

Atualização / Update

Perspectivas da terapia com células-tronco para o diabetes mellitus tipo 2

Perspectives of stem cell therapy in type 2 diabetes mellitus

Angela M. O. Leal¹

Júlio César Voltarelli²

A patogênese do diabetes mellitus tipo 2 (DM2) está associada, basicamente, a dois mecanismos, resistência à ação da insulina e disfunção secretória das células β pancreáticas. Atualmente, há evidências experimentais, clínicas e epidemiológicas, da participação do sistema imune e de mediadores inflamatórios nesses mecanismos patogênicos. O interesse pelo tratamento regenerativo e pela utilização da terapia celular para o tratamento do DM2 deriva da importância da preservação da integridade funcional e quantitativa das células β pancreáticas. A utilização de células-tronco para obtenção de controle glicêmico em modelos experimentais de DM2 tem sido descrita já há alguns anos. Entretanto, em humanos, há poucos estudos publicados nesse sentido. Embora haja várias dificuldades a serem transpostas até que a terapia regenerativa do pâncreas para tratamento do DM2 seja uma opção viável, ela poderá vir a ser, no futuro, uma ferramenta importante para o controle metabólico da doença e redução de suas complicações crônicas. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2010;32(4):329-334.

Key words: Diabetes mellitus; terapia celular; células-tronco.

Aspectos fisiopatológicos do diabetes mellitus tipo 2

O diabetes mellitus tipo 2 (DM2), a forma mais prevalente de diabetes, presente em aproximadamente 90% dos casos da doença, está associada, basicamente, a dois mecanismos patogênicos – a resistência à ação da insulina e a disfunção secretória das células β pancreáticas.

A etiopatogênese e a fisiopatologia do DM2 são complexas e envolvem componentes genéticos e ambientais que se interrelacionam de maneira ainda pouco conhecida. Geneticamente, o DM2 apresenta formas monogênicas e poligênicas. As primeiras são raras, sofrem mínimas influências ambientais e têm caracterizados os genes envolvidos com resistência insulínica ou deficiência de secreção insulínica. Entretanto, a forma mais frequente de DM2 é poligênica e, embora potenciais *loci* para a suscetibilidade ao DM2 tenham sido identificados em diferentes populações, inúmeras

dificuldades metodológicas devem ser vencidas até que sua participação na gênese da doença seja conhecida.^{1,2}

Dentre os fatores ambientais determinantes do DM2, destaca-se a obesidade, particularmente, o acúmulo de gordura visceral, cujo comportamento metabólico difere da gordura subcutânea. O tecido adiposo modula o metabolismo pela liberação de ácidos graxos livres (AGL), glicerol, citocinas pró-inflamatórias, quimiocinas e hormônios, incluindo a leptina e a adiponectina. O aumento da maioria desses fatores compromete a ação da insulina nos órgãos-alvo, atuando principalmente na sua cascata de sinalização e levando a resistência insulínica.³

Entretanto, a maioria dos obesos e resistentes à insulina não desenvolve hiperglicemia, pois, normalmente, a célula β pancreática apresenta grande plasticidade e adapta-se à redução da sensibilidade à insulina, aumentando tanto a secreção de insulina como a massa de células β . Os mecanismos adaptativos das células β à resistência insulínica pare-

¹Endocrinologista. Professora Adjunta do Departamento de Medicina da Universidade Federal de São Carlos – São Carlos-SP.

²Imunologia Clínica. Professor Titular do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP – Ribeirão Preto-SP.

Universidade Federal de São Carlos (UFScar) e Universidade de São Paulo (USP)-SP.

Correspondência: Angela Leal

Rua Garibaldi, 1108/182

14010-170 – Ribeirão Preto-SP – Brasil

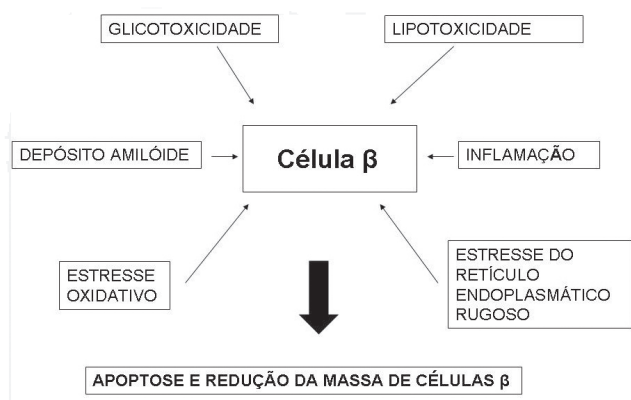
E-mail: angelaleal@ufscar.br

Doi: 10.1590/S1516-84842010005000088

cem envolver o aumento do metabolismo da glicose, a sinalização por ácidos graxos não esterificados, o aumento da sinalização pela insulina/IGF-1 (*insulin growth factor*) e a ação secretagoga e mitogênica da incretina GLP-1 (*glucagon-like peptide-1*).^{4,5}

