

Czesław Wójcikowski, Joanna Liss

C-peptyd — znaczenie fizjologiczne i terapeutyczne

C-peptide — the Physiologic and Therapeutic Significant

Po określeniu w 1955 roku przez Frederica Sanger'a struktury cząsteczki insuliny [1], przez wiele lat uważano, że synteza insuliny w komórkach β wysp trzustki odbywa się poprzez łączenie mostkami dwusiarczkowymi oddzielnie powstałych lancuchów A i B. Dopiero w 1967 roku Steiner i wsp. [2, 3] wykazali, że najpierw powstaje jednolancuchowy polipeptyd nazywany proinsulina, który w wyniku działania enzymów proteolitycznych rozszczepiany jest do dwulancuchowej cząsteczki insuliny i jednolancuchowego polipeptydu łączącego (*connecting peptide*), tak zwanego C-peptydu. Insulina i C-peptyd magazynowane są w ziarnistościach komórek β , a następnie wydzielane do krwioobiegu w stosunku equimolarnym.

Bezpośrednio po odkryciu C-peptydu rozpoczęto intensywne badania nad jego strukturą, metabolizmem i aktywnością biologiczną. Wykazano, że cechuje się on dużą zmiennością gatunkową i w przeciwieństwie do insuliny, w przeważającym stopniu degradowany jest w nerkach, a nie w wątrobie [4, 5].

W badaniach z zastosowaniem zarówno wolowego, jak i wieprzowego C-peptydu nie wykazano insulinopodobnej aktywności w tkance tłuszczowej [6–8]. Podawany w stężeniu 10–20 ng/ml nie wpływał na wydzielanie insuliny przez izolowane wyspy chomika [9] i perfundowaną trzustkę szczura [10]. Także u ludzi zdrowych i chorych na cukrzycę typu 1 nie obserwowano jego wpływu na meta-

bolizm glukozy czy wydzielanie hormonów trzustkowych [11, 12].

Wyniki tych badań ukształtowały opinie, że C-peptyd jest cząstką nieaktywną biologicznie, której znaczenie ogranicza się do właściwego ukształtowania położenia lancuchów A i B, pozwalającego na wytworzenie wiązań dwusiarczkowych w cząsteczce insuliny. Dlatego w tym okresie ograniczono się do oznaczenia stężenia C-peptydu we krwi i w moczu, aby ocenić resztkową funkcję komórek β wysp trzustki u chorych leczonych insulina oraz określić kinetykę wydzielania insuliny.

Z drugiej jednak strony, w 1975 roku Toyota i wsp. [13] opublikowali pierwsze doniesienie, że szczurzy C-peptyd 1 (u szczura występują dwa C-peptydy różniące się położeniem dwóch aminokwasów), w wysokim stężeniu (100 ng/ml) hamuje wydzielanie insuliny przez izolowaną perfundowaną trzustkę szczura. W dalszych badaniach Wójcikowski i wsp. [14, 15] wykazali, że zarówno ludzki C-peptyd, jak i szczurzy C-peptyd 1 i C-peptyd 2 hamują wydzielanie insuliny i glukagonu przez perfundowaną trzustkę szczura i izolowane wyspy trzustki.

C-peptyd podawano w stężeniach 100 ng/ml i 300 ng/ml. Szczurzy C-peptyd 1 zmniejszał szybkość wydzielania insuliny przez perfundowaną trzustkę szczura odpowiednio o 24% i 35% (ryc. 1).

