

## EVALUATION OF BETA CELL FUNCTION IN NEWLY DIAGNOSED TYPE 2 DIABETES MELLITUS IN CLINICAL PRACTICE

### ISPITIVANJE BETA ĆELIJSKE FUNKCIJE PACIJENATA SA NOVOOTKRIVENIM DIJABETES MELITUSOM TIP 2 U KLINIČKOJ PRAKSI

Jelena Stojanović<sup>1,2</sup>, Teodora Beljić Živković<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, Beograd, Srbija

<sup>2</sup> Kliničko bolnički centar Zvezdara, Odeljenje za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma, Beograd, Srbija

**Correspondence:** j.vukcevic@gmail.com

#### Abstract

Dysfunctions underlining type 2 diabetes mellitus (DM2) evolution are insulin resistance and beta-cell secretory insufficiency. Practical but reliable beta-cell function (BCF) testing is still elusive. Methods of BCF measurement include the homeostasis model assessment (HOMA), glucagon stimulation test (GST), oral glucose tolerance tests (OGTT), intravenous glucose tolerance tests (IVGTT), meal tolerance tests (MTT) and the hyperglycemic clamp procedure. Oral tests have the advantage of simpler use and superior approximation of real-life stimulation inclusive for incretin activation effects. The advantage of the test meal over the OGTT includes a more adequate simulation of nutrients effect on incretin secretion. Therefore, a standardized test meal (STO) would best reflect the spike in insulin secretion after a meal in real life.

#### Keywords:

standardized test meal,  
beta-cell dysfunction,  
diabetes mellitus type 2

**Conclusion:** Standardized test meal, as potent stimulus of C-peptide secretion, is a promising simple and naturalistic alternative to in vivo assess beta-cell function in an affordable outpatient setting, through analysis of C-peptide response in newly diagnosed diabetic patients, as potent stimulus of C-peptide secretion.

## Sažetak

Dijabetes melitus tip 2 (DM2) je kompleksan metabolički poremećaj u čijoj osnovi su ključne insulinska rezistencija i beta ( $\beta$ ) ćelijska disfunkcija. Određivanje stepena  $\beta$ -ćelijske disfunkcije još predstavlja klinički i naučni izazov. Metode za procenu beta ćelijske funkcije (BCF) uključuju procenu homeostaznog modela (HOMA), test stimulacije glukagonom (GST), oralni test tolerancije glukoze (OGTT), intravenski test tolerancije glukoze (IVGTT), test obroka i tehnike hiperglikemijskog klampa. Prednost testova sa oralnim unosom nutrijenata u odnosu na one sa intravenskom primenom je u boljoj aproksimaciji fizioloških uslova ishrane i u jednostavnijem izvođenju. U odnosu na OGTT, test obrok adekvatnije simulira efekat unetih nutrijenata na sekreciju inkretina. Stoga bi standardizovani test obrok (STO) najbolje oslikavao skok insulinske sekrecije nakon obroka u realnom životu.

### Ključne reči:

standardizovani test obrok, disfunkcija beta ćelija, dijabetes melitus tip 2

**Zaključak:** Standardizovani test obrok je praktičan i jednostavan metod fiziološki bliske stimulacije sekrecije C-peptida i, kao potentan stimulus ove sekrecije, može da doprinese proceni funkcionalne rezerve  $\beta$ -ćelije pankreasa kod svih pacijenata sa novootkrivenim DM2.

## Uvod

Globalna prevalencija dijabetes melitusa tip 2 (DM2) poprimila je pandemijske razmere, uz konstantan dalji porast broja novoobolelih. Prema najnovijem atlasu Internacionalne federacije za dijabetes (IDF), u svetu svaka deseta osoba ima DM2. Od 2019. do 2021. beleži se porast od 16%, a očekuje se da do 2045. broj obolelih poraste na 783 miliona odraslih, tj. za čak 45% (1).

DM2 predstavlja kompleksan metabolički poremećaj sa dva ključna patogenetska fenomena: rezistencijom ciljnih tkiva na insulin (insulinska rezistencija) i nedovoljnošću insulinske sekrecije od strane beta ( $\beta$ ) ćelija kojom bi se ta rezistencija mogla kompenzovati ( $\beta$ -ćelijska disfunkcija) (2).

### Disfunkcija $\beta$ -ćelija u dijabetes melitusu tip 2

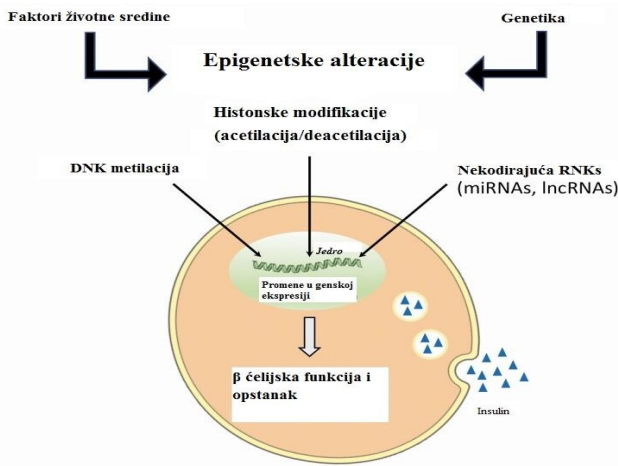
Disfunkciju  $\beta$ -ćelije u DM2 karakterišu smanjena glukozna senzitivnost, poremećena dinamika bifaznog insulinskog odgovora, poremećena pulsatilnost insulinske sekrecije i smanjena fragmentacija proinsulina do aktivnog insulina (2, 3). Važan doprinos disfunkciji  $\beta$ -ćelije daje poremećaj sekrecije inkretina, čiji je osnovni biološki smisao podsticanje postprandijalne insulinske sekrecije (4, 5). Zavisno od stimulusa, inkretinski efekat kod zdravih može do 70% povećati insulinsku sekreciju podstaknutu glukozom (6). Sekrecija glukagonu sličnog polipeptida-1 (GLP-1), glavnog inkretinskog hormona, veoma je varijabilna u DM2, od izrazito smanjene do normalne, ali je potencijacija insulinotropnog učinka GLP-1 kod dijabetičara umanjena (2, 7). Glukozno zavisni insulinotropni polipeptid (GIP) takođe ispoljava smanjenu potencijaciju oslobađanja insulina u DM2, uprkos čak pojačanom oslobađanju GIP na stimulaciju nutrijentima (2, 8).