Nos pacientes com DM2, a resistência insulínica associa-se à disfunção das células β pancreáticas que não apresentam essa resposta adaptativa. Portanto, as anormalidades adaptativas das células β à resistência insulínica são críticas para o desenvolvimento do DM2. As alterações das células β pancreáticas no DM2 são tanto funcionais quanto quantitativas. Assim, a massa de células β reduz-se a aproximadamente 50% do normal por aumento da apoptose e as células β perdem 75% da sua capacidade funcional.^{6,7}

Os fatores envolvidos na disfunção das células β não estão estabelecidos, mas elas deixam de responder aos estímulos secretagogos. Muitas vias de sinalização podem afetar o crescimento e a sobrevivências das células β. Alguns dos muitos mecanismos que podem estar envolvidos nessa disfunção são o estresse oxidativo, a disfunção mitocondrial, o estresse do retículo endoplasmático rugoso, inflamação local e deposição de material amiloide, associados à predisposição genética.⁸⁻¹¹ A hiperglicemia, decorrente desse processo, e o aumento da concentração dos ácidos graxos livres, acarretando glicolipotoxicidade, são fatores agravantes que aceleram o declínio das células β no DM2.¹²⁻¹⁴ (Figura).



Inflamação e diabetes mellitus tipo 2

Atualmente, já há inúmeras evidências experimentais, clínicas e epidemiológicas, da participação do sistema imune e de mediadores inflamatórios nos dois mecanismos básicos do DM2, resistência insulínica e falência da célula pancreática β, tendo como resultado final o desenvolvimento de DM2.¹⁵⁻²⁰

O aumento da liberação de TNF-α (*tumor necrosis factor*), IL-6 (*interleukin*), MCP-1 (*monocyte chemoattractant protein-1*) e de outros fatores solúveis secretados por macrófagos e por outras células residentes no tecido adiposo tem papel fundamental no desenvolvimento da

resistência insulínica.²¹ O TNF-α e a IL-6 estimulam as vias da quinase aminoterminal c-Jun (JNK) e quinase β de IκB (IKK-β)/fator nuclear κB (NF-κB), que resultam em aumento da produção de mediadores inflamatórios e resistência insulínica. A fosforilação de IκB por sua quinase IKK-β leva à degradação de IκB, liberando NF-κB para agir como fator de transcrição nuclear em diversos genes envolvidos na resposta inflamatória.²² As vias que envolvem a indução da supressão de proteínas sinalizadoras de citocinas (*suppressor of cytokine signaling*, SOCS) e indução da sintase do óxido nítrico (iNOS) podem estar envolvidas no mecanismo de resistência insulínica mediada por citocinas. A secreção dessas proteínas pró-inflamatórias, em especial o MCP-1 pelos adipócitos, células endoteliais e monócitos, aumenta o recrutamento de macrófagos que realimentam o processo.²³⁻²⁶ Embora por diferentes mecanismos, a maioria dos fatores inflamatórios age negativamente nas vias de sinalização da insulina, modificando os seus substratos intracelulares, principalmente a fosforilação da família proteica do substrato do receptor de insulina (IRS), com a ajuda de diferentes fatores de transcrição, dentre eles, a família do *peroxisome proliferator-activated receptor* (PPAR). Assim, as vias metabólicas, inflamatórias e da imunidade inata parecem interagir, levando à resistência insulínica de maneira complexa e ainda pouco clara, apesar dos inúmeros avanços nessa área na última década. O chamado estresse do retículo endoplasmático e a disfunção mitocondrial, causados, entre outros, por aumento de demanda metabólica, têm sido considerados importantes elos entre as vias metabólicas e inflamatórias envolvidas na resistência insulínica associada à obesidade e ao DM2.^{16,27,28}