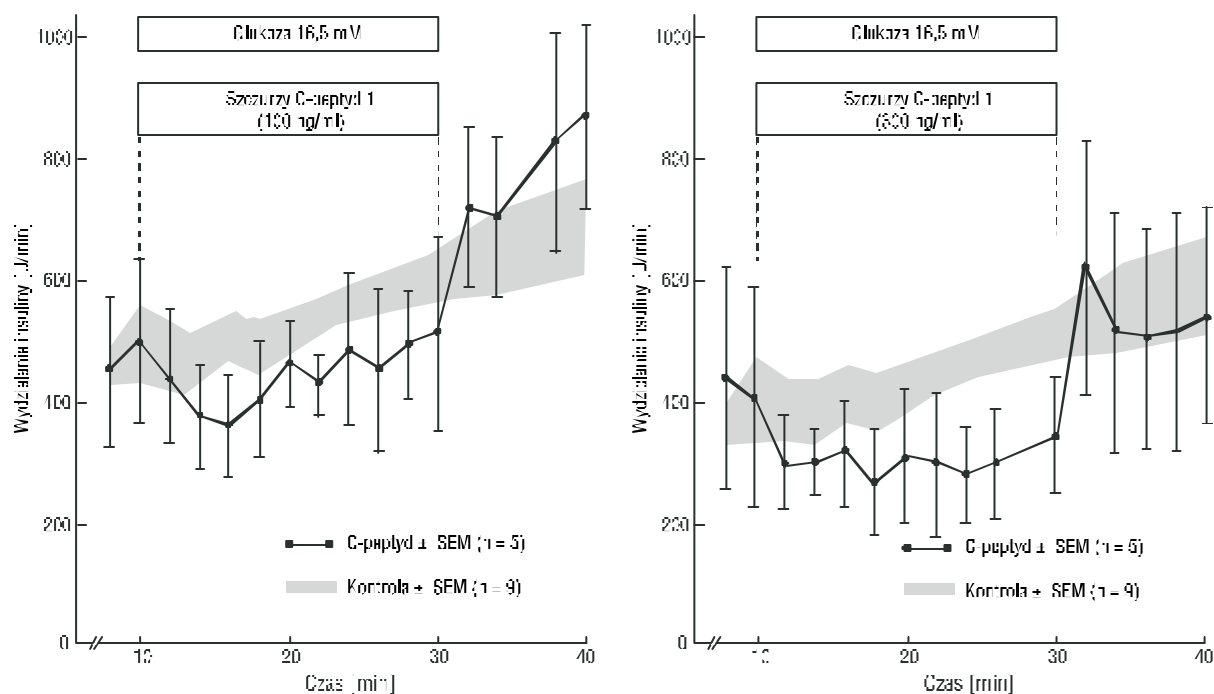
Ludzki C-peptyd w tych warunkach zmniejszał wydzielanie glukagonu o 75%.

Również w innych badaniach *in vitro* wykazano hamujące działanie C-peptydu na szybkość wydzielania insuliny przez izolowane wyspy i perfundowaną trzustkę szczura [16, 17]. Przy jego podawaniu szczurom zdrowym wykazano hamowanie wydzielania insuliny indukowane dożylnym podaniem glukozy [18]. U szczurów z cukrzycą doświadczalna C-peptyd zwiększał hipoglikemiczny efekt insuliny (ryc. 2).

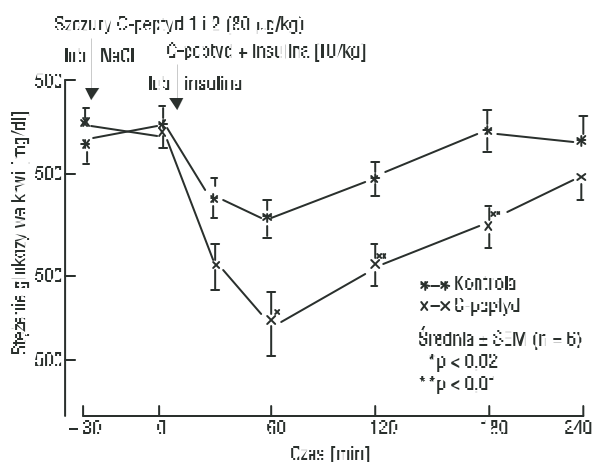
Adres do korespondencji: Prof. dr hab. Czesław Wójcikowski
Samodzielna Pracownia Endokrynologii i Diagnostyki Laboratoryjnej
Instytut Polowictwa i Chorób Kobietych AM w Gdańsku
ul. Kliniczna 1A, 80-402 Gdańsk

Diabetologia Praktyczna 2000, tom 1, nr 1, 7–12
Copyright©2000 Via Medica

Nadesłano: 2000.09.10 Przyjęto do druku: 2000.10.02



Rycina 1. Wpływ szczurzego C-peptydu 1 na szybkość wydzielania insuliny przez izolowaną perfundowaną trzustkę szczura