Do propadanja funkcije  $\beta$ -ćelije dolazi usled ireverzibilnih promena, poput gubitka mase  $\beta$ -ćelija, sa jedne, ali i dejstva reverzibilnih komponenti poput glukotoksičnosti i lipotoksičnosti, sa druge strane (9, 10). Ireverzibilnom gubitku mase  $\beta$ -ćelija značajan doprinos daju i genetski faktori. Iako važnu ulogu u tom procesu

imaju i uslovi životne sredine, poput povećanog unosa hrane i gojaznosti, nasledna osnova predstavlja ključni faktor (3). Identifikovano je preko 400 genskih varijanti povezanih sa DM2, od kojih su 128 povezane sa fenotipskim karakteristikama poput  $\beta$ -ćelijske funkcije, gojaznosti ili hepatičkog metabolizma lipida (11). Ističe se značaj deficita Foxo-1 transkripcionog faktora, neophodnog za ekspresiju gena koji kodiraju insulin, glukokinazu, glukozni transporter-2 i druge transkripcione faktore (12). U uslovima smanjene ekspresije Foxo-1 dolazi do „ $\beta$ -ćelijske dediferencijacije” tj. njihovog reprogramiranja u ćelije sa povećanim stvaranjem glukagona i somatostatina, što doprinosi gubitku mase  $\beta$ -ćelija (12). Već u fazi predijabetesa postoji smanjenje mase  $\beta$ -ćelija za oko 40%, a kod pacijenata sa DM2 do 63% (3).

Postoji velika interindividualna heterogenost u brzini progresije bolesti, nastanka apoptoze  $\beta$ -ćelija i razvoja dijabetesnih komplikacija. Na ovu heterogenost utiču uzrast (brža deterioracija  $\beta$ -ćelija kod mlađih), nivo polnih hormona (naročito estrogena), socioekonomski status i konkomitantna terapija (3). Uslovi životne sredine, uz genetsku predispoziciju, dovode do brojnih epigenetskih modifikacija, tj. izmena na ribonukleotidima koje se akumuliraju tokom života, poput modifikacije DNK, modifikacije histona acetilacijom ili deacetilacijom, kao i nastanka nekodirajućih RNK, poput mikro-RNK (miRNK) ili RNK dugih lanaca (engl. *Long non-Coding RNA* - lncRNA) (slika 1).

Dve vodeće reverzibilne komponente koje doprinose propadanju  $\beta$ -ćelije su glukotoksičnost i lipotoksičnost, tj. uticaj hiperglikemije i visokog nivoa slobodnih masnih kiselina (SMK) na smanjenje funkcionalnosti  $\beta$ -ćelije (9, 10). One doprinose oštećenju u različitoj meri, dovodeći do disregulacije adipokina i citokina, inflamacije, progresivnog nakupljanja amiloida i hiperglukagonemije. U stanju hronične inflamacije povećani su stvaranje i disfunkcija inflamatornih citokina iz familije interleukina (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8), zatim faktora nekroze tumora- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), nuklearnog faktora- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B), interferona- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) i hemokina (CCL2, MCP1, CXCL1) (3). Dolazi



**Slika 1.** Epigenetske modifikacije koje se javljaju u  $\beta$ -ćeliji u DM2 (adaptirano prema: Kahn SE. *Endocr Rev.* 2021).

do nakupljanja amiloidnih depozita u pankreasnim ostrvcima agregacijom monomera amilina, tj. amiloidnog polipeptida (engl. *Islet Cell Amyloid Polypeptide* - IAPP) koji u svojoj nativnoj formi nije štetan, ali u formi oligomernih agregata deluje citotoksično na  $\beta$ -ćeliju (13, 14).

Meru pojedinačnog doprinosa glukotoksičnosti ili lipotoksičnosti, kao reverzibilnih faktora nastanka  $\beta$ -ćelijske disfunkcije, nije moguće jasno razgraničiti dostupnim metodama procene  $\beta$ -ćelijske funkcije (10). Studijama praćenja je pokazano da u patogenezi DM2 dominira disfunkcija  $\beta$ -ćelija nad gubitkom mase  $\beta$ -ćelija (14-16). Nakon parcijalne pankreatektomije kod osoba bez DM2, odstranjivanje i do 50% tkiva pankreasa ne dovodi nužno do porasta glikemije. Moguća objašnjenja za to su kasnije formiranje novih  $\beta$ -ćelija ili funkcionalna adaptacija preostalih  $\beta$ -ćelija (10).