Embora o reconhecimento da participação do sistema imune na disfunção e morte das células β no DM2 seja bem mais recente, dados clínicos e experimentais, *in vivo* e *in vitro*, indicam que no DM2, assim como no DM1, a inflamação na ilhota de Langerhans (insulite) é uma característica predominante.^{11,29} Em ilhotas de camundongos submetidos à dieta rica em gordura, foi observado número aumentado de macrófagos bem antes do início de hiperglicemia. Adicionalmente, fatores inflamatórios, incluindo IL-6, IL-8, quimiocina KC, G-CSF (*granulocyte colony-stimulating factor*) e MIP-1α (*macrophage inflammatory protein 1α*), são produzidos em ilhotas expostas a estresse metabólico (hiperglicemia e hiperlipemia) e em ilhotas isoladas de camundongos submetidos à dieta rica em gordura. Algumas evidências sugerem que o sistema imune local pode estar envolvido no mecanismo de apoptose das células β que acompanha os distúrbios metabólicos prévios e culmina no DM2. Dentre as citocinas envolvidas nesse processo, vale ressaltar a IL-1β, cuja produção local por células β sob estímulo com glicose foi demonstrada e cujo bloqueio sistêmico por injeção de antagonista recombinante do receptor de IL-1β em 70 pacientes com DM2 levou a aumento da secreção de insulina.³⁰⁻³² A hipótese defendida pelo grupo de pesquisadores que pro-

duziu a maioria desses resultados é que o estresse metabólico (hiperglicemia, dislipidemia e adipocinas) levaria à produção de IL-1 β pelas ilhotas, a qual controlaria a sua própria produção e a de outros mediadores inflamatórios e atrairia macrófagos, perpetuando o processo inflamatório. Este processo culminaria na falência secretória e morte das células β .³³ Adicionalmente, há mais de uma década foi demonstrado que a IL-1 β pode induzir a expressão de Fas, receptor de superfície celular envolvido na apoptose de células β .³⁴ Por outro lado, as ações da IL-1 β nas ilhotas dependem da dose, já que, em pequenas concentrações, pode ter um papel protetor sobre as células β .³⁵

Assim, percebe-se que, embora, há alguns anos, as diferenças fisiopatológicas entre DM1 e DM2 parecessem tão marcantes, atualmente já se consideram muitas semelhanças, implicando a possibilidade do emprego de abordagens terapêuticas (imunológicas e reparativas) similares nas duas doenças.^{12,15}

Terapia celular para diabetes mellitus tipo 2

Os estudos clínicos com utilização de terapia celular para tratamento do DM1 já estão em fase avançada e os resultados, até o momento, parecem promissores.^{36,37}

O interesse pelo tratamento regenerativo e pela utilização de terapia celular, mais especificamente, células-tronco (CT) pluri ou multipotentes, para o tratamento do DM2, deriva das evidências clínicas mencionadas acima e da importância da preservação da integridade funcional e quantitativa das células β pancreáticas cuja destruição está envolvida na patogênese do DM2. Adicionalmente, as dificuldades encontradas com a utilização de outros métodos de reposição de células β , tais como transplantes de ilhotas, de pâncreas e de linhagens celulares produtoras de insulina^{38,39} torna a possibilidade de utilização de CT muito atraente.

A utilização de CT, de diferentes fontes, para controle glicêmico em modelos experimentais de DM2 tem sido descrita já há alguns anos (Tabela 1). Assim, Soria e cols.⁴⁰ demonstraram que células secretoras de insulina derivadas de CT embrionárias indiferenciadas implantadas em baço de camundongos com diabetes induzido por estreptozotocina eram capazes de manter normoglicemia. Já Kojima e cols.⁴¹ detectaram células produtoras de insulina em tecidos

extrapancreáticos de ratos e camundongos hiperglicêmicos tratados com células-tronco adultas derivadas da medula óssea. Adicionalmente, Ende e cols.⁴² demonstraram diminuição da glicemia, maior sobrevida e atenuação de lesões renais em camundongos obesos com desenvolvimento espontâneo de DM2 tratados com células sanguíneas mononucleares derivadas de cordão umbilical humano. Recentemente, Abraham e cols. relataram aumento da tolerância à glicose e da concentração plasmática de adiponectina em camundongos obesos após transplante intraósseo de CT de medula óssea, associado à indução de heme oxigenase⁴³ e Chen e cols relataram melhora da sensibilidade à insulina, da função vascular e da função renal após infusão de células da medula óssea de camundongos não diabéticos em camundongos *db/db* diabéticos.⁴⁴

Diferentes estratégias de produção e origens de células-tronco como fontes de células produtoras de insulina estão sendo intensamente investigadas e podem vir a se tornar uma opção como terapêutica regenerativa para o DM2 no futuro. Dentre elas, estão a diferenciação a partir de CT embrionárias (ES),⁴⁵ CT pluripotentes reprogramadas com fatores de transcrição para um estado diferenciado conhecidas como iPS (*induced pluripotent stem cells*)⁴⁶ e CT mesenquimais da medula óssea.⁴⁷ Estes últimos autores relataram a indução de diferenciação *in vitro* de células mesenquimais de medula óssea em células produtoras de insulina, que foram transplantadas na mucosa duodenal e promoveram diminuição da glicemia em ratos tratados com streptozotocina.