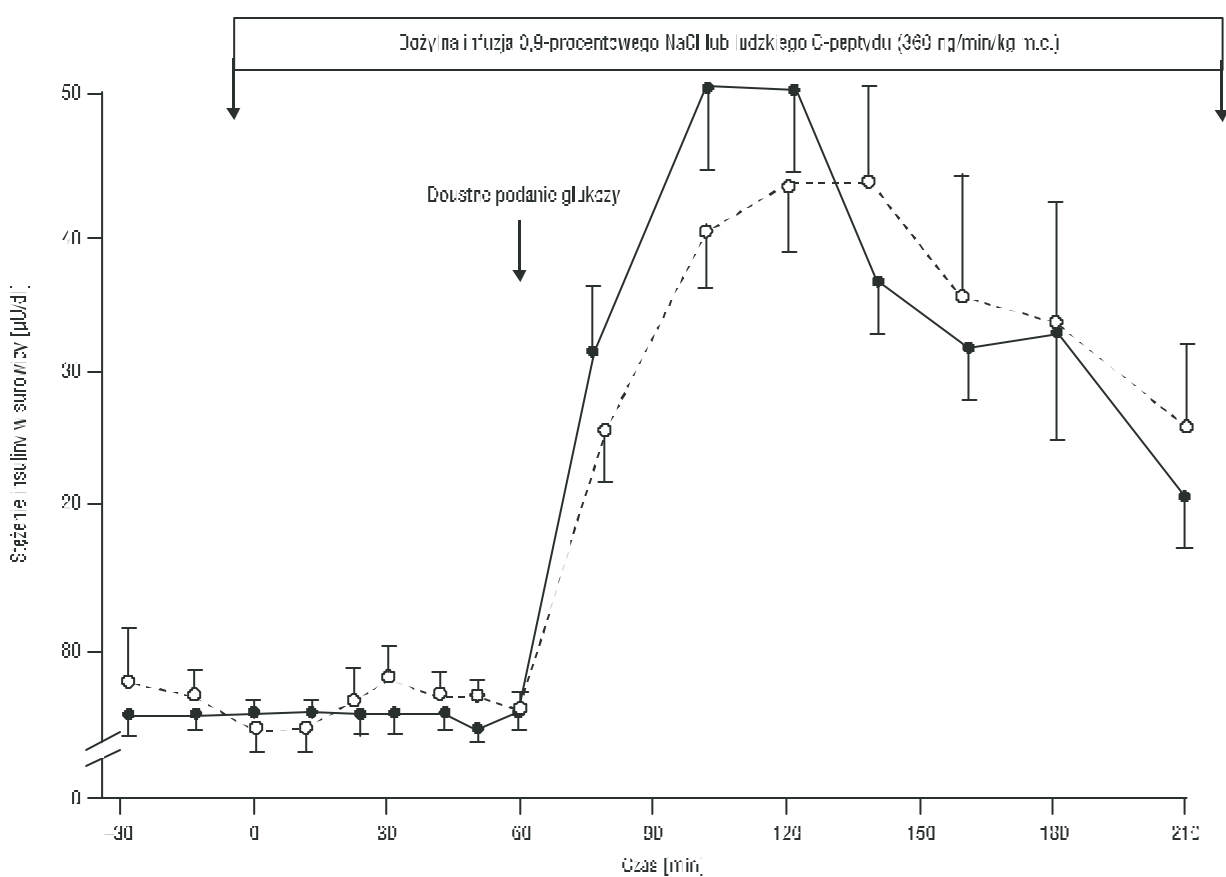
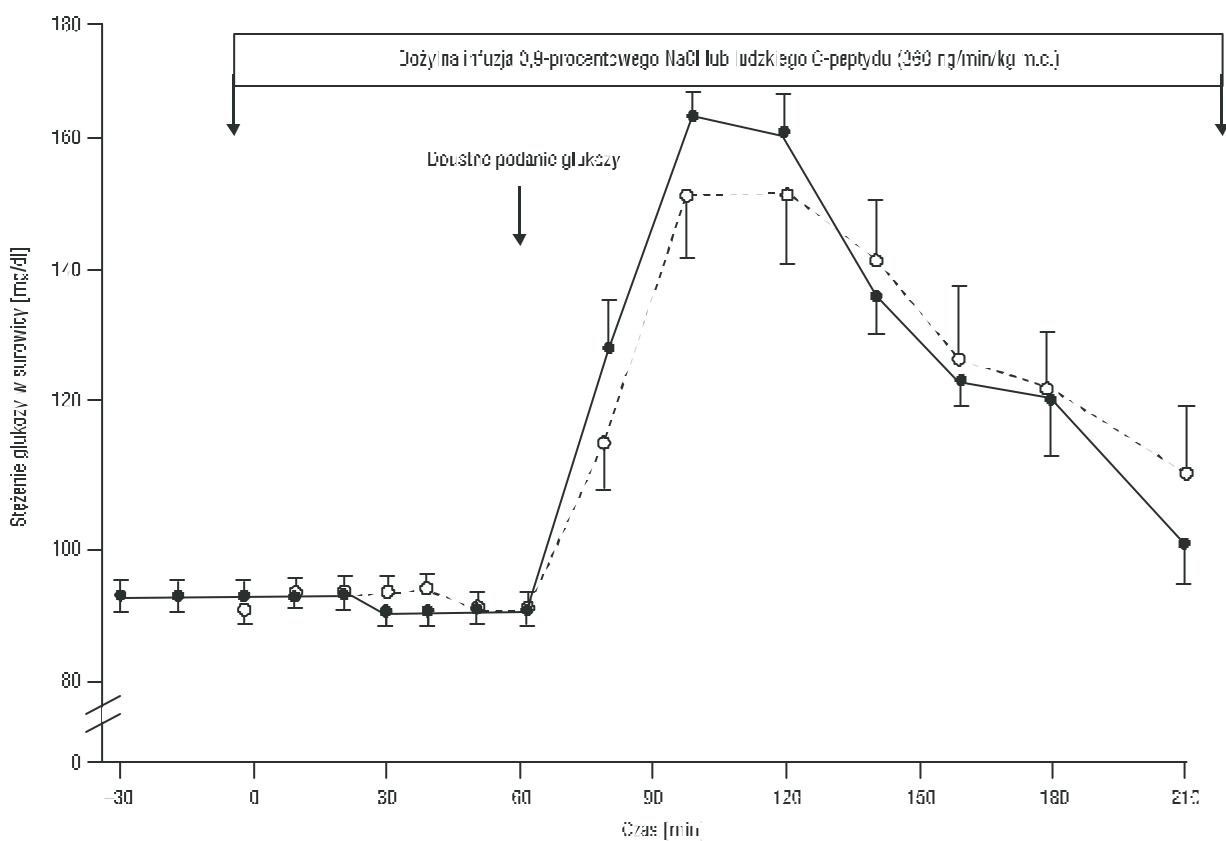
Rycina 2. Wpływ szczurzego C-peptydu 1 i 2 na hipoglikemiczną aktywność insuliny u szczurów z cukrzycą alloxanową [18]