## Procena očuvanosti funkcije $\beta$ -ćelije kod pacijenata sa novootkrivenim dijabetes melitusom tip 2

Određivanje stepena  $\beta$ -ćelijske disfunkcije i dalje predstavlja veliki klinički i naučni izazov. Brojne su metode u upotrebi za merenje  $\beta$ -ćelijske funkcije (BCF): metode za procenu homeostaze glukoze i insulina u stanju našte, metode u kojima se proučava dinamički odnos glukoze i insulina ili C-peptida nakon stimulacije glukagonom ili opterećenjem nutrijentima, kao i metode metaboličkog klampa.

### Hiperglikemijski klamp

Metoda koja je zlatni standard za procenu BCF je metoda metaboličkog, tj. hiperglikemijskog klampa. Veoma je precizna u proceni  $\beta$ -ćelijske senzitivnosti na glukozu u uslovima maksimalne stimulacije. Bazira se na akutnom uvođenju u hiperglikemijsko stanje nekog prethodno zadatog ciljnog nivoa, koji se potom održava kontrolisanim infuzijama glukoze, uz intenzivno praćenje nivoa insulinemije. Pri konstantnom nivou glikemije tempo infuzije glukoze postaje odraz glukoznog metabolizma.

Ove tehnike omogućavaju precizno praćenje stepena  $\beta$ -ćelijske senzitivnosti u svim okolnostima u kojima se ona menja u zavisnosti od variranja plazmatske glikemije tokom vremena. Hiperglikemijski klamp je koristan za longitudinalno praćenje stepena  $\beta$ -ćelijske funkcije na malim grupama ispitanika i za praćenje promene stepena  $\beta$ -ćelijske funkcije pre i posle terapijske intervencije (17). Kada se koristi za poređenje različitih populacija dijabetičara ili nedijabetičara, veoma je važno da početne vrednosti glikemija našte (kao stimulus za bazalnu insulinsku sekreciju) budu što približnije jednake. U suprotnom, bazalna stimulacija pankreasa otpočinje na različitim nivoima i dalje promene u insulinskoj sekreciji nisu pouzdan odraz pankreasne insulinske rezerve. Nažalost, tehnike izvođenja hiperglikemijskog klampa su složene, zahtevaju veštinu i visokoobučeno osoblje, te su i veoma skupe (17, 18).

### Homeostaza glukoze i insulina našte

U velikim populacionim studijama najčešće se koriste dve metode za procenu odnosa između glukoze i insulina našte (17). Prva je merenje odnosa plazma-koncentracije proinsulina i insulina i predstavlja surogat marker neadekvatnih intraćelijskih procesa pretvaranja proinsulina u insulin. Nije komplikovana za izvođenje, ali je zbog ograničenosti na stanje gladovanja inferiornija u odnosu na druge testove BCF u podražavanju fizioloških efekata. Druga metoda, za procenu bazalne insulinske sekrecije, koja se najčešće koristi, jeste procena homeostaznog modela (engl. *Homeostasis Model Assessment* - HOMA). Na osnovu matematičkog modela "idealnog" odnosa koncentracija glukoze i insulinemije procenjuje se njihov relativni status. Za ovaj model je ključna povratna sprega endogeno stvorene glukoze i funkcije  $\beta$ -ćelije: bazalna glikemija je regulisana insulin zavisnim endogenim stvaranjem glukoze, a koncentracija insulina zavisi od  $\beta$ -ćelijske osetljivosti (insulinske sekrecije) na koncentraciju glukoze. Tako HOMA-B indeks služi za procenu stepena BCF analizom odnosa glikemije i insulinemije našte, uz empirijski određene metaboličke faktore konverzije sadržane u formuli Metjusa (*Matthews*) i saradnika (19):  $HOMA-B = \text{insulin našte (mU/L)} \times 2 / \text{glikemija našte (mmol/L)} - 3,5$ . Referentne vrednosti za insulin našte su 5 - 25 mU/L. Ova formula ukazuje na odnos endogene glukozne produkcije i insulinske sekrecije, ali samo u stanju našte. Pokazana je pozitivna korelacija HOMA-B indeksa i metode hiperglikemijskog klampa (20). Na sličnom principu je baziran i homeostazni model za procenu stepena insulinske rezistencije - HOMA-IR. Po konvenciji, normalno uhranjena odrasla osoba, uzrasta do 35 godina, imala bi HOMA-B (marker BCF) od 100% i HOMA-IR (marker IR) od 1,0.

### Dinamički stimulacioni testovi

U dinamičke testove za procenu  $\beta$ -ćelijske funkcije ubrajaju se različiti testovi *in vivo*, od intravenskih testova stimulacije glukagonom (GST) i intravenskih testova tolerancije glukoze (IVGTT) do oralnih testova tolerancije glukozom (OGTT) ili različitih test obroka. Pored ovih

testova, za stimulaciju sekrecije  $\beta$ -ćelija mogu se koristiti i tolbutamid, GLP-1 i aminokiseline, što je znatno ređe u upotrebi (21).

Intravenski test stimulacije glukagonom (GST) sprovodi se našte, analiziranjem vrednosti serumskog C-peptida pre, 6 minuta i 12 minuta nakon intravenske injekcije 1 mg glukagona. Kratkotrajan je i veoma senzitivn i specifičan test za za stimulaciju  $\beta$ -ćelije na sekreciju insulina (22-24). Negativna strana mu je što može da izazove mučninu kod pacijenata. Ovaj test dovodi do porasta C-peptida za 29%, u poređenju sa porastom od 19% koji nastaje postprandijalno. Senzitivniji je u poređenju sa IVGTT ili tolbutaminskim testom i dovodi do dvostruko većeg porasta C-peptida (21).

