

# MANCATO EFFETTO DELL'IPERINSULINEMIA ESOGENA SUI VALORI DELLA PRESSIONE ARTERIOSA E SULL'ATTIVITÀ SIMPATICA NEI SOGGETTI CON DIABETE DI TIPO 1 E NEUROPATIA AUTONOMICA

D. BRACAGLIA, V. SPALLONE, M. PERNA, G. MENZINGER, S. GAMBARELLA, S. FRONTONI

Endocrinologia, Università di Roma "Tor Vergata", Roma

riassunto

Gli studi epidemiologici suggeriscono che esiste una stretta associazione tra ipertensione e diabete. Si ritiene che uno dei meccanismi coinvolti in questa associazione sia rappresentato dall'attivazione del sistema nervoso simpatico da parte dell'insulina. Tuttavia, in soggetti normali l'insulina, pur stimolando l'attività del sistema nervoso simpatico, non è in grado di modificare la pressione arteriosa. Viceversa, il nostro e altri gruppi hanno recentemente dimostrato un'alterazione del profilo pressorio delle 24 ore in pazienti diabetici con neuropatia autonoma, anche se normotesi.

Lo scopo del presente studio è stato quello di esaminare la risposta all'iperinsulinemia dell'attività simpatica e della pressione arteriosa, in una situazione di alterato bilancio tra attività simpatica e parasimpatica (neuropatia autonoma).

Abbiamo studiato 20 pazienti diabetici di tipo 1 normotesi (10 con neuropatia autonoma, N, 10 senza, S), sottoposti a clamp euglicemico iperinsulinemico.

La pressione arteriosa e la frequenza cardiaca erano significativamente più elevate nei pazienti neuropatici rispetto ai non neuropatici in condizioni basali ( $p < 0,05$ ).

Il rapporto LF/HF, basalmente simile nei due gruppi, diventava significativamente più elevato nei non neuropatici a partire dall'ultima ora del primo step (S:  $2,85 \pm 0,2$  vs N:  $1,0 \pm 0,1$ ,  $p < 0,05$ ).

In conclusione, la pressione arteriosa e la frequenza cardiaca sono aumentate in pazienti diabetici di tipo 1 con neuropatia autonoma. L'iperinsulinemia non è in grado di determinare una relativa prevalenza dell'attività nervosa simpatica su quella parasimpatica in pazienti diabetici con neuropatia autonoma.

Parole chiave. Iperinsulinemia, pressione arteriosa, sistema nervoso simpatico, neuropatia autonoma.

summary

*Hyperinsulinemia fails to increase sympathetic activity in type 1 diabetic patients with autonomic neuropathy. Epidemiological studies suggest a close association between hypertension and diabetes. Sympathetic nervous system activation by insulin has been suggested as one of the mechanisms explaining this association. However, in normal subjects the stimulation of sympathetic nervous system activity by insulin is not associated with any change in blood pressure. On the other side, our group and others have recently demonstrated an alteration of the normal 24 h blood pressure profile in diabetic patients with autonomic neuropathy, even when normotensive.*

*The aim of the present study was to examine the response of sympathetic nervous system activity and blood pressure to hyperinsulinemia, in the presence of a disruption of the physiological balance between sympathetic and parasympathetic activity (autonomic neuropathy).*

*20 type 1 diabetic normotensive patients (10 with autonomic neuropathy, 10 without) underwent a 2-step hyperinsulinemic/euglycemic clamp study.*

*Blood pressure and heart rate were significantly higher in the supine position in neuropathic vs non neuropathic patients, under basal conditions ( $p < 0.05$ ).*

*LF/HF ratio, basally similar in the two groups, significantly increased in non neuropathic patients from the last hour of the first step ( $2.85 \pm 0.2$  vs  $1.0 \pm 0.1$ ,  $p < 0.05$ ).*

*In summary, continuously recorded blood pressure and heart rate in the supine position are higher in normotensive type 1 diabetic patients with autonomic neuropathy. Hyperinsulinemia fails to determine a relative prevalence of sympathetic over parasympathetic activity in diabetic autonomic neuropathy.*

*Key words. Hyperinsulinemia, blood pressure, nervous system activity, autonomic neuropathy.*

## Introduzione

Studi recenti hanno stabilito un'aumentata prevalenza di ipertensione nei soggetti diabetici indipendentemente dall'età, obesità e malattie renali (1-4).