Flatt i wsp. również wykazali w swoich badaniach [19] wiązanie C-peptydu przez komórki wysp trzustki. Ponadto C-peptyd zmniejszał wydzielanie glukagonu jelitowego [20] i GIP [21].

W przedstawionych powyżej badaniach C-peptyd podawany był w stężeniach wielokrotnie przekraczających poziom tego polipeptydu we krwi obwodowej. Dlatego część badaczy kwestionowała jego fi-

zjologiczne znaczenie w regulacji wydzielania hormonów trzustkowych. Wyliczono jednak, że użyte w tych doświadczeniach wysokie dawki C-peptydu odpowiadają stężeniu tego związku w przestrzeni zewnątrzkomórkowej wysp trzustki, co pozwala sądzić, iż odgrywa on rolę lokalnego, wewnątrzwyspowego regulatora wydzielania insuliny i glukagonu [14].

Mniej jednoznaczne wyniki uzyskano natomiast przy podawaniu C-peptydu ludziom zdrowym i chorym na cukrzycę. Poza wspomnianymi powyżej badaniami, w których nie wykazano znaczącego jego wpływu na wydzielanie hormonów trzustkowych i stężenie glukozy we krwi, Cohen i wsp. [22], podając niskie, zbliżone do fizjologicznych dawki C-peptydu, obserwowali znaczne obniżenie poziomu insuliny we krwi u ludzi zdrowych. Również Johanson (badania niepublikowane) wykazał hamujące działanie C-peptydu na wydzielanie insuliny i glukagonu u ludzi zdrowych. W innych badaniach Wójcikowski i wsp. [23], podając osobom zdrowym biosyntetyczny ludzki C-peptyd w infuzji, nie wykazali znaczącego wpływu na wydzielanie glukagonu, proinsuliny i polipeptydu trzustkowego zarówno na czczo, jak i po doustnym i dożylnym podaniu glukozy. Jedynie po doustnym obciążeniu glukoza obserwowano granicznie znaczne obniżenie poziomu glukozy i insuliny w obecności C-peptydu (ryc. 3).



Rycina 3. Stężenie glukozy i insuliny w czasie infuzji soli fizjologicznej (●-●) lub ludzkiego C-peptydu (○-○) po doustnym podaniu glukozy zdrowym ochotnikom [23]

Pewne przesłanki kliniczne wskazywały jednak na inne możliwe działanie C-peptydu. U chorych na cukrzycę typu 1, z resztkową funkcją komórek β wysp trzustki, obserwuje się mniejsze prawdopodobieństwo rozwoju choroby mikronaczyn. Ponadto, u chorych na cukrzycę typu 1 już w pierwszych latach po zachorowaniu dochodzi do hiperfiltracji klebuszków, która nie jest całkowicie wyrównana przez podawanie insuliny [24–27]. Hiperfiltracja klebuszków występuje znacznie rzadziej u chorych na cukrzycę typu 2. Chociaż rozwój tych powikłań wiązany jest z lepszym wyrównaniem glikemii u chorych z zachowaną resztkową endokrynną funkcją trzustki lub różnicą w działaniu endokrynną i egzogennie podanej insuliny, powstało jednak pytanie, czy nie wiąże się to z brakiem C-peptydu u chorych na cukrzycę typu 1.

