



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS SUPERIORES
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

Niveles de Péptido C en pacientes pediátricos con diabetes tipo 1 y su correlación con el control glucémico, edad y tiempo de evolución

TESIS

Que para obtener el título de especialista en:

ENDOCRINOLOGÍA PEDIATRICA

P R E S E N T A:

DRA. MIREY SIUFFI DIAZ

ASESORA:

DRA. ANA LILIA RODRIGUEZ VENTURA

Pediatra Endocrinóloga y Maestra en Ciencias Médicas

Coordinadora de la Clínica de Diabetes del Hospital Infantil de México

México, D.F., julio de 2010





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

Primero a Dios por darme la oportunidad de conocer otro país, creo que en la vida no hay cambios buenos ni malos solo nos ayudan a madurar y fortalecer nuestro carácter, nos ponen a prueba nuestra valentía y paciencia para obtener las metas que nos hemos demarcado en la vida.

A mi madre por su comprensión y ayuda en los malos y buenos momentos, por su amor y su tenacidad, a la Doctora Ana Lilia por demostrarme que en la vida también existen personas de buen corazón que pueden dar nos apoyo y una voz de aliento cuando pensamos que nuestra fuerzas son insuficientes para afrontar las situaciones difíciles a Fernando, Gabriela y Elisa mis mejores amigos por acogerme y contar su apoyo incondicional.

INDICE

| | |
|-------------------------------------|----|
| I. Antecedentes..... | 3 |
| - Definición y clasificación..... | 3 |
| - Epidemiología | 4 |
| - Etiología y Fisiopatología | 4 |
| - Marco teórico..... | 8 |
| II. Planteamiento del problema..... | 16 |
| III. Pregunta de investigación..... | 16 |
| IV. Justificación..... | 17 |
| V. Objetivos..... | 18 |
| VI. Diseño del estudio..... | 18 |
| - Población..... | 18 |
| - Definición de las variables..... | 19 |
| VII. Resultados..... | 22 |
| VIII. Discusión..... | 24 |
| IX. Conclusiones..... | 25 |
| X. Bibliografía..... | 26 |

Niveles de Péptido C en pacientes pediátricos con diabetes tipo 1 y su correlación con el control glucémico, edad y tiempo de evolución

Antecedentes

Definición y clasificación:

Los términos utilizados como diabetes juvenil o insulino dependiente han sido reemplazados por diabetes mellitus tipo 1 (DM1). La DM1 es un desorden heterogéneo que se caracteriza por la destrucción autoinmune de las células beta del páncreas y esto conlleva a la deficiencia absoluta de insulina. La DM1 es más comúnmente diagnosticada en niños y adolescentes, usualmente se presenta con un cuadro de hiperglucemia que inmediatamente necesita el reemplazo con insulina exógena. El 25% de los adultos jóvenes diagnosticados como diabetes tipo 2 (DM2) evoluciona a DM1, como resultado de un proceso autoinmune latente. Del total de los tipos de diabetes, el 5-10% corresponde a DM1.

En 1997, la Asociación Americana de Diabetes (ADA) elaboró nuevos criterios diagnósticos y de clasificación que incluyen cuatro categorías:

1. Tipo 1 (deficiencia absoluta de insulina):
 - A. Autoinmune
 - B. Idiopática
2. Tipo 2 (resistencia a la insulina y deficiencia relativa de la célula beta)
3. Secundaria: Defectos genéticos en la función de la célula Beta o en la acción de la insulina; Alteraciones del páncreas; Inducida por medicamentos; Síndromes genéticos, etc.
4. Gestacional: Originada durante el embarazo.

En el 2003 se agregan las definiciones: Alteración de la glucosa en ayuno e Intolerancia a la glucosa como entidades prediabéticas.

- Alteración de la glucosa en ayuno: Glucemia entre 100mg/dL y 125mg/dL con 8 hrs. de ayuno.
- Intolerancia a la glucosa: Glucemia entre 140mg/dL y 199mg/dL 2 hrs. postcarga de glucosa.

Epidemiología:

DM1 es una de las enfermedades crónicas más comunes de la infancia a pesar de la epidemia de DM2. DM1 se presenta en dos tercios de todos los niños con Diabetes (1). En Estados Unidos más de 150.000 niños con diabetes menores de 18 años presentan diabetes tipo 1(2). La prevalencia en Estados Unidos es de 1.7 a 2.5 por cada 1000 habitantes y son diagnosticados 10,000 a 15,000 nuevos casos de diabetes tipo 1 cada año (3).

Hay dos picos de ocurrencia de la Diabetes tipo 1 entre 5-7 años y otro en la pubertad. En México la Diabetes ocupa el primer lugar de muertes por año en la población general muestra una tendencia ascendente con más de 60,000 muertes y con masa de 400,000 casos anuales (4).

En el 2002 el total de costos a la salud producido por la Diabetes en Estados Unidos fue de \$132 billones, el costo directo fue estimado en \$91.8 billones (5).

En Estados Unidos se realizan investigaciones y diversas estrategias para el manejo de la Diabetes, con el fin de reducir a largo plazo el alto riesgo de complicaciones. El DCCT (Control de la Diabetes y sus Complicaciones) demostró que la terapia intensiva en pacientes con DM1 reduce el riesgo de complicaciones; dicha terapia intensiva consiste en múltiples inyecciones diarias con insulina (3 o mas), monitoreo frecuente de los niveles de glucosa y cambios en el estilo de vida del paciente en lo referente a la alimentación sana y equilibrada, además de realizar ejercicio (6).

Etiología y fisiopatología:

En los últimos 30 años, la habilidad para predecir el desarrollo de DM1 ha aumentado dramáticamente con el uso combinado de la genética, autoanticuerpos y marcadores metabólicos. El modelo de la historia natural de DM1 mas frecuentemente citado en la literatura, es un individuo predispuesto genéticamente, con un número de células beta fijas expuestas a un medio ambiente, lo cual, asociado a diferentes factores desencadenan una reacción autoinmune (7).

El desarrollo de autoanticuerpos contra los islotes es el marcador de la respuesta autoinmune pero esta es predominantemente producida por las células T que destruye a la célula beta, lo cual ocasiona la perdida de células beta y por ende la de su función perdiéndose así la secreción de insulina.

La DM1 se presenta cuando se destruye el 80-90% de las células beta, sin embargo, recientes estudios sugieren que aun con un 40-50% de destrucción, los sujetos ya presentan hiperglucemias y que una vez hecho el diagnóstico, al mantener un porcentaje viable de células beta, los pacientes pueden permanecer estables con dosis bajas de insulina o aun sin ella por largos periodos (8). Al decline de la función secretora de insulina ocurre la pérdida de la primera fase de su secreción, seguida de un periodo asintomático de intolerancia a la glucosa.

