



**FACULTAD DE FARMACIA  
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO**  
**Mecanismo de acción de las incretinas**  
**papel desempeñado en diabetes**

Autor: Miguel Ángel Bruni Montero

Tutor: Carmen Álvarez Escolá

Convocatoria: Junio 2018

## 1 - Resumen

---

Las incretinas son hormonas gastrointestinales con la capacidad de estimular la liberación de insulina de forma dependiente de glucosa, esta capacidad, interesante para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2, se investigó llegando a desarrollarse fármacos que simulan o potencian su acción. A pesar de esto sus acciones no se limitan al páncreas y cada vez hay más evidencia de acciones sobre otros sistemas beneficiosas en el manejo de la diabetes.

## 2 - Introducción y antecedentes

---

### 2.1 - Diabetes mellitus

La diabetes mellitus es una gama de trastornos metabólicos comunes, que se originan por diversos mecanismos patógenos y todos tienen por consecuencia la hiperglucemia. Esta hiperglucemia se produce a consecuencia de un fallo en la secreción de insulina, la acción de la insulina o ambos.<sup>1</sup>

La hiperglucemia puede producir síntomas agudos y anomalías metabólicas, sin embargo, la principal fuente de morbilidad en la diabetes son las complicaciones crónicas causadas por la hiperglucemia prolongada entre las que se incluyen retinopatía, neuropatía, nefropatía y enfermedades cardiovasculares.<sup>1,2</sup>

Son varios los procesos patogénicos involucrados en el desarrollo de la diabetes, desde la destrucción autoinmune de las células beta en el páncreas hasta anomalías que culminan en la aparición de resistencia a la acción de la insulina. En muchos casos el déficit en la secreción de insulina y la resistencia a su acción coexisten.<sup>1</sup>

La clasificación de la diabetes mellitus se hace de acuerdo con su etiología:

- Tipo 1 (T1DM): en este caso se produce la destrucción de las células beta del páncreas pudiendo llegar a necesitarse la insulina para la supervivencia del enfermo.<sup>3</sup>
- Tipo 2 (T2DM): es la forma más común y se caracteriza por la presencia de resistencia a la acción de insulina y disminución de la secreción de insulina. En este caso, inicialmente y en ocasiones a lo largo de la vida del paciente, no es necesario el tratamiento con insulina para la supervivencia del enfermo. La mayoría de los pacientes con diabetes tipo 2 tienen sobrepeso u obesidad. El riesgo de padecerla aumenta con la edad, el peso y la falta de actividad física.<sup>3</sup>
- Otros tipos específicos: son menos comunes, pueden ser: defectos genéticos, enfermedad del páncreas exocrino, endocrinopatías, iatrogénica y producida por infección.<sup>3</sup>

## 2.2 - Obesidad

La Organización Mundial de la Salud ha descrito la elevada prevalencia de diabetes como la epidemia del siglo XXI. El aumento de casos de obesidad en la población ha ido de la mano de un aumento de incidencia de T2DM. Se estima que la mayoría de las personas con T2DM son obesas, sin embargo, no todas las personas obesas desarrollan T2DM.

Hay dos tipos de tejido adiposo blanco (WAT): el tejido adiposo subcutáneo el cual se encuentra mayoritariamente en la hipodermis y no se relaciona con muchas de las patologías típicas asociadas a la obesidad y el tejido adiposo visceral el cual se localiza en la cavidad abdominal y es el que se relaciona con T2DM y resistencia a la insulina entre otras.

El tejido adiposo visceral se diferencia del tejido adiposo subcutáneo más allá de en su localización: está más innervado, contiene gran número de células inflamatorias e inmunes, sus pre-adipocitos tienen menor capacidad de diferenciación y alberga un elevado porcentaje de adipocitos grandes; presenta más receptores de glucocorticoides y androgénicos; sus adipocitos son más activos metabólicamente, más sensibles a la lipólisis y más resistentes a la insulina y tienen mayor capacidad para generar ácidos grasos libres y para absorber glucosa.<sup>4</sup>

## 2.3 - Relación entre obesidad y resistencia a la insulina

Uno de los factores más importantes que enlaza la obesidad con T2DM es la aparición de resistencia a la insulina.

Antiguamente se pensaba que los adipocitos solo almacenaban ácidos grasos para liberarlos cuando la situación energética lo requiriese, no obstante, con el tiempo se ha identificado otra función de estos adipocitos, la de un órgano endocrino.

La insulina es un importante regulador de prácticamente todos los aspectos biológicos del adipocito: influye en la diferenciación del pre-adipocito a adipocito, promueve el almacenamiento de grasa y en adipocitos maduros estimula la absorción de glucosa y la lipogénesis al mismo tiempo que inhibe la lipólisis.

La sensibilidad hacia la insulina disminuye con la edad y esta disminución está ligada a un aumento de la grasa corporal. El aumento de ácidos grasos libres produce un aumento de la resistencia a la insulina de manera dosis dependiente y un descenso de ácidos grasos libres mejora la absorción de glucosa mediada por insulina y la tolerancia a la glucosa.

Los ácidos grasos libres producidos por los adipocitos del tejido adiposo visceral acceden al hígado vía circulación portal e inducen resistencia a la insulina, principalmente al potenciar la gluconeogénesis.<sup>3</sup>

Una vez instaurada la resistencia a la insulina el páncreas sano es capaz de aumentar la producción de insulina para mantener un estado de normoglicemia, esta situación no puede ser mantenida en el tiempo y llega un momento en el que la resistencia a la insulina evoluciona a intolerancia a la glucosa y por último a T2DM.<sup>3</sup>

## 2.4 - Efecto de las hormonas gastrointestinales

Las hormonas gastrointestinales constituyen un grupo de hormonas secretadas por las células enteroendocrinas del estómago, páncreas e intestino delgado o por neuronas peptidérgicas. Las células enteroendocrinas se encuentran distribuidas a lo largo del epitelio de la mucosa gastrointestinal. Las neuronas peptidérgicas están organizadas formando sincitios y se distribuyen entre capas mucosas hasta llegar a órganos digestivos. Cada tipo de célula tiene una distribución concreta y son capaces de detectar diferentes estímulos que provocan la secreción de un péptido concreto.<sup>5</sup>

Las hormonas gastrointestinales se pueden clasificar en función de diversos factores, uno de estos es la presencia de similitud estructural entre hormonas. De estas hormonas vamos a centrarnos en las que se conocen como incretinas: GIP y GLP-1.

<i>Familia gastrina-CCK</i>	❖ Gastrina ❖ Colecistoquinina (CCK)
<i>Familia de los polipéptidos pancreáticos</i>	❖ Polipéptido pancreático (PP) ❖ Péptido YY (PPY) ❖ Neuropeptido Y (NPY)
<i>Familia de las taquicinas</i>	❖ Sustancia P ❖ Péptido liberador de gastrina (GRP)
<i>Familia de la somatostatina</i>	❖ Somatostatina
<i>Familia de las motilinas</i>	❖ Motilina ❖ Grelina
<i>Familia de las secretinas</i>	❖ Secretina, péptido intestinal vasoactivo (VIP) ❖ Péptido activador de la adenilato ciclasa pituitaria (PACAP) ❖ Péptido insulínico dependiente de glucosa (GIP) ❖ Glucagón ❖ Péptido similar al glucagón (GLP-1 y GLP-2) ❖ Oxintomodulina
<i>Familia de los receptores de tirosina quinasa</i>	❖ Factor de crecimiento epidérmico (EGF) ❖ Factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) ❖ Factor de crecimiento similar a la insulina (IGF) ❖ Factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF)

Tabla 1 Hormonas gastrointestinales

Cada vez hay una mayor evidencia de que la función y eficacia de las hormonas gastrointestinales varía en individuos obesos. En el caso de las incretinas se ha observado que los niveles de GLP-1 en ayunas disminuyen, así como su acción tras un aumento de la glucemia; en el caso de GIP no se han observado cambios consistentemente, aun así y en teoría niveles de GIP aumentados pueden ayudar al desarrollo de la obesidad al incrementar la absorción de ácidos grasos por el tejido adiposo.<sup>3</sup>

En cuanto a la relación con T2DM Knop et al. demostraron que la deficiencia en el efecto de las incretinas ocurría por igual en pacientes con T2DM que en enfermos con diabetes secundaria a pancreatitis crónica entendiéndose que la disfunción de las incretinas se produce como consecuencia del desarrollo de diabetes y no es una causa de esta.<sup>6</sup>

## 3 - Objetivos

- Detallar las acciones de los péptidos insulínicos GIP y GLP-1 sobre el organismo.