La patogenesi dell'associazione tra diabete e ipertensione è ancora poco chiara. È stato ipotizzato recentemente che elevati livelli plasmatici di insulina potrebbero contribuire allo sviluppo di ipertensione, attraverso vari meccanismi, tra cui il riassorbimento renale di sodio, il trasporto cationico transmembrana, il sistema renina-angiotensina, un'aumentata reattività cardiovascolare, il peptide natriuretico atriale e il sistema nervoso simpatico. È ben documentato che l'infusione acuta di insulina, con livelli plasmatici dell'ormone entro i limiti fisiologici, incrementa il flusso simpatico (5, 6), anche in assenza di una concomitante ipoglicemia. Due recenti lavori hanno dimostrato un incremento dell'attività nervosa simpatica (mediante microneurografia) e aumentati livelli plasmatici di norepinefrina durante clamp euglicemico iperinsulinemico in volontari sani (7, 8). Comunque, in entrambi questi studi l'attivazione simpatica non si associava a significativi cambiamenti della pressione arteriosa.

Il nostro gruppo (9) e altri hanno recentemente dimostrato una riduzione del fisiologico calo notturno della pressione arteriosa in pazienti diabetici con neuropatia autonoma, verosimilmente legato a un mancato incremento notturno dell'attività vagale. Questa osservazione suggerisce un ruolo preminente del sistema nervoso autonomo nella regolazione del comportamento pressorio (10-12).

È pertanto verosimile che la capacità del sistema nervoso simpatico (attivato da vari stimoli, in particolare l'insulina) di modificare la pressione arteriosa sia correlata all'integrità della funzione autonoma in toto (equilibrio simpato-vagale). Al momento, tuttavia, non è ancora chiaro se la neuropatia autonoma sia associata con un incremento della prevalenza di ipertensione.

Inoltre, sebbene la somministrazione acuta di insulina produca ipotensione in pazienti con un severo difetto autonomo (13), sono ancora sconosciuti gli effetti sull'attività nervosa simpatica, esercitati da un'iperinsulinemia prolungata. Si potrebbe ipotizzare che in presenza di neuropatia autonoma, la somministrazione di insulina esogena sia associata a una marcata stimolazione dell'attività simpatica (non controbilanciata da un'appropriata risposta parasimpatica), a tal punto da incrementare i livelli della pressione arteriosa. Questo potrebbe spiegare il legame patogenetico tra diabete e ipertensione.

Lo scopo del presente lavoro è stato quello di esaminare la risposta dell'attività simpatica e della pressione arteriosa all'iperinsulinemia, in presenza di un'alterazione del fisiologico bilancio tra attività nervosa simpatica e parasimpatica (neuropatia autonoma).

## Materiale e metodi

Sono stati studiati due gruppi di soggetti:

1. 10 pazienti con diabete tipo 1 senza neuropatia autonoma (S)
2. 10 pazienti con diabete tipo 1 con neuropatia autonoma (N).

Sono stati studiati soltanto pazienti con un buon controllo metabolico ( $HbA_{1c} \leq 7,5\%$ ) e con normale Body Mass Index ( $< 25 \text{ kg/m}^2$ ). Tutti i pazienti presentavano una normale pressione arteriosa (secondo i criteri del WHO: PAS  $\leq 140 \text{ mmHg}$  e PAD  $\leq 90 \text{ mmHg}$ ); normale escrezione urinaria di albumina (AER  $\leq 20 \mu\text{g/min}$ , valutata su tre diversi campioni della notte durante un periodo di un mese); elettrocardiogramma normale.

Venivano esclusi dallo studio pazienti: con livelli di peptide C superiori a  $0,1 \text{ mmol/L}$ , dopo stimolazione con  $1 \text{ mg}$  di glucagone ev; con malattie renali o epatiche; con retinopatia proliferativa. I pazienti non ricevevano nessun altro trattamento oltre l'insulina. È stata ottenuta l'approvazione dello studio dal Comitato Etico; è stato altresì ottenuto il consenso informato scritto da parte dei pazienti.

