sua causa. Entretanto, altas concentrações de glicose se mostraram capazes de lesar as células- β *in vitro* e *in vivo* (24). Dessa forma, se por um lado a manutenção de alguma secreção endógena de insulina parece facilitar o controle metabólico no DM1, a manutenção da glicemia em nível próximo à normalidade pode reduzir a perda de função de célula- β que ocorre ao longo do curso da doença.

A presença de uma capacidade residual de secreção de insulina também tem sido associada com uma redução de risco de hipoglicemia. No DCCT, pacientes com peptídeo C estimulado $> 0,20$ nmol/L por pelo menos um ano apresentaram redução da prevalência de hipoglicemia de 30%. Entre os pacientes em tratamento intensivo, o risco de hipoglicemias foi três vezes menor nos pacientes que mantiveram peptídeo C detectável do que nos demais. No grupo convencional, essa diferença não foi observada (22). É possível que a redução do risco de hipoglicemia seja associada ao aumento da resposta de hormônios contra-reguladores. Em pacientes submetidos ao transplante de ilhotas, com restauração parcial ou completa da massa de células- β , houve redução da frequência de hipoglicemias com aumento da resposta de adrenalina, da noradrenalina e do cortisol à hipoglicemia, mas não de glucagon (24).

IMPORTÂNCIA DA CAPACIDADE DE SECREÇÃO RESIDUAL DE INSULINA NO DESENVOLVIMENTO DE COMPLICAÇÕES CRÔNICAS DO DM1

Alguns estudos examinaram a relação entre peptídeo C e complicações crônicas no DM1. No DCCT, a pre-

sença de peptídeo C detectável foi associada com redução da incidência de retinopatia e nefropatia, tanto no grupo de tratamento intensivo quanto no convencional, mesmo após ajustes para os níveis de HbA1c. Pacientes com peptídeo C < 0,2 nmol/L apresentaram um risco 4,6 vezes maior de progressão da retinopatia e desenvolveram 4,4 vezes mais albuminúria do que os demais. Os efeitos foram mais pronunciados para pacientes com secreção mais elevada e sustentada (36). Sjöberg e cols. e Zerbini e cols. demonstraram que pacientes com DM1 e peptídeo C sérico baixo, porém detectável, têm menor risco de desenvolvimento de complicações crônicas nos olhos, rins e nervos do que aqueles com secreção ausente (37,38). Madsbad e cols. também pesquisaram o efeito da função da célula- β no desenvolvimento da retinopatia diabética em um estudo transversal com 533 pacientes com DM1. Os 153 pacientes com peptídeo C estimulado detectável apresentavam menor prevalência de retinopatia do que os demais. Entretanto, os pacientes com função residual apresentavam menor duração do DM e haviam sido diagnosticados em idade mais avançada. Quando pacientes com duração semelhante do DM foram comparados, não houve diferenças na prevalência de complicações crônicas entre pacientes com ou sem secreção residual de peptídeo C (39).

Alguns autores não encontraram associação entre a frequência de complicações crônicas e a função residual da célula- β . Klein e cols. estudaram a relação entre o nível sérico de peptídeo C e a gravidade da retinopatia diabética em pacientes com DM de diferentes tipos no Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy. No subgrupo de indivíduos jovens em insulino-terapia, com provável DM1, não foi identificada nenhuma associação entre níveis de peptídeo C e a frequência ou gravidade da retinopatia diabética (40). Winocour e cols., por outro lado, encontraram associação entre a presença de secreção residual de peptídeo C e a redução do risco de retinopatia diabética proliferativa no DM1, mas não de neuropatia periférica ou autonômica, hipertensão arterial, nefropatia ou coronariopatia (32). Outros estudos também não encontraram qualquer influência do peptídeo C estimulado na evolução da retinopatia, neuropatia e/ou da microalbuminúria no DM1, entretanto, incluíram um pequeno número de pacientes, com pouco tempo de acompanhamento e/ou poucas complicações crônicas (32,41,42). Dessa forma, até o momento, as principais informações acerca da importância da preservação de alguma secreção resi-

dual no desenvolvimento de complicações crônicas do DM1 foram obtidas a partir do DCCT.

