

AVALIAÇÃO SIMULTÂNEA DA FUNÇÃO EXÓCRINA E DAS CÉLULAS B DO PÂNCREAS APÓS ESTIMULAÇÃO SECRETÍNICA

B. PINHO, T. ANTUNES, M. NORONHA e O. BORDALO

Unidade de pancreatologia do Serviço de Medicina III do Hospital de Santa Maria. Lisboa

RESUMO

Para o diagnóstico de uma diabetes pré-clínica coexistente com uma insuficiência pancreática é necessário submeter o doente a 2 testes demorados e incómodos: a Prova *Standard* de Secretina e a Curva de Glicémia. Com a finalidade de fazer uma avaliação simultânea da função exócrina do pâncreas e das células B, utilizámos o estímulo de 1 U/kg de peso de Secretina, não só *Boots* como também *Vitrum*, num grupo de 29 indivíduos, diabéticos do tipo II e não diabéticos, e estudámos o padrão de resposta de secreção pancreática quer exócrina quer endócrina (Peptido C e Insulina). Os resultados obtidos variaram consoante o tipo de hormona utilizada sendo os padrões de resposta dos indivíduos normais diferentes dos observados nos diabéticos. Embora este estudo preliminar esteja de acordo com a nossa hipótese inicial, torna-se necessário um aumento da casuística para podermos utilizar este método com a finalidade a que nos propuemos.

SUMMARY

Simultaneous evaluation of exocrine and B cell function of the pancreas after secretin stimulation

To provide the diagnosis of a pre-clinical diabetes coexisting with pancreatic insufficiency, patients are necessarily submitted to a double fastidious test: the secretin test and the glucose tolerance test. The authors have performed a simultaneous evaluation of the exocrine pancreatic function and B cell response by means of a standard stimulus of 1 u/kg of Secretin both *Boots* and *Vitrum*. A group of 29 patients — non diabetics and diabetics type II — was submitted to this study. The exocrine function was evaluated by the Standard Secretin Test and B cell secretion by both the Insulin (IRI) and C-Peptide (CRP) plasma assay. A different pattern of response was obtained in normals and diabetics, no matter their exocrine pancreatic function, and differences, were also noted according to the type of hormone used. These results are in agreement with our hypothesis but these preliminary data must be confirmed to point out this method as a test to detect a pre-clinical diabetic stage associated with pancreatic disease.

INTRODUÇÃO

Já em 1897 Claude Bernard¹ no seu trabalho *Leçons sur le Diabète* imprime a ideia de uma relação entero-pancreática que viria mais tarde, em 1906, a ser desenvolvida por Moore e col.², considerando a existência de um *factor duodenal* estimulante da «secreção endócrina do pâncreas». Vinte e oito anos mais tarde, La Barre e col.³ postularam a existência de 2 princípios hormonais activos na secretina: a *incretina*, estimulante da secreção *interna* do pâncreas e a *excretina*, estimulante da sua secreção externa.

Recentemente, Creutzfeldt^{4, 5, 6, 7} deu novo impulso a estas concepções teóricas e define *incretina* como um transmissor de acção hormonal originado e libertado na mucosa gastro-intestinal quando estimulado pelos hidratos de carbono, e destinado a reforçar o estímulo insulino-secretor da glucose nas células B.

No retículo endoplasmático rugoso destas, forma-se um polipeptido com 86 aminoácidos, a pró-insulina, que, após transferência para o aparelho de Golgi, sofre uma clivagem proteolítica em: Insulina e Peptido de Conexão — Peptido C. Durante a exocitose estas substâncias são assim segregadas em concentrações equimolares juntamente com dois dipéptidos básicos.^{8, 9}

A Secretina não pode, dentro do conceito actual, ser considerada como factor incretínico^{4-7, 10, 11} pois, a sua acção como estimulante da secreção de insulina, só se verifica com doses superiores às fisiológicas.

Sabe-se que a secretina é libertada em «picos» de curta duração, sendo a sua concentração, no sangue periférico inferior a 10 pmo1/l.

Bernard Enk e col.¹² em vários estudos efectuados sobre a relação dose-resposta da secretina-insulina, observou, que a administração de 0,9 pmo1/kg de secretina, em injeção única, não tinha qualquer efeito insulínogénico enquanto

que uma dose superior (16 pmol/kg) constituía um bom estímulo para a secreção das células B dos ilhéus de Langherans.