- Analizar las rutas bioquímicas mediante las cuales ejercen dichas acciones.
- Destacar la relación entre diabetes mellitus tipo 2 y obesidad.
- Evaluar el impacto de la diabetes mellitus y la importancia de seguir investigando nuevas y mejores terapias.
- Describir las ventajas e inconvenientes (si los hubiese) de los fármacos comercializados con respecto a otras terapias.

## 4 - Metodología

Se ha realizado una búsqueda bibliográfica en artículos científicos y libros. Para ello se han usado bases de datos online: PubMed, Scielo, Cochrane y Google Scholar. La búsqueda se ha realizado en inglés y español. Las palabras claves empleadas en la búsqueda han sido: incretinas, diabetes mellitus tipo 2, obesidad, hormonas gastrointestinales, GIP y GLP-1.

## 5 - Resultados

### 5.1 - Incretinas

Las incretinas son hormonas gastrointestinales secretadas por células enteroendocrinas al torrente sanguíneo en cuestión de minutos después de la ingesta. Estas hormonas potencian la secreción de insulina de forma glucosa-dependiente, se ha visto que la misma cantidad de glucosa produce niveles mayores de insulina por vía oral que por vía intravenosa pudiendo atribuirse a las incretinas el 50-70% total de la insulina secretada<sup>7</sup>.

### 5.2 - GIP

La primera incretina identificada fue GIP, inicialmente se la denominó polipéptido inhibidor gástrico por su capacidad de inhibir las secreciones ácidas del estómago en perros, pero, tras conseguir una muestra más purificada, se observó su capacidad para inducir la secreción de insulina. Dado que su capacidad de inhibir secreciones solo se observa a niveles suprafisiológicos y su capacidad incretina a niveles fisiológicos su nombre se cambió a polipéptido insulino-trópico dependiente de glucosa.<sup>7,8</sup>

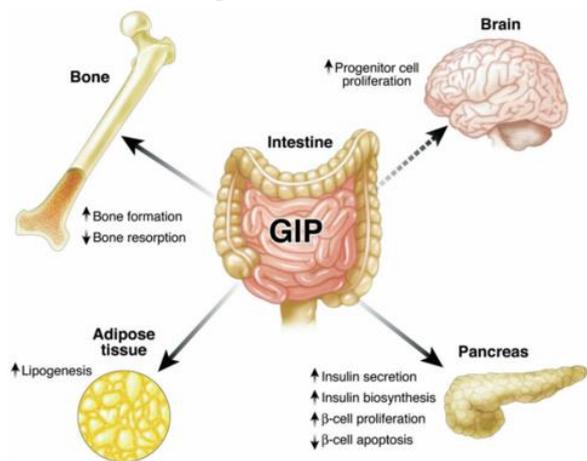


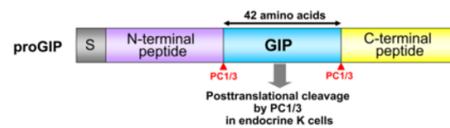
Imagen reproducida de: Baggio LL, Drucker DJ. Biology of Incretins: GLP-1 and GIP. Gastroenterology. 2007;132(6):2131-57.

#### I. Síntesis, secreción, metabolismo y excreción

GIP es liberado por las células K del intestino delgado (encontrándose mayor densidad de estas en duodeno y yeyuno) en respuesta a alimentos que contengan carbohidratos o grasa. La presencia únicamente de grasa sin carbohidratos provoca la liberación de GIP, pero en

cantidades insuficientes para estimular la secreción de insulina.<sup>8</sup>

GIP deriva de una prohormona (proGIP), es liberado de proGIP por escisión postranscripcional mediada por la proproteína convertasa 1 (PC1/3) en residuos de arginina que flanquean a GIP.<sup>7</sup>



La secreción de GIP se puede producir por activación de la adenilato ciclasa, por aumento del

calcio intracelular, por despolarización mediada por canales de potasio, por presencia de glucosa, por acción del péptido liberador de gastrina (GRP) y por estimulación beta adrenérgica. Esta secreción se encuentra normal o aumentada en individuos con T2DM.<sup>7</sup>

La vida media de GIP es de 5 a 7 minutos. Es inactivado por la enzima dipeptidil peptidasa 4 (DPP4) la cual actúa sobre un residuo de alanina situado en la posición 2 del péptido, dando lugar al metabolito inactivo GIP (3-42). Ambas incretinas son inactivadas por DPP4, pero GIP es menos sensible a su acción, presentando una vida media ligeramente mayor.<sup>7</sup>

La excreción de GIP se cree mayoritariamente renal con contribución hepática. La tasa de eliminación de GIP es similar en pacientes obesos, diabéticos tipo 2 y sanos.<sup>7</sup>

## II. Receptor de GIP

El receptor de GIP (GIPR) pertenece, de forma similar al receptor de GLP-1, a la superfamilia de los receptores acoplados a proteínas G y su activación está asociada a un aumento de AMP cíclico (AMPC) y de calcio intracelular, así como activación de fosfatidilinositol 3-quinasa (PI-3K), proteína quinasa A (PKA), proteína quinasa B (PKB), proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK) y de fosfolipasa A2 (PLA2) lo cual resulta en la potenciación de exocitosis de insulina tanto mediada por glucosa como mediada por despolarización.<sup>8</sup>

GIPR es susceptible a una rápida y reversible desensibilización homóloga in vitro<sup>8</sup> producida por: internalización, regulación a la baja o desacoplamiento de las proteínas G.

## III. Acciones pancreáticas

Los efectos de GIP en el páncreas son análogos a los de GLP-1 pero en tejidos extrapancreáticos desarrolla una serie de acciones distintas de las de GLP-1.

En el páncreas GIP ejerce su acción principal como incretina: potenciar la excreción de insulina por parte de las células beta del páncreas. Este efecto lo consigue mediante una serie de reacciones intracelulares tras unirse a su receptor: en primer lugar, aumenta la cantidad de AMPC lo cual conlleva una elevación del calcio intracelular por activación de PKA y de la proteína intercambiadora activada por AMPC 2 (Epac2). PKA fosforila los receptores de

inositol 1,4,5 trifosfato (IP<sub>3</sub>R) y Epac2 estimula el receptor de rianodina (RyR) ambos en el retículo endoplásmico potenciando la salida de calcio al citoplasma. Además, PKA y Epac bloquean los canales de potasio dependiente de ATP y de voltaje provocando la despolarización de la célula lo cual conlleva la apertura de los canales L de calcio los cuales introducen calcio al interior celular. El efecto final es la potenciación de la liberación de insulina ya que el aumento de calcio citoplasmático

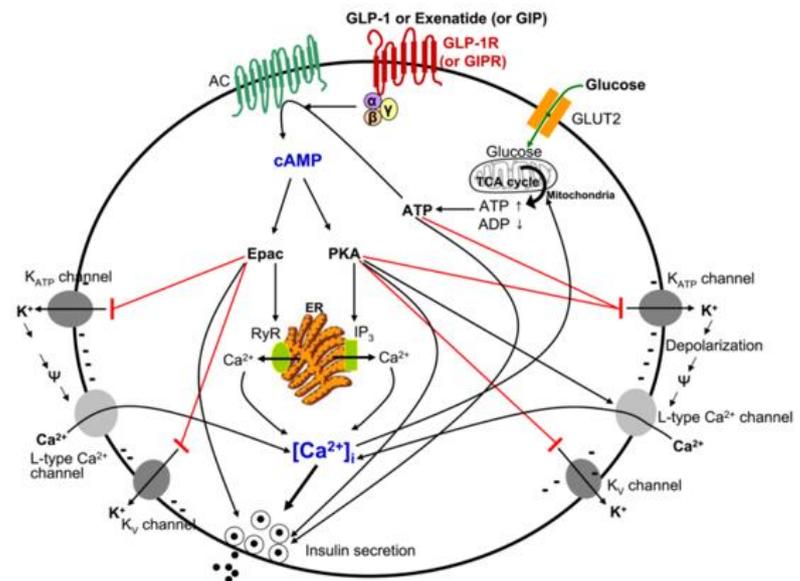


Imagen reproducida de: Kim W, Egan JM. The Role of Incretins in Glucose Homeostasis and Diabetes Treatment. *Pharmacol Rev.* 2008;60(4):470-512.