Não é uma tarefa fácil avaliar a importância real da função pancreática residual no desenvolvimento das complicações crônicas do DM1. Como visto anteriormente, a manutenção de alguma secreção de insulina no DM1 pode facilitar a obtenção de controle metabólico satisfatório e já é amplamente reconhecida a importância da manutenção da glicemia em níveis próximos da normalidade para redução dos riscos de complicações crônicas. É difícil determinar se os benefícios da manutenção de alguma produção de insulina no risco de desenvolvimento de complicações crônicas se devem à secreção endógena propriamente dita ou apenas à melhora no controle metabólico. No DCCT, a redução de risco foi observada mesmo após ajustes para níveis de HbA1c. Além disso, estudos em pacientes com transplante de pâncreas ou ilhotas indicam reversão significativa das lesões estruturais da nefropatia diabética e da neuropatia diabética (43-45). É possível que não apenas a melhora do controle glicêmico atue nesse sentido, mas também a restauração da secreção endógena da célula- β .

O PEPTÍDEO C TEM VALOR FUNCIONAL OU É APENAS UM MARCADOR?

Como visto anteriormente, é provável que a existência de alguma secreção residual de peptídeo C seja associada com uma redução do risco de complicações crônicas do DM1. A mensuração do peptídeo C, nesses casos, é usada como forma de avaliação da secreção endógena de insulina. De fato, até recentemente, o peptídeo C era visto apenas como uma molécula inativa, com a função de conectar as duas cadeias da pró-insulina, sem qualquer papel direto na regulação do metabolismo. Novas evidências sugerem que o peptídeo C possa ter algum papel biológico, até mesmo em prevenir ou atenuar algumas das complicações vasculares ou neurais do DM.

Logo após a descoberta do peptídeo C, alguns estudos tentaram definir seu papel fisiológico, especialmente no metabolismo da glicose, sem sucesso (46). Foi então estabelecido que o peptídeo C não apresentava efeitos próprios e não tinha qualquer outro papel a não ser participar da biossíntese de insulina. O interesse nessa molécula foi então desviado para a possibilidade de seu uso como um marcador de função da célula- β

pancreática. Mais recentemente, esses conceitos têm sido revistos, a partir de novos achados obtidos a partir de estudos com modelos animais e humanos. Possivelmente, a incapacidade de demonstrar os efeitos do peptídeo C no passado se deve, ao menos em parte, à sua saturação de ligação, que ocorre em concentrações ainda fisiológicas. Como consequência, os efeitos mediados pelo peptídeo C são observados em concentração fisiológica ($0,5-1,5 \times 10^{-9}$ M) ou abaixo desta, enquanto concentrações suprafisiológicas podem induzir efeitos inespecíficos (47).

A sinalização do peptídeo C envolve ligação com um receptor específico, possivelmente ligado à proteína G, o que provoca ativação de vias de sinalização intracelulares cálcio-dependentes. Isso leva à fosforilação de isoformas específicas da PKC e à ativação do sistema MAP quinase, o que aumenta a atividade de Na^+ , K^+ -ATPase e óxido nítrico sintase endotelial. Esses receptores específicos foram identificados em células mesangiais e tubulares renais, fibroblastos da pele e células endoteliais da veia safena (47).

No DM, há diminuição da atividade de Na^+ , K^+ -ATPase, que é associada com distúrbios de condução nervosa, alterações da permeabilidade vascular e ao fluxo sanguíneo microvascular (48). Essas anormalidades também são associadas à hiperglicemia e participam do desenvolvimento de complicações crônicas do DM. É possível que o peptídeo C, restaurando a diminuição da atividade da Na^+ , K^+ -ATPase, reduza o risco de complicações crônicas do DM. Uma disfunção endotelial com diminuição da atividade da óxido nítrico sintase ou inativação do óxido nítrico também tem sido implicada no desenvolvimento da microangiopatia vascular associada ao DM (49). A ação do peptídeo C em aumentar a ação da óxido nítrico sintase também reduz o risco de complicações crônicas da doença.

Quando administrado em doses farmacológicas a ratos com DM, o peptídeo C se mostrou capaz de atenuar o aumento de fluxo sanguíneo induzido pelo DM na úvea anterior, na retina e no nervo ciático (47). O peptídeo C também diminuiu extravasamento de albumina por meio de vasos sanguíneos nesses tecidos e na aorta, levantando a possibilidade de que este possa prevenir o extravasamento de lipoproteínas aterogênicas em artérias humanas (47). Além disso, aumentou a velocidade de condução nervosa e reduziu alterações degenerativas associadas à neuropatia diabética (47,50,51). O peptídeo C também se mostrou um mitógeno funcional nas células tubulares renais, estimulando signifi-

cativamente a proliferação celular (52). Em alguns estudos, modelos animais com DM tratados com peptídeo C apresentaram redução de hiperfiltração glomerular e da albuminúria, melhora da função renal e reversão de algumas alterações morfológicas associadas à nefropatia diabética (47,53,54).