U intravenskom testu tolerancije glukoze (IVGTT) analizira se C-peptid pre i 120 minuta nakon bolusne intravenske primene rastvora glukoze (0,33 g/kg TT), u stanju nakon prekonocnog gladovanja. Pored C-peptida, mogu se analizirati serumske koncentracije glukoze, insulina ili drugih parametara od interesa. Ovo je veoma specifičan test za stimulaciju  $\beta$ -ćelije na sekreciju insulina. Upotrebljava se i modalitet IVGTT sa intenzivnim uzorkovanjem u ranoj fazi testa (3, 5, 7 i 10 min nakon infuzije glukoze) kao merilo prve, akutne faze insulinske sekrecije (2, 17).

Korišćenjem matematičkih modela za analizu rezultata intravenskih testova oni mogu služiti za procenu prve, akutne faze insulinske sekrecije (analizom vrednosti nakon desetak minuta), ali i druge, produžene insulinske sekrecije (analizom nakon 1 - 3h) (17).

Poređenjem sa testovima sa intravenskom primenom stimulusa, testovi sa oralnim unosom nutrijenata pokazuju prednost u lakšem izvođenju i boljem imitiranju fizioloških uslova. U oralnom testu tolerancije glukoze (OGTT), kao najčešće korišćenom testu u svakodnevnoj kliničkoj praksi, meri se C-peptid pre i 120 min nakon peroralnog unosa našte 75 g glukoze rastvorene u 300 ml obične vode (22-28). U OGTT se, pored C-peptida, mogu analizirati vrednosti glikemija, insulinemija ili drugih parametara od interesa. Analiza vrednosti insulinemija u OGTT može koristiti kako za procenu insulinske sekrecije, tako i za procenu insulinske rezistencije (29). Oralni test tolerancije glukoze može služiti za procenu prve faze insulinske sekrecije (analizom vrednosti uzorkovanih nakon 30 minuta od oralnog unosa glukoze), kao i druge faze (vrednosti uzorkovane između 30 - 120 ili 30 - 180 minuta). Slabost OGTT, kao i IVGTT je u tome što je stimulus po svojoj prirodi isključivo ugljenohidratni (17).

Test obroci pokazuju prednost nad OGTT u adekvatnijoj stimulaciji prirodne ishrane i dejstva unetih nutrijenata na sekreciju inkretina i, samim tim, prirodnoj stimulaciji insulinske sekrecije. U njima se analiziraju serumski nivo C-peptida, glukoze, insulina ili drugih parametara 2 - 8 sati nakon oralnog unosa nutrijenata, te su vremenski zahtevni za izvođenje. Među test obrocima u ispitivanjima su najčešće korišćeni "testovi podnošenja mešovito obroka" (engl. *Mixed Meal Tolerance Test - MMTT*). U njima se koriste različite, unapred pripremljene,

standardizovane mešavine nutrijenata, najčešće hiperkalorijskog (22-24) ili fiksnog kalorijskog sastava (24). Takav tečni obrok može menjati insulinsku sekreciju u poređenju sa onom nakon unošenja uobičajene, čvrste hrane. Testovi fiksnog kalorijskog unosa (engl. *Fixed Calories Test*) pokazuju slabiju stimulaciju sekrecije insulina kod viših nego kod nižih pacijenata (24). Stoga bi standardizovani test obrok (STO), upotrebom uobičajenog obroka, najbolje imitirao skok insulinske sekrecije nakon obroka u realnom životu. Modifikacija ovakvog standardizovanog test obroka, bazirana na metodologiji Pozana (*Pozzan*) i saradnika, korišćena je u našem centru u studiji Koprivice i sar. za procenu rezidualne insulinske sekrecije kod pacijenata sa DM2 (27, 30). Analizirani su glikemija i serumski C-peptid našte i 2 časa nakon unošenja standardizovanog obroka u roku od najviše 5 minuta. Obrok se sastojao od jedne kifle belog pšeničnog brašna, mase 60 g (24 g ugljenih hidrata) i 200 ml jogurta sa 2,8% mlečne masti (12 g ugljenih hidrata) (27, 30, 31). Standardizovani test obrok se pokazuje kao potentan stimulus sekrecije C-peptida kod svih pacijenata sa novootkrivenim DM2 (27, 30, 31).

U svim ovakvim ispitivanjima sa peroralnim unosima nutrijenata kod pacijenata sa novootkrivenim DM2, pa i u STO, ostaje moguć uticaj glukozne toksičnosti, koja često postoji u stanjima hiperglikemije nakon otkrivanja bolesti i može remetiti skok insulinske sekrecije nakon obroka, te uticati na vrednosti baznog i postprandijalnog C-peptida u inicijalnom testiranju (32-34).

Često se funkcija  $\beta$ -ćelije procenjuje analizom nivoa insulina u plazmi. Međutim, nivo insulinemije zavisi ne samo od sekrecije već i od njegove distribucije i klirensa. Klirens insulina se najvećim delom odvija hepatickom degradacijom (50% insulina se degradira prilikom prvog prolaska kroz jetru). Ovo je saturabilni proces na koji utiče sama koncentracija insulina. Bubrezi doprinose razgradnji insulina sa oko 20%. Stoga u stanjima hepaticke ili renalne insuficijencije postoji hiperinsulinemija kao posledica smanjenog klirensa. U jetri je insulinska degradacija delom posredovana receptorom i zavisi od insulinske aktivnosti, tako da osobe sa insulinskom rezistencijom imaju smanjen hepaticki klirens insulina (21).