Em seres humanos, há raros relatos de estudos que verificaram o efeito de tratamento com CT sobre o controle glicêmico no DM2 (Tabela 1). Dentre eles, Novoa e cols.⁴⁸ relataram, recentemente, menores concentrações glicêmicas e necessidade de menores doses de insulina, em 126 pacientes diabéticos com doença arterial periférica grave, tratados com infusão autóloga de células mononucleares (CMN) da medula óssea no músculo gastrocnêmio. Já Estrada e cols.⁴⁹ submeteram portadores de DM2 à combinação de infusão intrapancreática de CMN autólogas derivadas da medula óssea e oxigenioterapia hiperbárica e, após acompanhamento de um ano, observaram redução significativa da glicemia de jejum, da hemoglobina glicosilada e das doses diárias de insulina e hipoglicemiantes orais, assim como aumento das concentrações plasmáticas de peptídeo-C. Em trabalho recente, Viña e cols.⁵⁰ relataram o efeito benéfico da

infusão local, por via intra-arterial, de CMN da medula óssea em 58 pacientes diabéticos tipo 2, persistindo durante 36 meses de seguimento. Embora os autores desses relatos sugiram efeitos benéficos da terapia com CT sobre a angiogênese, mecanisticamente, o mecanismo de ação envolvido ainda não foi abordado, principalmente pelas dificuldades metodológicas de estudos

Tabela 1. Estudos experimentais e clínicos com emprego de terapia celular no DM2

Fonte celular	Tipo de estudo	1º Autor, Ano (Referência)
CT embrionárias	Experimental (camundongos)	Soria, 2000 (40)
Medula óssea	Experimental (ratos/camundongos)	Kojima, 2004 (41)
Cordão umbilical humano	Experimental (camundongos)	Ende, 2004 (42)
Medula óssea	Experimental (camundongos)	Abraham, 2008 (43)
Medula óssea	Experimental (camundongos)	Chen, 2009 (44)
Medula óssea	Experimental (ratos)	Zhang, 2009 (47)
Medula óssea	Clínico	Viña, 2008 (50)
Medula óssea	Clínico	Estrada, 2008 (49)
Medula óssea	Clínico	Novoa, 2009 (48)

em humanos. Entretanto, em análise de autópsias, Butler e cols.⁵¹ avaliaram o pâncreas de 31 indivíduos, dos quais dois diabéticos tipo 2, submetidos a transplante de CT hematopoéticas ao longo da vida e não observaram a presença de células β derivadas das células hematopoéticas dos doadores, concluindo ser pouco provável que estas células possam se transdiferenciar em células β .

Obstáculos à terapia celular para o diabetes mellitus tipo 2

Existem várias dificuldades a serem transpostas até que a terapia regenerativa do pâncreas com CT para tratamento do DM2 seja uma opção viável. O primeiro desafio talvez seja compreender os mecanismos que regulam a secreção de insulina estimulada pela glicose e aqueles que promovem a adaptação das células β às constantes variações metabólicas.⁵² Adicionalmente, apenas recentemente, tem avançado o nosso conhecimento sobre os mecanismos de diferenciação, proliferação, regeneração e plasticidade das células β .⁵³⁻⁵⁸ Não é conhecido se, no homem, há uma população de células progenitoras (ductais, acinares e extrapancreáticas) que dariam origem a novas células β (neogênese) ou se elas seriam autorrenováveis. Do mesmo modo, conhecem-se pouco os mediadores envolvidos nos processos de diferenciação de e/ou transdiferenciação para células β , embora os fatores de transcrição, presentes no período embrionário, Pdx1 (*pancreas-duodenal homeobox 1*) e neurogenin-3 estejam sendo intensamente investigados.⁵⁹ Embora já pareça claro que integridade numérica da massa de células β não significa integridade funcional,⁶⁰ até o momento não há métodos não invasivos para quantificação das células β em humanos. Os poucos dados disponíveis provêm de estudos experimentais e evidências indiretas, portanto limitadas e imprecisas.⁶¹ Entretanto, muitos marcadores de células β vêm sendo testados nos últimos anos⁶² e há descrição de métodos não invasivos potencialmente úteis no futuro. Dentre eles, a utilização de VMAT2 (*vesicular monoamine transporter type 2*), expresso em grande quantidade em células β humanas, associado a radioligante, ¹¹C-*dihydrotrabenazine*, e detectado por PET (*positron emission tomography*), como biomarcador da massa de células β .⁶³ Adicionalmente, a aplicação de ressonância magnética tem sido investigada, principalmente, no acompanhamento pós-transplante de ilhotas previamente marcadas com nanopartículas.^{64,65}

Por que novas estratégias para o tratamento do diabetes mellitus tipo 2?