Alguns estudos também indicam que o peptídeo C e a insulina possam interagir sinergicamente nas vias de sinalização da insulina. Há evidências de que o peptídeo C possa atenuar a atividade da proteína tirosina fosfatase, uma enzima que influencia a sinalização de insulina por desfosforilação de seu receptor. O peptídeo C se mostrou capaz de simular os efeitos da insulina em mioblastos L6 e células de neuroblastoma humano, ativando tanto o receptor de insulina tirosina quinase quanto alguns passos da sinalização da insulina (55,56). Contudo, estudos em células musculares humanas indicam que o peptídeo C estimula o transporte de glucose sem envolvimento do receptor de insulina ou ativação de tirosina quinase ou PI3 quinase (57). Além disso, o peptídeo C aumenta a expressão de nuclear factor κB (NF- κB) e promove expressão de Bcl_2 em células de neuroblastoma. NF- κB contribui para a plasticidade de células nervosas, seu desenvolvimento e sua diferenciação, o que é compatível com efeitos benéficos do peptídeo C na estrutura e na função nervosa no DM (56).

Levando em consideração todas essas ações, foram iniciados em pacientes com DM1 estudos clínicos com administração de peptídeo C, em associação com insulina. Quanto ao controle glicêmico, de modo geral, nenhum destes relatou alteração significativa com a administração de peptídeo C (58-60). Os efeitos do peptídeo C na utilização de glicose observados em estudos *in vitro* e em modelos animais, provavelmente mediados pelo aumento da produção de óxido nítrico, parecem ser menos pronunciados em humanos e detectados apenas em estudos com administração de peptídeo C por curtos períodos, mas não em longo prazo (60).

Em um estudo duplo-cego randomizado, Johansson e cols. mostraram em pacientes jovens com DM1 e nefropatia incipiente que o uso de insulina + peptídeo C por quatro semanas reduziu a hiperfiltração glomerular em 6% e a albuminúria em 50%. O uso de insulina isolada não provocou modificações nesses parâmetros (58). O uso combinado de insulina e peptídeo C por três meses em pacientes com DM1 e nefropatia diabética também levou à queda progressiva e significativa na taxa de excreção de proteína em até 40% quando comparado ao grupo que recebeu apenas insulina (59).

Estudos com humanos também mostraram efeitos benéficos do peptídeo C em pacientes com DM1 e neuropatia. Em pacientes com DM1 e polineuropatia, Johansson e cols. mostraram melhora da função autonômica (por meio do aumento da variabilidade da frequência cardíaca durante respiração profunda) três horas após a infusão de peptídeo C, sem alterações na função nervosa sensitiva ou motora (61). O mesmo grupo avaliou a função autonômica em pacientes com DM1 após a administração de peptídeo C por três meses, combinado com insulina, observando melhora de 20% na variabilidade da frequência cardíaca durante respiração profunda e melhora da função nervosa sensorial (59). Ekberg e cols. demonstraram melhora significativa da velocidade de condução nervosa sensitiva e vibratória em 46 pacientes com DM1 sem sintomas de neuropatia tratados por três meses com peptídeo C (62).

Dados investigando um possível efeito do peptídeo C na retinopatia são menos conclusivos em comparação com nefro e neuropatia. No entanto, a administração de insulina + peptídeo C por um mês a pacientes com DM1 foi associada à diminuição de 30% no extravasamento de fluoresceína por meio da barreira hemato-retiniana em comparação com pacientes que receberam apenas insulina (60). Outros efeitos benéficos do peptídeo C na microcirculação de pacientes com DM1 também foram relatados, como redistribuição do fluxo sanguíneo na microcirculação da pele, aumento do fluxo sanguíneo miocárdico e função ventricular esquerda, melhora da capacidade de difusão capilar e estímulo da captação de oxigênio no musculoesquelético em pacientes com DM1 (63-65). Dessa forma, há evidências de que a substituição combinada de insulina e peptídeo C pode ter algum valor terapêutico no DM1, para prevenir o desenvolvimento ou retardar a progressão de complicações crônicas do DM1.

Além da insulina e do peptídeo C, as células- β pancreáticas produzem amilina, um peptídeo de ação central que modula a função gastrointestinal. De acordo com alguns estudos clínicos, o pramlintide, um análogo da amilina que age sinergicamente com a insulina, age melhorando o controle metabólico em pacientes com DM1 (66). Contudo, ainda existem muitas questões acerca do uso clínico de outros produtos da célula- β além da insulina (pramlintide ou peptídeo C). É importante definir a segurança a longo prazo desses agentes e a relação custo-benefício em incluir mais drogas no complexo tratamento do DM1.