### Neuropatia autonoma

La neuropatia autonoma veniva studiata con quattro prove di riflessi cardiovascolari: la variazione della frequenza cardiaca durante *deep breathing*, durante *lying to standing* e durante la manovra di Valsalva, la caduta della pressione in posizione eretta. Le prove venivano sempre eseguite di mattina e valutate secondo la procedura standard:

1. durante la respirazione profonda alla frequenza di 6 atti respiratori/min, viene calcolata la media di sei differenze tra la frequenza cardiaca massima in inspirazione e la frequenza minima in espirazione durante ciascun ciclo di respiro: valori normali  $> 15$  battiti/min, valori anormali  $< 10$  battiti/min;
2. il rapporto di Valsalva è misurato come il rapporto tra il più lungo intervallo RR dopo la manovra e il più corto intervallo RR dopo la manovra: valori normali  $> 1,2$ , valori anormali  $< 1,1$ ;
3. il rapporto tra il 30esimo intervallo RR e il 15esimo

intervallo RR dopo aver assunto la posizione eretta è il "rapporto 30:15": valori normali > 1,03, valori anormali < 1,0;

4. è misurata la variazione della pressione arteriosa dalla posizione supina alla posizione eretta: una riduzione, un minuto dopo avere mantenuto la posizione eretta, inferiore a 20 mmHg è considerata normale, superiore a 30 mmHg anormale. I pazienti diabetici venivano inclusi nel gruppo con neuropatia in presenza di almeno due test con risposta anormale, e nel gruppo senza neuropatia in presenza di tutti i test con risposte normali.

#### *Monitoraggio della pressione arteriosa*

Veniva effettuato un monitoraggio ambulatoriale non invasivo della pressione arteriosa, usando un registratore oscillometrico (Spacelabs 90202, Redmond, WA, USA). Il dispositivo era programmato per misurare la pressione ogni 3 minuti, dal principio alla fine dello studio. Tutti gli artefatti evidenti (diastolica inferiore a 50 mmHg, rapporto sistolica/diastolica < 115%) venivano cancellati dall'ispezione visiva dei dati stampati.

Simultaneamente con la misurazione continua della pressione arteriosa, veniva eseguito un ECG continuo (Del Mar Avionics Model 563 StrataScan Holter Analysis System, Irvine, CA), con l'uso di un registratore tri-canale.

#### *Clamp euglicemico-iperinsulinemico*

Il clamp veniva eseguito secondo De Fronzo. L'insulina (Humulin; Eli Lilly, Indianapolis, IN) diluita in soluzione fisiologica con 1 mL di sangue del soggetto veniva somministrata in una prima infusione continua, allo scopo di produrre prima bassi livelli plasmatici di insulina (~90 µU/mL) e poi alti livelli (~180 µU/mL).

Si raggiungevano le 90 µU/mL con un'infusione di 120 minuti a 40 mU/m<sup>2</sup> x min; le 180 µU/mL con un'infusione di 120 minuti a 80 mU/m<sup>2</sup> x min. I livelli di glucosio venivano mantenuti costanti durante lo studio da un'infusione variabile di glucosio al 20%.

#### *Infusione di salina*

Tutti i soggetti venivano sottoposti, a distanza di 7-10 giorni dal clamp euglicemico iperinsulinemico, a un clamp simulato, dove le infusioni di insulina e glucosio venivano sostituite da NaCl allo 0,9%. La frequenza dell'infusione di NaCl veniva aggiustata per eguagliare esattamente la frequenza di flusso del precedente clamp nello stesso soggetto, e le procedure di prelievo di sangue erano identiche.

#### *Procedure*

I soggetti arrivavano in ospedale il giorno prima dello studio, a digiuno. I pazienti venivano posti in posizione supina e venivano montati gli strumenti per misurare la frequenza cardiaca e la pressione arteriosa. Veniva posizionata un'agocannula a livello della vena della piega del gomito (sia a destra sia a sinistra) per: a) infusione di insulina/glucosio; b) ottenere sangue per le analisi di glicemia e insulinemia.

#### *Metodi*

Il glucosio plasmatico è stato misurato con il metodo di ossidazione del glucosio usando un Beckman 2 glucose analyzer (Beckman Instruments Inc., Palo Alto, Calif., USA). I livelli di insulina plasmatica sono stati analizzati usando un metodo radioimmunologico, descritto da Yalow e Berson.