Por outro lado a Secretina é utilizada isoladamente ou associada a outras hormonas, como estimulante do pâncreas exócrino. A sua acção faz-se sentir nas células dos canaliculos intercalares e nas centro-acinosas, prolongamentos daquelas para o lume do ácino, promovendo a secreção pancreática de água e electrólitos. Pode, ainda, constituir um estímulo fraco das células acinosas, participando na secreção enzimática, o que em conjugação com o arrastamento do conteúdo canalicular promovido pela secreção hidro-electrolítica, oferece uma ideia, embora grosseira, sobre a secreção acinosa dos enzimas pancreáticos.

Nesta investigação pretendeu-se pois, utilizar a SECRETINA como estímulo secretor exo-endócrino, de modo a permitir a avaliação simultânea da função exócrina do pâncreas e da secreção hormonal das células B dos ilhéus de Langherans. Deste modo, o estudo de ambas as funções poder-se-ia processar mediante a utilização de uma prova única de estimulação hormonal.

MATERIAL E MÉTODOS

O nosso estudo incidiu em 29 indivíduos — 17 não diabéticos e 12 diabéticos de tipo II (não insulino-dependentes) com ou sem insuficiência pancreática.

Numa 1.^a fase avaliou-se a capacidade de resposta do pâncreas exócrino e das células B, após estimulação com Secretina *Boots* em injeção única de 1 unidade de secretina por quilo de peso.

Numa 2.^a fase o estudo incidiu sobre 14 dos mesmos 29 indivíduos, utilizando desta vez a Secretina *Vitrum* administrada na mesma dose e de acordo com idêntico protocolo.

Após a administração da Secretina (1 U/kg/p) procedeu-se à recolha fraccionada de suco duodenal para a avaliação dos seguintes parâmetros: Volumes ($N > 2$ ml/kg), concentração máxima dos bicarbonatos ($N > 90$ mEq/l) e concentração de amilase ($N > 6$ UI/kg/80 m).

Durante a prova foram efectuadas colheitas de sangue venoso periférico antes da administração da hormona e 5, 10, 20, e 30 minutos imediatamente a seguir, para determinação da glicémia, da insulinémia e do Peptido C. A técnica utilizada no doseamento da glicémia foi a da glucose-oxidase (v.n. 60-120 mg/100 ml) e para a insulina e péptido C, o radioimudoseamento, respectivamente com os kits Sero-n (v.N. 1-20 U/ml) e Daichi (v.n. 0,5-3,5 ng/ml).

RESULTADOS

Dada a pequena variação real do Peptido C e da Insulina durante a prova, utilizámos como parâmetros de estudo as variações percentuais em relação ao valor de base.

Na Figura 1 estão representadas as variações do Peptido C, após estimulação com Secretina *Boots*.

Em relação aos indivíduos não diabéticos, na 1.^a série de casos obteve-se uma elevação do Peptido C, aos 5 minutos. No entanto com o aumento da casuística verificou-se a existência de respostas diferentes e em alguns casos constatou-se mesmo um padrão de inibição.

Numa tentativa de verificar se estas discrepâncias poderiam, de algum modo, ser atribuíveis a alterações da secreção exócrina, dividimos os indivíduos não diabéticos em dois grupos, consoante havia ou não evidência de insufi-

ciência pancreática, não se tendo obtido qualquer diferença significativa.

Em relação aos diabéticos, nos 7 primeiros casos foi patente uma curva de resposta com elevação mais lenta e mantida, mas, tal como aconteceu nos casos anteriores, este padrão de resposta não foi o único.

Com o doseamento de Insulina observaram-se as mesmas discrepâncias, já encontradas com o Peptido C (Fig. 2).

Após estimulação com Secretina *Vitrum* constatou-se que:

Nos indivíduos não diabéticos, as elevações do Peptido C, em relação ao valor basal, após a administração do estímulo, variaram entre 30 % e 120 % com média de 67 %, não tendo havido casos de inibição. Contudo, um padrão de inibição já se verificou em 42 % de casos de diabéticos, e nos restantes, a elevação constatada foi muito menos evidente (15 % - 50 %) com valor médio de 26 %. (Fig. 3)

O radioimudoseamento da Insulina mostrou uma variação paralela (Fig. 4). Em todos os casos as glicémias mantiveram-se sempre dentro de valores com variações sem significado estatístico.

CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÃO

Utilizando a secretina como estimulante, obtivemos uma resposta não só do pâncreas exócrino como também um efeito insulino-secretor. Em relação a este último, esperávamos encontrar, nos indivíduos com reserva insulínica normal uma resposta marcada ao estímulo secretínico, e nos que apresentam uma reserva insulínica diminuída, como acontece nos diabéticos de tipo II, a resposta deveria ter uma menor amplitude.