ESTRATÉGIAS PARA PRESERVAÇÃO DA FUNÇÃO DE CÉLULA- β EM PACIENTES COM DM1

Algumas medidas vêm sendo tentadas visando a interromper a perda progressiva da capacidade de secreção de insulina no DM1. O principal objetivo dessas intervenções é a remissão completa da doença, o que até agora não foi alcançado. Entretanto, com a demonstração de possíveis benefícios em manter alguma secreção residual de insulina, mesmo insuficiente para curar o DM1, esse desfecho também tem sido considerado favorável. Inicialmente, acreditava-se que qualquer intervenção seria útil se aplicada apenas antes do diagnóstico de DM1. Esse conceito foi revisto com a demonstração de que mesmo após o diagnóstico é possível recuperar a função de células- β no DM1.

Algumas intervenções mostraram-se capazes de manter alguma capacidade de secreção de insulina significativa em pacientes com DM1 recém-diagnosticado, porém, em sua maioria, por tempo limitado. A insulino-terapia intensiva, por si só, é capaz de retardar a perda funcional. Entretanto, esse efeito parece perdurar por, no máximo, 6 anos após o diagnóstico (22). Imunossuppressores de amplo espectro, capazes de depletar ou inativar células T patogênicas, como ciclosporina, azatioprina, prednisona e globulina antitimócito, levaram à diminuição da necessidade de insulina e ao aumento da função de célula- β em pacientes com DM1 recém-diagnosticado. Entretanto, a magnitude e a duração dos benefícios foram limitados ao tempo de duração do tratamento. Dessa forma, os benefícios da imunossupressão não justificam seus riscos e efeitos colaterais (67). Estudos com globulina antitimócito e micofenolato mofetil estão em andamento em humanos e demonstraram resultados favoráveis em modelos animais.

O uso de agentes imunossuppressores em associação com transplante de ilhotas também vem sendo tentado. Com um esquema composto de anti-IL2, sirolimus e tacrolimus, Shapiro e cols. conseguiram interromper o uso de insulina na maioria dos pacientes com DM1 após o transplante de ilhotas. Entretanto, em grande parte destes, houve recidiva do DM, muitas vezes com desenvolvimento de auto-anticorpos. Apesar disso, houve redução da dose diária de insulina utilizada e, naqueles em que o transplante foi indicado por hipoglicemias graves, o problema foi resolvido na maior parte das vezes. Mais estudos com *follow-up* mais longo são

necessários para pesar os benefícios dessa terapia em relação aos seus riscos (68).

Anticorpos monoclonais dirigidos ao receptor de CD3 de célula T foram capazes de reverter a hiperglicemia em camundongos com DM de curta duração. Em humanos com DM1 recém-diagnosticado, essa intervenção possibilitou a manutenção da secreção de peptídeo C por um a dois anos com baixa toxicidade. Entretanto, uma perda progressiva da secreção de peptídeo C foi notada após 18 meses. É provável que a administração repetida desse anticorpo seja necessária e estudos avaliando essa medida estão em andamento. O efeito benéfico do anti-CD3 parece ser indução de células T regulatórias, as quais diminuem a ativação de células T auto-reativas (69,70).

Recentemente, Voltarelli e cols. demonstraram melhora da função de células- β e possibilidade da interrupção da insulino-terapia em 15 pacientes com DM1 recém-diagnosticado com transplante autólogo não-mieloablativo de células-tronco hematopoiéticas. Com um *follow-up* médio de 18 meses (7 a 36 meses), em 14 destes pacientes a insulina pôde ser interrompida e apenas um teve de retornar à insulino-terapia após um ano. A toxicidade foi tolerável com apenas um evento adverso grave (pneumonia bilateral) em um paciente (71).

Outras formas de intervenções também vêm sendo tentadas, como a indução de tolerância imunológica com auto-antígenos, como a descarboxilase do ácido glutâmico (GAD) e *heat shock protein 60* (HSP60). O GAD, um dos principais auto-antígenos das ilhotas pancreáticas no DM1, se mostrou capaz de aumentar os níveis séricos de peptídeo C em pacientes com LADA. *Heat shock protein 60* (HSP60) é um auto-antígeno inespecífico, expresso na membrana de diversos grânulos celulares, como as células- β pancreáticas. Uma forma humanizada do peptídeo p277 da HSP (Dia-Pep277®) tem sido testada em pacientes com DM1 recém-diagnosticado (67). Embora um estudo tenha mostrado preservação da secreção endógena de insulina com a droga por até 18 meses, outro estudo não mostrou benefícios (72,73). O valor de agonistas do receptor *glucagon-like peptide 1* (GLP-1), como a exendina 4, para este fim ainda não foi testado em humanos. Em modelos animais, se mostraram capazes de induzir expansão da massa de ilhotas pancreáticas após a pancreatectomia, por diminuição de apoptose e aumento da proliferação celular. Um estudo com camundongos NOD mostrou que exendina 4 em combinação com soro antilinfócito resultaram em remissão completa em

90% dos camundongos tratados. O mecanismo postulado seria a eliminação de células T auto-reativas, permitindo expansão e diferenciação de precursores de células- β (67).

