

# COMPROMISSIONE PRECOCE DELL'ASSE ENTERO-INSULARE IN CORSO DI DIABETE MELLITO TIPO 2 (NON INSULINO-DIPENDENTE)

R. LUGARI, A. DEI CAS, D. UGOLOTTI, C. DELL'ANNA, L. FINARDI, L.A. BARILLI, C. OGNIBENE\*, B. MARANI\*, M. IOTTI\*, A. ORLANDINI\*, R. ZANDOMENEGHI\*, A. GNUDI

Dipartimento di Medicina Interna e Scienze Biomediche, Università degli Studi di Parma, Parma;  
\*Dipartimento di Medicina Interna, Università degli Studi di Modena, Modena

riassunto

Partendo dal presupposto che nel diabete tipo 2 l'alterata dinamica secretoria della beta-cellula sia riconducibile, quanto meno in parte, ad un difetto del sistema di regolazione intestinale, abbiamo valutato la secrezione del glucagon-like peptide 1 (GLP-1) 7-36 amide in risposta a un pasto misto in 25 pazienti diabetici tipo 2, suddivisi in base al grado di compromissione metabolica: 14 pazienti erano in terapia ipoglicemizzante orale (gruppo A): età =  $56,5 \pm 13,3$  anni, BMI =  $29,9 \pm 5$ ,  $HbA_{1c} = 8,1 \pm 1,8\%$  e 11 pazienti in solo trattamento dietetico (gruppo B): età =  $56,3 \pm 6,5$  anni, BMI =  $28,7 \pm 2,2$ ,  $HbA_{1c} = 6,4 \pm 0,9\%$ . 10 volontari sani di pari età erano studiati come controlli. In condizioni di postassorbimento tutti i soggetti in studio ricevevano un pasto misto pari a 700 kcal. Ai tempi: 0', 30', 60', 120', 180', venivano effettuati prelievi venosi per la determinazione di glicemia, insulina, glucagone e GLP-1.

Nei soggetti di controllo l'ingestione del pasto evocava un incremento significativo di GLP-1 ai tempi 30' e 60' (0' =  $97,3 \pm 4,01$ , 30' =  $125,3 \pm 4,6$ , 60' =  $121,9 \pm 3,9$  pg/mL;  $p < 0,01$ ), con successivo ritorno del peptide ai valori basali. Nei pazienti diabetici in trattamento farmacologico (gruppo A) la secrezione di insulina in risposta allo stimolo alimentare risultava, come atteso, ridotta in fase precoce (0'-60') e prolungata nelle successive 2 ore di osservazione. In questi pazienti, a fronte di valori basali di GLP-1 sovrapponibili ai controlli ( $102,1 \pm 1,9$  pg/mL), lo stimolo alimentare non evocava alcun incremento del peptide, le cui concentrazioni tendevano anzi a ridursi durante il test ( $p < 0,01$ ). Nei pazienti in solo trattamento dietetico (gruppo B) la fase postprandiale era caratterizzata da un aumento precoce dei livelli di insulina (0'-60'), ma l'incremento percentuale dell'ormone, rispetto ai soggetti di controllo, risultava significativamente ridotto ( $p < 0,01$ ); nelle successive 2 ore di osservazione i valori di insulina si mantenevano elevati, a conferma di una risposta beta-cellulare inadeguata. Anche in questi pazienti l'ingestione di nutrienti non comportava alcuna risposta incretorica di GLP-1, il cui andamento durante il test risultava del tutto sovrapponibile a quanto osservato nel gruppo A ( $p < 0,01$  vs controlli). Infine, mentre nei soggetti di controllo il pasto non modificava significativamente i livelli circolanti di glucagone, in entrambi i gruppi di pazienti si assisteva ad un incremento dell'ormone ai tempi 30' e 60', con successiva tendenza a ridursi durante il test ( $p < 0,01$ ).

In conclusione: 1) nel diabete di tipo 2 l'integrità del sistema incretinico, quanto meno in termini di secrezione di GLP-1, risulta seriamente compromessa; 2) tale alterazione è già presente in condizioni di relativa compromissione della omeostasi glucidica, suggerendo che la disfunzione precoce dell'asse entero-insulare possa giocare un ruolo nella patogenesi del diabete tipo 2.