#### *Analisi statistica*

Analisi HRV. Le registrazioni Holter sono state analizzate e le analisi spettrali stimate su periodi di 256 battiti di frequenza interpolata calcolando la trasformata di Fourier. Sono state analizzate le seguenti misure del dominio di tempo e frequenza della variabilità della frequenza cardiaca, secondo le raccomandazioni dell'ESC/NASPE (14): RR medio, deviazione standard degli intervalli RR (SDNN), potere totale (TP) (0,00-0,40 Hz), banda di potere assoluta e normalizzata a bassa (LF: 0,04-0,15) e ad alta frequenza (HF: 0,15-0,40) e rapporto LF/HF. LF e HF in unità normalizzate venivano calcolate, mediante la seguente formula: LF (o HF)/(TP - VLF) x 100.

I risultati venivano espressi come media ± SEM. Per l'analisi statistica della varianza (ANOVA) è stato applicato il t-test di Dunnett per comparazioni multiple, o il t-test di Student per dati appaiati e non. È stato usato un livello di significatività statistica di 0,05.

#### *Risultati*

I due gruppi erano comparabili per età, sesso, durata del diabete (tab. I). I soggetti neuropatici presentavano una neuropatia prevalentemente parasimpatica; nessuno di loro presentava ipotensione ortostatica. La pressione arteriosa e la frequenza cardiaca sono risultate significativamente più elevate nei pazienti neuropatici rispetto ai non neuropatici (p < 0,05, figg. 1 e 2), sia in condizioni basali (PAM: N: 107 ± 0,4 vs S: 80 ± 0,2 mmHg, p < 0,05) che per tutta la durata del clamp euglicemico iperinsulinemico (PAM: N: 100 ± 0,2 vs S: 83 ± 0,1 mmHg, p < 0,05). Tuttavia, l'infusione esogena di insulina non era in grado di

TAB. I. Caratteristiche cliniche dei due gruppi

	N (n = 10)	S (n = 10)
Neuropatia autonómica		
Età (anni)	37,2 ± 3,8	46,5 ± 5,6
Durata del diabete (anni)	16,3 ± 1,2	20,1 ± 0,8
HbA <sub>1c</sub> (%)	7,3 ± 0,5	7,4 ± 0,6
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	23,5 ± 0,7	23,7 ± 1,8
Creatininemia (mg/dL)	0,7 ± 0,1	0,8 ± 0,2

modificare significativamente la pressione arteriosa e la frequenza cardiaca nei due gruppi.

Il rapporto LF/HF, di base simile nei due gruppi (S: 2,1 ± 0,2 vs N: 1,0 ± 0,2,  $p < 0,05$ ), diventava significativamente più elevato nei non neuropatici a partire dall'ultima ora del primo step (S: 2,85 ± 0,2 vs N: 1,0 ± 0,1,  $p < 0,05$ ; fig. 3). Nel gruppo dei neuropatici, non si osservava alcuna modificazione del rapporto LF/HF per tutta la durata del clamp.

## Discussione

Studi recenti hanno già dimostrato che in soggetti sani aumenti dell'insulina plasmatica producono sia azioni pressorie (aumento dell'attività simpatica e della norepinefrina), sia azioni depressorie (vasodilatazione). Con aumenti acuti dell'insulina plasmatica, entro limiti fisiologici postprandiali, queste opposte azioni appaiono relativamente bilanciate, tanto che la pressione arteriosa non si modifica (7, 8). Tuttavia, è

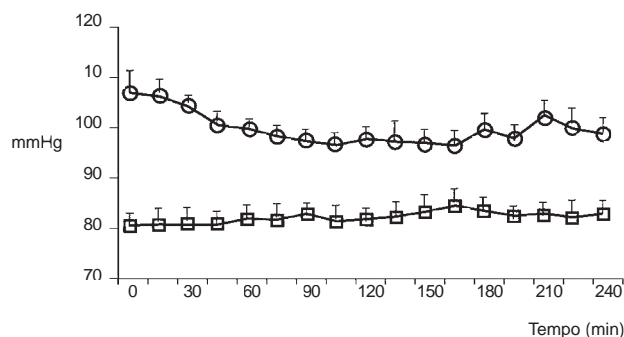


Fig. 1. La pressione arteriosa media era significativamente più elevata nei neuropatici (cerchi) rispetto ai non neuropatici (quadrati), in condizioni basali e per tutta la durata dello studio.