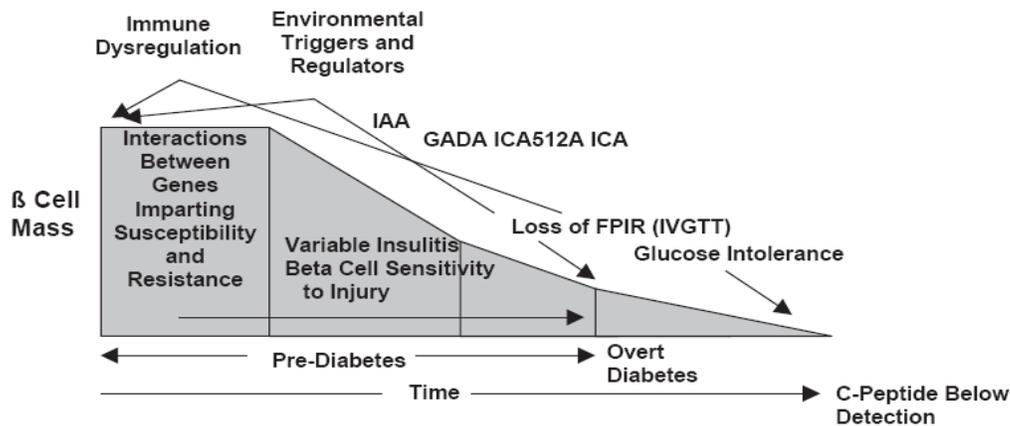


Fig. 1. Model of the pathogenesis and natural history of T1D. The modern model expands and updates the traditional model by inclusion of information gained through an improved understanding of the roles for genetics, immunology, and environment in the natural history of T1D. FPIR, first phase insulin response; GAD, glutamic acid decarboxylase autoantibodies; IAA, insulin autoantibodies; ICA, islet cell autoantibodies; ICA 512, autoantibodies against the islet tyrosine phosphatase; IVGTT, intravenous glucose tolerance test. (Adapted from Atkinson MA, Eisenbarth GS. Type 1 diabetes: new perspectives on disease pathogenesis and treatment. Lancet 2001;358(9277):225; with permission.)

Genética:

Los locis mas importantes para determinar el riesgo de Diabetes tipo 1 se encuentran en el complejo mayor de autoinmunidad situado en el cromosoma (6P 21) en especial la molécula HLA clase II (DR, DQ, DP). Además los locis estándar de la clase I HLA (A,B,C)

La mayoría de los pacientes con Diabetes tipo 1 tiene antígenos de la clase II HLA-DR3 O DR4 heterocigoto, el cual confiere gran riesgo de tener Diabetes tipo 1. Seguido del genotipo DR3/DR4 homocigoto, pero en aquellos sujetos portadores del alelo clase II DQB1 *0602 (DR2) está asociado a proteger a los individuos de desarrollar una Diabetes tipo 1, pero solo se encuentra en el 1% de la población.

Otros genes asociados son CTL-4, PTPN 22, SUMO4(9-10).

Table 2
Absolute risk for type 1 diabetes mellitus according to DR/DQ genotypes

| DR/DQ | Risk | First-degree relative | Population |
|----------------------------|-----------|-----------------------|------------|
| DR 3/4, DQ 0201/0302 | Very high | 1/4–5 | 1/15 |
| DR 4/4, DQ 0300/0302 | High | 1/6 | 1/20 |
| DR 3/3, DQ 0201/0201 | High | 1/10 | 1/45 |
| DR4/x, DQ 0302/x (x≠ 0602) | Moderate | 1/15 | 1/60 |
| X/X | Low | 1/125 | 1/600 |
| DR0403 or DQ0602 | Protected | 1/15,000 | 1/15,000 |

Box 1. Genetic susceptibility to type 1 diabetes mellitus

General population: 0.3%

Relatives: 2–50%

Twins

- Monozygotic: 30%–50%
- Dizygotic: 6%–10%

Siblings: 5%

Offspring

- Of affected father: 7%
- Of affected mother: 2%

Parents: 3%

Autoanticuerpos y autoinmunidad:

La Diabetes tipo 1 es una enfermedad autoinmune que culmina en la destrucción de la célula pancreática, caracterizado por insulinitis, la cual está asociada al daño aislado en la célula del islote. La forma específica por medio de la cual el sistema inmune destruye a la célula beta todavía no es bien conocida pero se caracteriza porque la células T producen al parecer apoptosis de estas células. Es probable que las citocinas y la liberación de CD8 también contribuyan a la destrucción de la célula beta.

La biopsia pancreática es la única que muestra directamente la injuria de las células beta pero es considerada insegura y dado que la diabetes tipo 1 es típicamente autoinmune basta demostrar la presencia de autoanticuerpos contra los antígenos de las células beta del páncreas: contra las células del islote (ICAs), la enzima descarboxilasa del ácido glutámico (GAD65A), la insulina (IAAs), y tirosina fosfato.

La DM1 se asocia a la presencia de autoanticuerpos en un 70-80% de los casos. El 0.5% de la población tiene autoanticuerpos positivos y 3-4% de los familiares con Diabetes tipo 1 tienen anticuerpos positivos (11)

El riesgo de presentar diabetes por tener un anticuerpo positivo es de un 20-25%, si son dos anticuerpos se eleva a 50-60%, si son tres sube a 70% y cuatro anticuerpos se eleva hasta un 80%, los anticuerpos deben ser medidos una semana antes del inicio de la insulina porque posteriormente se hacen indetectables entre un 60-70%.

La presencia de títulos ICA > 40 aumenta el riesgo de Diabetes tipo 1 en un 60-70% entre los 5 y 7 años, si estos anticuerpos se presentan el primer año de vida el riesgo es de un 90% de desarrollar Diabetes, si aparecen a los 40 años el riesgo es de un 30%, después de 10 años de iniciada la Diabetes tipo 1 menos del 5% tiene ICAS detectables y el primer anticuerpo que aparece en dicha enfermedad son los anticuerpos contra la insulina (12)

Medioambiente:

La presencia de Diabetes tipo 1 solo en el 50% de los gemelos, demuestra que el medio ambiente tiene una fuerte influencia. Una de las posibles etiologías puede ser infecciosa (rubeola, enterovirus, rotavirus, parotiditis, etc.) o alimenticia (ingesta de leche de vaca antes de los 3 o 4 meses de edad, de gluten entre los 3 meses y posterior a los 7 meses de edad) (13)

Marco Teórico:

Péptido C y diabetes

El desarrollo de eficientes y seguras estrategias de intervención para restaurar y preservar la producción endógena de insulina en pacientes con DM1 presenta un amplio rango de estudios. La mayor dificultad reside en escoger el ensayo más adecuado para medir la función de la célula beta.

El objetivo de la terapia es revertir la diabetes tipo 1, preservando la masa y la función de las células beta, alterada por los procesos de autoinmunidad.

Al inicio de la Diabetes tipo 1 la mayoría de los pacientes mantienen la capacidad de secretar insulina, lo que se llama periodo de luna de miel, durante este periodo los pacientes presentan mínima dificultad en mantener los niveles de glucemia dentro de límites normales, pero eventualmente dichos pacientes pierden la capacidad de secretar insulina, por pérdida de la función de la células B del páncreas. El péptido C es un marcador útil para mostrarnos la historia natural de la función residual de la célula B en pacientes con diabetes tipo 1, su secreción está en relación con la edad, la duración de la enfermedad y el control metabólico.