estimula la fusión de las vesículas que contienen insulina con la membrana celular<sup>7,8</sup>. GIP también aumenta la transcripción del gen de la insulina y la biosíntesis de esta, así como la expresión de componentes sensores de glucosa en células beta.<sup>9</sup>

Junto al aumento de secreción y biosíntesis de insulina GIP aumenta la proliferación de células beta y reduce la apoptosis de estas. Las rutas bioquímicas de estos efectos incluyen: activación de AMPc, PKA y proteína de unión a elementos respuesta de AMPc (CREB), de MAPK, AKT-PKB dependiente de PI-3K, reducción de la actividad de la caspasa 3 y regulación a la baja de la transcripción del gen *bax*.<sup>10</sup> Además la activación de PI-3K/AKT-PKB y la consiguiente fosforilación y expulsión nuclear de FOXO1 (Forkhead box protein 1) resulta en la reducción de la expresión del gen *bax* y en el aumento de la expresión del gen anti apoptótico *bcl2*.<sup>10</sup>

Por último, GIP reduce los marcadores bioquímicos asociados con stress del retículo endoplásmático en células del islote de Langerhans.<sup>10</sup> El stress excesivo y prolongado en el tiempo está asociado a la apoptosis celular.<sup>11</sup>

#### IV. Acciones extrapancreáticas

En el sistema nervioso central (SNC) GIP estimula la proliferación de células y juega un papel en la modificación del comportamiento.<sup>12</sup>

En el tejido adiposo GIP está implicado en el control del metabolismo de los lípidos y en el desarrollo de obesidad. La ingesta de grasa estimula la secreción de GIP en humanos y los valores de GIP en algunos individuos obesos están elevados.<sup>13</sup> Los efectos anabólicos de GIP incluyen: estimulación de la síntesis de ácidos grasos y de la re-esterificación, mejora de la

incorporación dependiente de insulina de ácidos grasos a triglicéridos, aumento de la síntesis de lipoproteinlipasa y reducción de la lipólisis estimulada por glucagón.<sup>7</sup> Estudios con ratones GIPR (-/-) sugirieron que GIP es un factor promotor de obesidad el cual enlaza la sobrenutrición con la obesidad.<sup>14</sup> Adicionalmente se ha observado en ratones normales que la administración de (Pro<sup>3</sup>) GIP (un antagonista de GIPR) simultáneamente a una dieta rica en grasa produce una mejora de la resistencia a la insulina acompañada de un descenso en los niveles hepáticos y musculares de triglicéridos, un descenso en los triglicéridos circulantes y una reducción significativa en el peso sin disminuir la ingesta de comida.<sup>8</sup> A pesar de estas acciones positivas provocadas por el antagonismo de GIPR se tiene que tener en cuenta la alteración en la homeostasis de la glucosa que este produce ya que el antagonismo de la acción de GIP conlleva un aumento de la glucemia.<sup>8</sup> Sin embargo, en humanos no se ha establecido la relación entre obesidad y GIP y tampoco se han hecho estudios con antagonistas de GIPR.<sup>8</sup>

Hay GIPR en hueso y se ha observado que GIP estimula la formación de hueso y disminuye la resorción de este. El aumento de AMPc y calcio intracelular produce un aumento en la actividad de la fosfatasa alcalina y aumento en el mRNA de colágeno tipo 1.<sup>15</sup> A pesar de esto la administración aguda de GIP no produce alteración en los marcadores de recambio óseo en humanos y se postula que GLP-2 podría tener más importancia en este aspecto.<sup>16</sup>

### 5.3 - GLP-1

El bloqueo de la acción de GIP endógeno no producía una eliminación total de la actividad incretina, esto llevó a la idea de que existía una incretina adicional. En 1985 se describió por primera vez GLP-1 tras la clonación del gen preproglucagón por Schdmit et al.<sup>17</sup>

La acción insulínica en humanos de GLP-1 fue inicialmente descrita en 1987 y se observó que su potencia era tan elevada que se la consideró a ella y GIP como las responsables del efecto incretina total.<sup>18</sup>

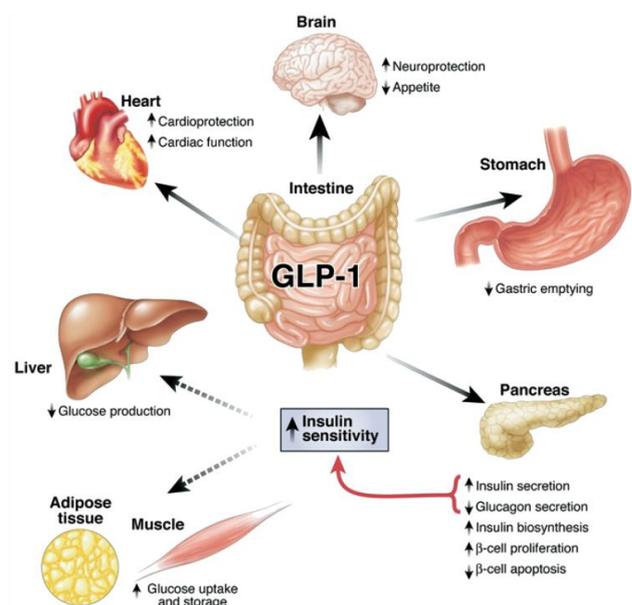


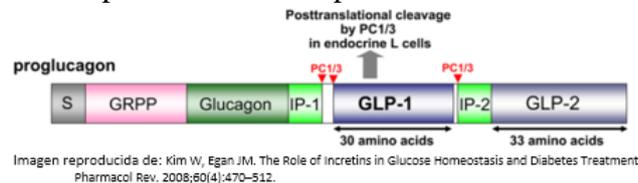
Imagen reproducida de: Baggio LL, Drucker DJ. Biology of Incretins: GLP-1 and GIP. *Gastroenterology*. 2007;132(6):2131-57.

#### I. Síntesis, secreción, metabolismo y excreción

GLP-1 es secretada por las células L localizadas principalmente en el íleon distal y colon. La ingesta alimentaria, especialmente alimentos ricos en hidratos de carbono y grasas, es el estímulo fisiológico principal para su secreción. La vía oral es necesaria para su secreción ya

que la administración intravenosa de glucosa no consigue estimular su secreción.<sup>7</sup>

El gen que codifica GLP-1 es el gen proglucagón localizado en el brazo largo del cromosoma 2. El mRNA del gen proglucagón es traducido a una única proteína de 180 aminoácidos la cual sufre modificación post-traducciona que dará péptidos diferentes en función del lugar en el que ocurra. Las enzimas encargadas de esta modificación post-traducciona pertenecen a la familia de las proproteínas convertasas siendo las más importantes PC1/3 y PC2.<sup>7</sup>



En humanos GLP-1 es liberada rápidamente

tras la ingesta alimentaria, su secreción sigue un patrón bifásico: una fase inicial a los 10-15 minutos seguida de una segunda fase a los 30-60 minutos. Puesto que la mayoría de las células L se encuentran localizadas en la parte distal del intestino es poco probable que su secreción sea mediada únicamente por contacto directo de los nutrientes con las células L, de hecho, varios estudios han demostrado que el sistema nervioso autónomo, los neurotransmisores péptido liberador de gastrina (GRP) y acetilcolina y GIP contribuyen a la rápida secreción de GLP-1. Por lo tanto, es probable que la fase inicial en la secreción de GLP-1 este provocada por mediadores neurológicos y endocrinos y la fase tardía por el contacto directo del alimento con las células L.<sup>7</sup>