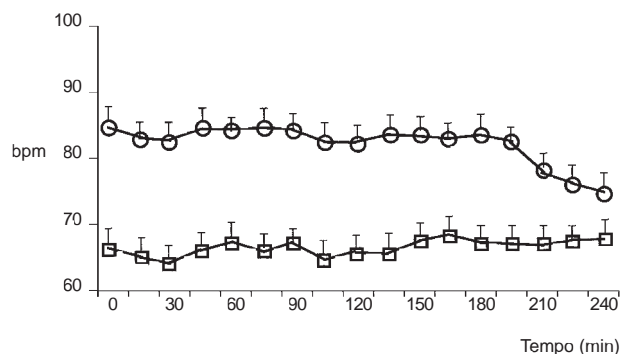


Fig. 2. La frequenza cardiaca era significativamente più elevata nei neuropatici (cerchi) rispetto ai non neuropatici (quadrati), in condizioni basali e per tutta la durata dello studio.

probabile che nei soggetti normali la mancata alterazione pressoria in risposta a vari stimoli dipenda dall'integrità dell'equilibrio tra le due componenti del sistema nervoso autonomo (15, 16). D'altro canto, in pazienti con neuropatia autonómica diabetica e non diabetica, dovremmo aspettarci che l'alterazione di questo equilibrio sia associata con una maggiore variazione dei livelli pressori. La direzione di questa variazione (incremento o decremento) sarà chiaramente correlata allo stadio del difetto autonomo. Infatti, quando entrambe le denervazioni del simpatico e del parasimpatico sono complete, l'iperinsulinemia non sarà capace di determinare un'attivazione del sistema autonomo, e l'effetto predominante sarà perciò una dilatazione diretta da parte dell'insulina sui vasi, che eventualmente porterà a un decremento dei livelli pressori. In uno stadio precoce di disfunzione autonómica, tuttavia, l'insulina potrebbe provocare un significativo incremento dell'attività simpatica, senza una concomitante attivazione del sistema parasimpatico.

Nel nostro studio nei pazienti diabetici di tipo 1 normotesi senza neuropatia, l'iperinsulinemia non ha determinato alcun cambiamento della pressione arteriosa e della frequenza cardiaca, anche in presenza di un'attivazione del sistema simpatico. Nel presente studio l'attività simpatica è stata valutata mediante l'analisi spettrale e non mediante dosaggio delle catecolamine plasmatiche, che rappresenta uno dei metodi più comunemente usati per valutare l'attività del sistema nervoso simpatico (17). Deve tuttavia essere considerato che nonostante le tecniche cromatografiche, attualmente impiegate, il dosaggio della noradrenalina plasmatica fornisce un indice assai indiretto dell'attività globale del sistema adrenergico. Infatti la concentrazione plasmatica delle

catecolamine dipende da diversi fattori: liberazione globale del mediatore chimico da tutti i terminali adrenergici, quota di re-uptake locale, quota metabolizzata. È stato inoltre osservato che solo una quota variabile fra l'1 e il 5% della noradrenalina liberata dalle terminazioni simpatiche raggiunge il plasma e può essere dosata (18); e alcuni distretti possono contribuire più di altri alla concentrazione plasmatica di noradrenalina, rendendo questo indice umorale un'espressione sbilanciata dell'attività del sistema simpatico integrata del sistema circolatorio (17, 19). Infine, il rapporto LF/HF, calcolato mediante analisi spettrale rappresenta un indice indiretto del bilancio simpato-vagale e non una misura della sola attività simpatica. L'analisi spettrale della variabilità battito-battito dell'intervallo RR consente di individuare le componenti oscillatorie in esso nascoste, la cui somma costituisce la variabilità totale della frequenza cardiaca. Questo tipo di analisi ha permesso di raggruppare le oscillazioni della frequenza cardiaca in due principali bande di frequenza: una banda a bassa frequenza, detta LF (Low Frequency), a circa 0,1 Hz, indipendente dagli atti respiratori e correlata con l'attività nervosa simpatica e le sue variazioni, e una ad alta frequenza, detta HF (High Frequency), sincrona con il respiro per frequenze respiratorie fisiologiche, fra 0,15 e 0,30 Hz, la cui potenza fornisce una stima quantitativa dell'attività vagale (14, 20). L'importanza relativa di queste due componenti, espressa dal rapporto fra due potenze (LF/HF) fornisce una stima dello stato del bilancio simpato-vagale. Così, per esempio, l'aumento del tono simpatico determina un aumento di LF e una riduzione di HF.