CONCLUSÕES

Pacientes com DM1 podem apresentar alguma secreção residual de insulina por longos períodos. Os fatores implicados nesse fenômeno ainda não estão completamente esclarecidos. Há evidências de que a manutenção dessa função secretora possa trazer alguns benefícios, como redução do risco de complicações crônicas da doença, maior facilidade em atingir o controle metabólico adequado e menor frequência de hipoglicemias graves. O peptídeo C, antes considerado apenas um marcador da função da célula- β , pode ter atividade biológica e contribuir para esses efeitos. Entretanto, estudos prospectivos direcionados especificamente à avaliação da utilidade da preservação da secreção residual de insulina e/ou peptídeo C ainda são necessários.

REFERÊNCIAS

1. Sherry NA, Tsai EB, Palmer JP, Herold KC. Natural history of beta cell function in type 1 diabetes. *Diabetes*. 2005;54(Suppl 2):S32-9.
2. Service FJ, Rizza RA, Zimmerman BR, Dyck PJ, O'Brien PC, Melton LJ. 3rd. The classification of diabetes by clinical and C-peptide criteria. A prospective population based study. *Diabetes Care*. 1997;20(2):198-201.
3. Tsai EB, Sherry NA, Palmer JP, Herold KC. For the DPT-1 Study Group. The rise and fall of insulin secretion in type 1 diabetes mellitus. *Diabetologia*. 2006;49:261-70.
4. Robertson RP. Estimation of beta cell mass by metabolic tests: necessary, but how sufficient? *Diabetes*. 2007;2420-4.
5. Sreenan S, Pick AJ, Levisetti M, Baldwin AC, Pugh W, Polonsky KS. Increased beta-cell proliferation and reduced mass before diabetes onset in the nonobese diabetic mouse. *Diabetes*. 1999;48(5):989-96.
6. Vendrame F, Zappaterreno A, Dotta F. Markers of beta cell function in type 1 diabetes mellitus. *Minerva Med*. 2004;95(2):79-84.
7. Srikanta S, Ganda OP, Gleason RE, Jackson RA, Soeldner JS, Eisenbarth GS. Pre-type I diabetes. Linear loss of beta cell response to intravenous glucose. *Diabetes*. 1984;33(8):717-20.
8. Palmer JP, Fleming GA, Greenbaum CJ, Herold KC, Jansa LD, Kolb H, et al. C-peptide is the appropriate outcome measure for type 1 diabetes clinical trials to preserve beta-cell function: report of an ADA workshop, 21-22 October 2001. *Diabetes*. 2004;53:250-64.
9. Covic AM, Schelling JR, Constantiner M, Iyengar SK, Sedor JR. Serum C-peptide concentrations poorly phenotype type 2 diabetic end-stage renal disease patients. *Kidney Intern*. 2000;58(4):1742-50.