El Péptido C fue analizado desde 1976 y su medición se realiza anualmente en niños con diagnóstico de diabetes, el valor normal en niños no diabéticos fue entre: 0.18–0.63 nmol/L y se mide anualmente hasta los 5-6 años de edad (14)

En el 2001, la ADA estandarizó al péptido C como una medida de la secreción de insulina endógena (14), mediante un test de tolerancia a las 2h de haber ingerido una mezcla de comidas y se recomendó para medir la función de la célula beta (15).

- Los valores de péptido C posterior a una carga de tolerancia de alimentos fue definida a los 90min ≥ 0.20 pmol/mL. Los estudios realizados por TrialNet-EPCT (14-15), sin embargo previos estudios realizados en individuos con Diabetes mellitus tipo1 durante 2 años muestran una disminución en la secreción de insulina debido a un pico retrasado en la secreción de la misma inducido por la ingesta de comida, el tiempo de duración de dicho test es de 2h pero algunos lo pueden aumentar a 4h, para observar la respuesta en pacientes con daño a nivel de la célula beta, pero cuando este test se prolonga pueden haber hipo e hiperglucemias por lo tanto se prefiere usar solo por 2h.(15)

El péptido C (péptido conector) es una cadena de aminoácidos que conecta la cadena A y B de la proinsulina y es metabólicamente inactivo.

En la célula beta de los islotes de Langerhans durante la conversión de pro insulina a insulina, el péptido C es escindido de las cadenas de proinsulina, formándose la molécula de insulina. El péptido C y la insulina son secretados a la circulación portal en concentración equimolar. En la circulación periférica el nivel de péptido C es mayor que el nivel de insulina debido a que su vida media es más larga. Las concentraciones son un mejor indicador del funcionamiento de la célula beta que la concentración periférica de insulina. Además la determinación de péptido C no mide insulina exógena, razón por la cual el péptido C, se mide para diferenciar la insulina producida por el cuerpo de la insulina inyectada en el organismo y no reacciona de manera cruzada con los anticuerpos anti-insulina, los cuales interfieren con los inmunoensayos para determinar insulina. Investigaciones recientes sugieren que el péptido C que antes era considerado un producto de desecho tiene propiedades terapéuticas ya que puede jugar un papel importante en la prevención o atenuación de las complicaciones producidas por la Diabetes. (15,16)

Los valores clínicos de péptido C sobre la preservación de la célula B, evidenciados por el DCCT (Diabetes Control and Complication Trial) nos indica la preservación endógena de insulina, resultados de un buen control metabólico, obteniendo como resultado menos hipoglucemias y menos complicaciones de órgano blanco. Se calcula que el riesgo de presentar retinopatía es de 4.6% y el de microalbuminuria es de un 4.4%. (16)

Los reportes muestran que el péptido C disminuye substancialmente 3 meses después de realizar el diagnóstico, cuando los niveles de glucosa todavía se mantienen dentro de la normalidad o están asociados con mínimo o ningún síntoma (17)

Pacientes con preservada función de las células B, es decir, valores de péptido C > 0.2 nmol/l, han mostrado bajos niveles de Hemoglobina glucosilada A1c (HbA1c) y la elevación de esta se asocia a disminución marcada del péptido C hasta llegar a valores < 0.2nmol/l. (17-18)

La presencia de autoanticuerpos ayudan al diagnóstico de Diabetes tipo 1 con una rápida disminución del péptido C, después del inicio de los síntomas clínicos. El DCCT reporta que los niveles de péptido C aumentan con la edad y esto se ha observado más ampliamente en el periodo de la pubertad, pero hacen la siguiente

asociación si durante el periodo prepuberal los pacientes presentan un péptido C: $<0.2\text{nmol/l}$ implica mayor destrucción de células B

Péptido C de 0.2 pmol/ml es el umbral de respuesta del péptido C, esta respuesta puede ser apropiada para los adultos, pero es un nivel bajo para niños, lo que refleja un pobre control metabólico, El DCCT solo estudia pacientes con niveles de péptido C: $<0.5\text{ pmol/ml}$, la reducción de péptido C en pacientes los cuales no están obesos no fueron estudiados. (19)

Los niveles aumentados de péptido C demuestran que hay una función residual de la insulina a nivel del páncreas, además un porcentaje de pacientes con diabetes tipo1 llegan a presentar al ayuno y postestimulación variaciones considerables al año y a los dos años, esto depende de varios factores críticos relevantes como la edad al inicio de la enfermedad, el péptido C basal y a la estimulación, la respuesta del péptido C al diagnóstico, incluido el genotipo (HLA), la presencia de convulsiones, la severidad de la descompensación metabólica al diagnóstico, la presencia de resistencia a la insulina, cuando se realizó el diagnóstico, el uso de insulina cerca de lo normal, obtener HgA1c $<$ de 7%. Obtenida con la terapia intensiva, la cual tiene una gran influencia en los resultados producidos por la intervención terapéutica (19-20)

Estudios sobre las células B demuestran que pueden ser preservadas 4-5 años después del diagnóstico (21-22). Una pequeña proporción de pacientes con DX reciente de diabetes tipo 1 fueron enrolados en un estudio de 2 años el cual fue prospectivo y se observó una mejoría en la respuesta de secreción de la insulina después de una carga de comida con respecto a la línea de base. Pero este incremento no fue sostenido alrededor del tiempo ni todos los pacientes presentan una declinación en la secreción de insulina en función de la célula beta. (22)

Si este aumento transitorio en los niveles de insulina es por el incremento en la secreción de insulina o es por el daño en la función o en la reparación de la célula beta o en su función, los factores precipitantes de dicha situación no están claros.

Pacientes adultos con diabetes autoinmune (LADA) o del tipo 1.5 diabetes, usualmente se define como la diabetes de inicio a los 35 años, en donde se encontraron auto anticuerpo GAD e ICA positivo, sin la necesidad inmediata de utilizar insulina, la historia natural de las células B ha sido estudiada en un grupo pequeño de cohortes, se observó que el péptido C basal y postestimulación, es más alto al diagnóstico que en los pacientes con diabetes tipo 1, posteriormente, a los pocos años se observa una pérdida de péptido C posterior a la estimulación endógena y la rápida progresión a insulino-dependencia en los pacientes con

LADA en un periodo de 5 años lo cual es paralelo a la mayor pérdida endógena de péptido C. (23)

Se ha visto en algunos estudios que la HbA1c presenta un promedio de reducción del 0.1% por 0.1nmol/l que aumente el péptido C, en pacientes a quien se dio tratamiento intensivo, el tratamiento produce un aumento del 50% del péptido C después de dos años de tratamiento: (0.3 vs 0.45nmol/l). Bajo péptido C y GADA alto al diagnostico es un factor de riesgo que predice una disminución en la función de la célula B (24)

El péptido C también nos sirve como parámetro para determinar la efectividad de los tratamientos implementados en pacientes con diabetes tipo1 en aquellos con una buena reserva de insulina, lo cual conlleva al uso de bajas dosis de insulina, lo cual permite proteger la función residual de las células B, con una menor estimulación endógena de insulina.