Parole chiave. Diabete mellito tipo 2, asse entero-insulare, GLP-1.

summary

*Early involvement of the entero-insular axis in type 2 (non insulin-dependent) diabetes. In type 2 diabetes glucagon-like peptide 1 (GLP-1) 7-36 amide administration results in a near-normalization of plasma glucose, indirectly suggesting a dysfunction of the the entero-insular axis. To investigate a possible role of impaired intestinal secretion in the pathogenesis of type 2 diabetes plasma GLP-1 response to nutrient ingestion was evaluated in type 2 diabetic patients selected on the basis of different metabolic dysfunction degrees.*

*14 type 2 diabetic patients on oral hypoglycaemic treatment (group A: age =  $56.5 \pm 13.3$ , BMI =  $29.9 \pm 5$ ,  $HbA_{1c} = 8.1 \pm 1.8\%$ ) and 11 diabetic patients on diet only (Group B: age =  $56.3 \pm 6.5$ , BMI =  $28.7 \pm 2.2$ ,  $HbA_{1c} = 6.4 \pm 0.9$ ) participated in the study. 10 healthy volunteers were studied as controls. In postabsorptive state all subjects were given a mixed meal equal to 700 Kcal: blood samples were collected at 0', 30', 60', 120', 180' minutes for plasma glucose, insulin, glucagon and GLP-1 determination.*

*In the control group food ingestion induced a significant increase in circulating GLP-1 at 30 and 60 min ( $0' = 97.3 \pm 4.01$ ,  $30' = 125.3 \pm 4.6$ ,  $60' = 121.9 \pm 3.9$  pg/mL;  $p < 0.01$ ), returning then plasma peptide concentrations toward basal values.*

*In Group A nutrient ingestion was followed, as expected, by a markedly reduced and delayed insulin secretion. In the same patients fasting GLP-1 resulted similar to controls ( $102.1 \pm 1.9$  pg/mL), but the meal failed to increase plasma peptide levels, which even tended to decrease during the test ( $p < 0.01$ ).*

*Postprandial phase in Group B was characterized by an early increase in insulin secretion ( $0'-60'$ ), but the percentage increase of the hormone resulted significantly lower when compared to controls ( $p < 0.01$ ). The high values of insulin concentrations observed in these patients during the following two hours further confirmed and inadequate beta-cell response to the stimulus. Also in these patients no increase in plasma GLP-1 occurred following food ingestion, in spite of maintained basal peptide secretion ( $103.8 \pm 3.4$  pg/mL). Finally, whereas in normal subjects the test-meal did not significantly modify plasma glucagon levels, in both groups of patients a significant hormone increase occurred at 30 and 60 min ( $p < 0.01$ ).*

*In conclusion: 1) in type 2 diabetes the incretin effect, in terms of plasma GLP-1 response to nutrient ingestion, seems to be lost; 2) a serious impairment of the physiological mechanisms which regulate insulin secretion would occur even in condition of mild diabetes, suggesting that an early entero-pancreatic axis dysfunction could play a role in the development of overt type 2 diabetes.*

*Key words. Type 2 diabetes, entero-insular axis, GLP-1.*

## Introduzione

Il glucagon-like peptide 1 (GLP-1) (7-36 amide), peptide secreto dalle cellule L dell'intestino distale a seguito della ingestione di nutrienti, è considerato a tutt'oggi la principale incretina in grado di potenziare la secrezione insulinica postprandiale grazie ad un meccanismo di autoregolazione strettamente dipendente dai livelli glicemici circolanti (1-4).

Pur nella scarsa conoscenza dei meccanismi fisiopatologici che ne sono alla base è ormai ampiamente documentato che, a fronte di una mantenuta o addirittura incrementata secrezione basale di GLP-1, in corso di diabete tipo 2 la integrità dell'asse entero-insulare è seriamente compromessa, venendo meno pertanto il ruolo sostenuto in condizioni fisiologiche dal sistema incretinico intestinale (5, 6). A conferma di tale difetto la somministrazione di GLP-1 in diabetici tipo 2 si è rivelata in grado di ripristinare la sensibilità della beta-cellula ai livelli circolanti di glucosio, tanto che si parla oggi di GLP-1, o meglio di suoi analoghi a maggiore durata d'azione, quale promettente nuovo approccio nel trattamento del diabete non insulino-dipendente (7-10).

Nell'ambito della complessa eziopatogenesi del diabete tipo 2 la ridotta efficacia del segnale incretinico inviato dal peptide alla beta-cellula potrebbe giocare un ruolo non trascurabile, traducendosi in una secrezione inappropriata di insulina in risposta a specifiche stimolazioni. In particolare, l'assenza del picco precoce di insulina che si osserva nel diabete tipo 2, quale espressione di desincronizzazione funzionale della beta-cellula, potrebbe essere, quanto meno in parte, riconducibile

al venire meno del fisiologico controllo intestinale. A sostegno di un contributo patogenetico svolto dalla compromissione entero-insulare nella insorgenza del diabete tipo 2 andrebbe identificato, nel corso della storia naturale della malattia, il momento in cui tale alterazione si instaura. L'individuazione, infatti, di una disregolazione precoce del sistema incretinico nel contesto di una patologia a carattere evolutivo, quale è il diabete tipo 2, rafforzerebbe l'ipotesi che l'alterata dinamica secretoria della beta-cellula sia, almeno in parte, riconducibile ad un primitivo difetto del sistema di regolazione intestinale.