Diversos estudios sugieren que la glucosa estimula la secreción de GLP-1 vía producción de ATP y cierre de canales de potasio dependientes de ATP produciendo la despolarización de la célula<sup>19</sup>, y que los azúcares que no son metabolizables promueven la liberación mediante un mecanismo dependiente del cotransportador sodio-glucosa.<sup>20</sup> Los ácidos grasos libres insaturados de cadena larga estimulan la liberación mediante el receptor de proteínas G 120 (GPR120), un receptor acoplado a proteína G expresado de forma abundante en el intestino.<sup>7</sup>

GLP-1 es inactivado rápidamente por DPP4 teniendo una vida media de menos de 2 minutos.<sup>21</sup> DPP4 es expresada en múltiples sitios incluyendo la superficie de las células endoteliales posicionadas adyacentes a las zonas de secreción del GLP-1, por este motivo más de la mitad de GLP-1 que entra a la circulación portal ha sido inactivada previamente.<sup>22</sup> Se ha visto que la inhibición de la DPP4 prolonga la vida media de la hormona GLP-1 biológicamente activa.<sup>7</sup>

La excreción del GLP-1 y sus metabolitos parece ser mayoritariamente renal.<sup>7</sup>

Los niveles postprandiales de GLP-1 están reducidos en personas obesas y con T2DM<sup>23</sup> y puesto que la tasa de eliminación de GLP-1 se mantiene igual<sup>24</sup> esta reducción probablemente se deba a una menor secreción. Como la leptina estimula la secreción de GLP-1 y personas

obesas suelen presentar resistencia a la leptina se cree que esta es la responsable de la menor secreción de GLP-1.<sup>25</sup> Los factores que disminuyen la secreción en T2DM se desconocen.<sup>7</sup>

## II. Receptor de GLP-1

El receptor de GLP-1 (GLP-1R) pertenece a la misma familia que GIPR y se encuentra en numerosos tejidos: células alfa, beta y delta del páncreas, pulmones, corazón, riñones, estómago, etc. Su expresión disminuye en respuesta a dexametasona, activación de PKC y GLP-1,<sup>7</sup> de la misma manera se ha visto que un estado de hiperglicemia crónico también disminuye su expresión.<sup>26</sup> Al contrario la expresión de GLP-1R está favorecida por los inhibidores de DPP4.

El receptor sufre una desensibilización homóloga y heteróloga rápida y es internalizado, si bien esta desensibilización no se ha observado in vivo aun cuando se administraron agonistas del GLP-1R (GLP-1RA) de forma prolongada.<sup>27</sup>

## III. Acciones pancreáticas

En primer lugar, estimula la secreción de insulina mediante los mecanismos vistos en GIP.

En segundo lugar, aumenta la transcripción del gen de la insulina y la biosíntesis de esta, esta acción está mediada por activación de vías dependientes e independientes de AMPc/PKA y por aumento de calcio intracelular. El factor promotor de insulina 1 (PDX-1) juega un papel central en la mediación de la acción de GLP-1 en la transcripción de insulina y su secreción. GLP-1 aumenta la transcripción y la unión de PDX-1 al gen promotor de la insulina.<sup>28</sup>

En tercer lugar, estimula la proliferación de células beta e inhibe su apoptosis. La estimulación de la proliferación ocurre mediante varias vías:

- GLP-1 actúa mediante la subunidad alfa de la proteína G y PI-3K/PKB para estimular la proliferación y supervivencia de células beta.<sup>29</sup> La activación de PI-3K/PKB facilita la traslocación nuclear de PDX-1 y la expresión de nuevo PDX-1 mediante la estimulación de la fosforilación de FOXO1. GLP-1 por tanto ejerce parte de su acción sobre la proliferación y diferenciación de células beta mediante PDX-1.<sup>30</sup>
- Parte de su acción sobre la proliferación de células beta es por la expresión mediada por CREB del gen sustrato del receptor de insulina 2 (IRS2).<sup>31</sup>
- Es probable que su acción sobre la proliferación esté mediada también por vías de señalización de calcio/calcineurina/factor nuclear de células T activadas (NFAT). Ratones que han sufrido deleción de calcineurina b1 sufren diabetes relacionada con la edad presentando proliferación y masa de células beta disminuidas.<sup>32</sup> Se ha observado que la vía

calcineurina/NFAT actúa promoviendo la expresión de factores como PDX-1, ciclina D1 y D2, c-Myc y kinasa 4 dependiente de ciclina. Confirmando esto se ha observado que la activación de los receptores de GLP-1 aumenta la expresión de ciclina D1 y que este efecto esta mediado por la activación dependiente de PKA de CREB.<sup>33</sup>

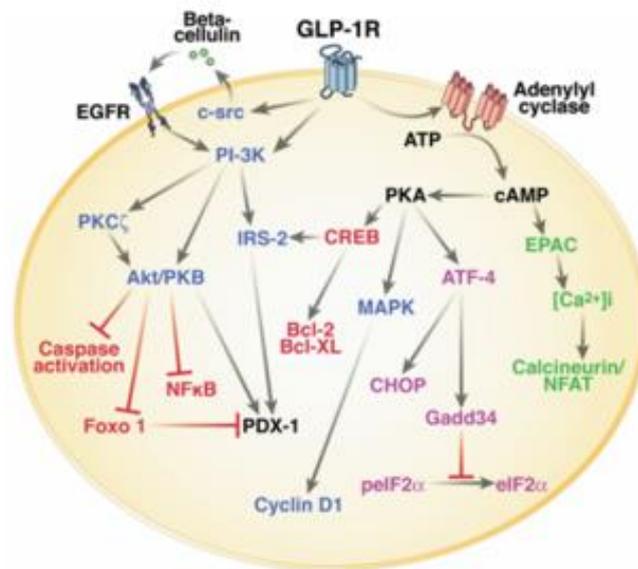


Imagen reproducida de: Baggio LL, Drucker DJ. Biology of Incretins: GLP-1 and GIP. *Gastroenterology*. 2007;132(6):2131–57.

- La vía AMPc/PKA activa la vía Wnt dependiente de beta catenina/ TCF7L2 (transcription factor 7 like 2) que promueve la proliferación celular mediante el aumento de ciclina D1.<sup>34</sup> Se ha observado que TCF7L2 regula la expresión del gen de la insulina y la secreción de esta en células beta maduras, de hecho, T2DM se ha ligado a polimorfismos de TCF7L2.<sup>35</sup>

El efecto citoprotector está mediado por:

- Activación de CREB, que activa IRS2 e induce la vía AKT/PKB que media el crecimiento y la supervivencia celular.<sup>31</sup> La activación de CREB puede actuar también mediante el aumento de la expresión de Bcl-2 y Bcl-xL.<sup>36</sup>
- Modificación de la rama PERK de la respuesta a proteínas plegadas (UPR). La activación de PKA mejora la transcripción del factor activador de la transcripción 4 (ATF4), ATF4 a su vez activa la expresión de genes que codifican para proteínas entre las que se encuentra GADD34, esta proteína induce a la fosfatasa de proteínas tipo 1 (PP1) a revertir la fosforilación de eIF2α producida por PERK acelerando la recuperación de la síntesis de proteínas.<sup>37</sup>
- La activación de PI-3K por parte de GLP-1 es mediada por transactivación de EGFR. La activación de GLP-1R activa c-Src la cual activa a una metaloproteinasa localizada en la membrana celular, esta metaloproteinasa rompe un precursor de la betacelulina localizado en la membrana liberando a esta. La betacelulina una vez liberada se une a EGFR y activa de forma concomitante PI-3K.<sup>38</sup>
- GLP-1 activa PKB la cual actúa sobre el factor nuclear κB (NF-κB). GLP-1 mejora la capacidad de unión a DNA de NF-κB lo cual estimula la expresión de Bcl-2.<sup>39</sup>
- Se ha visto también que GLP-1RA como Ex-4 protegen de la apoptosis inducida por citocinas

proinflamatorias. Ex-4 inhibe la inducción de la vía JNK provocada por IL-1 $\beta$ . Esta inhibición la consigue por aumento de IB1 (islet-brain 1).<sup>40</sup>

El tratamiento combinado de GLP-1RA junto con análogos de la insulina produce un efecto citoprotector aditivo contra la apoptosis inducida por ácidos grasos y por citocinas.<sup>41</sup>

Es importante mencionar que hay mecanismos celulares que limitan el efecto proliferativo de GLP-1 en las células beta ya que, de lo contrario, el tratamiento continuo con GLP-1RA provocaría crecimiento descontrolado de células beta.