Nei pazienti con neuropatia autonoma, la pressione arteriosa e la frequenza cardiaca, più elevati all'inizio dell'esame in posizione supina, non venivano modifi-

cate dall'iperinsulinemia. Inoltre, in questo gruppo di pazienti l'iperinsulinemia non era in grado di attivare il sistema nervoso simpatico. Questa osservazione suggerisce che nei pazienti diabetici con neuropatia autonoma, altri meccanismi possano intervenire nel controllo della pressione arteriosa. In particolare, il nostro gruppo ha precedentemente osservato (9) che la neuropatia autonoma si associa a un ridotto calo pressorio notturno. Questo fenomeno è stato interpretato come possibile conseguenza dell'alterato ritmo circadiano simpato-vagale (12). Tuttavia, in pazienti con diabete di tipo 1, il ridotto calo notturno della pressione arteriosa è stato correlato a un aumento del volume extracellulare (21). Nella posizione supina, si verrebbe a determinare una mobilitazione dell'edema periferico con conseguente aumento del volume intravascolare. Tale meccanismo potrebbe essere particolarmente rilevante nei pazienti con neuropatia autonoma, nei quali è stato descritto un aumento dell'escrezione urinaria di sodio durante le ore notturne (22). Poiché l'aumento dell'escrezione urinaria di sodio è stato correlato a pressioni arteriose più elevate (23), questa ipotesi potrebbe spiegare il rilievo di una pressione basale, misurata in posizione supina, significativamente maggiore nei pazienti con neuropatia autonoma.

In conclusione, altri meccanismi in aggiunta all'iperinsulinemia e all'attivazione del sistema nervoso simpatico potrebbero giocare un ruolo nel condizionare il comportamento della pressione arteriosa in pazienti diabetici con neuropatia autonoma.

## Bibliografia

- Christlieb AR, Warram JH, Krolewski AS et al: Hypertension, the major risk in juvenile-onset insulin-dependent diabetics. *Diabetes* 30 (suppl 2), 90-96, 1981
- Modan M, Halkin H, Almog S et al: Hyperinsulinemia. A link between hypertension, obesity and glucose intolerance. *JCL* 75, 809-817, 1985
- Salans LB, Knittle JL, Hirsch J: Obesity, glucose intolerance and diabetes mellitus. In: Ellenberg M, Rifkin H (Eds): *Diabetes mellitus, theory and practice*. Med Exam, New Hyde Park, NY, 1983, p. 469-479
- Wiseman M, Viberti GC, Mackintosh D et al: Glycaemia, arterial blood pressure and microalbuminuria in type 2 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 26, 401-405, 1984
- Landsberg L, Young JB: Insulin-mediated glucose metabolism in the relationship between dietary intake and sympathetic nervous system activity. *Int J Obes* 9, 63-68, 1985

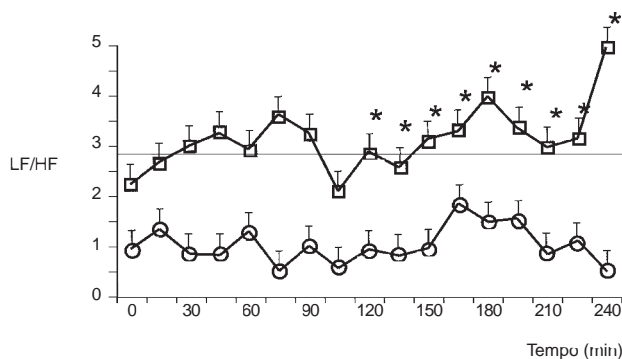


Fig. 3. Il rapporto LF/HF, di base simile nei neuropatici (cerchi) e nei non neuropatici (quadrati), diventava significativamente più elevato nei neuropatici a partire dall'ultima ora del primo step dello studio di clamp.