Os nossos resultados estão de acordo com a hipótese inicial, uma vez que a análise percentual dos mesmos mostra uma elevação média do Peptido C, em relação ao valor basal, após estimulação secretínica, sem dúvida significativa nos indivíduos normais, sendo essa elevação menos marcada nos diabéticos (cerca de $\frac{1}{3}$).

Fica por explicar a inibição de secreção que se verifica em alguns casos do grupo de diabéticos após estimulação com Secretina *Vitrum*. Uma das hipóteses para tentar justificar este facto consiste na saturação dos receptores das células B, após a administração de uma dose farmacológica de Secretina, receptores esses que estão reduzidos nesta situação patológica.

Ao contrário da Insulina que sofre metabolização hepática em cerca de 50 % da quantidade total secretada, o Peptido C, segundo Kuhl¹⁵ e outros autores,^{16, 17} só em cerca de 10 % é metabolizado no fígado sendo o rim o local de máxima degradação e eliminação.

Pensa-se que o Peptido C não terá efeitos biológicos importantes, não modificando a acção da insulina in vivo ou in vitro, e parece não possuir quaisquer outras acções no metabolismo intermediário.

O próprio facto de residir no rim a sua máxima degradação e eliminação parece demonstrar a falta de receptores biológicos para esta substância nos diferentes tecidos.

O metabolismo do Peptido C é bastante mais lento que o da Insulina e, ao contrário do que acontece com esta, cuja depuração metabólica é inversamente proporcional à sua concentração plasmática, o metabolismo do Peptido C mantém-se uniforme quaisquer que sejam as suas concentrações no plasma.

As diferenças do metabolismo e da cinética entre o Peptido C e a Insulina, conduzem a consideráveis alterações na concentração periférica destes dois péptidos, de modo que a

R.I.A. DO PEPTIDO C
PROVA STD. DA SECRETINA "BOOTS"

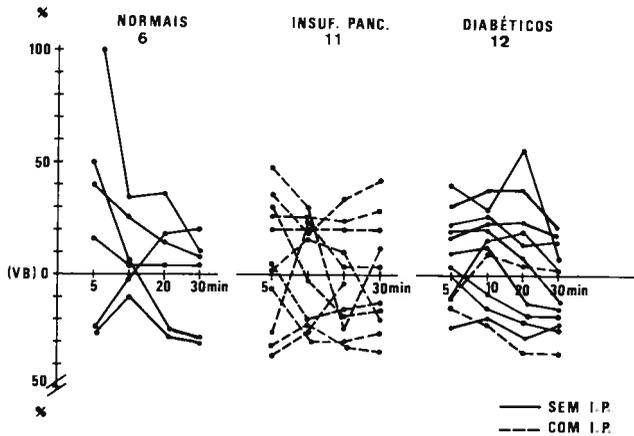


Figura 1: Variação percentual da concentração do Peptido C no sangue periférico, em relação ao valor basal, após estimulação com secretina Boots. I.P. - Insuficiência pancreática.

R.I.A. DA INSULINA
PROVA STD. DA SECRETINA "BOOTS"

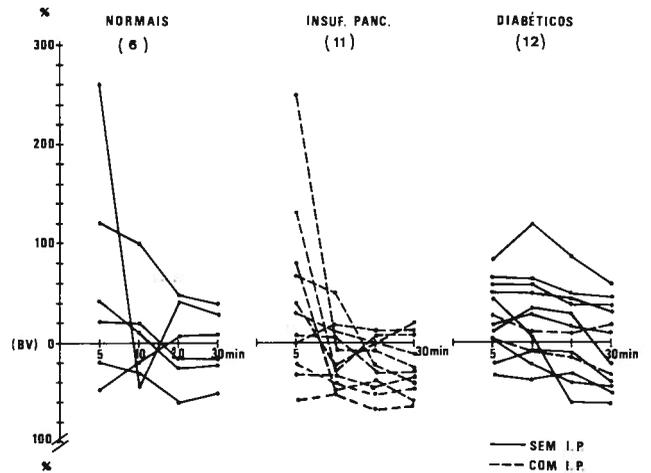


Figura 2: Variação percentual da Insulina no sangue periférico, em relação ao valor basal, após estimulação com secretina Boots. I.P. - Insuficiência Pancreática.