S druge strane, C-peptid se u pankreasu sekretuje u ekvimolarnom odnosu sa insulinom, proteolizom prohormona proinsulina, ne podleže takvoj hepatickoj ekstrakciji i ima znatno duži poluživot nego insulin (20 - 30 min vs. 3 - 5 min). Kinetika C-peptida u plazmi adekvatnije reflektuje dinamiku pankreasne sekrecije, te serumske koncentracije C-peptida mogu poslužiti za preračunavanje stepena sekrecije C-peptida, a samim tim i insulina (2, 21, 31). Najveći deo serumskog C-peptida se metaboliše u bubrezima, a svega 5 - 10% se izluči nepromenjeno putem urina, što merenje C-peptida može učiniti nepouzdanim kod osoba sa hroničnom bolešću bubrega (21).

Referentne vrednosti za C-peptid našte i nakon stimulacije se umnogome razlikuju u zavisnosti od korišćenih eseja. Najčešće se navode referentne vrednosti za C-peptid našte preko 0,9 ng/ml, a 2 časa nakon stimulacije preko 2,7 ng/ml (35, 36). Pozan i sar. su koristili test obrok

kao stimulus, a kao prag za C-peptid našte je korišćena vrednost od 0,74 ng/ml. Kao značajan porast nakon stimulacije tim STO od 317 kCal, u analizi je interpretiran porast za 21% u odnosu na vrednost C-peptida našte (27). U radu Koprivice i sar. stimulirani porast CP ( $\Delta$ CP) od 2,4 ng/ml smatran je značajnim porastom (22, 30). Vrednosti C-peptida, najčešće navođene u literaturi kao granične za procenu deficita insulinske rezerve, iznose 0,9 ng/ml pre stimulacije i 1,8 ng/ml nakon stimulacije, bilo glukagonom bilo tečnim mešovitim test obrokom (MMTT) (31) ili OGTT (37). Vrednost za poststimulacioni C-peptid manja od 0,6 ng/ml potvrđuje deficit insulinske sekrecije i najčešće se sreće kod dijabetesa tip 1 (31).

Pokazano je da kod novootkrivenih dijabetičara postprandijalni C-peptid bolje reflektuje očuvanost  $\beta$ -ćelije nego onaj izmeren našte. Odnos postprandijalnog C-peptida i postprandijalne glukoze (PCPG odnos) visoko korelira sa indeksima dispozicije merenih tehnikama glukoznog klampa, te je time pokazano da PCPG odnos, kao veoma jednostavan i primenjiv test, ukazuje na stepen  $\beta$ -ćelijske funkcije korigovane za vrednost insulinske senzitivnosti (32, 38).

Ostaje otvoreno pitanje uticaja pola i indeksa telesne mase (ITM) na odgovor C-peptida na stimulaciju. Poznato je da gojaznost dovodi do povećanja insulinske sekrecije kako bi se savladala postojeća insulinska rezistencija. Na kraju, usled velikog opterećenja,  $\beta$ -ćelije postaju disfunkcionalne usled oksidativnog stresa i podležu apoptozi (32). Visok ITM bi stoga mogao da ukazuje na veći udeo sekretornog stresnog poremećaja nego na ireverzibilnu  $\beta$ -ćelijsku disfunkciju. Indeks telesne mase bi možda mogao biti marker povećane  $\beta$ -ćelijske mase podložne oporavku funkcije (16, 39). Povišen ITM kod novootkrivenih dijabetičara mogao bi biti klinički predskazatelj mogućnosti postizanja remisije dijabetesa (9). Slično ovome, u svom ispitivanju uticaja pola i ITM na postprandijalne hormonske odgovore, Kerol (*Carroll JF*) i saradnici su pokazali značajno veći postprandijalni skok glukoze i insulina kod gojaznih ispitanika, nezavisno od pola (40). S druge strane, Leone i saradnici u svojoj studiji 2022. nisu utvrdili razliku u postprandijalnom porastu C-peptida nakon MMTT kod mladih zdravih dobrovoljaca (41).

Da bi se adekvatno prikazala ovako kompleksna funkcija poput BCF, sa preciznim interpretiranjem multifaznih insulinskih sekretornih odgovora, neophodno je primeniti kompleksne matematičke modele (17, 42). Za razliku od prikazivanja i kvantifikovanja stepena insulinske rezistencije, ovo otežava određivanje stepena  $\beta$ -ćelijske funkcije i čini je komplikovanijom za prikaz i analizu (2, 13).

Ne postoji idealan i jednostavan test kojim bi se mogao kvantifikovati stepen  $\beta$ -ćelijske disfunkcije, što bi bilo od velikog praktičnog i kliničkog značaja s obzirom na porast broja obolelih od DM2, ali i od velikog naučnog značaja s obzirom na otvorenost teme moguće reverzibilnosti i promene dinamike u patogenezi DM2 (13, 15).

Dosadašnja saznanja vezana za regulatorne faktore  $\beta$ -ćelijske funkcije kod dijabetičara stvaraju potrebu za

dodatnim ispitivanjima na ovom polju radi boljeg razumevanja, kako da bi se osnažio pristup lečenju baziran na savladavanju patofizioloških mehanizama (32, 43).