Por último, y a diferencia de GIP, inhibe la secreción de glucagón y estimula la secreción de somatostatina si bien el mecanismo por el cual inhibe la secreción de glucagón todavía no está del todo claro.<sup>7</sup>

#### IV. Acciones extrapancreáticas

El sistema gastrointestinal mantiene una comunicación recíproca con el SNC en lo que se conoce como el eje intestino-cerebro cuya función es regular la homeostasis energética. El intestino detecta la presencia de comida y señala al hipotálamo y al bulbo raquídeo.

GLP-1 se puede comportar como un neuropéptido regulador del apetito, la ingesta alimentaria y el peso corporal. GLP-1R son expresados en neuronas del ganglio nodoso del nervio vago, en el tronco encefálico y en el hipotálamo. GLP-1RA reducen la ingesta alimentaria a corto plazo y su infusión continua inhibe también la ganancia de peso.<sup>42</sup> Además GLP-1 a nivel central es capaz de, en condiciones hiperglicémicas, inhibir el uso de glucosa muscular, aumentar la secreción de insulina y mejorar el almacenamiento de glucógeno hepático preparando al organismo de forma eficiente para el próximo estado de ayuno.<sup>43</sup>

GLP-1RA estimulan el crecimiento, la diferenciación y la supervivencia de células neuronales. GLP-1 y Ex-4 disminuyen la apoptosis inducida por glutamato.<sup>44</sup>

Se ha observado que vías dependientes de la activación de GLP-1R son importantes para el aprendizaje y la memoria y se ha propuesto que GLP-1RA puedan ser usados en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas y en otras enfermedades neurológicas como la neuropatía periférica diabética.<sup>7</sup>

GLP-1RA son potentes inhibidores de la secreción ácida gástrica y del vaciamiento gástrico provocando que la glucosa acceda a la circulación sanguínea de forma más lenta.<sup>45</sup>

En hígado, músculo y tejido adiposo hay dudas de que las acciones que tiene GLP-1 sean consecuencia de la interacción con GLP-1R puesto que no se observó aumento de AMPc sino

de inositol fosfoglicano<sup>8</sup> y se piensa que puede ser por interacción con otro receptor diferente u otro tipo de GLP-1R. En musculo esquelético se ha observado un aumento de acción de la glucógeno sintasa  $\alpha$  y una estimulación del metabolismo y uso de la glucosa. En adipocitos GLP-1 estimula la absorción de glucosa, la lipogénesis y la lipólisis, el aumento en la absorción de glucosa es menor en pacientes obesos.<sup>46</sup>

En el hígado se sugiere que, en lugar de aumentar la disponibilidad de la glucosa, GLP-1 reduce la producción endógena de glucosa.<sup>47</sup> El mecanismo exacto se desconoce pero se sabe que es poco probable que sea producido por acción directa en los hepatocitos porque no se ha determinado que haya presencia de GLP-1R por lo que se piensa que el efecto podría ser realizado mediante el sistema nervioso autónomo ya que la activación de los GLP-1R en sistema nervioso central inhiben la producción endógena de glucosa.<sup>48</sup>

La capacidad de GLP-1 de regular la producción de glucosa hepática es independiente de su actividad incretina<sup>49</sup>. Un estudio analizó la capacidad de normalizar la glucemia del antagonista del receptor del glucagón (GCGR) Ab-4 y observó que para conseguir su acción normalizadora de la glucemia en ratones insulino pénicos a los que se les administró Streptozocina era necesario que estuviesen intactos los GLP-1R.<sup>50</sup>

Esta capacidad de regular la homeostasis de la glucosa de forma independiente de la insulina confiere una posible utilidad terapéutica en diabetes tipo 1 donde el tratamiento con Liraglutida y Exenatida ha demostrado tener algo de eficacia.<sup>51,52</sup>

Evidencia de estudios tanto en animales como en humanos sugiere que GLP-1RA e inhibidores de DPP4 tienen un importante efecto sobre lipoproteínas ricas en triglicéridos sin afectar a otras lipoproteínas, al menos en humanos. Dosis farmacológicas de GLP-1 reducen lípidos postprandiales y la producción de ApoB-48 y de triglicéridos mediante mecanismos independientes de la motilidad gástrica.<sup>53</sup> Tanto GLP-1 como los inhibidores de DPP4 han demostrado tener un efecto favorable sobre la dislipemia posprandial. GLP-1 inhibió el aumento de triacilglicéridos (TAG) y ácidos grasos libres en plasma tras la ingesta<sup>54</sup> y su administración junto a insulina redujo la concentración de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL)-TAG y aumentó el tamaño de lipoproteínas de baja densidad (LDL).<sup>55</sup> Por su parte inhibidores de DPP4 han mostrado reducir la elevación posprandial de TAG y lipoproteínas que contiene ApoB-48 ricas en triglicéridos.<sup>56</sup>

#### 5.4 - Importancia del efecto sobre el sistema cardiovascular

Estudios preclínicos realizados sobre incretinas han mostrado efectos sobre el sistema vascular

prometedores y, en un principio, parecen abrir la puerta al tratamiento de complicaciones vasculares asociadas a la diabetes con un mismo tratamiento. Si bien inicialmente estos efectos se atribuyeron a la pérdida de peso que producen, los datos que se manejan hasta el momento sugieren una acción directa de GLP-1 sobre distintos tejidos:

### I. Miocardio

Los receptores de GLP-1 están presentes en el miocardio<sup>57</sup> donde su activación desencadena un aumento de los niveles de AMPc de forma similar a como ocurre en páncreas. No obstante, en el miocardio el aumento de AMPc no se acompaña de un aumento de calcio intracelular y de la contractilidad cardíaca.<sup>58</sup> Estudios en perros han demostrado que la infusión continua durante 48 horas de GLP-1 produce un aumento en la absorción de glucosa por parte del miocardio.<sup>57</sup>

No está del todo claro que las acciones de GLP-1 en el miocardio sean por acción directa o indirecta ya que la liberación de insulina por parte de GLP1 aumenta la absorción de glucosa por parte del miocardio, además el aumento de señalización de la insulina en el corazón lleva a una activación de la vía PI3K/AKT, aumento de la actividad de la óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS) e inhibición de quinasa activada por AMP (AMPK).<sup>57</sup>

### II. Vasos sanguíneos

En células endoteliales se ha observado un aumento en la producción de óxido nítrico (NO) gracias a un aumento de la fosforilación de eNOS.<sup>59</sup>

La Liraglutida (inhibidor de DPP4) previno el aumento de inhibidor de la activación de plasminógeno tipo 1 y de la molécula de adhesión celular vascular (VCAM-1) y GLP-1 redujo la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y la expresión de mRNA de VCAM-1 inducida por AGE.<sup>60</sup>

En humanos se ha observado una mejora del flujo sanguíneo provocada por GLP-1 endógeno y no por agonistas resistentes a la degradación. La Exenatida (GLP-1RA) por ejemplo no demostró tener efecto en la función endotelial in vitro tras infusión.<sup>61</sup>

### III. Frecuencia cardíaca y presión sanguínea

En modelos con ratones se ha observado la capacidad de GLP-1RA de reducir la presión sanguínea, pero en humanos este efecto es controvertido, hay estudios que han demostrado una reducción en presión arterial sistólica y diastólica aunque esta se asoció a la reducción del peso corporal que produjeron estos fármacos<sup>57</sup> mientras que una revisión reciente indica que no se ha observado de forma consistente una reducción de la presión sanguínea.<sup>62</sup>

### IV. GLP-1 (9-36)

GLP-1 (9-36) es el metabolito principal in vivo de GLP-1 y por norma general se comporta

como un antagonista competitivo de GLP-1 en células beta y tracto gastrointestinal pero se ha observado en cardiomiocitos neonatales de ratas se ha observado que mejora la viabilidad celular tras reoxigenación después de 48 horas de hipoxia y en estudios con animales se ha visto que niveles suprafisiológicos tienen una acción cardioprotectora.<sup>57</sup>

A pesar de esto el uso de inhibidores de DPP4 los cuales reducen los niveles de GLP-1(9-36) también han demostrado tener efectos cardioprotectores importantes mejorando los resultados tras infarto de miocardio en ratones y reduciendo el tamaño de la zona infartada.<sup>63</sup>

### V. Aterosclerosis

Tanto efectos directos como indirectos de GLP-1 reducen la formación de placas de ateroma<sup>57</sup>. En estudios con animales se ha observado que la infusión de exendina-4 durante 1 hora reduce los niveles de mRNA de marcadores de inflamación como MCP-1 y TNF- $\alpha$ , se cree que también reduce la formación de células espumosas ya que macrófagos de ratones tratados con exendina-4 exhibían una expresión reducida de CD36 y una menor acumulación de esteroides de colesterol<sup>64</sup>.