Abbiamo pertanto valutato l'integrità del segnale incretinico, in termini di risposta di GLP-1 all'assunzione di nutrienti, in differenti stadi clinicamente evolutivi di diabete non insulino-dipendente: diabete controllato con sola dieta e diabete richiedente terapia farmacologica, oltre a quella dietetica.

## Materiali e metodi

Sono stati studiati 2 gruppi di pazienti affetti da diabete tipo 2, suddivisi in base al differente grado di compromissione metabolica: 14 pazienti erano in trattamento ipoglicemizzante orale (8 di questi assumevano glibenclamide, i rimanenti 6 glibenclamide e metformina), gruppo A: età media =  $56,5 \pm 13,3$ , BMI =  $29,9 \pm 5$ , HbA<sub>1c</sub>  $8,1 \pm 1,8\%$ ; 11 pazienti erano controllati con solo trattamento dietetico, gruppo B: età media =  $56,3 \pm 6,5$ , BMI =  $28,7 \pm 2,2$ , HbA<sub>1c</sub> =  $6,4 \pm$

0,9%. 10 volontari sani, sovrapponibili per sesso ed età, erano studiati come gruppo di controllo. Tutti i soggetti venivano informati sulla finalità dello studio ed acconsentivano a parteciparne. Nessuno di essi riferiva patologie, pregresse o in atto, a carico dell'apparato digerente, né l'assunzione di farmaci interferenti con l'attività gastrointestinale.

La tabella I mostra i principali parametri clinici e metabolici dei soggetti in studio. Mentre i valori medi di età ed indice di massa corporea risultavano del tutto sovrapponibili tra i due gruppi di pazienti, la durata nota di diabete e la qualità del controllo metabolico differivano in maniera significativa evidenziandosi, nei pazienti in trattamento farmacologico, una più lunga durata di malattia ed uno scadente compenso metabolico.

In condizioni di post-assorbimento e senza assumere alcuna terapia tutti i soggetti in studio ricevevano un pasto misto standardizzato pari a 700 kcal, composto da: pane 100 g, prosciutto crudo sgrassato 50 g, stracchino 30 g, burro 10 g, uno yogurt alla frutta, una mela (50% carboidrati, 31% lipidi, 19% proteine). Il pasto veniva consumato entro 15 min. I campioni venosi per la determinazione di glicemia, insulina, glucagone e GLP-1 (7-36 amide) erano ottenuti ai tempi: 0, 30, 60, 120, 180 min.

Per la determinazione della glicemia era impiegata metodica enzimatica (Test Combination, Boehringer-Mannheim). I dosaggi di insulina e glucagone venivano effettuati con metodo radioimmunologico (Kits Biodata).

I campioni di sangue per la determinazione di GLP-1 erano immediatamente trasferiti in provette contenenti EDTA ed aprotinina (Trasylo, 500 KIU/mL). Le concentrazioni del peptide erano determinate con metodica RIA (Peninsula Laboratories, U.K.) su plasma pretrattato con alcol assoluto. Dopo centrifuga-

zione il surnatante veniva decantato ed evaporato a 37 °C sotto flusso di azoto; l'essiccato veniva poi mantenuto a -20 °C fino al momento del dosaggio, quindi portato al volume iniziale con l'aggiunta di tampone fosfato (0,04 M) ed albumina umana (0,1%).

La sensibilità del metodo risultava pari a 20 pg/mL, la variabilità interdosaggio ed intradosaggio risultava, rispettivamente, di 7 e 8%.

La valutazione statistica dei risultati veniva effettuata tramite analisi della varianza per misure ripetute e t di Student per dati non appaiati.