R.I.A. DO PEPTIDO C
PROVA STD. DA SECRETINA
"VITRUM"

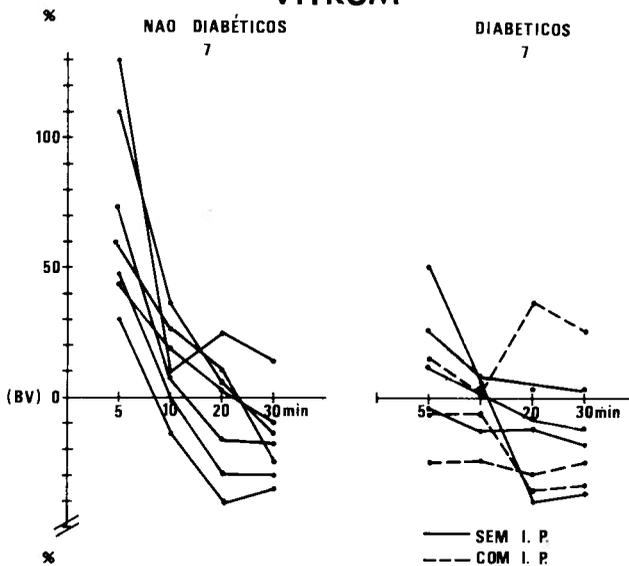


Figura 3: Variação percentual da concentração do Peptido C no sangue periférico, em relação ao valor basal, após estimulação com secretina Vitrum. I.P. - Insuficiência Pancreática.

R.I.A. DA INSULINA
PROVA STD. DA SECRETINA
"VITRUM"

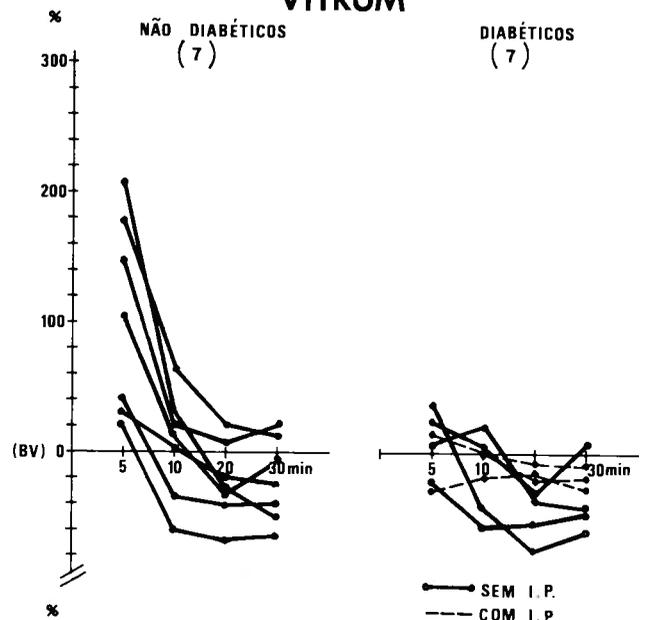


Figura 4: Variação percentual da Insulina no sangue periférico ao valor basal, após estimulação com secretina Vitrum. I.P. - Insuficiência Pancreática.

um dado valor da concentração de Insulina podem corresponder valores variáveis do Peptido C.

No indivíduo normal, em jejum, a relação das concentrações molares de Peptido C/Insulina é cerca de 5. Após estimulação, como por exemplo com a prova de sobrecarga oral de glucose, assistimos a uma subida de concentração de Insulina muito maior em valor percentual reduzindo-se aquela relação para 2 ou 3. Perante estes factos, podemos considerar que o doseamento do Peptido C nos dá uma medida mais correcta da secreção insulínica, obviando a necessidade da colheita directa de sangue portal para os doseamentos de Insulina.

Nas nossas séries as curvas de resposta da Insulina e do Peptido C apresentaram uma variação que considerámos paralela. Todavia a nossa opção vai para o doseamento deste último pois para além das vantagens já anteriormente citadas permite-nos ainda uma avaliação funcional menos sujeita a interferências, motivadas pela eventual presença de anticorpos anti-insulina ou a maior ou menor percentagem de pró-insulina em circulação.

Ainda uma última consideração para os diferentes padrões de resposta das células B, após estimulação com os dois tipos de Secretina utilizada. Este facto foi interpretado como resultante das próprias características dos produtos utilizados, pois, como se sabe a Secretina *Boots* não é uma hormona totalmente pura. Outros péptidos activos integram a sua constituição sendo, inclusivamente, alguns antagonistas da secreção insulínica.

Quando utilizados com a finalidade única da avaliação da função exócrina, os dois tipos de Secretina são igualmente eficazes, tendo sido os resultados obtidos perfeitamente sobreponíveis. Contudo, parece-nos que para uma avaliação correcta da função secretora das células B apenas uma forma mais purificada de hormona poderá ser utilizada.