### 5.5 - Terapia con incretinas

De las dos hormonas incretinas conocidas hasta la actualidad solo una ha sido empleada en el tratamiento de T2DM: GLP-1. El motivo por el que GIP no se ha empleado es porque en T2DM las concentraciones de esta hormona son normales o elevadas pero su capacidad insulínica es deficiente.<sup>65</sup> Se ha observado que la hiperglucemia mantenida junto a productos finales de glicación (AGEs) reducen la expresión de GIPR, así como de PI3K y elimina la fosforilación inducida por GIP de AKT y la secreción de insulina estimulada por GIP.<sup>66</sup> El desarrollo de fármacos se centró entonces en normalizar los niveles de GLP-1 los cuales si se encuentran reducidos en pacientes con T2DM y cuya función incretina está mantenida.<sup>65</sup>

Actualmente hay aprobados 9 fármacos en la UE los cuales se pueden englobar en dos grupos en base a su mecanismo de acción.

<i>Agonistas de GLP-1R</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>❖ Exenatida</li> <li>❖ Liraglutida</li> <li>❖ Exenatida de liberación prolongada</li> <li>❖ Lixisenatida</li> </ul>
<i>Inhibidores de DPP4</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>❖ Sitagliptina</li> <li>❖ Vildagliptina</li> <li>❖ Saxagliptina</li> <li>❖ Linagliptina</li> <li>❖ Alogliptina</li> </ul>

Tabla 2 Fármacos comercializados en Europa

El instituto nacional de salud y excelencia clínica británico (NICE) en su guía para el manejo de T2DM en adultos recomienda el uso de inhibidores de DPP4 en doble y triple terapia si no se controla la glucemia con metformina. Los agonistas de GLP-1 solo los recomienda si la triple terapia con metformina no es efectiva y si los pacientes presentan:

- Un IMC  $\geq 35$  Kg/m<sup>2</sup> y problemas psicológicos o médicos asociados con la obesidad
- Un IMC  $< 35$  Kg/m<sup>2</sup> y que el tratamiento con insulina suponga problemas ocupacionales o a

los que la pérdida de peso les beneficie en otra comorbilidad relacionada con la obesidad.<sup>67</sup>

La tendencia actual está basada en el concepto de individualización del tratamiento para conseguir alcanzar objetivos propios de cada paciente, a favor del tratamiento con incretinas es que estos objetivos suelen incluir el evitar la ganancia de peso y la hipoglucemia.

### 5.6 - Controversia reciente

En 2013 un artículo estudió la capacidad regenerativa pancreática y observó que la terapia con incretinas produce una marcada expansión de los compartimentos endo y exocrinos del páncreas. Se encontró evidencia del desarrollo de displasia e hiperplasia de células alfa y se apuntó a la potencial evolución de estas lesiones a tumores neuroendocrinos.<sup>68</sup>

En respuesta a esto la FDA (Food and Drug Administration) y la EMA (European Medicines Agency) evaluaron la bibliografía disponible concluyendo que la asociación entre fármacos relacionados con las incretinas y el desarrollo de pancreatitis y cáncer pancreático no es consistente con todos los datos clínicos disponibles. A pesar de esto determinaron que la pancreatitis se debía considerar como un riesgo asociado a estos medicamentos. Ambas agencias continúan investigando la asociación.<sup>69</sup>

## 6 - Discusión

Las incretinas son hormonas gastrointestinales cuya función principal es la de estimular la secreción de insulina después de la ingesta, esta capacidad es interesante para el tratamiento de T2DM en la cual hay una resistencia a la acción de la insulina. Los mecanismos de acción por los que consiguen este efecto parecen estar bastante claros actualmente, esto llevó al desarrollo de fármacos que potenciasen la acción de las incretinas, bien inhibiendo su metabolismo o bien siendo análogos a estas, como GIP pierde su acción insulínica en enfermos con T2DM se desarrollaron análogos de GLP-1.

Tanto GLP-1RA, como inhibidores de DPP4 han demostrado ser efectivos en el tratamiento de T2DM. En el caso de los agonistas de GLP-1 se ha mostrado su capacidad para reducir HbA1c alrededor de un 1% administrados en monoterapia en pacientes con T2DM<sup>3</sup>. Además, estudios donde se comparó el efecto de GLP-1RA con el efecto de la administración de insulina mostraron que GLP-1RA tienen una potencia similar en la reducción de HbA1c en pacientes con T2DM<sup>3</sup> pudiendo emplearse como una alternativa ayudando a reducir casos de hipoglucemia. De hecho, una de las principales ventajas con respecto a otras terapias es la incapacidad de producir hipoglucemia que tienen estos fármacos.

En la actualidad los inhibidores de DPP4 se utilizan cada vez más como segundo escalón en

asociación con metformina en lugar de sulfonilureas ya que tienen una efectividad similar y las sulfonilureas pueden producir episodios graves de hipoglucemia y ganancia de peso. Los inhibidores de DPP4 han mostrado su efectividad reduciendo de media la HbA1c en 0,6-0,9%.

Uno de los efectos potencialmente interesantes en T2DM es la capacidad regenerativa y antiapoptótica que tienen las incretinas, esta acción ayudaría a mantener la masa de células beta y retrasaría el comienzo del tratamiento con insulina. En los últimos años ha habido preocupación con la aparición de pancreatitis y cáncer pancreático en pacientes que estaban siendo tratados con análogos de GLP-1R e inhibidores de DPP4, la revisión bibliográfica realizada por la EMA y la FDA no demostró una asociación causal entre el uso de estas terapias y el desarrollo de estas patologías, no obstante, la pancreatitis se mantiene como una reacción adversa en ficha técnica y se continúa investigando. Estas hormonas mejoran la proliferación celular a nivel de páncreas pero esta acción no es carente de frenos, GLP-1 se auto-limita a este nivel ya que su acción prolongada lleva a la producción de 4 reguladores negativos de la señalización intracelular<sup>70</sup>:

- Un regulador de la señalización de proteínas G (RGS2)
- Dos antagonistas de CREB: CREM (Elemento modulador de la respuesta por AMPc) e ICER1
- La fosfatasa de especificidad dual DUSP14, un regulador negativo de la vía MAPK/ERK1/2

Adicionalmente las incretinas han demostrado tener acción en tejidos extrapancreáticos. Una de sus acciones más importantes es la capacidad de actuar sobre el tejido adiposo y sistema nervioso consiguiendo reducir el peso, ya que gran parte de pacientes con T2DM presentan o desarrollan obesidad y puesto que la T2DM favorece el desarrollo de obesidad. En el paradigma actual de tratamientos individualizados la terapia basada en incretinas gana importancia ya que consigue evitar la aparición de hipoglucemia y la ganancia de peso.

De los demás efectos extrapancreáticos dos son relativamente importante de cara a investigaciones futuras.

Primero, las acciones a nivel del sistema cardiovascular observadas en estudios preclínicos son prometedoras y si se confirman en estudios clínicos más extensos las incretinas podrían utilizarse en pacientes diabéticos con elevado riesgo cardiovascular para evitar la aparición de complicaciones o mejorar el pronóstico tras la aparición de estas.