Bezpośredni wpływ C-peptydu na filtrację klebuszków (GFR) zbadano u chorych na cukrzycę typu 1 bez przewlekłych powikłań cukrzycy, ale z podwyższoną GFR, u których stężenie we krwi było poniżej progu oznaczalności [28]. C-peptyd podawano w postaci dożylniej infuzji w dawce 5 i 30 pmol/kg/min, każdorazowo przez 60 minut, uzyskując jego stężenie w surowicy odpowiednio na poziomie 0,8 nmol/l i 2,1 nmol/l. W badaniach kontrolnych podawano sól fizjologiczną. W czasie podawania C-peptydu obserwowano statystycznie istotne obniżenie GFR o 7% i przepływu nerkowego osocza o 3%. Podobny efekt obserwowano przy 4-tygodniowym okresie podawania C-peptydu chorym na cukrzycę typu 1 [29]. W badaniach tych, przeprowadzonych metodą podwójnie ślepej próby, chorzy otrzymywali podskórnie insuliny lub insuliny i C-peptyd w postaci infuzji za pomocą pompy. W czasie podawania C-peptydu wykazano obniżenie GFR o 6% i zmniejszenie wydalania albumin z moczem o około 50%. Może to wskazywać na jego bezpośrednie działanie na funkcje nerek, mimo iż obserwowano jednocześnie lepsze wyrównanie cukrzycy, określane na podstawie obniżenia stężenia HbA1c i fruktozaminy. W dalszych badaniach, w których C-peptyd podawano przez 3 miesiące, potwierdzono powyższe obserwowane działanie na funkcje nerek i wyrównanie cukrzycy [30]. Również u zwierząt z cukrzycą infuzja C-peptydu obniżała GFR i wydalanie białka z moczem, a także normalizowała aktywność Na^+K^+ ATP-azy w klebuszkach nerkowych [31, 32].

Drugim najczęstszym powikłaniem cukrzycy jest neuropatia. Sugeruje się, że obniżenie aktywności Na^+K^+ ATP-azy może być ważnym czynnikiem ryzyka jej rozwoju [33, 34]. Wpływ C-peptydu na funkcje autonomicznego układu nerwowego zbadano

u chorych na cukrzycę typu 1 z objawami polineuropatii cukrzycowej. Przy podawaniu przez 3 godziny C-peptydu chorym na cukrzycę typu 1 z objawami polineuropatii cukrzycowej, występował u nich wzrost niemiaryowości oddechowej do wartości zbliżonych do występujących u ludzi zdrowych [35]. Podawanie C-peptydu przez ten krótki czas nie miało wpływu na próg wrażliwości czuciowej i przewodnictwo nerwowe. Jednak przy podawaniu tego polipeptydu przez okres 3 miesięcy u chorych na cukrzycę typu 1 obserwowano poprawę wrażliwości czuciowej na zmiany temperatury. Badania te powinny być dalej weryfikowane w wieloosrodkowych, długotrwałych obserwacjach.

W części badań doświadczalnych i klinicznych, pomimo hamowania przez C-peptyd wydzielania insuliny, obserwowano obniżenie stężenia glukozy we krwi lub lepsze wyrównanie cukrzycy (ryc. 2). Wskazywało to na możliwość bezpośredniego wpływu C-peptydu na metabolizm glukozy. Mięśnie szkieletowe w warunkach fizjologicznych są znaczącym konsumentem glukozy. Dlatego przeprowadzono wiele badań, których celem było wyjaśnienie wpływu tego polipeptydu na metabolizm glukozy w mięśniach.

Przy stałym kontrolowanym stężeniu glukozy we krwi (*glucose clamp*) C-peptyd zwiększał zużycie glukozy u szczurów z cukrzycą doświadczalną [36]. Jego wpływ był specyficzny, a polipeptyd zbudowany z tych samych aminokwasów, ale połączonych w przypadkowej kolejności (*scrambled*), nie wykazywał podobnego działania. Również u chorych na cukrzycę typu 1 C-peptyd w stężeniu fizjologicznym zwiększał o około 25% zużycie glukozy [28].

W badaniach *in vitro* na izolowanych fragmentach mięśni szkieletowych pochodzących od zdrowych ochotników wykazano, że C-peptyd zwiększał transport glukozy, a maksymalny efekt występował przy stężeniu równym 1 nmol/l [37]. W podobnych badaniach, ale u chorych na cukrzycę typu 1, C-peptyd zwiększał o 80% transport glukozy w mięśniach szkieletowych [38]. W fizjologicznym stężeniu nie zwiększał transportu glukozy w mięśniach u chorych na cukrzycę typu 2 z insulinoopornością i u osób starszych bez cukrzycy, ale z obniżoną wrażliwością na insuliny [39]. Mechanizm działania stymulującego transport glukozy w mięśniach szkieletowych badano w warunkach *in vitro* na izolowanych skrawkach mięśnia szkieletowego. C-peptyd zwiększał maksymalnie 2-krotnie transport glukozy i nie interferował w wiązanie znakowanej J^{125} insuliny z receptorem, a także nie zwiększał aktywności kinazy tyrozyl-

nowej [38]. Agonista β -adrenergicznego receptora, izoproterenol, hamował transport glukozy stymulowany przez insulinę, ale nie przez C-peptyd. Z kolei analog cAMP znosił zarówno efekt insuliny, jak i C-peptydu [38]. Wskazuje to, że zwiększenie transportu glukozy w mięśniach szkieletowych związane jest procesem hamowanym przez wzrost cAMP, ale niezależne od aktywacji receptora insulinowego.