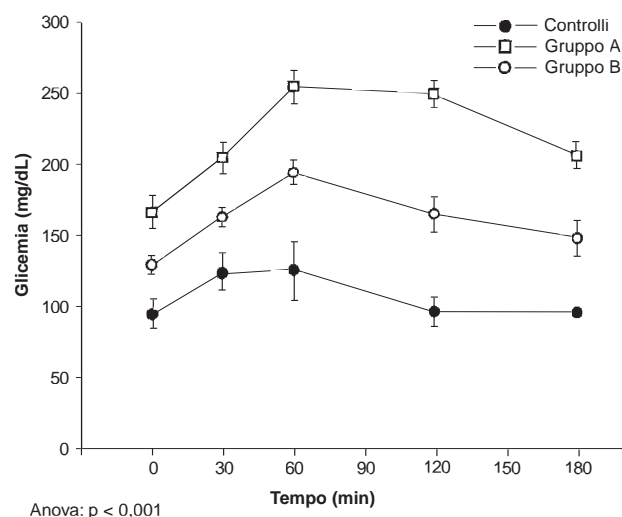
## Risultati

Le risposte glicemiche ed insulinemiche al pasto nei soggetti di controllo sono rappresentate nelle figure 1 e 2. Negli stessi soggetti l'ingestione di nutrienti induceva un incremento significativo di GLP-1 ai tempi 30' e 60', con successivo ritorno delle concentrazioni del peptide ai valori basali ( $p < 0,01$ ; fig. 3). Nei pazienti diabetici in trattamento farmacologico (gruppo A) la risposta insulinemica era caratterizzata, come atteso, dalla scomparsa del picco precoce e da una ritardata secrezione compensatoria di insulina (fig. 2). Negli stessi pazienti la secrezione basale di GLP-1 risultava del tutto sovrapponibile al gruppo di controllo, ma lo stimolo alimentare non era in grado di evocare alcun incremento del peptide, i cui valori medi tendevano anzi a ridursi nelle 3 ore di osserva-

**Tab. I. Caratteristiche clinico-metaboliche dei soggetti in studio (M ± SE)**

	Età (anni)	Sesso	BMI	Durata nota di malattia (anni)	HbA <sub>1c</sub> %
Gruppo A	56,5 ± 13,3	6 F/8 M	29,9 ± 5,05	8,6 ± 7,7*	8,1 ± 1,8**
Gruppo B	56,3 ± 6,5	6 F/5 M	28,7 ± 2,2	1,4 ± 1,6	6,4 ± 0,89
Controlli	47,3 ± 3,1	4 F/6 M	24,3 ± 1,2	-	-

\*  $p < 0,01$ ; \*\*  $p < 0,05$



**Fig. 1.** Valori medi di glicemia (mg/dL) in risposta al pasto nei 3 gruppi di soggetti in studio (M ± SE).

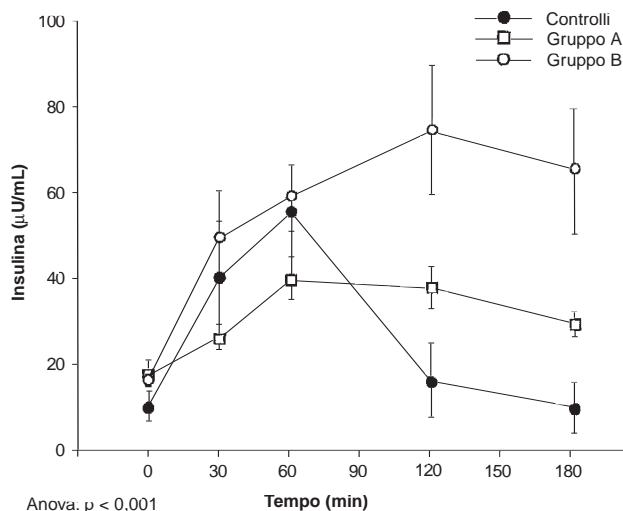


Fig. 2. Valori medi di insulinemia ( $\mu\text{U}/\text{mL}$ ) in risposta al pasto nei 3 gruppi di soggetti in studio ( $M \pm \text{SE}$ ).

zione ( $p < 0,01$ ; fig. 3). Nessuna correlazione emergeva tra il tipo di trattamento ipoglicemizzante orale ed i livelli plasmatici di GLP-1 rilevati durante il test. Nei soggetti diabetici in solo trattamento dietetico (gruppo B) l'ingestione di nutrienti induceva, a differenza del gruppo precedente, un effettivo e precoce aumento delle concentrazioni di insulina (fig. 2), ma l'incremento percentuale dell'ormone risultava significativamente minore rispetto ai soggetti di controllo a 30' ( $p < 0,05$ ) e 60' ( $p < 0,01$ ). Nelle successive 2 ore di osservazione i livelli di insulina si mantenevano elevati, ad ulteriore conferma di una risposta insulinemica inadeguata. Anche in questi pazienti l'ingestione di nutrienti non risultava in grado di incrementare i livelli circolanti di GLP-1, il cui andamento risultava, sia di base che durante il test, del tutto sovrapponibile a quanto osservato in condizioni di diabete conclamato (fig. 3). Infine, mentre nei soggetti di controllo il pasto non modificava significativamente i livelli circolanti di glucagone, in entrambi i gruppi di pazienti si assisteva ad un incremento dell'ormone ai tempi 30' e 60' e ad una tendenza a riportarsi verso i valori basali nelle successive 2 ore di osservazione ( $p < 0,001$ ; fig. 4).