Destes dados preliminares podemos concluir que:

A Secretina quando administrada em doses farmacológicas, constitui um bom estímulo não só da função exócrina como também das células B do pâncreas.

A Secretina *Vitrum* é mais eficaz do que a Secretina *Boots* quando se pretende fazer uma avaliação simultânea da resposta secretora exócrina e endócrina (células B) do pâncreas.

Torna-se necessário um aumento da causística e, portanto resultados mais consistentes, para se indicar este método válido para a detecção de diabetes pré-clínica em doentes com insuficiência pancreática. A necessidade de se efectuarem dois exames morosos (Prova *Standard* de Secretina e Curva de Glicémia) poderá ser obviada numa fase inicial do estudo do doente, mediante a execução de um só teste — Prova *Standard* de Secretina — com avaliação simultânea de secreção insulínica.

AGRADECIMENTO

Não queremos deixar de agradecer a Dr.^a Teresa Andrade da Clínica de Diagnóstico Dr. Fernando Teixeira pela sua colaboração nos doseamentos radioimunológicos efectuados.

BIBLIOGRAFIA

1. BERNARD, C.: Leçons sur le diabète. *Paris J. B. Baillière* 1877.
2. MOORE, B.; EDIE, E.S.; ABRAM, J. H.: On the Treatment of diabetes mellitus by acid extract of duodenal mucous membrane. *Biochem, J.*, 1906; 1: 28-38.
3. LA BARRE, J.: La Secretine: Son rôle physiologique, ses propriétés therapeutiques. *Masson, Paris*, 1936.
4. CREUTZFELDT, W.: The incretin concept today. *Diabetologia*, 1979; 16: 75-85
5. CREUTZFELDT, W.: Effects of gastrointestinal hormones—physiological or pharmacological? In: Stimulus-secretion coupling in the gastrointestinal tract. Case, R. M., Goebell, H., (Eds.). *Lancaster, MTP* 1976; 415-428,
6. CREUTZFELDT, W.; FEURLE, G.; KETTERER, H.: Effects of gastrointestinal hormones on insulin and glucagon secretion. *New Engl. J. Med.*, 1970; 282: 1139-1141.
7. CREUTZFELDT, W.: Insulin releasing factors of the gastrointestinal mucosa (incretin). *Gastroenterology*, 1974; 67: 748-750.
8. YANAIHARE, N.; YANAIHARE, C.; SAKAGAMI, M.; SAKURA, N.; HASHINOTO, T.; NISHIDE, T.: Syntheses of C-Peptide and Human Proinsulin. *Diabetes* 1978; 27, supl. 1, 149-160.
9. STEINER, D.F.: On the role of the Proinsulin and C-Peptide. *Diabetes* 1978; 27 supl. 1, 145-148.
10. FAHRENKRUG, J.; SCHAFFALITZKY DE MUCKADELL, O. B.; KUHL, C.: Effects of secretin in man. *Diabetologia*, 1978; 14: 229-234.
11. SCHAFFALITZKY DE MUCKADELL, O. B.; FAHRENKRUG, J.: Secretin: Role in man. In: S. R. Bloom (ed.): *Gut Hormones*, Churchill Livingstone, 1978.
12. ENK, B.: Secretin induced insulin response. *Acta Endocrinol. (Kbh)*, 1976; 82: 312-317.
13. O. BORDALO: «Contribuição para o diagnóstico das doenças do Pâncreas. Experiência com estimulação hormonal». *Tese de Doutoramento na Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa*, 1972.
14. DREILING, D. A.; JANOWITZ, H. D.; PERIER, C. V. e BORDALO, O.: Doenças Inflamatórias do Pâncreas. *Edição da Fundação Calouste Gulbenkian*, Lisboa, 1972.
15. KUHL, C.; FABER, O. K.; HORNNES, P.; JENSEN, S. L.: C-Peptide Metabolism and the liver. *Diabetes* 1978; 27, supl. 1, 197-200.
16. FABER, O. K.; KEHLET, H.; MADSBAD, S.; BINDER, C.: Kinetics of C-Peptide in Man. *Diabetes* 1978; 27, supl. 1, 207-209.
17. JOHNSTON, D. G.; ALBERT, G. M.; WRIGHT, R.; SMITH-LAING, G.; STEWART, A. M.; SHERLOCK, S.; FABER, O.; BINDER, C.: C-Peptide and Insulin in Liver Disease. *Diabetes* 1978; 27 supl. 1: 201-206.

Pedido de Separatas: O. Bordalo
 Unidade de Pacreatologia do Serviço de
 Medicina III, piso 7
 Hospital de Santa Maria
 Lisboa