O tratamento do DM2 requer múltiplos profissionais e envolve dieta, exercício físico, diversas drogas orais e, frequentemente, múltiplas injeções diárias de insulina. A aderência à terapêutica costuma ser baixa e mais de 70% dos pacientes apresenta mau controle metabólico.⁶⁶⁻⁷⁰ A elevada

frequência de complicações crônicas associa-se ao estado de mau controle metabólico do DM2, estando já bem estabelecido que a hiperglicemia é um dos principais fatores responsáveis pelo desencadeamento das complicações diabéticas crônicas.⁷¹ Elas decorrem de alterações micro e macrovasculares que levam à disfunção, dano ou falência de vários órgãos e incluem a nefropatia, com elevada taxa de evolução para insuficiência renal, a retinopatia, principal causa de cegueira adquirida, a neuropatia, principal causa não traumática de amputação de membros inferiores, e manifestações de disfunção do sistema nervoso autônomo, incluindo disfunção sexual.⁷²⁻⁷⁵ Adicionalmente, a associação entre DM e doenças cardiovasculares, que englobam isquemia miocárdica, obstrução arterial periférica e doença vascular cerebral, está bem estabelecida. O DM2 aumenta o risco de doença cardiovascular de duas a quatro vezes, sendo essa a principal causa de mortalidade em diabéticos.^{76,77} Tudo isso acarreta elevados custos, diretos e indiretos, para os indivíduos portadores de DM, para o sistema público de saúde e para a sociedade.

Portanto, o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas para o DM2 é fundamental. Mostrando-se segura e efetiva, a terapia regenerativa do pâncreas no DM2 poderá vir a ser uma ferramenta importante para o controle metabólico da doença e redução das complicações crônicas.

No momento, estamos iniciando um projeto experimental testando o uso sistêmico de CT mesenquimais em DM2 para dar suporte a um futuro estudo clínico.

Abstract

Type 2 diabetes mellitus (DM2) is associated with insulin resistance and secretory dysfunction of the β -cells. There is now experimental, epidemiological and clinical evidence suggesting that the immune system and inflammatory mediators are involved in the pathogenesis of DM2. The interest in regenerative therapeutics and cellular therapy for DM2 is motivated by the importance of preserving β -cell mass and function. Cellular therapy with stem cells for glycemic control has been tested in experimental models for some years however, there are only a few published studies using this approach in humans. Although there are many obstacles to overcome before regenerative therapy becomes a real option to treat DM2, it may be an important strategy to attain metabolic control and prevent chronic complications in the future. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2010;32(4):329-334.

Key words: Diabetes mellitus; cell therapy; stem cell.

Referências Bibliográficas

- Almind K, Doria A, Khan CR. Putting the genes for type II diabetes on the map. *Nat Med.* 2001;7(3):277-9.
- Cox NJ. Challenges in identifying genetic variation affecting susceptibility in type 2 diabetes: examples from studies of the calpain-10 gene. *Hum Mol Genet.* 2001;10(20):2301-5.