10. Berger B, Stenstrom G, Sundkvist G. Random C-peptide in the classification of diabetes. *Scand Journal of Clinical Lab Invest.* 2000;60(8):687-93.
11. Almeida MH, Dantas J, Barone B, Campos F, Kupfer R, Milech A, et al. Avaliação da função pancreática em pacientes com diabetes mellitus tipo 1 e duração variável da doença. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2007;51(S1):S485.
12. Clarson C, Daneman D, Drash AL, Becker DJ, Ehrlich RM. Residual beta-cell function in children with IDDM: reproducibility of testing and factors influencing insulin secretory reserve. *Diabetes Care.* 1987;10(1):33-8.
13. Gottsater A, Landin-Olsson M, Fernlund P, Gullberg B, Lernmark A, Sundkvist G. Pancreatic beta-cell function evaluated by intravenous glucose and glucagon stimulation: a comparison between insulin and C-peptide to measure insulin secretion. *Scand J Clin Lab Invest.* 1992;52:631-9.
14. Eisenbarth GS. Type I diabetes mellitus. A chronic autoimmune disease. *N Engl J Med.* 1986;314(21):1360-8.
15. Snorgaard O, Lassen LH, Binder C. Homogeneity in pattern of decline of beta-cell function in IDDM: prospective study of 204 consecutive cases followed for 7.4 yr. *Diabetes Care.* 1992;15:1009-13.
16. Abdoul-Rasoul M, Habib H, Al-Khouly M. 'The honeymoon phase' in children with type 1 diabetes mellitus: frequency, duration, and influential factors. *Pediatr Diabetes.* 2006;7(2):101-7.
17. von Herrath M, Sanda S, Herold K. Type 1 diabetes as a relapsing-remitting disease? *Nat Rev Immunol.* 2007 Nov 2; [Epub ahead of print].
18. Lohr M, Kloppel G. Residual insulin positivity and pancreatic atrophy in relation to duration of chronic type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus and microangiopathy. *Diabetologia.* 1987;30:757-62.
19. Meier JJ, Bhushan A, Butler AE, Rizza RA, Butler PC. Sustained beta cell apoptosis in patients with long-standing type 1 diabetes: indirect evidence for islet regeneration? *Diabetologia.* 2005;48(11):2221-8.
20. Palmer JP, Fleming A, Greenbaum CJ, Herold KC, Jansa LD, Kolb H, et al. C-peptide is the appropriate outcome measure for type 1 diabetes clinical trials to preserve beta-cell function: report of an ADA workshop, 21-22 October 2001. *Diabetes.* 2004;53(1):250-64.
21. Steele C, Hagopian WA, Gitelman S, Masharani U, Cavaghan M, Rother KI, et al. Insulin secretion in type 1 diabetes. *Diabetes.* 2004;53(2):426-33.
22. The diabetes control and complications trial research group: effect of intensive therapy on residual beta-cell function in patients with type 1 diabetes in the diabetes control and complications trial. A randomized, controlled trial. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. *Ann Intern Med.* 1998;128(7):517-23.
23. Pozzan R, Dimetz T, Gazzola HM, Gomes MB. The C-peptide response to a standard mixed meal in a group of Brazilian type 1 diabetic patients. *Braz J Med Biol Res.* 1997;30(10):1169-74.
24. Kolb H, Gale EA. Does partial preservation of residual beta-cell function justify immune intervention in recent onset type I diabetes? *Diabetologia.* 2001;44(10):1349-53.
25. Salardi S, Zucchini S, Cicognani A, Corbelli E, Santoni R, Ragni L, et al. The severity of clinical presentation of type 1 diabetes in children does not significantly influence the pattern of residual beta-cell function and long-term metabolic control. *Pediatr Diabetes.* 2003;4(1):4-9.