No hay estudios prospectivos que muestren una intervención que aumente los niveles de péptido C o resultados que mejoren la historia natural de la enfermedad, tales como una disminución de las complicaciones metabólicas o el daño en órgano blanco, el DCCT muestra una mejoría en los niveles de péptido C y hemoglobina glicosilada Hgb A1c, cuando se mantiene la reserva de células b, su función se asocia a disminuir el riesgo de hipoglucemia, hay muy pocos estudios sobre que cantidad de células B son necesarias para evitar la hipoglucemia. (19-24)

Varios estudios(25-26) reportan que al medir el péptido C en el ayuno la respuesta obtenida es mayor comparada con la medición de dicho péptido posterior a la ingesta de alimentos, también se llevaron mediciones con respecto a la edad y se observo que a mayor edad mayor era la respuesta del péptido C, otras mediciones realizadas con respecto a los anticuerpos encontraron que los valores de péptido C disminuye en pacientes mayores de 50 años con diagnóstico de DM tipo 2 e ICA positivo fue el mismo resultado hallado en pacientes mas jóvenes

Todos los pacientes quien al inicio del DX de DM Tipo 1 el péptido C fue mayor 0.2 pmol/ml se asocio con un mayor control de DM y sus complicaciones.

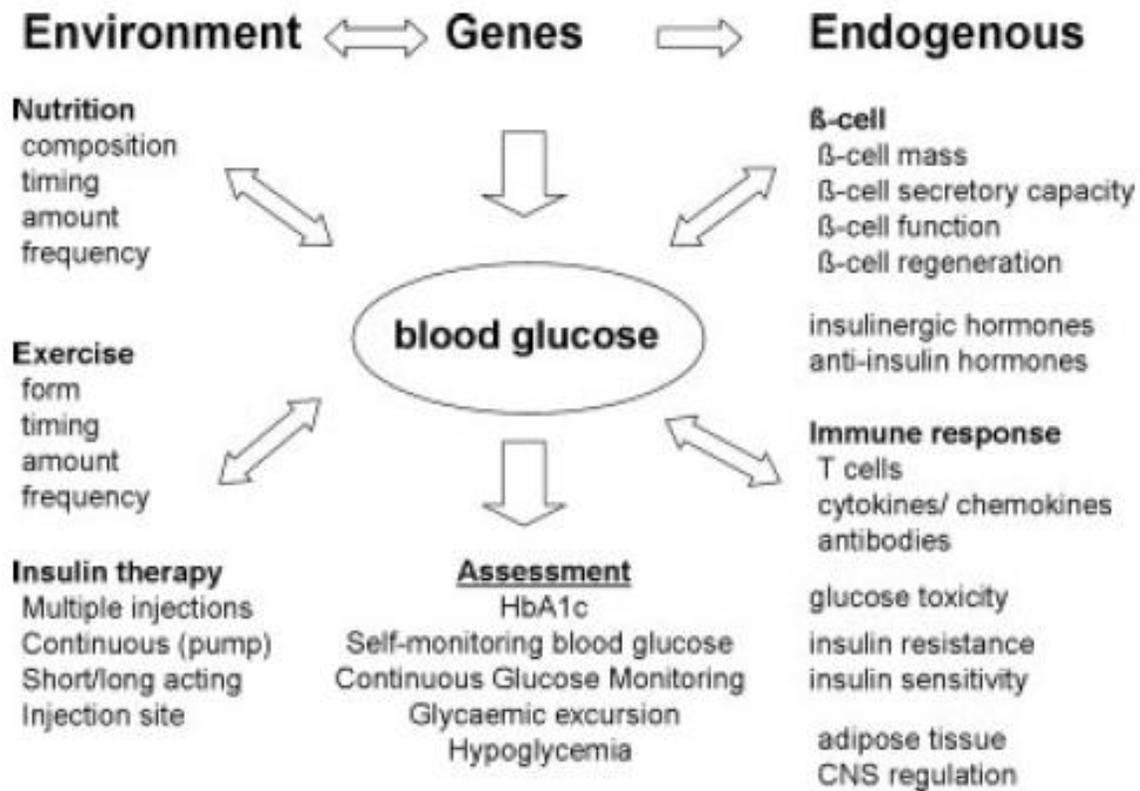


Figure 1. Complex interaction of environmental, genetic and endogenous factors and blood glucose

Diabetes Metab Res Rev 2009; 25: 694–704.
DOI: 10.1002/dmrr

Otro parámetro utilizado para el control de glucemia fue introducido en 1980 y 1986 respectivamente: hemoglobina glucosilada A1 y hemoglobina glucosilada A1c (HbA1 y HbA1c) y debe ser medida entre: tres a cuatro visitas respectivamente en el año. Para dicho análisis los laboratorios fueron calibrados internacionalmente y se realizaron factores de conversión y ajustes en el tiempo cada vez que el método fue cambiando. Después de 1996, el método ha sido calibrado nuevamente, the Swedish national standard Mono-S y están en continuo control una vez mas por laboratorios suecos the External Quality Assurance in Laboratory medicine in Sweden. (EQUALIS) reference method. Su rango normal de HA1C es entre: 3.6%- 5.0%. (26)

La hemoglobina glucosilada es una fracción de componentes menores de la hemoglobina que se forman con glucosa a través de mecanismos no enzimáticos. Debido a que los glóbulo rojo es permeable a la glucosa del medio que la rodea, la formación de glicohemoglobina es directamente proporcional y representa la historia o promedio glucemico de los últimos 120 días (vida media del eritrocito).

La separación de subfracciones permite obtener tres componentes (a,b,c) de los cuales A1c representa el 90% de ellos y es el que se utiliza con mayor frecuencia en el seguimiento de la diabetes. (26)

La A1c se considera el estándar de oro del nivel de control que alcanza cada persona con diabetes. Se estima si mismo, como un predictor de complicaciones de la enfermedad. Se acepta que se debe solicitar cada 3 a 4 meses (3 a 4 veces al año).

Los pacientes estudiados en el DCCT que iniciaron un tratamiento intensivo desde el principio, el promedio de hemoglobina glucosilada fue de 7.2% muy lejos de la recomendaciones dadas por la ADA $HbA1c < 6.0\%$.(26)

Se considera como valor de referencia $< 6\%$ en diversos niveles e instituciones internacionales se planteo la posibilidad de informar la A1c como el valor medio de la glucemia que representa, para que se unifique la manera de expresar el resultado y se interprete de manera correcta, mas allá de la metodología que se utilice para su determinación. TABLA 1

| RELACIÓN | |
|-----------------|-------------------|
| A _{1c} | Media de glucemia |
| 5% | 90 |
| 6% | 120 |
| 7% | 150 |
| 8% | 180 |
| 9% | 210 |
| 10% | 240 |
| 11% | 270 |
| 12% | 300 |
| 13% | 330 |
| 14% | 360 |

A ello se agrega la dificultad de que no se puede definir con absoluta precisión cuál es el valor umbral a partir del cual se puede afirmar que se evitan las complicaciones, ya que los resultados de A1c representan una variable continua (27) .