## Discussione

In accordo con la letteratura circa il venir meno dell'effetto incretina nel diabete tipo 2 (5, 6) questo studio evidenzia, nei pazienti diabetici esaminati, un deficit secretorio della cellula GLP-1 secernente che,

pur garantendo concentrazioni basali del peptide nel range della norma, sembra perdere in misura pressoché totale la responsività allo stimolo più elettivo, quale l'ingestione di nutrienti. Rispetto a precedenti studi nei quali avevamo utilizzato un test-meal a contenuto calorico relativamente basso (230 kcal), in grado peraltro di evocare nel soggetto sano un incremento precoce e significativo del peptide (11), in questo studio abbiamo impiegato uno stimolo ad apporto calorico notevolmente più elevato, al fine di smascherare, nei pazienti con diabete "mite", un'eventuale alterazione latente della secrezione incretinica che avrebbe potuto restare misconosciuta qualora fosse stato somministrato uno stimolo meno acuto. I risultati ottenuti evidenziano, però, che anche il potenziamento dello stimolo alimentare non sortisce alcun effetto, in termini di secrezione di GLP-1, e che per di più tale alterazione è già presente in una fase relativamente iniziale di malattia.

È ormai dimostrato con chiarezza che il diabete di tipo 2 è una malattia a carattere evolutivo (12), caratterizzata, accanto ad una condizione di insulino-resistenza, da un deterioramento funzionale della beta-cellula che diviene progressivamente incapace di percepire e rispondere a variazioni, anche modeste, della glicemia (13-15). L'espressione funzionale di tale alterazione si identifica nella comparsa di iperglicemia in fase postprandiale, alterazione attualmente ritenuta, accanto ai convenzionali fattori di rischio, un ulteriore elemento favorente lo sviluppo di aterosclerosi (16, 17).

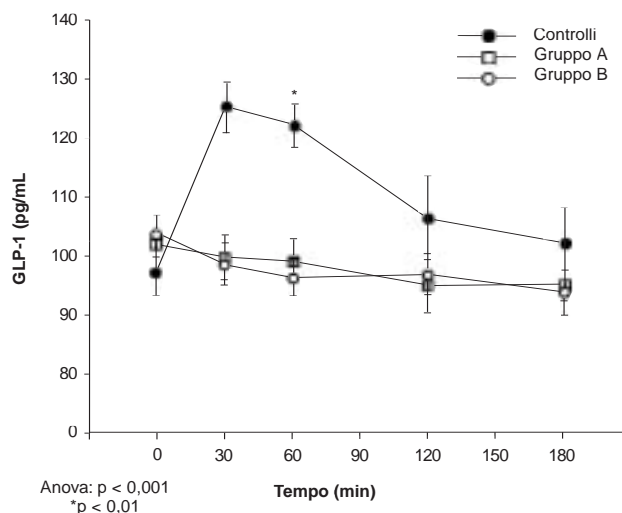


Fig. 3. Valori medi di GLP-1 plasmatico ( $\text{pg}/\text{mL}$ ) in risposta al pasto nei soggetti di controllo, nei pazienti diabetici tipo 2 in trattamento ipoglicemizzante orale (gruppo A) e nei pazienti diabetici in solo trattamento dietetico (gruppo B) ( $M \pm \text{SE}$ ).

Nel presente studio abbiamo esaminato due fasi di diabete tipo 2: una fase di relativa compromissione beta-cellulare ed una fase successiva di malattia, caratterizzata da una disregolazione funzionale più accentuata della beta-cellula. I risultati ottenuti evidenziano il venir meno di un importante meccanismo di regolazione della secrezione insulinica, quale l'incremento postprandiale di GLP-1, in tutti i pazienti esaminati, indipendentemente dalla entità del disordine metabolico. In particolare, la mancata risposta del peptide risulta essere già presente in una fase relativamente iniziale di malattia, a suggerire che la insorgenza del deficit incretinico, quanto meno in termini di secrezione di GLP-1, sia un evento precoce nella storia naturale del diabete tipo 2. Se così, la compromissione del sistema incretinico potrebbe essere chiamata in causa, nel contesto di molteplici meccanismi patogenetici, quale elemento favorente la successiva evoluzione della malattia.