3. Kahn SE, Hull RL, Utzschneider KM. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature*. 2006;444(7121):840-6
4. Drucker DJ. The biology of incretin hormones. *Cell Metab*. 2006;3:153-65.
5. Bernal-Mizrachi E, Wen W, Stahlhut S, Welling CM, Permutt MA. Islet beta cell expression of constitutively active Akt1/PKB alpha induces striking hypertrophy, hyperplasia, and hyperinsulinemia. *J Clin Invest*. 2001;108(11):1631-8.
6. Butler AE, Janson J, Bonner-Weir S, Ritzel R, Rizza RA, Butler PC. Beta-cell deficit and increased beta-cell apoptosis in humans with type 2 diabetes. *Diabetes*. 2003;52(1):102-10.
7. Røder ME, Porte D Jr, Schwartz RS, Kahn SE. Disproportionately elevated proinsulin levels reflect the degree of impaired β cell secretory capacity in patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83(2):604-8.
8. Muoio DM, Newgard CB. Mechanisms of disease: molecular and metabolic mechanisms of insulin resistance and beta-cell failure in type 2 diabetes. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2008;9(3):193-205.
9. Gloyn AL, Tribble ND, van de Bunt M, Barrett A, Johnson PR. Glucokinase (GCK) and other susceptibility genes for beta-cell dysfunction: the candidate approach. *Biochem Soc Trans*. 2008;36(pt 3):306-11.
10. Lenzen S. Oxidative stress: the vulnerable beta-cell. *Biochem Soc Trans*. 2008;36(Pt 3):343-7.
11. Donath MY, Schumann DM, Faulenbach M, Ellingsgaard H, Perren A, Ehses JA. Islet inflammation in type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2008;31(Suppl 2):S161-S164.
12. Cnop M, Welsh N, Jonas J, Jorns A, Lenzen S, Eizirik DL. Mechanisms of pancreatic beta-cell death in type 1 and type 2 diabetes. *Diabetes*. 2008;54 (Suppl 2):S97-S107.
13. Poyttou V, Robertson RP. Glucolipotoxicity: fuel excess and beta-cell dysfunction. *Endocr Rev*. 2008;29(3):351-66.
14. Rhodes CJ. Type 2 diabetes - a matter of beta-cell life and death? *Science*. 2005;307(5708):380-4.
15. Kolb H, Mandrup-Poulsen T. An immune origin of type 2 diabetes? *Diabetologia*. 2005;48(6):1038-50.
16. Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature* 2006;444(7121):860-7.
17. Donath MY, Storling J, Berchtold LA, Billestrup N, Mandrup-Poulsen T. Cytokines and beta-cell biology: from concept to clinical translation. *Endocr Rev*. 2008;29(3):334-50.
18. Herder C, Haastert B, Müller-Scholz S, Koenig W, Thorand B, Holle R, et al. Association of systemic chemokine concentrations with impaired glucose tolerance and type 2 diabetes. *Diabetes* 2005;54 (Suppl 12):S11-S17.
19. Thorand B, Kolb H, Baumert J, Koenig W, Chambless L, Meisinger C, et al. Elevated levels of interleukin-18 predict the development of type 2 diabetes: results from the MONICA/KORA Augsburg Study, 1984-2002. *Diabetes*.2005;54(10):2932-8.
20. Pickup JC. Inflammation and activated innate immunity in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2004; 27 (3):813-23.
21. Guilherme A, Virbasius JV, Puri V, Czech MP. Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2008;9(5):367-77.
22. Karin M, Delhase M. The I kappa B kinase (IKK) and NF-kappa B: key elements of proinflammatory signalling. *Semin Immunol*. 2000;12(1):85-98.
23. Wellen KE, Hotamisligil GS. Inflammation, stress, and diabetes. *J Clin Invest*. 2005;115(5):1111-9.
24. Mooney RA, Senn J, Camerons S, Inamdar N, Boivin LM, Shang Y, et al. Suppressors of cytokine signaling-1 and -6 associate with and inhibit the insulin receptor. A potential mechanism for cytokine-mediated insulin resistance. *Biol Chem*. 2001;276 (28):25889-93.
25. Perreault M, Marette A. Targeted disruption of inducible nitric oxide synthase protects against obesity-linked insulin resistance in muscle. *Nat Med*. 2001;7(10):1138-43.
26. Arkan MC, Hevener AL, Greten FR, Maeda S, Li Z, Long JM, et al. IKK-beta links inflammation to obesity-induced insulin resistance. *Nat Med*. 2005;11(2):191-8.
27. Taniguchi CM, Emanuelli B, Kahn CR. Critical nodes in signaling pathways: insights into insulin action. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2006;7(2):85-96.
28. Schenk S, Saberi M, Olefsky. Insulin sensitivity: modulation by nutrients and inflammation. *J Clin Invest* 2008; 118(9):2992-3002.
29. Ehses JA, Perren A, Eppler E, Ribaux P, Pospisilik JA, Maor-Cahn R, et al. Increased number of islet-associated macrophages in type 2 diabetes. *Diabetes* 2007;56(9):2356-70.
30. Maedler K, Sergeev P, Ris F, Oberholzer J, Joller-Jemelka HI, Spinass GA, et al. Glucose-induced beta cell production of IL-1beta contributes to glucotoxicity in human pancreatic islets. *J Clin Invest* 2002;110(6):851-60.
31. Larsen CM, Faulenbach M, Vaag A, Volund A, Ehses JA, Seifert B et al. Interleukin-1-receptor antagonist in type 2 diabetes mellitus. *N Engl J Med* 2007;356(15):1517-26.
32. Böni-Schnetzler M, Thorne J, Parnaud G, Marselli L, Ehses JA, Kerr-Conte J, et al. Increased interleukin (IL)-1 beta messenger ribonucleic acid expression in beta-cells of individuals with type 2 diabetes and regulation of IL-1 beta in human islets by glucose and autostimulation. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93(10):4065-74.
33. Ehses JA, Böni-Schnetzler M, Faulenbach M, Donath MY. Macrophages, cytokines and beta-cell death in type 2 diabetes. *Biochem Soc Trans*. 2008;36(Pt 3):340-2.
34. Loweth AC, Williams GT, James RF, Scarpello JH, Morgan NG. Human islets of Langerhans express Fas ligand and undergo apoptosis in response to interleukin-1 beta and Fas ligation. *Diabetes*. 1998;47(5):727-32.
35. Maedler K. Beta cells in type 2 diabetes - a crucial contribution to pathogenesis. *Diabetes Obes Metab*. 2008;10(5):408-20.
36. 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.
37. Couri CE, Oliveira MC, Stracieri AB, Moraes DA, Pieroni F, Barros GM, et al. C-peptide levels and insulin independence following autologous nonmyeloablative hematopoietic stem cell transplantation in newly diagnosed type 1 diabetes mellitus. *JAMA*. 2009;301(15):1573-9.
38. Lanza RP, Chick WL. Transplantation of pancreatic islets. *Ann N Y Acad Sci*. 1997;831:323-31.
39. Roche E, Assimacopoulos-Jeannot F, Witters LA, Perruchoud B, Yaney G, Corkey B, et al. Induction by glucose of genes coding for glycolytic enzymes in a pancreatic beta-cell line (INS-1). *J Biol Chem*. 1997;272(5):3091-3098.
40. Soria B, Roche E, Berná G, León-Quinto T, Reig JA, Martín F. Insulin-secreting cells derived from embryonic stem cells normalize glycemia in streptozotocin-induced diabetic mice. *Diabetes*. 2000; 49(2):157-62.
41. Kojima H, Fujimiya M, Matsumura K, Nakahara T, Hara M, Chan L. Extrapancreatic insulin-producing cells in multiple organs in diabetes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101(8):2458-63.