W warunkach *in vivo* C-peptyd zwiększał zużycie tlenu i szybkość przepływu krwi przez mięsień. Badania metodą podwójnie ślepej próby przeprowadzono u chorych na cukrzycę typu 1, którym podawano ^{51}Cr EDTA i zielen irydioocjaniny oraz mierzono przepływ krwi i zużycie tlenu na przedramieniu w czasie infuzji C-peptydu lub soli fizjologicznej [40]. U chorych na cukrzycę szybkość przepływu krwi przez przedramię oraz dyfuzja tlenu w naczyniach kapilarnych były o około 30% niższe w porównaniu z osobami zdrowymi. W czasie podawania C-peptydu przepływ krwi i dyfuzja tlenu w grupie chorych na cukrzycę wzrastały do wartości zbliżonych w grupie kontrolnej. Jednocześnie zwiększało się zużycie glukozy i produkcja kwasu mlekowego w mięśniach przedramienia. Podawanie C-peptydu osobom zdrowym nie wpływało na wyżej wymienione parametry. Wskazuje to, że przekroczenie wartości fizjologicznego stężenia C-peptydu nie powoduje dalszego zwiększenia szybkości przepływu krwi przez przedramię i zużycia tlenu.

Mechanizm działania C-peptydu na szybkość przepływu krwi i zużycie tlenu nie jest jeszcze dokładnie wyjaśniony. W badaniach na zwierzętach z perfuzją izolowanego fragmentu mięśnia szkieletowego wykazano, że działa on na mięsień gładki naczyń krwionośnych, powodując efekt wazodylatacyjny i zmianę przepływu krwi przez mikronaczynia, nie wpływa natomiast na przepuszczalność przez naczynia kapilarne.

We wcześniejszych badaniach nie wykazano obecności miejsc wiązających specyficznych dla C-peptydu w tkance tłuszczu i w mięśniach szkieletu. Ostatnio przeprowadzone doświadczenia z użyciem techniki fluorescencyjnej jednoznacznie udokumentowały obecność specyficznych dla C-peptydu receptorów w komórkach kanalików nerkowych, fibroblastów i komórek śródbrzońki [41]. W komórkach kanalików nerkowych wykazano dwa typy miejsc wiązających C-peptyd o różnym powinowactwie. Stała wiązania dla miejsc o wyższym powinowactwie wynosiła $3,3 \times 10^{-9}$ M/l, a dla miejsc o niższym powinowactwie — $8,0 \times 10^{-9}$ M/l. Gęstość receptorów w komórkach kanalików nerkowych była wyższa w porównaniu z fibroblastami

i komórkami śródbrzońki i wynosiła 75 receptorów/mm². Wiązanie C-peptydu z receptorem nie było zmienione w obecności insuliny, IGF-I, IGF-II lub proinsuliny. Ponadto, peptyd odpowiadający strukturze C-koncowego fragmentu lancucha C-peptydu wypierał kompetycyjnie związany z receptorem natywny C-peptyd.

Wyniki przeprowadzonych ich dotychczas badań dość jednoznacznie wskazują, że C-peptyd nie może być uważany za polipeptyd pozbawiony aktywności. Istnieją już przesłanki, aby rozważyć możliwość terapeutycznego podawania C-peptydu chorym na cukrzycę typu 1.

Mogłoby to mieć wpływ na zahamowanie rozwoju późnych powikłań cukrzycy. Masa cząsteczkowa C-peptydu wynosi około 3000 daltonów, a zatem jest około 2 razy mniejsza od insuliny. Przy podskórnym podawaniu wchłania się szybciej od insuliny natywnej. Aby utrzymać fizjologiczne stężenie C-peptydu w krwiobiegu, należałoby go podawać kilkakrotnie w czasie doby i być może łącznie z szybko wchłanialnymi analogami insuliny, na przykład LisPro insuliny. Przypuszczalnie, tak jak w warunkach fizjologicznych, ilość podawanego C-peptydu powinna być ekwiwalentna do ilości podanej insuliny.