Figura 1. Tipos de control de la glucemia.

GP: glucosa plasmática

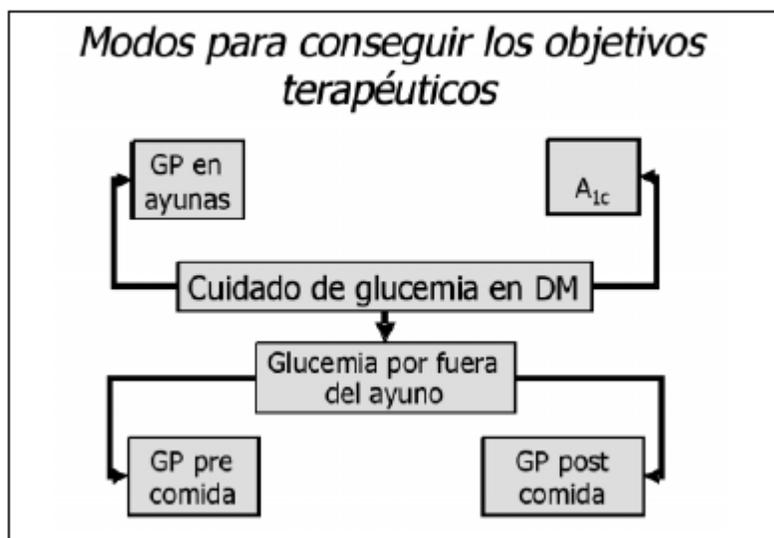


Figura 2. Objetivos de glucemia según la Federación Internacional de Diabetes (IDF), la Asociación Americana de Diabetes (ADA) y la Asociación Americana de Endocrinólogos Clínicos (AACE). Valor de referencia para A_{1c} < 6,0%.

Objetivos de glucemia

| | A _{1c} | Glucemia en ayunas | Glucemia Prandial |
|------|-----------------|--------------------|-------------------|
| IDF | < 6.5% | < 110 mg/dL | < 145 mg/dL |
| ADA | < 7.0% | 90 – 130 mg/DL | < 180 mg/dL |
| AACE | < 6.5% | < 110 mg/dL | < 140 mg/dL |





El DCCT (Diabetes Chronic Complications Trial (28) y otros estudios (29-30) reportaron que con un tratamiento intensivo se obtiene un mejor control glucémico en niños, sin embargo, también existen estudios que reportan que a pesar de llevar un régimen intensivo, el buen control glucémico solo se alcanza en un porcentaje bajo: 11%(31), 20%(32), 23%(33) y 30%(34). Existen varios factores

que influyen en el control glucémico de los niños con diabetes mellitus tipo 1 (DM1), tales como índice de masa corporal (IMC), edad, tiempo de evolución, dosis de insulina(35-36), patrones alimentarios(37) y depresión(38), entre otros múltiples factores (39).

El buen control de la diabetes ha demostrado mejorar la respuesta del péptido C pero este efecto tiene una corta duración; además, la respuesta del péptido C fue mayor en los que recibían tratamiento intensivo que en los que recibieron terapia convencional durante 5 años.

Algunos estudios no muestran diferencias en la secreción de péptido C en pacientes con o sin complicaciones, pero el DCCT muestra menor riesgo de complicaciones en aquellos pacientes quienes tienen secreción conservada de péptido C (20). Aunque la secreción de péptido C en los primeros años del diagnóstico de diabetes disminuye, Bonfanti et al. (40) encontraron una significativa reducción del péptido C a los 5 años del DX de DM tipo 1.

Likewise Wallensteen et al. (41) encontraron que aquellos pacientes que tiene Acs ICA negativo tienen un alto nivel de secreción de péptido C postprandial (entre 1,9, 12 meses) después del diagnóstico comparado con pacientes con ICA positivo.

Varios estudios han definido que un buen control glucémico se ve reflejado en la respuesta de la HbA1c, la cual es inversamente proporcional a la secreción de insulina en aquellos pacientes quienes recibieron tratamiento intensivo presentaron una disminución en los niveles de hemoglobina glucosilada con un aumento de los valores de péptido C y estos pacientes requirieron menor dosis de insulina con el paso de los años.

Aunque datos citados por el DCCT en un estudio que se llevo a cabo en 1441 sujetos ente 1-15 años, 855 de los cuales se les diagnóstico Diabetes con un tiempo de duración de dicha enfermedad entre 1-5 años, clasificando 303 de estos pacientes que además tenían tratamiento intensivo como respondedores ya que lograron tener niveles de péptido C < 0.5 ngr/dl y los no respondedores 278 con tratamiento convencional tenían un péptido C <0.2 ngr/dl como no respondedores a dicha terapia.

Los respondedores fueron los de mayor edad, mujeres, con menor tiempo de duración de la enfermedad, con un nivel de hemoglobina glucosilada bajo y péptido C alto. (41)

PREGUNTA DE INVESTIGACION:

Cuales son los niveles de Péptido C en pacientes pediátricos con diabetes tipo 1 del Hospital Infantil de México y cual es su correlación con el control glucemico, la edad y el tiempo de evolución?

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

Desde el 2001, una exhaustiva revisión internacional organizada por la Asociación Americana de Diabetes, determinó que la mejor forma de evaluar la función residual de las células beta pancreáticas en pacientes con diabetes, es a través del péptido C, resultando de vital importancia dirigir estrategias para conservar lo mejor posible tal funcionalidad porque con ello se puede pronosticar menor riesgo de hipoglucemias y de complicaciones crónicas. Por otro lado, la mejor manera de determinar el grado de control glucemico en los pacientes con diabetes es mediante la determinación de la hemoglobina glucosilada A1c y, lamentablemente, el buen control solo se logra en el 11-30% de los niños con DM1, a pesar de las innovaciones tecnológicas existentes, por ello, se desea conocer como son los niveles de Péptido C en pacientes pediátricos mexicanos con DM1 y si existe una correlación con el control glucemico, la edad y el tiempo de evolución.

JUSTIFICACION:

La diabetes es una de las causas más comunes de morbilidad y mortalidad a nivel mundial y en México. Se trata de una enfermedad crónica degenerativa que genera altos costos a nivel individual y social y desde un punto de vista médico y humanista disminuye de forma importante la esperanza y calidad de vida. Además, se ha demostrado que a pesar de los avances en su tratamiento, alcanzar un óptimo control glucémico sigue siendo un reto importante para el equipo médico.