42. Ende N, Chen R, Reddi AS. Transplantation of human umbilical cord blood cells improves glycemia and glomerular hypertrophy in type 2 diabetic mice. *Biochem Biophys Res Comm.* 2004; 321(1):168-71.
43. Abraham NG, Li M, Vanella L, Peterson SJ, Ikehara S, Asprinio D. Bone marrow stem cell transplant into intra-bone cavity prevents type 2 diabetes: role of heme oxygenase-1 and adiponectin. *J Autoimm.* 2008;30(3):128-35.
44. Chen J, Li H, Addabbo F, Zhang F, Pelger E, Patschan D, et al. Adoptive transfer of syngeneic bone marrow-derived cells in mice with obesity-induced diabetes: selenoorganic antioxidant ebselen restores stem cell competence. *Am J Pathol.* 2009;174(2):701-11.
45. Guo T, Hebrok M. Stem cells to pancreatic beta-cells: new sources for diabetes cell therapy. *Endoc Rev.* 2009;30(3):214-27.
46. Maehr R, Chen S, Snitow M, Ludwig T, Yagasaki L, Goland R, Leibel RL, Melton DA. Generation of pluripotent stem cells from patients with type 1 diabetes. *Proc Nat Acad Sci.* 2009; doi: 10.1073.
47. Zhang YH, Wang HF, Liu W, Wei B, Bing LJ, Gao YM. Insulin-producing cells derived from rat bone marrow and their autologous transplantation in the duodenal wall for treating diabetes. *Anat Rec.* 2009;292(5):727-35.
48. Novoa JE, Medina MA, Gordillo F, Perez-Chaves F, Soto-Valdez M, et al. Diabetes mellitus and autologous bone marrow derived progenitor cell transplant (A-BMDPCT): Cooperative international, Uruguay-Mexico. *Ther Apher Dial.* 2009;13:A4.
49. Estrada EJ, Valacchi F, Nicora E, Brieva S, Esteve C, Echevarria L, et al. Combined treatment of intrapancreatic autologous bone marrow stem cells and hyperbaric oxygen in type 2 diabetes mellitus. *Cell Transplant.* 2008;17(12):1295-304.
50. Viña RF, Camozzi L, Andrin O, Vrsalovic F, Saslavsky M, Saslavsky J, et al. First report from Argentina of first three years follow up of autologous stem cells implant in diabetes type 2. *Cytotherapy* 2009;11:8-9.
51. Butler AE, Huang A, Rao PN, Hogan WJ, Rizza RA, Butler PC. Hematopoietic stem cells derived from adult donors are not a source of pancreatic beta-cells in adult nondiabetic humans. *Diabetes* 2007;56(7):1810-6.
52. Andrali SS, Sampley ML, Vanderford NL, Ozcan S. Glucose regulation of insulin gene expression in pancreatic beta-cells. *Biochem J.* 2008;415(1):1-10.
53. Bernardo AS, Docherty K. Stem cells and metabolic diseases. *Biochem Soc Trans.* 2008;36(Pt 3):363-5.
54. Dor Y. beta-cell proliferation is the major source of new pancreatic beta cells. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab.* 2006;2(5):242-3.
55. Halban PA. Cell therapy for type 2 diabetes: is it desirable and can we get it? *Diabetes Obes Metab.* 2008;10 Suppl 4:205-11.
56. Edlund H. Factors controlling pancreatic cell differentiation and function. *Diabetologia.* 2001;44:1071-9.
57. Bonal C, Avril I, Herrera PL. Experimental models of beta-cells regeneration. *Biochem Soc Trans* 2008;36 (Pt 3):286-9.
58. Hanley NA, Hanley KP, Miettinen PJ, Otonkoski T. Weighing up beta-cell mass in mice and humans: self-renewal, progenitors or stem cells? *Mol Cel Endocrinol.* 2008;288(1-2):79-85.
59. Xu X, D'Hoker J, Stangé G, Bonné S, De Leu N, Xiao X et al. Beta cells can be generated from endogenous progenitors in injured adult mouse pancreas. *Cell.* 2008;132(2):197-207.