Nie ma problemów technologicznych w uzyskiwaniu odpowiednich ilości C-peptydu, który jest produktem ubocznym przy produkcji biosyntetycznej insuliny. C-peptyd jest naturalną cząsteczką występującą w organizmie zdrowych ludzi, a efekt biologiczny obserwowano przy jego fizjologicznym stężeniu. Dlatego można oczekiwać, że ewentualnie okres badań farmakologiczno-klinicznych będzie krótszy w porównaniu z czasem trwania badań dotyczących tradycyjnych leków.

PISMIENICTWO

1. Sanger B.H.: The structure of pig and sheep insulin. *Biochem. J.* 1955; 60: 556–565.
2. Steiner D.F., Oyer P.E.: The biosynthesis of insulin and probable precursor of insulin by a human islet cell adenoma. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 1967; 57: 73–80.
3. Steiner D.F., Cunningham D., Spigelman L. i wsp.: Insulin biosynthesis: evidence for a precursor. *Science* 1967; 157: 697–700.
4. Steiner D.: On the role of the proinsulin C-peptide. *Diabetes* 1978; 27 (supl. 1): 145–148.
5. Polonsky K., Jaspan J., Pugh W. i wsp.: Metabolism of C-peptide in the dog in vivo demonstration of the absence of hepatic extraction. *J. Clin. Invest.* 1983; 72: 1114–1123.
6. Kitabchi A.E.: The biological and immunological properties of pork and beef insulin, proinsulin, and connecting peptides. *J. Clin. Invest.* 1970; 49: 979–987.
7. Solomon S.S., Brush J.S., Kitabchi A.E.: Antilipolytic activity of insulin and proinsulin on ACTH and cyclic nucleotide-induced