Praktični značaj ispitivanja  $\beta$ -ćelijske funkcije u dijabetes melitusu tip 2

Prema našim saznanjima, savremeni terapijski vodiči za DM2 (44) ne podrazumevaju ispitivanje beta ćelijske funkcije pri izboru terapijskog pristupa. Postoje, međutim, brojne heterogenosti među pacijentima sa novootkrivenim dijabetesom u smislu stepena izraženosti insulinske rezistencije ili  $\beta$ -ćelijske disfunkcije (45). Stoga se surogat markeri procene  $\beta$ -ćelijske sekretorne funkcije, na prvom mestu testovi procene odgovora C-peptida na stimulaciju dinamičnim testovima, razmatraju kao mogući predskazatelji odgovora na različite terapijske opcije, što otvara mogućnost da oni budu koristan instrument za izbor optimalnog terapijskog režima (46, 47).

Dobra procena  $\beta$ -ćelijske funkcije može da uputi na adekvatan izbor terapijskog režima i predviđanje nastanka komplikacija u DM2 (21). Vrednosti stimulisnog C-peptida manje od 0,6 ng/ml dobar su predskazatelj potrebe za uvođenjem insulinske terapije. Više vrednosti C-peptida dobijene nakon stimulacije MMTT pozitivno koreliraju sa dobrim odgovorom na metformin i glibenklamid (21). Povišene vrednosti baznog C-peptida povezane su sa dobrim odgovorom na tiazolidindione, što je u skladu sa njihovom dejstvom na redukciju insulinske rezistencije (21). Više vrednosti baznog, ali i stimulisnog C-peptida upućuju na mogućnost boljeg odgovora na terapiju GLP-1 agonistima. Kada razmatramo mogućnost terapije SGLT-2 inhibitorima, niže vrednosti C-peptida bi mogle ukazivati na rizik od nastanka ketoacidoze, ali, nažalost, nizak C-peptid nije konzistentan nalaz kod pacijenata koji razviju ketoacidozu na terapiji SGLT-2 inhibitorima (21).

Smanjena  $\beta$ -ćelijska funkcija, sa sniženim C-peptidom, dovodi do glukozne varijabilnosti koja povećava rizik od nastanka dijabetesnih komplikacija. Nizak C-peptid može imati i direktan molekularni mehanizam kojim doprinosi nastanku komplikacija, nezavisno od hiperglikemije. On smanjuje stvaranje slobodnih radikala u stanjima hiperglikemije, kao i adheziju leukocita na endotel u procesu stvaranja ateroskleroznog plaka. Niže vrednosti C-peptida stoga pozitivno koreliraju sa većim rizikom od nastanka mikrovaskularnih komplikacija (21).

---

## Zaključak

---

Pristupačno, ali pouzdano testiranje sekretorne disfunkcije beta ćelija još uvek je izazov. Za razliku od pokazatelja procene insulinske rezistencije, stepen disfunkcije  $\beta$ -ćelija je često nakon testiranja predstavljen matematičkim modelima nepraktičnim za tumačenje (2, 13). Dobra procena  $\beta$ -ćelijske funkcije može uputiti na adekvatan izbor terapijskog režima i predviđanje nastanka komplikacija u DM2 (21). Tehnika ispitivanja hiperglikemijskim

klampom je zlatni standard za ispitivanje sekrecije insulina i osetljivosti, ali je previše komplikovana i skupa za primenu u rutinskoj praksi (18). Glukagonski stimulacioni test (22-24) ili intravenska aplikacija glukoze (2) veoma su specifični testovi za stimulaciju  $\beta$ -ćelije na sekreciju insulina. Međutim, prednosti testova sa oralnim unosom nutrijenata su u lakšem izvođenju i boljoj simulaciji fizioloških uslova (22-28). Prednost samih test obroka nad OGTT je u adekvatnijoj stimulaciji prirodne ishrane i dejstva unetih nutrijenata na sekreciju inkretina i prirodnijoj stimulaciji insulinske sekrecije. Najčešće su, međutim, korišćeni testovi sa unapred pripremljenom, tečnom mešavinom nutrijenata, bilo hiperkalorijskog (22-24) bilo fiksnog kalorijskog sastava (24). Tečna mešavina može menjati insulinsku sekreciju u poređenju sa onom nakon svakodnevnog unošenja uobičajene, čvrste hrane. Stoga bi standardizovani test obrok (STO) upotrebom uobičajenog obroka najbolje reprezentovao skok insulinske sekrecije nakon obroka u realnom životu. Standardizovani test obrok je praktičan i jednostavan metod fiziološki bliske stimulacije sekrecije C-peptida i može doprineti proceni funkcionalne rezerve  $\beta$ -ćelije pankreasa.

## Skraćenice

BCF - beta ćelijska funkcija  
DM2 - dijabetes melitus tip 2  
DPP-4 - dipeptidil-peptidaza 4  
GIP - glukozno zavisni insulinotropni polipeptid (GIP)  
GLP-1 - glukagonu sličan polipeptid-1  
GST - test stimulacije glukagonom  
IAPP - amiloidni polipeptid  
IDF - Internacionalna federacija za dijabetes  
IIT - intenzivirana insulinska terapija  
ITM - indeks telesne mase  
IVGTT - intravenski test tolerancije glukoze  
lncRNK - nekodirajuća RNK dugih lanaca  
miRNK- nekodirajuća mikro-RNK  
MMTT- test podnošenja mešovito obroka  
OAD - oralni antidijabetici  
OGTT - oralni test tolerancije glukoze  
PCPG - količnik postprandijalnog C-peptida i postprandijalne glukoze  
SGLT-2 inhibitori - inhibitori natrijum glukoznog kotransportera 2  
SMK - slobodne masne kiseline  
STO - standardizovani test obrok