6. Berne C, Fagius J: Sympathetic response to oral carbohydrate administration: evidence from microelectrode nerve recordings. *J Clin Invest* **84**, 1403-1409, 1989
7. Anderson EA, Hoffman RP, Thomas WB et al: Hyperinsulinemia produces both sympathetic neural activation and vasodilation in normal humans. *J Clin Invest* **87**, 2246-2252, 1991
8. Berne C, Fagius J, Pollare T et al: The sympathetic response to euglycemic hyperinsulinemia: evidence from microelectrode nerve recordings in healthy subjects. *Diabetologia* **35**, 873-879, 1992
9. Spallone V, Gambardella S, Maiello MR, Barini A, Frontoni S, Menzinger G: Relationship between autonomic neuropathy, 24-h blood pressure profile, and nephropathy in normotensive IDDM patients. *Diabetes Care* **17**, 578-584, 1994
10. Ewing DJ: Cardiac autonomic neuropathy. In: Jarrett RJ (Ed): *Diabetes and heart disease*. Elsevier Biomedical Press, Amsterdam, 1989, p. 99-132
11. Ricordi L, Soldà PL, Calciati A et al: Assessment of 24-hour sympatho-vagal activity in ambulant diabetics by power spectral analysis of heart rate variability. *Diabetologia* **33** (suppl): A160, 1990
12. Spallone V, Bernardi L, Ricordi PL et al: Relationship between the circadian rhythms of blood pressure and sympathovagal balance in diabetic autonomic neuropathy. *Diabetes* **42**, 1745-1752, 1993
13. Porcellati F, Fanelli C, Bottini P, Epifano L, Rambotti AM, Lalli C, Pampanelli S, Scionti L, Santeusano F, Brunetti P, Hilsetd J, Bolli GB: Mechanism of arterial hypotension after therapeutic dose of subcutaneous insulin in diabetic autonomic neuropathy. *Diabetes* **42**, 1055-1064, 1993
14. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology: Heart rate variability. Standards of measurements, physiological interpretation, and clinical use. *Eur Heart J* **17**, 354-381, 1996
15. Laakso M, Edelman SV, Brechtel G, Baron AD: Decreased effect of insulin to stimulate skeletal muscle blood flow in obese man: A novel mechanism for insulin resistance. *J Clin Invest* **85**, 1844-1853, 1990
16. Laakso M, Edelman SV, Brechtel G, Baron AD: Effects of epinephrine on insulin-mediated glucose uptake in whole body and leg muscle in humans: Role of blood flow. *Am J Physiol* **263**, E199-E204, 1992
17. Grassi G, Esler M: How to assess sympathetic activity in humans. *J Hypertens* **17**, 719-734, 1999
18. Esler H, Hasking G, Willet I, Leonard P, Jennings G: Noradrenaline release and sympathetic nervous system activity. *J Hypertens* **3**, 117-129, 1985
19. Mancia G, Daffonchio A, Di Rienzo M, Ferrari AU, Grassi G: Methods to quantify sympathetic cardiovascular influences. *Eur Heart J* **19**, F7-F13, 1998
20. Pomeranz B, Macaulay RJB, Caudill MA, Kutz I, Adam D, Gordon D et al: Assessment of autonomic function in humans by spectral analysis. *Am J Physiol* **248**, H151-H153, 1985
21. Mulec H, Blohme G, Kullenberg K, Nyberg G, Bjorck S: Latent overhydration and nocturnal hypertension in diabetic nephropathy. *Diabetologia* **38**, 216-220, 1995
22. Bell GM, Reid W, Ewing DJ, Cumming AD, Watson ML, Doig A, Clarke BF: Abnormal diurnal urinary sodium and water excretion in diabetic autonomic neuropathy. *Clin Sci (Colch)* **73**, 259-265, 1987
23. Dyer AR, Martin GJ, Burton WJ, Levin M, Stamler J: Blood pressure and diurnal variation in sodium, potassium, and water excretion. *J Hum Hypertens* **12**, 363-371, 1998

---

Corrispondenza a: Dott.ssa Simona Frontoni, Centro di Diabetologia, Università di Roma "Tor Vergata", Via D. Cambellotti 11, 00133 Roma  
e-mail: frontoni@uniroma2.it

Pervenuto in Redazione il 15/9/2000 - Accettato per la pubblicazione il 18/9/2001

Questo lavoro ha partecipato al Premio Nazionale Roche - *Giornale Italiano di Diabetologia e Metabolismo "Diabete, obesità e patologie metaboliche: dalla ricerca alla clinica"*