26. Martin S, Pawlowski B, Greulich B, Ziegler AG, Mandrup-Poulsen T, Mahon J. Natural course of remission in IDDM during 1st yr after diagnosis. *Diabetes Care.* 1992;15(1):66-74.
27. Rodacki M, Zajdenverg L, Tortora RP, et al. Characteristics of childhood and adult-onset type 1 diabetes in a multi-ethnic population. *Diab Res Clin Pract.* 2005;69:22-8.
28. Karjalainen J, Salmela P, Ilonen J, et al. A comparison of childhood and adult type 1 diabetes. *N Engl J Med.* 1989;320:881-6.
29. Sabbah E, Savola K, Ebeling T, Kulmala P, Vahasalo P, Ilonen J, et al. Genetic, autoimmune and clinical characteristics of childhood and adult-onset type 1 diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 2000;23(9):1326-32.
30. Keenan HA, Berger A, Sun JK, Eisenbarth G, Doria A, King GL. Demonstration of islet cell function in patients with 50 years or longer of diabetes. *Diabetes.* 2007;56(S1):A386.
31. Nakanishi K, Kobayashi T, Inoko H, Tsuji K, Murase T, Kosaka K. Residual beta-cell function and HLA-A24 in IDDM. Markers of glycemic control and subsequent development of diabetic retinopathy. *Diabetes.* 1995;44(11):1334-9.
32. Winocour PH, Jeacock J, Kalsi P, Gordon C, Anderson DC. The relevance of persistent C-peptide secretion in type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus to glycaemic control and diabetic complications. *Diabetes Res Clin Pract.* 1990;9(1):23-35.
33. Sjöberg S, Gunnarsson R, Gjötterberg M, Lefvert AK, Persson A, Ostman J. Residual insulin production, glycaemic control and prevalence of microvascular lesions and polyneuropathy in long-term type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia.* 1987;30(4):208-13.
34. The DCCT Research Group. Effects of age, duration and treatment of insulin-dependent diabetes mellitus on residual beta-cell function: observations during eligibility testing for the Diabetes Control and Complications Trial (DCCT). *J Clin Endocrinol Metab.* 1987;65(1):30-6.
35. Nakamura H, Takagi A, Tsuda A, Momotsu T, Ito S, Shibata A. Residual beta-cell function and metabolic stability in insulin-dependent diabetes mellitus. *Tohoku J Exp Med.* 1988; 155(1):71-80.
36. Steffes MW, Sibley S, Jackson M, Thomas W. Beta-cell function and the development of diabetes-related complications in the diabetes control and complications trial. *Diabetes Care.* 2003;26(3):832-6.
37. Sjöberg S, Gjötterberg M, Berglund L, Möller E, Östman J. Residual C-peptide excretion is associated with better long-term glycemic control and slower progress of retinopathy in type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *J Diabetes Complications.* 1991;5:18-22.
38. Zerbini G, Mangili R, Luzi L. Higher post-absorptive C-peptide levels in type 1 diabetic patients without renal complications. *Diabet Med.* 1999;16(12):1048.
39. Madsbad S, Lauritzen E, Faber OK, Binder C. The effect of residual beta-cell function on the development of diabetic retinopathy. *Diabet Med.* 1986;3(1):42-5.
40. Klein R, Moss SE, Klein BE, Davis MD, DeMets DL. Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy. XII. Relationship of C-peptide and diabetic retinopathy. *Diabetes.* 1990;39 (11): 1445-50.
41. Gomes MB, Goncalves MF, Neves R, Cohen C, Albanesi FM. Residual beta-cell function and microvascular complications in type 1 diabetic patients. *Braz J Med Biol Res.* 2000;33(2):211-6.
42. Sberna P, Valentini U, Cimino A, Sabatti MC, Rotondi A, Crisstig M, et al. Residual B-cell function in insulin-dependent (type I) diabetics with and without retinopathy. *Acta Diabetol Lat.* 1986;23(4):339-44.