Gli studi che hanno valutato l'integrità dell'asse entero-insulare in condizioni di alterata tolleranza al glucosio (IGT), fase che, come noto, precede lo sviluppo di diabete tipo 2, sono a tutt'oggi scarsi e preliminari. Viene riportato che l'induzione nel topo di una mutazione genica inattivante il recettore del GIP determina l'insorgenza di IGT (18) e che la stessa alterazione metabolica compare nell'animale knockout per il recettore del GLP-1 (19). Pochissimi i dati relativi alla funzionalità dell'asse entero-insulare nei pazienti affetti da IGT: Holst et al. riportano in questa condizione una compromissione, anche se parziale, del sistema incretinico, caratterizzata da una risposta ridotta di GIP al carico orale di glucosio e da una concomitante normale secrezione di GLP-1 (20). La recente osservazione che la somministrazione di GLP-1 in soggetti IGT porta ad un recupero della integrità beta-cellulare (21), osservazione che trova conferma sia in modelli animali (22), che in studi *in vitro* (23), suggerisce, d'altra parte, che anche la secrezione di GLP-1 sia compromessa in condizioni di IGT. In questa fase di iniziale disfunzione beta-cellulare il peptide risulterebbe infatti in grado di restituire alla beta-cellula la sua caratteristica glucosio-competenza, proprietà indispensabile per una corretta insulino-secrezione. Anche se necessitano di essere confermate, queste osservazioni orientano a favore di un ruolo patogenetico svolto dal deficit incretinico nello sviluppo di diabete tipo 2.

A tutt'oggi la patogenesi della disfunzione entero-insulare in corso di diabete tipo 2 non è nota. L'ipotesi che il persistere di elevate concentrazioni di glucosio comporti a lungo termine una progressiva desensibilizzazione della cellula GLP-1-secrente (24) è diffi-

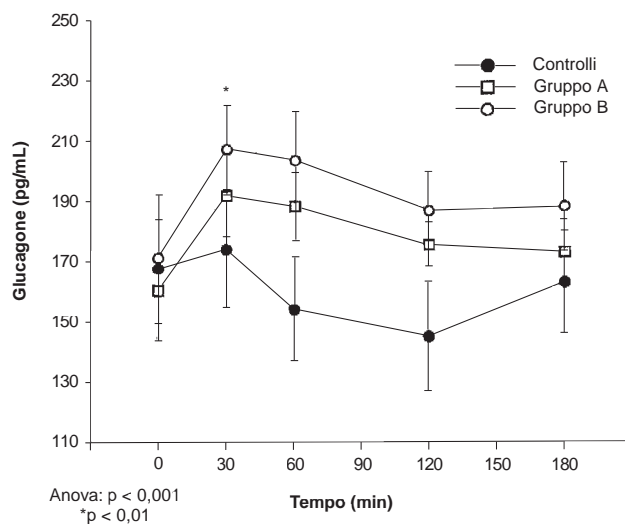


Fig. 4. Valori medi di glucagone plasmatico (pg/mL) in risposta al pasto nei 3 gruppi di soggetti in studio (M ± SE).

cilmente sostenibile, dal momento che il difetto di secrezione del peptide pare addirittura precedere l'esordio clinico della malattia e, se mai, contribuire ad indurre iperglicemia. Pur non conoscendosi la sequela degli eventi che porta al danno metabolico conclamato, la conferma di un'alterazione precoce del sistema incretinico orienterebbe ad identificare in tale sistema la sede primaria di coinvolgimento, piuttosto che interpretare la disregolazione intestinale come espressione di glucotossicità.

Partendo dal presupposto che il deficit incretinico giochi un ruolo importante nel condizionare la dinamica beta-cellulare, potrebbe apparire contraddittorio, nei pazienti in solo trattamento dietetico, il riscontro di un buon compenso metabolico, a fronte di una severa compromissione endocrina intestinale. A tale proposito va ricordato che il sistema incretinico non è l'unico meccanismo di regolazione della glicemia post-prandiale e che, per di più, l'effetto "incretina" non si identifica nella sola attività del GLP-1. Peptidi, quale il glucose-dependent insulinotropic peptide (GIP) e verosimilmente altri a tutt'oggi non ancora identificati, entrano in gioco nel coordinare sinergicamente l'attività della beta-cellula, contribuendo a garantire una secrezione insulinica adeguata. Nel gruppo di pazienti in sola terapia dietetica, d'altra parte, sia i valori glicemici che il tipo di risposta insulinica al pasto confermano una disregolazione beta-cellulare già in atto, possibile espressione del mancato incremento del GLP-1 in risposta al pasto. Infine, va tenuto presente che la fase iniziale di

diabete tipo 2 è caratterizzata da uno screezio glicemico generalmente limitato al periodo post-prandiale (25, 26). Se consideriamo che nei pazienti in studio tale difetto veniva attenuato dal trattamento dietetico e che, in questa fase di malattia, i valori glicemici a digiuno si mantengono molto vicini alla norma, il riscontro di un valore di emoglobina glicata nei limiti è pienamente giustificato.