60. Kargar C, Ktorza A. Anatomical versus functional beta-cell mass in experimental diabetes. *Diabetes Obes Metab.* 2008;10(Suppl 4):43-53.
61. Kahn SE, Carr DB, Faulenbach MV, Utzschneider KM. An examination of beta-cell function measures and their potential use for estimating beta-cell mass. *Diabetes Obes Metab.* 2008;10(Suppl 4):63-76.
62. Schneider S. Efforts to develop methods for in vivo evaluation of the native beta-cell mass. *Diabetes Obes Metab.* 2008;10(Suppl 4):109-118.
63. Freeby M, Goland R, Ichise M, Maffei A, Leibel R, Harris P. VMAT2 quantitation by PET as a biomarker for beta-cell mass in health and disease. *Diabetes Obes Metab.* 2008;10(Suppl 4):98-108.
64. Paty BW, Bonner-Weir S, Laughlin MR, McEwan AJ, Shapiro AM. Toward development of imaging modalities for islets after transplantation: insights from the National Institutes of Health Workshop on Beta Cell Imaging. *Transplantation.* 2004; 77(8): 1133-7.
65. Kris J, Jiráč D, Girman P, Berková Z, Zacharovova K, Honsova E, et al. Magnetic resonance imaging of pancreatic islets in tolerance and rejection. *Transplantation.* 2005;80(11):1596-603.
66. Stumvoll M, Goldstein BJ, van Haeften TW. Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. *Lancet.* 2005; 365 (9467):1333-46.
67. Assunção MCF, Santos IS, Valle NCJ. Controle glicêmico em pacientes diabéticos atendidos em centros de atenção primária à saúde. *Revista de Saúde Pública.* 2005;39:183-90.
68. Chaturvedi N. The burden of diabetes and its complications: trends and implications for intervention. *Diabetes Research and Clinical Practice.* 2007;76 Suppl 1:S3-12.
69. Bosi PL, Carvalho AM, Contrera D, Casale G, Pereira MA, Groner MF, et al. Prevalência de Diabetes Mellitus e Tolerância à Glicose Diminuída na População Urbana de 30 a 79 anos da Cidade de São Carlos (São Paulo). *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2009;53:726-32.
70. Jardim ADI, Leal AMO. Qualidade da informação sobre diabéticos e hipertensos registrada no Sistema HIPERDIA, na Cidade de São Carlos, São Paulo, 2002-2005. *Physis: Revista de Saúde Coletiva.* 2009;19:405-17.
71. UK Prospective Diabetes Study Group. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes. *Lancet.* 1998;352(9131):837-53.
72. American Diabetes Association: Nephropathy in diabetes (Position Statement). *Diabetes Care.* 2004;27 (Suppl. 1):S79-S83.
73. American Diabetes Association: Retinopathy in diabetes (Position Statement). *Diabetes Care.* 2004;27 (Suppl. 1):S84-S87.
74. Tesfaye S, Stevens LK, Stephenson JM, Fuller JH, Plater M, Ionescu-Tirgoviste C, et al. Prevalence of diabetic peripheral neuropathy and its relation to glycaemic control and potential risk factors: the EURODIAB IDDM Complications Study. *Diabetologia.* 1996; 39(11):1377-84.
75. Boulton AJ, Vileikyte L, Ragnarson-Tennvall G, Apelqvist J. The global burden of diabetic foot disease. *Lancet* 2005;366(9498): 1719-24.
76. Grundy SM, Benjamin EJ, Burke GL, Chait A, Eckel RH, Howard B, et al. Diabetes and cardiovascular disease: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association. *Circulation* 1999;100(10):1134-46.
77. Haffner SM. Coronary heart disease in patients with diabetes. *N Engl J Med.* 2000;342:1040-42.

Avaliação: Editor e dois revisores externos
 Conflito de interesse: sem conflito de interesse

Recebido: 10/09/2009
 Aceito após modificações: 24/12/2009