Segundo, a nivel hepático las incretinas han demostrado reducir la liberación de glucosa y estudios realizados con antagonistas de GCGR han demostrado que consiguen recuperar niveles normoglicémicos en pacientes diabéticos tipo 1, el uso de una terapia combinada a base de

antagonistas de GCGR y fármacos basados en las incretinas permitiría la obtención de una respuesta máxima utilizando dosis submáximas de ambos fármacos con la consiguiente reducción en la aparición de efectos adversos<sup>48</sup>. Esto abre la puerta al empleo de terapia basada en las incretinas para el tratamiento no solo de T2DM sino para el tratamiento de T1DM.

## 7 - Conclusiones

La diabetes mellitus tipo 2 es uno de los principales problemas de salud del siglo XXI. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estimó que en el año 2000 150 millones de personas mayores de 20 años padecían la enfermedad. Por este motivo es importante que se sigan investigando nuevas y mejores terapias para el tratamiento de esta.

Las incretinas como terapia han mostrado una serie de ventajas y desventajas con respecto a otras terapias.

<i>Ventajas</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>❖ No producen hipoglucemia</li> <li>❖ Reducción de peso asociada al control de la glucemia</li> <li>❖ Posible mejoría del estado cardiovascular de los pacientes</li> </ul>
<i>Desventajas</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>❖ Administración subcutánea de los agonistas de GLP-1R</li> <li>❖ Desarrollo de anticuerpos frente a agonistas GLP-1R</li> <li>❖ Efectos adversos graves en algunos casos</li> </ul>

Tabla 3 Ventajas y desventajas de la terapia con incretinas

La diabetes tipo 2 suele cursar con una serie de comorbilidades como puede ser obesidad, dislipemia, hipertensión, enfermedad renal y patología cardiovascular (macro y micro vasculares). El uso de incretinas ha demostrado, como mínimo en estudios preclínicos, que puede actuar no solo a nivel pancreático con su acción insulínica, sino que puede actuar mejorando muchas de las comorbilidades de la diabetes tipo 2 como pueden ser: obesidad, hipertensión y enfermedad cardiovascular.

Por último, las incretinas podrían ser útiles en el tratamiento de T1DM usándose junto a antagonistas de GCGR abriendo una nueva rama de tratamiento para esta enfermedad.

## 8 - Bibliografía

- 1 American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2010; **33**. doi:10.2337/dc10-S062.
- 2 Laurence L. Brunton, Bruce A. Chabner BCK. *Las bases farmacológicas de la terapéutica (12ª edición)*. McGraw-Hill Interamericana de España S.L.;2012. 2035 p.
- 3 DeFronzo RA, Ferrannini E, Zimmet P, Alberti G. *International Textbook of Diabetes Mellitus. Vol. 1 (4th edition)*. 2015 doi:10.1002/9781118387658.
- 4 Ibrahim MM. Subcutaneous and visceral adipose tissue: structural and functional differences. *Obes Rev* 2010; **11**: 11–18.
- 5 Podolsky DK, Camilleri M, Fitz JG, Kalloo AN, Shanahan F, Wang TC. *Yamada's Textbook of Gastroenterology*. Wiley, 2015.
- 6 Knop FK, Vilsboll T, Hojberg P V, Larsen S, Madsbad S, Volund A *et al*. Reduced incretin effect in type 2 diabetes: cause or consequence of the diabetic state? *Diabetes* 2007; **56**: 1951–1959.
- 7 Baggio LL, Drucker DJ. Biology of Incretins: GLP-1 and GIP. *Gastroenterology* 2007; **132**: 2131–2157.
- 8 Kim W, Egan JM. The Role of Incretins in Glucose Homeostasis and Diabetes Treatment. *Pharmacol Rev* 2008; **60**: 470–512.

- 9 Wang Y, Montrose-Rafizadeh C, Adams L, Raygada M, Nadiv O, Egan JM. GIP regulates glucose transporters, hexokinases, and glucose-induced insulin secretion in RIN 1046-38 cells. *Mol Cell Endocrinol* 1996; **116**: 81–87.
- 10 Kim S-J, Winter K, Nian C, Tsuneoka M, Koda Y, McIntosh CHS. Glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) stimulation of pancreatic beta-cell survival is dependent upon phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (PKB) signaling, inactivation of the forkhead transcription factor Foxo1, and down-regu. *J Biol Chem* 2005; **280**: 22297–22307.
- 11 Xu C, Bailly-Maitre B, Reed J. Endoplasmic reticulum stress: cell life and death decisions. *J Clin Invest* 2005; **115**: 2656–2664.
- 12 Nyberg J, Anderson MF, Meister B, Alborn A-M, Strom A-K, Brederlau A *et al.* Glucose-dependent insulinotropic polypeptide is expressed in adult hippocampus and induces progenitor cell proliferation. *J Neurosci* 2005; **25**: 1816–1825.
- 13 Creutzfeldt W, Ebert R, Willms B, Frerichs H, Brown JC. Gastric inhibitory polypeptide (GIP) and insulin in obesity: Increased response to stimulation and defective feedback control of serum levels. *Diabetologia* 1978; **14**: 15–24.
- 14 Miyawaki K, Yamada Y, Ban N, Ihara Y, Tsukiyama K, Zhou H *et al.* Inhibition of gastric inhibitory polypeptide signaling prevents obesity. *Nat Med* 2002; **8**: 738–742.
- 15 Bollag RJ, Zhong Q, Phillips P, Min L, Zhong L, Cameron R *et al.* Osteoblast-derived cells express functional glucose-dependent insulinotropic peptide receptors. *Endocrinology* 2000; **141**: 1228–1235.
- 16 Henriksen DB, Alexandersen P, Bjarnason NH, Vilsboll T, Hartmann B, Henriksen EEG *et al.* Role of gastrointestinal hormones in postprandial reduction of bone resorption. *J Bone Miner Res* 2003; **18**: 2180–2189.
- 17 Schmidt WE, Siegel EG, Creutzfeldt W. Glucagon-like peptide-1 but not glucagon-like peptide-2 stimulates insulin release from isolated rat pancreatic islets. *Diabetologia* 1985; **28**: 704–707.
- 18 Kreymann B, Williams G, Ghatei MA, Bloom SR. Glucagon-like peptide-1 7-36: a physiological incretin in man. *Lancet (London, England)* 1987; **2**: 1300–1304.
- 19 Reimann F, Gribble FM. Glucose-sensing in glucagon-like peptide-1-secreting cells. *Diabetes* 2002; **51**: 2757–2763.
- 20 Gribble FM, Williams L, Simpson AK, Reimann F. A novel glucose-sensing mechanism contributing to glucagon-like peptide-1 secretion from the GLUTag cell line. *Diabetes* 2003; **52**: 1147–1154.
- 21 Deacon CF, Nauck MA, Toft-Nielsen M, Pridal L, Willms B, Holst JJ. Both subcutaneously and intravenously administered glucagon-like peptide I are rapidly degraded from the NH<sub>2</sub>-terminus in type II diabetic patients and in healthy subjects. *Diabetes* 1995; **44**: 1126–1131.
- 22 Hansen L, Deacon CF, Orskov C, Holst JJ. Glucagon-like peptide-1-(7-36)amide is transformed to glucagon-like peptide-1-(9-36)amide by dipeptidyl peptidase IV in the capillaries supplying the L cells of the porcine intestine. *Endocrinology* 1999; **140**: 5356–5363.
- 23 Vilsboll T, Krarup T, Deacon CF, Madsbad S, Holst JJ. Reduced postprandial concentrations of intact biologically active glucagon-like peptide 1 in type 2 diabetic patients. *Diabetes* 2001; **50**: 609–613.
- 24 Vilsboll T, Agero H, Krarup T, Holst JJ. Similar elimination rates of glucagon-like peptide-1 in obese type 2 diabetic patients and healthy subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; **88**: 220–224.
- 25 Anini Y, Brubaker PL. Role of leptin in the regulation of glucagon-like peptide-1 secretion. *Diabetes* 2003; **52**: 252–259.
- 26 Xu G, Kaneto H, Laybutt DR, Duvivier-kali VF, Trivedi N, Suzuma K *et al.* Downregulation of GLP-1 and GIP Receptor Expression by Hyperglycemia. *Diabetes* 2007; **56**: 1551–1558.
- 27 Baggio LL, Kim J-G, Drucker DJ. Chronic exposure to GLP-1R agonists promotes homologous GLP-1 receptor desensitization in vitro but does not attenuate GLP-1R-dependent glucose homeostasis in vivo. *Diabetes* 2004; **53 Suppl 3**: S205-14.
- 28 Wang X, Cahill CM, Pineyro MA, Zhou J, Doyle ME, Egan JM. Glucagon-like peptide-1 regulates the beta cell transcription factor, PDX-1, in insulinoma cells. *Endocrinology* 1999; **140**: 4904–4907.
- 29 Xie T, Chen M, Zhang Q-H, Ma Z, Weinstein LS. Beta cell-specific deficiency of the stimulatory G protein alpha-subunit G $\alpha$  leads to reduced beta cell mass and insulin-deficient diabetes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; **104**: 19601–19606.
- 30 Li Y, Cao X, Li L-X, Brubaker PL, Edlund H, Drucker DJ. beta-Cell Pdx1 expression is essential for the glucoregulatory, proliferative, and cytoprotective actions of glucagon-like peptide-1. *Diabetes* 2005; **54**: 482–491.