Infine, la risposta del glucagone osservata in entrambi i gruppi di pazienti in studio sarebbe espressione di una disregolazione funzionale dei meccanismi di controregolazione, quale si verifica in condizioni di iperglicemia cronica (27, 28). Per di più, il venir meno del fisiologico effetto inibitorio esercitato dal GLP-1 sulle alfa-cellule pancreatiche (1, 7) ulteriormente contribuirebbe all'incremento post-prandiale dei livelli circolanti di glucagone.

In conclusione, il riscontro di un'alterazione precoce del sistema incretinico è fortemente suggestivo di un ruolo da essa sostenuto nell'insorgenza del danno funzionale della beta-cellula. Accanto quindi al potenziale impiego del GLP-1 nel trattamento del diabete tipo 2, quale nuovo "farmaco" dotato di molteplici effetti antidiabetogeni, è verosimile che l'utilizzo del peptide in fasi più precoci di malattia possa contribuire a rallentare il progressivo deterioramento funzionale della beta-cellula. In considerazione del ruolo svolto dal controllo glicemico post-prandiale nella prevenzione del rischio cardiovascolare, il ripristino della fase precoce di secrezione insulinica ed il concomitante effetto inibitorio svolto dal GLP-1 sulla secrezione di glucagone potrebbero effettivamente tradursi, a lungo termine, in una minore incidenza di problematiche vascolari.

## Bibliografia

1. Kreyman B, Williams G, Ghatei MA, Bloom SR: Glucagon-like Peptide 1 (7-36): a physiological incretin in man. *Lancet* **ii**, 1300-1304, 1987
2. Drucker DJ: Glucagon-like peptides. *Diabetes* **47**, 159-169, 1998
3. Fehmman HC and Habener JF: Insulinotropic glucagon-like peptide 1 (7-37)/(7-36 amide). A new incretin hormone. *Trends Endocrinol Metab* **3**, 158-163, 1992
4. Edwards CMB, Todd JF, Mahmoudi M, Wang Z, Wang RM, Ghatei MA, Bloom SR: Glucagon-like peptide 1 has a physiological role in the control of postprandial glucose in humans. Studies with the antagonist exendin 9-39. *Diabetes* **48**, 86-93, 1999
5. Nauck M, Stockmann F, Ebert R, Creutzfeldt W: Reduced incretin effect in type 2 (non insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia* **29**, 46-52, 1986
6. Tronier B, Dejgard A, Andersen T, Madsbad S: Absence of incretin effect in obese type 2 and diminished effect in lean type 2 and obese subjects. *Diabetes Res Clin Pract* (suppl 1) S568, 1985
7. Gutniak M, Orskov C, Holst JJ, Ahren B, Efendic S: Antidiabetogenic effect of glucagon-like peptide 1 (7-36 amide) in normal subjects and in patients with diabetes mellitus. *N Engl J Med* **326**, 1316-1322, 1992
8. Nauck MA, Heimesaat MM, Orskov C, Holst JJ, Ebert R, Creutzfeldt W: Preserved incretin activity of glucagon-like peptide 1 (7-36 amide) but not of synthetic human gastric inhibitory polypeptide in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Invest* **91**, 301-307, 1993
9. Rachman J, Barrow BA, Levy JC, Turner RC: Near-normalisation of diurnal glucose concentrations by continuous administration of glucagon-like peptide 1 (GLP-1) in subjects with NIDDM. *Diabetologia* **40**, 205-211, 1997
10. Nauck MA: Glucagon-like peptide 1: a potent gut hormone with a possible therapeutic perspective. *Acta Diabetol* **35**, 117-129, 1998
11. Lugari R, Dell'Anna C, Ugolotti D, Dei Cas A, Marani B, Iotti M, Orlandini A, Zandomenighi R, Gnudi A: Effect of nutrients ingestion on glucagon-like peptide 1 (GLP-1) 7-36 amide secretion in human type 1 and type 2 diabetes. *Horm Met Res* **32**, 424-428, 2000
12. United Kingdom Prospective Diabetes Study Group (UKPDS) 13: Relative efficacy of randomly allocated diet, sulphonylurea, insulin, or metformin in patients with newly diagnosed non-insulin-dependent diabetes followed for three years. *BMJ*, **310** (6972), 83-88, 1995
13. O'Rahilly SP, Nugent Z, Rudenski A, Hosker JP, Burnett MA, Darling P, Turner RC: Beta-cell dysfunction rather than insulin insensitivity is the primary defect in familial type 2 diabetes. *Lancet* **2** (8503), 360-364, 1986
14. Pimenta W, Korytkowski M, Mitrakou A, Jenssen T, Yki-Jarvinen H, Evron W, Dailey G, Gerich J: Pancreatic beta-cell dysfunction as the primary genetic lesion in NIDDM. Evidence from studies in normal glucose-tolerant individuals with a first-degree NIDDM relative. *JAMA* **273** (23), 1855-1861, 1995
15. Ward WK, Bolgiano DC, McKnight B, Halter JB, Porte DJR: Diminished beta-cell secretory capacity in patients with non insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* **74**, 1318-1328, 1984
16. Lefebvre PJ, Scheen AJ: The postprandial state and risk of cardiovascular disease. *Diabet Med* **15** (4), S63-68, 1998
17. Ceriello A: The postprandial state and cardiovascular disease: relevance to diabetes mellitus. *Diabetes Res Rev* **16** (2), 125-132, 2000
18. Miyawaki K, Yamada Y, Yano H, Niwa H, Ban N, Ihara Y, Kubota A, Fujimoto S, Kajikawa M, Kuroe A, Tsuda K, Hashimoto H, Yamashita T, Jomori T, Tashiro F, Miyazaki J, Seino Y: Glucose intolerance caused by a defect in the enteroinsular axis: A study in gastric inhibitory polypeptide receptor knockout mice. *PNAS* **96** (26), 14843-14847, 1999
19. Scrocchi LA, Brown TJ, Ma Klusky N, Brubaker PL, Auerbach AB, Joyner AL, Drucker DJ: Glucose intoleran-