- lipolysis in the isolated adipose cell of rat. *Biochim. Biophys. Acta.* 1970; 218: 167–169.
8. Yu S.S., Kitabchi A.E.: Biological activity of proinsulin and related polypeptides in the fat tissue. *J. Biol. Chem.* 1973; 248: 3753–3761.
 9. Dunbar J.C., Laughlin W.J., Walsh M.F. i wsp.: Insulin Secretion and Glucose Uptake by Isolated Islets of the Hamster. Effect of Insulin, Proinsulin and C-peptide. *Horm. Metab. Res.* 1976; 8: 1–6.
 10. Kanto T., Kaneto A., Yanaihara N. i wsp.: Insulin and C-peptide secretion in animals. W: Proinsulin, Insulin and C-peptide. red. Baba S., Kaneto T., Yanaihara N. Excerpta Medica Amsterdam. 1979; 138–147.
 11. Hagen C., Faber O.K., Binder C. i wsp.: Lack of metabolic effects of C-peptide in normal subjects and juvenile diabetic patients. *Acta Endocrinol.* 1977; 85 (supl. 209), 29A.
 12. Hoogwerf B.J., Bantle J.P., Genslen H.E. i wsp.: Infusion of synthetic human C-peptide does not effect plasma glucose, serum insulin, or plasma glucagon in healthy subjects. *Metabolism* 1986; 35: 122–125.
 13. Toyota T., Abe K., Kudo M. i wsp.: Inhibitory Effects of Synthetic Rat C-Peptide 1 on Insulin Secretion in the Isolated Perfused Rat Pancreas. *Tohoku J. Exp. Med.* 1975; 117: 79–83.
 14. Wójcikowski Cz., Fussganger R., Pfeiffer E.F.: Inhibition of insulin and glucagon secretion of the isolated perfused rat pancreas by synthetic human and rat C-peptide. W Proc. First Intern. Symp. on C-peptide red. Beyer J., Krause U., Naegle W. Schnetztor Verlag, Konstanz. 1997; 75–94.
 15. Klier M., Wójcikowski Cz., Maier V.: Abolition of the inhibitory effect of C-peptide on insulin secretion in isolated pancreatic islets of rats by cAMP. *Diabetologia* 1977; 13: 48.
 16. Yasuda H., Suzuki S., Yamashita K. i wsp.: Inhibition of Insulin Release by Synthetic Rat C-peptide II in Isolated Rat Islets. *Endocrinol. Japon.* 1976; 23: 271–273.
 17. Toyota T., Abe K., Kudo M.: Inhibitory action of rat insulin and synthetic rat C-peptide on insulin secretion in the perfused rat pancreas. *Acta diabet. lat.* 1977; 14: 250–256.
 18. Wójcikowski Cz., Maier V., Dominiak K.: Effects of synthetic rat C-peptide in normal and diabetic rats. *Diabetologia* 1983; 25: 288–290.
 19. Flatt P.R., Swanston-Flatt S.K., Hampton S.M. i wsp.: Specific Binding of the C-peptide of Proinsulin to Cultured B-Cells from a Transplantable Rat Islet Cell Tumor. *Bioscience Reports.* 1986; 6: 193–199.
 20. Wójcikowski Cz., Maier V., Schusdziarra i wsp.: Effect of Rat Insulin and C-peptide on Glukagon and Somatostatin Release from the Isolated Rat Jejunum. *Diabetologia* 1981; 21: 344.
 21. Dryburgh J.R., Hampton S.M., Marks V.: Endocrine Pancreatic Control of the Release of Gastric Inhibitory Polypeptide. *Diabetologia* 1980; 19: 397–401.
 22. Cohen P., Barzilai N., Karnieli E.: Suppression of insulin Secretion by C-peptide infusions in humans. *Isr. J. Med. Sci.* 1995; 31: 284–288.
 23. Wójcikowski Cz., Blackman J., Ostrega D. i wsp.: Lack of effect of high-dose biosynthetic human C-peptide on pancreatic hormone release in normal subjects. *Metabolism* 1990; 39: 827–832.
 24. Stalder G., Schmid R.: Severe functional disorders of glomerular capillaries and renal hemodynamics in treated diabetes mellitus during childhood. *Ann Paediatr.* 1959; 193: 129–138.
 25. Mogensen C.E., Andersen M.J.: Increased kidney size and glomerular filtration rate in early juvenile diabetes. *Diabetes* 1973; 22: 706–712.
 26. Mogensen C.E., Andersen M.J.: Increased kidney size and glomerular filtration rate in untreated juvenile diabetes: normalization by insulin treatment. *Diabetologia* 1975; 11: 221–224.
 27. Sandahl-Christiansen J., Frandsen M., Parving H.H.: The effect of intravenous insulin infusion on kidney function in insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetologia* 1981; 20: 199–204.
 28. Johansson B.L., Sjoberg S., Wahren J.: The influence of human C-peptide on renal function and glucose utilization in type 1 (insulin-dependent) diabetic patients. *Diabetologia* 1992; 35: 121–128.
 29. Johansson B.L., Kernell A., Sjoberg S. i wsp.: Influence of combined C-peptide and insulin administration on renal function and metabolic control in diabetes type 1. *J. Clin. Endocr. Metab.* 1993; 77: 976–981.
 30. Johansson B.L., Fernqvist-Forbes E., Wahren J.: Effects of C-peptide on nephropathy and neuropathy in IDDM-patients—a clinical study. *Diabetologia* 1995; 38 (supl. 1) A7.
 31. Huang W., Sjogvist M., Johansson B.L. i wsp.: Acute effects of human C-peptide on renal function in the early stage of experimental diabetes. *Diabetologia* 1994; 37 (supl. 1), A187.
 32. Korner A., Wahren J., Johansson B.L. i wsp.: C-peptide treatment normalizes reduced glomerular NaK-ATPase activity in streptozotocin diabetic rats. W: C-peptide and type 1 diabetes mellitus: Symposium, 1994, September 23–24, Stockholm: Karolinska Institute.
 33. Thomas P.K.: Diabetic neuropathy: epidemiology and pathogenesis. W: Pickup I.C., Williams G. red. Textbook of Diabetes. Tom.2. Oxford: Blackwell Scientific Publications. 1991; 613–622.
 34. Greene D.A., Yagihashi S., Lattimer S.A. i wsp.: Nerve NaK ATPase, conduction and myo-inositol in the insulin dependent BB rat. *Am. J. Physiol.* 1984; 247: 534–539.
 35. Johansson B.L., Borg K., Fernqvist-Forbes E. i wsp.: C-peptide improves autonomic nerve function in patients with type 1 diabetes. *Diabetologia* 1996; 39: 687–695.
 36. Wu W., Oshida Y., Yang W.P. i wsp.: Effect of C-peptide administration on whole body glucose utilization in STZ-induced diabetic rats. *Acta Physiol. Scand.* 1996; 156: 253–258.
 37. Zierath J.R., Galuska D., Johansson B.L. i wsp.: Effect of human C-peptide on glucose transport in vitro incubated human skeletal muscle. *Diabetologia* 1991; 34: 899–901.
 38. Zierath J.R., Handberg A., Tally M. i wsp.: C-peptide stimulates glucose transport in isolated human skeletal muscle independent of insulin receptor and tyrosine kinase activation. *Diabetologia* 1996; 39: 306–313.
 39. Zierath J.R.: In vitro studies of skeletal muscle: Hormonal and metabolic regulation of glucose transport. *Acta Physiol. Scand.* 1995; 155 (supl. 626): 11–96.
 40. Johansson B.L., Linde B., Wahren J.: Effects of C-peptide on blood flow, capillary diffusion capacity and glucose utilization in the exercising forearm of type 1 (insulin-dependent) diabetic patients. *Diabetologia* 1992; 35: 1151–1158.
 41. Ekberg K., Rigler R., Pramanik A. i wsp.: Specific binding of proinsulin C-peptide to human cell membranes. *Diabetologia* 1999; 42 (supl. 1), A200.