Por ello es importante identificar factores pronóstico sobre la evolución de estos pacientes para incidir en ellos y prevenir desenlaces fatales propios de la enfermedad. El péptido C no solo es útil para ayudar a diferenciar el tipo de diabetes en pacientes pediátricos, también nos informa acerca del grado de función residual de la célula beta pancreática y en relación a ello se dirigen los estudios de prevención y tratamiento para predecir el desarrollo de la enfermedad y la evolución que puede presentar. A nivel internacional existen pocos estudios que reporten niveles de péptido C en pacientes pediátricos con DM1 y en México y Latinoamérica no existe estudio alguno a pesar de que la recomendación ha sido elaborada desde principios del milenio.

Por lo anterior, es importante describir como son estos niveles en nuestros pacientes pediátricos mexicanos y saber si hay correlación con el control glucémico, la edad, el tiempo de evolución y la dosis de insulina. Posteriormente se podrán realizar estudios prospectivos que comprueben en nuestra población la utilidad del péptido C como factor pronóstico e indicador del éxito terapéutico.

OBJETIVO PRIMARIO:

1. Describir los niveles de péptido C en pacientes pediátricos con DM1

OBJETIVO SECUNDARIO:

1. Correlacionar los niveles de péptido C encontrados con niveles de HbA1c, edad, tiempo de evolución y dosis de insulina.

PACIENTES Y METODOS.

Estudio transversal descriptivo en el cual se analizaron 100 expedientes de pacientes con diabetes tipo 1 atendidos en la Clínica de Diabetes del Hospital Infantil de México. Se registraron los datos clínicos y de laboratorio de cada paciente.

De acuerdo a los niveles de péptido C, se conformaron 2 grupos, uno de adecuados niveles de péptido C (≥ 2 nmol/L) y otro con niveles inadecuados o de baja reserva pancreática (< 2 nmol/L) y comparamos sus características en cuanto a edad, sexo, tiempo de evolución, niveles de Péptido C al diagnóstico, HbA1c, dosis de insulina. Se realizó estadística descriptiva y se utilizó prueba t de student para buscar si había diferencias entre ambos grupos. Se consideró una diferencia estadísticamente significativa con un valor de $p < 0.05$

Se identificaron variables potencialmente confusoras, tales como edad, edad al diagnóstico, tiempo de evolución, péptido C basal, anticuerpos, dosis de insulina y tipo de terapia utilizada.

Definiciones de variables

- Hemoglobina glucosilada A1c: HbA1c se refiere al producto de una reacción no enzimática entre la glucosa y la hemoglobina A1. El eritrocito humano es totalmente permeable a la glucosa, que se puede combinar de manera no enzimática entre la glucosa alfa-amino de la valina N-Terminal de la cadena beta de la hemoglobina y la glucosa forma una aldimina inestable o producto intermedio de base Schiff (fracción lábil). Esta reacción es lenta y irreversible y se produce a una velocidad proporcional a la concentración de glucosa en sangre. El producto intermedio de Amadori para formar el producto cetoamina-1-glucofrutovalina. Dado que la reacción depende de los reactantes, el grado de glucosilación (registrado como porcentaje de HbA1c) es proporcional a la concentración media de glucosa en sangre respecto al intervalo de vida circulante de la hemoglobina en el glóbulo rojo (aproximadamente 120 días). La medición de HbA1c se basa en el principio del inmunoensayo de inhibición turbidimétrica (TINIA) y la medición de hemoglobina total se basa en una modificación de la reacción de hematina alcalina. A partir de los valores obtenidos para cada uno de estos dos analitos en (gr/dl), se registra y se calcula el nivel de hemoglobina total glucosilada como el % HbA1c. El % HbA1c se estandariza según los resultados obtenidos en el ensayo de control y complicaciones de la diabetes (DCCT).

No es necesario realizar un pretratamiento para retirar la función lábil ya que únicamente se detecta la forma de HbA1c que ha sufrido la reordenación de Amadori. Este análisis mide todas las variantes de la hemoglobina que están glicosiladas en el N-terminal de la cadena beta y tiene epítopos idénticos al de la HbA1c.

Medición de Hemoglobina Total:

Se añade una muestra de sangre completa a la primera cubeta, que contiene el reactivo lisante. Este reactivo lisa los glóbulos rojos y convierte simultáneamente la hemoglobina liberada en un derivado que tiene un espectro de absorción característico. A continuación una alícuota de la sangre completa lisada se transfiere de la primera cubeta donde mide la primera concentración de hemoglobina total a 405nm y 700nm

Medición de Hemoglobina A1c:

La misma alícuota de sangre completa lisada que ha transferido de la primera cubeta a la segunda cubeta para la medición de hemoglobina también se utiliza la medición de A1c. La segunda cubeta contiene anticuerpos anti-HbA1c en un reactivo tamponado. La hemoglobina A1c de la muestra reacciona con anticuerpos anti-HbA1c para formar complejos solubles antígeno-anticuerpo, a continuación se añade a esta cubeta un reactivo de poliheptano y forma complejo insoluble anticuerpo-poliheptano. La velocidad de esta reacción se mide por turbidimetría a

340nm y en blanco a 700nm y es inversamente proporcional a la concentración de Hba1C en la muestra.

ESTABILIDAD DEL CALIBRADOR:

Los calibradores reconstituidos cerrados son estables durante 8h a 25 C, 48h a 2-8C y 3 meses a -20C.(Variable numérica continua)

- Péptido C: es un ensayo inmunométrico quimioluminiscente en fase sólida. La fase sólida (bola) está recubierta con anticuerpos monoclonales murinos anti-péptido C. La fase líquida consiste en fosfatasa alcalina (de intestino bovino) conjugado con anticuerpo monoclonal murino anti-péptido C en solución tampón.

La muestra de los pacientes y el reactivo se incuban junto con la bola recubierta 30 minutos. Durante este tiempo, el péptido C de la muestra forma complejos tipo sándwich con anticuerpo monoclonal murino anti-péptido C de la bola y enzimas conjugadas con anticuerpo monoclonal murino anti-péptido C del reactivo. Después, la muestra del paciente y el conjugado enzimático no unido se eliminan mediante lavados por centrifugación. Finalmente se añade el sustrato quimioluminiscente a la unidad de reacción que contiene la bola y se genera una señal del sustrato quimioluminiscente a la unidad de reacción que contiene la bola y se genera una señal proporcional a la cantidad de enzima unida.

Ciclos de Incubación: 1 por 30 minutos
Tiempo hasta del primer resultado: 42 minutos.

Recogida de la muestra:

El paciente debe estar en ayunas, recoger la sangre por venopunción, evitando la hemólisis, en tubo sin anticoagulante o con heparina. Anotando la hora de recogida y proceder a la separación del suero de las células.

Conservación:

Realizar el ensayo en las 2-3h tras la recogida de la muestra, congelar la muestra a -20 C durante una semana.

Factor de Conversión:

Ng/ml por 331 pmol/l

Rango informable: 0.1-20ng/ml
(0.03-6.6 nmol/l; 33-6620 pmol/l).

Variables confusoras:

Edad: Tiempo transcurrido entre la fecha de nacimiento del paciente y el momento de la determinación de su péptido C y HbA1c. Se reporta en años, variable numérica continua.