- ce but normal satiety in mice with a null mutation in the glucagon-like peptide 1 receptor gene. *Nat, Med* **2** (11), 1254-1258, 1996
20. Ahren B, Larsson H, Holst JJ: Reduced gastric inhibitory polypeptide but normal glucagon-like peptide 1 response to oral glucose in postmenopausal women with impaired glucose tolerance. *Eur J Endocrinol* **137**, 127-131, 1997
21. Byrne MM, Gliem K, Wank U, Arnold R, Katschinski M, Polonsky KS, Goke B: Glucagon-like peptide 1 improves the ability of the beta-cell to sense and respond to glucose in subjects with impaired glucose tolerance. *Diabetes* **47**, 1259-1265, 1998
22. Broderick CL, Heisserman JA, Miller AR: Effect of sub-chronic administration of GLP-1 (7-37) on beta-cell failure in Zucker diabetic rats. *Diabetologia* **38** (1), A171, 1995
23. Holz GG, Kuhlreiber WM, Habener JF: Pancreatic beta-cells are rendered glucose-competent by the insulinotropic hormone glucagon-like peptide 1 (7-37). *Nature* **361**, 362-365, 1993
24. Habener JF: The incretin notion and its relevance to diabetes. *Endocr Metab Clin North America* **22** (4), 775-794, 1993
25. Dinneen S, Gerich J, Rizza R: Carbohydrate metabolism in non insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* **327**, 707-713, 1992
26. DeFronzo RA: Pathogenesis of type 2 diabetes: metabolic and molecular implications for identifying diabetes genes. *Diabetes Rev* **5**, 17-24, 1997
27. Baron AD, Schaeffer L, Shragg P, Koltermann OG: Role of hyperglucagonaemia in maintenance of increased rates of hepatic glucose output in type 2 diabetics. *Diabetes* **36**, 274-283, 1987
28. Unger RH, Orci L: Glucagon and the A-cell. *Physiology and pathophysiology*. *N Engl J Med* **304**, 1518-1524, 1575-1580, 1981

---

*Corrispondenza a: Dott.ssa Roberta Lugari, Cattedra di Endocrinologia, Dipartimento di Medicina Interna e Scienze Biomediche, Università di Parma, Via Gramsci 14, 43100 Parma e-mail: roberta.lugari@unipr.it*

*Pervenuto in Redazione il 10/1/2001 - Accettato per la pubblicazione il 18/6/2001*