## Literatura

1. Sun H, Saeedi P, Karuranga S, Pinkepank M, Ogurtsova K, Duncan B, et al. IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045. *Diabetes Res Clin Pract.* 2022; 183:109-19.
2. Ferrannini E, Mari A.  $\beta$ -Cell function in type2 diabetes. *Metabolism.* 2014; 63(10):1217-27.
3. Kahn SE, Chen YC, Esser N, Taylor AJ, van Raalte DH, Zraika S, et al. The  $\beta$  Cell in Diabetes: Integrating Biomarkers With Functional Measures. *Endocr Rev.* 2021; 42(5):528-83.
4. Holst JJ. From the Incretin Concept and the Discovery of GLP-1 to Today's Diabetes Therapy. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2019; 10:260.
5. Rehfeld JF. The Origin and Understanding of the Incretin Concept. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2018; 9:387.
6. Drucker DJ. Mechanisms of Action and Therapeutic Application of Glucagon-like Peptide-1. *Cell Metab.* 2018; 27(4):740-56.
7. Nauck MA, Vardarli I, Deacon CF, Holst JJ, Meier JJ. Secretion od glucagons like peptide-1 (GLP-1) in type 2 diabetes: what's up, what's down? *Diabetologia.* 2011; 54:10-8.
8. Chia CW, Odetunde JO, Kim W, Carlson OD, Ferrucci L, Egan JM. GIP contribesto islet tri-hormonal abnormalities in type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014; 99:247-85.
9. Kramer CK, Zinman B, Retnakaran R. Short-term intensive insulin therapy in type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2013; 1(1):28-34.
10. Kahn SE, Zraika S, Utzschneider KM, Hull RL. The beta cell lesion in type 2 diabetes: there has to be a primary functional abnormality. *Diabetologia.* 2009; 52(6):1003-12.
11. Mahajan A, Wessel J, Willems SM, Zhao W, Robertson NR, Chu AY, et al. Refining the accuracy of validated target identification through coding variant fine-mapping in type 2 diabetes. *Nat Genet.* 2018; 50(4):559-71.
12. Dor Y, Glaser B. Beta-Cell Dedifferentiation and Type 2 Diabetes. *N Engl J Med.* 2013; 368(6):572-3.
13. Retnakaran R. Novel Strategies for Inducing Glycemic Remission during the Honeymoon Phase of Type 2 Diabetes. *Can J Diabetes.* 2015; 39:142-7.
14. Knudsen JG, Rorsman P.  $\beta$  Cell Dysfunction in Type 2 Diabetes: Drained of Energy? *Cell Metab.* 2019; 29(1):1-2.
15. Liu L, Liu J, Xu L, Ke W, Wan X, Li H, et al. Lower mean blood glucose during short-term intensive insulin therapy is associated with long-term glycemic remission in patients with newly diagnosed type 2 diabetes: Evidence-based recommendations for standardization. *J Diabetes Investig.* 2018; 9(4):908-16.
16. Rahier J, Guiot Y, Goebbels RM, Sempoux C, Henquin JC. Pancreatic Beta cell mass in European subjects with type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab.* 2008; 10(4):32-42.
17. Cersosimo E, Solis-Herrera C, Trautmann ME, Malloy J, Triplitt CL. Assessment of pancreatic  $\beta$ -cell function: review of methods and clinical applications. *Curr Diabetes Rev.* 2014; 10(1):2-42.
18. DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol.* 1979; 237(3):E214-23.
19. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia.* 1985; 28(7):412-9.
20. Wallace TM, Levy JC, Matthews DR. Use and abuse of HOMA modeling. *Diabetes Care.* 2004; 27(6):1487-95.
21. Leighton E, Sainsbury CA, Jones GC. A Practical Review of C-Peptide Testing in Diabetes. *Diabetes Ther.* 2017; 8(3):475-87.
22. Escobar-Jiménez F, Herrera Pombo JL, Gómez-Villalba R, del Carril JN, Aguilar M, Rovira A. A standard breakfast test: an alternative to glucagon testing for C-peptide reserve? *Horm Metab Res.* 1990; 22(6):339-41.
23. Greenbaum CJ, Mandrup-Poulsen T, McGee PF, Battelino T, Haastert B, Ludvigsson J, et al. Type 1 Diabetes Trial Net Research Group; European C-Peptide Trial Study Group. Mixed-meal tolerance test versus glucagon stimulation test for the assessment of beta-cell function in therapeutic trials in type 1 diabetes. *Diabetes Care.* 2008; 31(10):1966-71.
24. Fujioka Y, Okura T, Sumi K, Matsumoto K, Shoji K, Nakamura R, et al. Normal meal tolerance test is preferable to the glucagon stimulation test in patients with type 2 diabetes that are not in a hyperglycemic state: Comparison with the change of C-peptide immunoreactivity. *J Diabetes Investig.* 2018; 9(2):274-8.
25. Marena S, Montegrosso G, De Michieli F, Pisu E, Pagano G. Comparison of the metabolic effects of mixed meal and standard oral glucose tolerance test on glucose, insulin and C-peptide response in healthy, impaired glucose tolerance, mild and severe non-insulin-dependent diabetic subjects. *Acta Diabetol.* 1992;