Edad al diagnóstico: Tiempo transcurrido entre la fecha de nacimiento y la fecha del diagnóstico de la enfermedad DM 1. Se reporta en años. Variable numérica continua

Tiempo de evolución: Tiempo transcurrido entre la fecha del diagnóstico y la fecha de determinación del péptido C y la HbA1c. Variable numérica continua

Anticuerpos: Contra islotes de células de Langerhans (ICA) y contra descarboxilasa del ácido glutámico (GAD), se realizan en laboratorio externo y se reportan como positivos o negativos. Variable nominal dicotómica.

Dosis de insulina: Dosis total de unidades de insulina por día de acuerdo al peso reportado en kg. Medición utilizada U/kg/d. Variable numérica continua

Tipo de terapia: El tratamiento intensivo se consideró cuando los pacientes reciben 3 dosis o más de insulina (antes de los alimentos y/o antes de acostarse) y el convencional cuando reciben solo 2 dosis de insulina mixta (predesayuno y precena). Variable dicotómica nominal: Intensivo vs. Convencional.

Buen control glucémico: HbA1c <8.5% en niños de 6 o menos años de edad, <8% para los niños de 6 a 12 años de edad y <7.5% en adolescentes entre los 13 y 19 años de edad. Variable dicotómica nominal: Bueno vs. Pobre.

Resultados

Se revisaron 100 expedientes de pacientes con diagnóstico de DM1 y más de un año de evolución que tuvieran determinación de péptido C en su última visita, así como péptido C al momento del diagnóstico, pero solamente 44 cumplieron con la determinación de péptido C actual. Más del 80% tuvo el reporte del péptido C al diagnóstico o dentro de las primeras visitas y un poco más del 70% pudo realizar anticuerpos antidiabéticos (anti-GAD, anti-ICA) al diagnóstico.

El 61.4% correspondió al sexo femenino, los promedios de edad, edad al diagnóstico y tiempo de evolución fueron 12.4 ± 3.4 , 7.2 ± 4.1 y 5.3 ± 3.5 años, respectivamente; el promedio de HbA1c fue $10 \pm 3.3\%$, el péptido C al diagnóstico fue 0.94 ± 0.79 ng/ml y el actual fue 0.5 ± 0.6 ng/ml. El 27.3% presentó buen control glucémico, niveles adecuados de péptido C basal (>0.5 ng/ml) estuvieron presentes en el 75.7% y el péptido C actual solo en el 34.1%, Acs anti-GAD y anti-ICA positivos estuvieron presentes en el 55 y 58.8%, respectivamente. Cuadro 1

Al realizar t de student, hubo diferencias estadísticamente significativas al comparar niveles de péptido C al diagnóstico vs. actual y al hacer los 2 grupos de acuerdo a los valores del péptido C hubo diferencias clínicas importantes en cuanto edad al diagnóstico, tiempo de evolución, HbA1c y dosis de insulina, siendo solamente la última variable (dosis de insulina) estadísticamente significativa $p < 0.04$. Ver diferencias por grupos de péptido C en el cuadro 2.

Cuadro 1

| Características | Promedio y desviación estándar (N=44) | Mediana (N=44) |
|---------------------|---------------------------------------|----------------|
| Edad | 12.4±3.4 | 12.6 |
| Edad al diagnóstico | 7.2±4.1 | 7 |
| Tiempo de evolución | 5.3±3.5 | 4.2 |
| HbA1c actual | 10±3.3 | 9.5 |
| Péptido C basal | 0.94±0.79 | 0.66 |
| Péptido C actual | 0.5±0.6 | 0.32 |
| Dosis de insulina | 0.75±0.34 | 0.73 |

Cuadro 2

| | Gpo. c/Péptido C adecuado N=16 | Gpo. c/Péptido C inadecuado N=28 |
|--------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|
| Edad actual | 12±4.1 | 12.5±3.06 |
| Edad al diagnóstico | 8.2±3.8 | 6.7±4.2 |
| Tiempo de evolución | 4.3±2.8 | 5.9±3.8 |
| Hb A1c actual | 9±4.1 | 10.6±2.6 |
| Péptido C al diagnóstico | 1.05±0.97 | 0.84±0.62 |
| Dosis de insulina | 0.61±0.44* | 0.83±0.24 |

* p<0.04

CONCLUSIONES:

Aun no se siguen las recomendaciones de la ADA en cuanto a determinar niveles de péptido C. En estos pacientes los niveles de peptido C son muy superiores en comparación con lo reportado en la literatura dada la edad y la positividad de anticuerpos fue de menor frecuencia con respecto a otros estudios. Se corrobora relación con edad al diagnóstico, niveles de HbA1c, peropoblacion para confirmar nuestros hallazgos y vigilar la evolucion de los pacientes.

BIBLIOGRAFIA:

- 1.- Fagot-Campagna A, Pettitt DJ, Engelgau MM, et al. Type 2 diabetes among North American children and adolescents: an epidemiologic review and a public health perspective. *J Pediatr* 2000;136(5):664– 72.
- 2.-Centers for Disease Control and Prevention. Diabetes projects. Available at: <http://www.cdc.gov/diabetes/projects/cda2.htm>. Accessed August 15, 2005
- 3.-Karvonen M, Viik-Kajander M, Moltchanova E, et al. Incidence of childhood type 1 diabetes worldwide: Diabetes Mondiale (DiaMond) Project Group. *Diabetes Care* 2000;23(10): 1516– 26.
- 4.-De Ferranti, Oosganian s. Epidemiology of paediatric metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus. *Diabetes and vascular disease research* 2007; 4 (4): 285-296.
- 5.- Hogan P, Dall T, Nikolov P. Economic costs of diabetes in the US in 2002. *Diabetes Care* 2003;26(3):917– 32
- 6.- Tamborlane WV, Ahern J. Implications and results of the Diabetes Control and Complications Trial. *Pediatr Clin North Am* 1997;44(2):285– 300.
- 7.- Eisenbarth GS. Type I diabetes mellitus: a chronic autoimmune disease. *N Engl J Med* 1986; 314(21):1360 –8.
- 8.- Icks A, Rosenbauer J, Haastert B, et al. Direct costs of pediatric diabetes care in Germany and their predictors. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2004;112(6):302– 9
- 9.- Anjos SM, Tessier MC, Polychronakos C. Association of the cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 gene with type 1 diabetes: evidence for independent effects of two polymorphisms on the same haplotype block. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89(12):6257–65.
- 10.- Guo D, Li M, Zhang Y, et al. A functional variant of SUMO4, a new I kappa B alpha modifier, is associated with type 1 diabetes. *Nat Genet* 2004;36(8):837–

11.- Zheng W, She JX. Genetic association between a lymphoid tyrosine phosphatase (PTPN22) and type 1 diabetes. *Diabetes* 2005;54(3):906– 8.

12.- Winter WE, Harris N, Schatz D. Immunological markers in the diagnosis and prediction of autoimmune type 1a diabetes. *Clin Diabetes* 2002;20(4):183–91

13.- Lohmann T, Kellner K, Verlohren HJ, et al. Titre and combination of ICA and autoantibodies to glutamic acid decarboxylase discriminate two clinically distinct types of latent autoimmune diabetes in adults (LADA). *Diabetologia* 2001;44(8):1005–10.