43. Navarro X, Sutherland D, Kennedy WR. Long-term effects of pancreatic transplantation on diabetic neuropathy. *Ann Neurol.* 1997;42:727-36.
44. Pearce EA, Ilango B, Sells RA, et al. Stabilization of diabetic retinopathy following simultaneous pancreas and kidney transplant. *Br J Ophthalmol.* 2000;84:736-40.
45. Fioretto P, Steffes MW, Sutherland DE, et al. Reversal of lesions of diabetic nephropathy after pancreas transplantation. *N Engl J Med.* 1998;339:69-75.
46. Hoogwerf B, Bantle J, Gaenslen H, Greenberg B, Senske B, Francis R, et al. Infusion of synthetic human C-peptide does not affect plasma glucose, serum insulin, or plasma glucagon in healthy subjects. *Metabolism.* 1986;35:122-5.
47. Wahren J, Shafqat J, Johansson J, Chibalin A, Ekberg K, Jorvall H. Molecular and cellular effects of C-peptide: new perspectives on an old peptide. *Exp Diabetes Res.* 2004;5(1):15-23.
48. Vague P, Coste TC, Jannot MF, Raccah D, Tsimaratos M. C-peptide, Na⁺/K⁺-ATPase, and diabetes. *Exp Diabetes Res.* 2004;5(1):37-50.
49. Santilli F, Cipollone F, Mezzetti A, Chiarelli F. The role of nitric oxide in the development of diabetic angiopathy. *Horm Metab Res.* 2004;36(5):319-35.
50. Sima AA, Zhang W, Li ZG, Murakawa Y, Pierson CR. Molecular alterations underlie nodal and paranodal degeneration in type 1 diabetic neuropathy and are prevented by C-peptide. *Diabetes.* 2004;53(6):1556-63.
51. Ido Y, Vindigni A, Chang K, Stramm L, Chance R, Heath W, et al. Prevention of vascular and neural dysfunction in diabetic rats by C-peptide. *Science.* 1997;277:563-6.
52. Al-Rasheed N, Meakin F, Royal E, Lewington A, Brown J, Willars G, et al. Potent activation of multiple signalling pathways by C-peptide in opossum kidney proximal tubular cells. *Diabetologia.* 2004;47(6):987-97.
53. Rebsomen L, Pitel S, Boubred F, Buffat C, Feuerstein JM, Raccah D, et al. C-peptide replacement improves weight gain and renal function in diabetic rats. *Diabetes Metab.* 2006;32(3):223-8.
54. Huang D Y, Richter K, Breindenbach A, et al. Human C-peptide acutely lowers glomerular hyperfiltration and proteinuria in diabetic rats: a dose-response study. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2002;365:67-73.
55. Grunberger G, Qiang X, Li Z, Mathews S, Sbrissa D, Shisheva A, et al. Molecular basis for the insulinomimetic effects of C-peptide. *Diabetologia.* 2001;44:1247-57.
56. Li Z, Zhang W, Sima A. C-peptide enhances insulin-mediated cell growth and protection against high glucose-induced apoptosis in SH-SY5Y cells. *Diabetes Metab Res Rev.* 2003;375-85.
57. Zierath J, Handberg A, Tally M, Wallberg-Henriksson H. C-peptide stimulates glucose transport in isolated human skeletal muscle independent of insulin receptor and tyrosine kinase activation. *Diabetologia.* 1996;39:306-13.
58. Johansson B L, Kernell S, Sjöberg S, et al. Influence of combined C-peptide and insulin administration on renal function and metabolic control in diabetes type 1. *J Clin Endocrinol Metab.* 1993;77:976-81.
59. Johansson B L, Borg K, Fernqvist-Forbes E, Kernell A, Odergren T, Wahren J. Beneficial effects of C-peptide on incipient nephropathy and neuropathy in patients with type I diabetes: a three-month study. *Diabetic Med.* 2000;17:181-9.
60. Wahren J, Ekberg K, Johansson J, Henriksson M, Pramanik A, Johansson BL, et al. Role of C-peptide in human physiology. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2000;278(5):E759-68.
61. Johansson BL, Borg K, Fernqvist-Forbes E, et al. C-peptide improves autonomic nerve function in IDDM patients. *Diabetologia.* 1996;39:687-95.
62. Ekberg K, Brismar T, Johansson BL, Jonsson B, Lindström P, Wahren J. Amelioration of sensory nerve dysfunction by C-peptide in patients with type 1 diabetes. *Diabetes.* 2003;52:536-41.
63. Forst T, Kunt T, Pohlmann T, Hansen A, Johansson BL, Wahren J, et al. Biological activity of C-peptide on the skin microcirculation in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest.* 1998;101:2036-41.
64. Fernqvist-Forbes E, Johansson BL, Eriksson M. Effects of C-peptide on forearm blood flow and brachial artery dilatation in patients with type 1 diabetes. *Acta Physiol Scand.* 2001;172:159-65.
65. Hansen A, Johansson BL, Wahren J, Bibra von H. C-peptide exerts beneficial effects on myocardial blood flow and function in patients with type 1 diabetes. *Diabetes.* 2002;51:3077-82.
66. Singh-Franco D, Robles G, Gazze D. Pramlintide acetate injection for the treatment of type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Clin Ther.* 2007;29(4):535-62.
67. Cernea S, Herold K. Drug insight: new immunomodulatory therapies in type 1 diabetes. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab.* 2006;2(2):89-98.
68. Shapiro AM, Ricordi C, Hering BJ, Auchincloss H, Lindblad R, Robertson RP, et al. International trial of the Edmonton protocol for islet transplantation. *N Engl J Med.* 2006;355(13):1318-30.
69. Herold KC, Hagopian W, Auger JA, Poumian-Ruiz E, Taylor L, Donaldson D, et al. Anti-CD3 monoclonal antibody in new-onset type 1 diabetes mellitus. *N Engl J Med.* 2002;346:1692-98.
70. Herold KC, Gitelman SE, Masharani U, Hagopian W, Bisikirska B, Donaldson D, et al. A single course of anti-CD3 monoclonal antibody hOKT3gamma1(Ala-Ala) results in improvement in C-peptide responses and clinical parameters for at least 2 years after onset of type 1 diabetes. *Diabetes.* 2005;54(6):1763-9.
71. Voltarelli JC, Couri CE, Stracieri AB, Oliveira MC, Moraes DA, Pieroni F, et al. Autologous nonmyeloablative hematopoietic stem cell transplantation in newly diagnosed type 1 diabetes mellitus. *JAMA.* 2007;297(14):1568-76.
72. Lazar L, Ofan R, Weintrob N, Avron A, Tamir M, Elias D, et al. Heat-shock protein peptide DiaPep277 treatment in children with newly diagnosed type 1 diabetes: a randomised, double-blind phase II study. *Diabetes Metab Res Rev.* 2007;23(4):286-91.
73. Raz I, Avron A, Tamir M, Metzger M, Symer L, Eldor R, et al. Treatment of new-onset type 1 diabetes with peptide DiaPep277 is safe and associated with preserved beta-cell function: extension of a randomized, double-blind, phase II trial. *Diabetes Metab Res Rev.* 2007;23(4):292-8.

Endereço para correspondência:

Melanie Rodacki
 Rua Maria Angélica 46, apto. 402
 22470-200 Rio de Janeiro, RJ
 E-mail: mrodacki@hucff.ufrj.br