- 29(1):29-33.
26. Wopereis S, Stroeve JHM, Stafleu A, Bakker GCM, Burggraaf J, van Erk MJ, et al. Multi-parameter comparison of a standardized mixed meal tolerance test in healthy and type 2 diabetic subjects: the PhenFlex challenge. *Genes Nutr.* 2017; 12:21.
  27. Pozzan R, Dimetz T, Gazzola HM, Gomes MB. Discriminative capacity of fasting C-peptide levels in a functional test according to different criteria of response to a stimulus. A study of Brazilian insulin dependent diabetic patients. *Acta Diabetolog.* 1997; 34(1):42-5.
  28. Prando R, Odetti P, Melga P, Giusti R, Ciuchi E, Cheli V. Progressive deterioration of beta-cell function in nonobese type 2 diabetic subjects. Postprandial plasma C-peptide level is an indication of insulin dependency. *Diabetes Metab.* 1996; 22(3):185-91.
  29. Stumvoll M, Mitrakou A, Pimenta W, Jenssen T, Yki-Järvinen H, Van Haeften T, et al. Use of the oral glucose tolerance test to assess insulin release and insulin sensitivity. *Diabetes Care.* 2000; 23(3):295-301.
  30. Koprivica B, Beljić-Živković T, Ille T. Značaj test- obroka u procesni uvođenja insulina u lečenje dijabetes melitusa tip2. *Srpski Arh Celok Lek.* 2009; 137(9-10):490-49.
  31. Jones AG, Hattersley AT. The clinical utility of C-peptide measurement in the care of patients with diabetes. *Diabet Med.* 2013; 30(7):803-17.
  32. Saisho Y. Postprandial C-Peptide to Glucose Ratio as a Marker of  $\beta$  Cell Function: Implication for the Management of Type 2 Diabetes. *Int J Mol Sci.* 2016; 17(5):744.
  33. Rossetti L, Giaccari A, DeFronzo RA. Glucose toxicity. *Diabetes Care.* 1990; 13:610-30.
  34. Funakoshi S, Fujimoto S, Hamasaki A, Fujiwara H, Fujita Y, Ikeda K, et al. Analysis of factors influencing postprandial C-peptide levels in Japanese patients with type 2 diabetes: comparison with C-peptide levels after glucagon load. *J Diabetes Investig.* 2011; 2:429-34.
  35. Beljić Živković T. Sekretacija insulina. In: Beljić Živković, editor. *Terapijski priručnik za dijabetes tip 2.* Beograd: Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu; 2019. p.31-4.
  36. Ahren B, Pratley RE, Soubt M, Dunning BE, Foley JE. Clinical measures of islet function: usefulness to characterize defects in diabetes. *Curr Diab Rev.* 2008; 4:129-45.
  37. Bonnet-Serrano F, Abou Jaoude M, Laguillier C, Gobeaux C, Bouzerara A, Mosnier-Pudar H, et al. Pattern of C-peptide response to oral glucose tolerance test: Interest and cut-off values. *Ann Endocrinol (Paris).* 2022; 83(2):95-102.
  38. Okuno Y, Komada H, Sakaguchi K, Nakamura T, Hashimoto N, Hirota Y, et al. Postprandial serum C-peptide to plasma glucose concentration ratio correlates with oral glucose tolerance test- and glucose clamp-based disposition indexes. *Metabolism.* 2013; 62(10):1470-6.
  39. Oberhauser L, Jiménez-Sánchez C, Madsen JGS, Duhamel D, Mandrup S, Brun T, et al. Glucolipototoxicity promotes the capacity of the glycerolipid/NEFA cycle supporting the secretory response of pancreatic beta cells. *Diabetologia.* 2022; 65(4):705-20.
  40. Carroll JF, Kaiser KA, Franks SF, Deere C, Caffrey JL. Influence of BMI and gender on postprandial hormone responses. *Obesity (Silver Spring).* 2007; 15(12):2974-83.
  41. Leone A, De Amicis R, Bertoli S, Spadafranca A, De Carlo G, Battezzati A. Absence of a sexual dimorphism in postprandial glucose metabolism after administration of a balanced mixed meal in healthy young volunteers. *Nutr Diabetes.* 2022; 12(1):6.
  42. Mari A, Schmitz O, Gastaldelli A, Oestergaard T, Nyholm B, Ferrannini E. Meal and oral glucose tests for assessment of beta-cell function: modeling analysis in normal subjects. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2002; 283:E1159-66.
  43. Sasaki H, Saisho Y, Inaishi J, Itoh H. Revisiting Regulators of Human  $\beta$ -cell Mass to Achieve  $\beta$ -cell-centric Approach Toward Type 2 Diabetes. *J Endocr Soc.* 2021; 5(10):bvab128.
  44. Davies MJ, D'Alessio DA, Fradkin J, Kernan WN, Mathieu C, Mingrone G, et al. Management of Hyperglycemia in Type 2 Diabetes, 2018. A Consensus Report by the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Diabetes Care.* 2018; 41(12):2669-701.
  45. Ahlqvist E, Storm P, Käräjämäki A, Martinell M, Dorkhan M, Carlsson A, et al. Novel subgroups of adult-onset diabetes and their association with outcomes: a data-driven cluster analysis of six variables. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2018; 6(5):361-9.
  46. Abdelgani S, Puckett C, Adams J, Triplitt C, DeFronzo RA, Abdul-Ghani M. Insulin Secretion Predicts the Response to Antidiabetic Therapy in Patients With New-onset Diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2021; 106(12):3497-504.
  47. DeFronzo RA. Banting Lecture. From the triumvirate to the ominous octet: a new paradigm for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Diabetes.* 2009; 58(4):773-95.