14. - Overby NC, Margeirsdottir HD, Brunborg C,[et al]et-al[/et al]. The influence of dietary intake and meal pattern on blood glucose control in children and adolescents using intensive insulin treatment. *Diabetologia* 2007; 50: 2044-51.

15. - Greenbaum CJ, Harrison LC. Immunology of Diabetes Society; Guidelines for intervention trials in subjects with newly diagnosed type 1 diabetes. *Diabetes* 2003; 52: 1059–1062.

16. - Steffes MW, Sibley S, Jackson M, Thomas W. β -cell function and the development of diabetes-related complications in the and the development of diabetes-related complications in the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes Care* 2003; 26: 832–83

17.-Tsai EB, Sherry NA, Palmer JP, Herold KC. The rise and fall of Insulin secretion in type 1 diabetes mellitus. *Diabetologia* 2006; 49: 261

18. - Sherry NA, Kushner JA, Glandt M, Kitamura T, Brillantes AM, Herold KC. Effects of autoimmunity and immune therapy on beta-cell turnover in type 1 diabetes. *Diabetes* 2006; 55: 3238–3245.

19. - Keymeulen B, Vandemeulebroucke E, Ziegler AG, et al. Insulin needs after CD3-antibody therapy in new-onset type 1 diabetes. *N Engl J Med* 2005; 352: 2598–2608.

20. - Paty BW, Senior PA, Lakey JR, Shapiro AM, Ryan EA. Assessment of glycemic control after islet transplantation using the continuous glucose monitor in insulin-independent versus insulin-requiring type 1 diabetes subjects. *Diabetes Technol Ther* 2006; 8: 165–173.

21. - Törn C, Landin-Olsson M, Lernmark A, *et al.* Prognostic factors for the course of beta cell function in autoimmune diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 4619–4623.

22. - Greenbaum CJ, Mandrup-Poulsen T, McGee PF, *et al.*, The Type 1 Diabetes Trial Net Research Group and The European C peptide 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: 1966–1971.

23. - Little RR, Rohlfing CL, Tennill AL, *et al.* Standardization of C-peptide measurements. *Clin Chem* 2008; 54: 1023–1026.

24.- Raz I, Avron A, Tamir M, *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, doubleblind, phase II trial. *Diabetes Metab Res Rev* 2007; 23: 292–298

25.-*ADA Workshop Report C-Peptide Is the Appropriate Outcome Measure for Type 1 Diabetes Clinical Trials to Preserve β -Cell Function Report of an ADA Workshop, 21–22 October 2001* Jerry P. Palmer,^{1,2} G. Alexander Fleming,³ Carla J. Greenbaum,⁴ Kevan C. Herold,⁵ Lisa D. Jansa,³ Hubert Kolb,⁶ John M. Lachin,⁷ Kenneth S. Polonsky,⁸ Paolo Pozzilli,⁹ Jay S. Skyler,¹⁰ and Michael

26.-Nordwall M, Arnqvist HJ, Bojestig M, Ludvigsson J. Good glycemic control remains crucial in prevention of late diabetic complications – the Linköping Diabetes Complications Study *Pediatric Diabetes* 2009; 10: 168–176.

27.- Huurman VA, Decochez K, Mathieu C, Cohen IR, Roep BO. Therapy with the hsp60 peptide DiaPep277 in C-peptide positive type 1 diabetes patients. *Diabetes Metab Res Rev* 2007; 23: 269–275.

28.-The DCCT Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1993; 329:977-86.

29.-Alemzadeh R, Ellis JN, Holzum MK, Parton E, Wyatt DT. Beneficial effects of continuous subcutaneous insulin infusion and flexible multiple daily insulin regimen using insulin glargine in type 1 diabetes. *Pediatrics* 2004; 114:e91-5

30.- Dost A, Herbst A, Kintzel K. Shorter remission period in young versus older children with diabetes mellitus type 1. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2007; 115: 33-7.

31.-Olsen BS, Johannesen J, Sjolie AK, Borch-Johnsen K, Hougaard P et al. Metabolic control and prevalence of microvascular complications in young Danish patients with type 1 diabetes mellitus. *Diabet Med* 1998; 16:79-85.

32.-Cardwell CR, Patterson CC, Allen M, Carson DJ. Diabetes Care provision and glycaemic control in Northern Ireland: a UK regional audit. *Arch Dis Child* 2005; 90:468-73.

33.-Gerstl EM, Rabl W, Rosenbauer J, Grobe H, Hofer SE, Krause U, Holl RW. Metabolic control as reflected by HbA1c in children, adolescents and young adults with type-1 diabetes mellitus: combined longitudinal analysis including 27035 patients from 207 centers in Germany and Austria during the last decade. *Eur J Pediatr* 2008; 167:447-53.

34.-Mortensen HB, Robertson KJ, Aanstoot HJ, Danne T, Holl RW, Atchison JA, et al. Insulin management and metabolic control of type 1 diabetes mellitus in childhood and adolescence in 18 countries. Hvidore Study Group on Childhood Diabetes. *Diabet Med* 1998; 15:752-9.

35.-Holl RW, Swift PG, Mortensen HB, Lynggaard H, Hougaard P, Dorchy H et al. Insulin injection regimens and metabolic control in an international survey of adolescents with type 1 diabetes over 3 years: results from the Hvidore study group. *Eur J Pediatr* 2003; 162:22-9

36.-Danne T, Kordonouri O, Enders I, Weber B. Factors influencing height and weight development in children with diabetes: Results of the Berlin Retinopathy Study. *Diabetes Care* 1996; 20:281-85.

37.-Mehta S, Volkening L, Anderson BJ, Nansel T, Laffel L et al. Dietary behaviors predict glycemic control in youth with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2008; 31:1318-20.

38.-Northam EA, Todd S and Cameron FJ. Interventions to promote optimal health outcomes in children with type 1 diabetes---are they effective? *Diabet Med* 2005; 23:113-21.

39.-Moreland EC, Tovar A, ZuehlkeJB, Butler DA, Milaszewski K, Laffel L. The impact of physiological, therapeutic and psychosocial variable on glycemic control in youth with type 1 diabetes mellitus. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2004; 17: 1533-44.

40.-Cefalu WT. Glycemic Control and Cardiovascular disease—Should we reassess clinical gloals. *New Engl J Med* 2005; 353:2707-09.

41.-Toffolo G, Breda E, Cavaghan MK, Ehrmann DA, Polonsky KS, Cobelli C: Quantitative indexes of beta-cell function during graded up & down glucose infusion from C-peptide minimal models. *Am J Physiol* 280:E2– E10, 2001

42.- Katz LE, Jawad AF, Ganesh J et al. Fasting C-peptide and insulin like growth factor 1 binding protein- 1 levels help to distinguish childhood type 1 and type 2 diabetes at diagnosis. *Ped Diab* 2007; 8:53-9.