- 31 Jhala US, Canettieri G, Sreaton RA, Kulkarni RN, Krajewski S, Reed J *et al.* cAMP promotes pancreatic beta-cell survival via CREB-mediated induction of IRS2. *Genes Dev* 2003; **17**: 1575–1580.
- 32 Heit JJ, Apelqvist AA, Gu X, Winslow MM, Neilson JR, Crabtree GR *et al.* Calcineurin/NFAT signalling regulates pancreatic beta-cell growth and function. *Nature* 2006; **443**: 345–349.
- 33 Kim M-J, Kang J-H, Park YG, Ryu GR, Ko SH, Jeong I-K *et al.* Exendin-4 induction of cyclin D1 expression in INS-1 beta-cells: involvement of cAMP-responsive element. *J Endocrinol* 2006; **188**: 623–633.
- 34 Liu Z, Habener JF. Glucagon-like peptide-1 activation of TCF7L2-dependent Wnt signaling enhances pancreatic beta cell proliferation. *J Biol Chem* 2008; **283**: 8723–8735.
- 35 Lyssenko V, Lupi R, Marchetti P, Del Guerra S, Orho-Melander M, Almgren P *et al.* Mechanisms by which common variants in the TCF7L2 gene increase risk of type 2 diabetes. *J Clin Invest* 2007; **117**: 2155–2163.
- 36 Farilla L, Bulotta A, Hirshberg B, Li Calzi S, Khoury N, Noushmehr H *et al.* Glucagon-Like Peptide 1 Inhibits Cell Apoptosis and Improves Glucose Responsiveness of Freshly Isolated Human Islets. *Endocrinology* 2003; **144**: 5149–5158.
- 37 Yusta B, Baggio LL, Estall JL, Koehler JA, Holland DP, Li H *et al.* GLP-1 receptor activation improves  $\beta$  cell function and survival following induction of endoplasmic reticulum stress. *Cell Metab* 2006; **4**: 391–406.
- 38 Buteau J, Foisy S, Joly E, Prentki M. Glucagon-like peptide 1 induces pancreatic beta-cell proliferation via transactivation of the epidermal growth factor receptor. *Diabetes* 2003; **52**: 124–132.
- 39 Buteau J, El-Assaad W, Rhodes CJ, Rosenberg L, Joly E, Prentki M. Glucagon-like peptide-1 prevents beta cell glucolipototoxicity. *Diabetologia* 2004; **47**: 806–815.
- 40 Ferdaoussi M, Abdelli S, Yang J-Y, Cornu M, Niederhauser G, Favre D *et al.* Exendin-4 Protects  $\beta$ -Cells From Interleukin-1 $\beta$ -Induced Apoptosis by Interfering With the c-Jun NH<sub>2</sub>-Terminal Kinase Pathway. *Diabetes* 2008; **57**: 1205 LP-1215.
- 41 Tews D, Werner U, Eckel J. Enhanced protection against cytokine- and fatty acid-induced apoptosis in pancreatic beta cells by combined treatment with glucagon-like peptide-1 receptor agonists and insulin analogues. *Horm Metab Res* 2008; **40**: 172–180.
- 42 Tang-Christensen M, Larsen PJ, Goke R, Fink-Jensen A, Jessop DS, Moller M *et al.* Central administration of GLP-1-(7-36) amide inhibits food and water intake in rats. *Am J Physiol* 1996; **271**: R848-56.
- 43 Knauf C, Cani PD, Perrin C, Iglesias MA, Maury JF, Bernard E *et al.* Brain glucagon-like peptide-1 increases insulin secretion and muscle insulin resistance to favor hepatic glycogen storage. *J Clin Invest* 2005; **115**: 3554–3563.
- 44 Perry T, Haughey NJ, Mattson MP, Egan JM, Greig NH. Protection and reversal of excitotoxic neuronal damage by glucagon-like peptide-1 and exendin-4. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; **302**: 881–888.
- 45 Meier JJ, Gallwitz B, Salmen S, Goetze O, Holst JJ, Schmidt WE *et al.* Normalization of glucose concentrations and deceleration of gastric emptying after solid meals during intravenous glucagon-like peptide 1 in patients with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; **88**: 2719–2725.
- 46 Sancho V, Nuche B, Arnés L, Cancelas J, González N, Díaz-Miguel M *et al.* The action of GLP-1 and exendins upon glucose transport in normal human adipocytes, and on kinase activity as compared to morbidly obese patients. *Int J Mol Med* 2007; **19**: 961–966.
- 47 Prigeon RL, Quddusi S, Paty B, D'Alessio DA. Suppression of glucose production by GLP-1 independent of islet hormones: a novel extrapancreatic effect. *Am J Physiol Metab* 2003; **285**: E701–E707.
- 48 Ahrén B. Hepato-cretin function of GLP-1: Novel concept and target in type 1 diabetes. *Diabetes* 2015; **64**: 715–717.
- 49 Ayala JE, Bracy DP, James FD, Julien BM, Wasserman DH, Drucker DJ. The glucagon-like peptide-1 receptor regulates endogenous glucose production and muscle glucose uptake independent of its incretin action. *Endocrinology* 2009; **150**: 1155–1164.
- 50 Jun LS, Millican RL, Hawkins ED, Konkol DL, Showalter AD, Christe ME *et al.* Absence of glucagon and insulin action reveals a role for the GLP-1 receptor in endogenous glucose production. *Diabetes* 2015; **64**: 819–827.
- 51 Kielgast U, Krarup T, Holst JJ, Madsbad S. Four Weeks of Treatment With Liraglutide Reduces

Insulin Dose Without Loss of Glycemic Control in Type 1 Diabetic Patients With and Without Residual  $\beta$ -Cell Function. *Diabetes Care* 2011; **34**: 1463 LP-1468.

- 52 Ghazi T, Rink L, Sherr JL, Herold KC. Acute Metabolic Effects of Exenatide in Patients With Type 1 Diabetes With and Without Residual Insulin to Oral and Intravenous Glucose Challenges. *Diabetes Care* 2014; **37**: 210 LP-216.
- 53 Zhong J, Maiseyeu A, Rajagopalan S. Lipoprotein effects of incretin analogs and dipeptidyl peptidase 4 inhibitors. *Clin Lipidol* 2015; **10**: 103–112.
- 54 Meier JJ, Gethmann A, Gotze O, Gallwitz B, Holst JJ, Schmidt WE *et al*. Glucagon-like peptide 1 abolishes the postprandial rise in triglyceride concentrations and lowers levels of non-esterified fatty acids in humans. *Diabetologia* 2006; **49**: 452–458.
- 55 Juntti-Berggren L, Pigon J, Karpe F, Hamsten A, Gutniak M, Vignati L *et al*. The antidiabetogenic effect of GLP-1 is maintained during a 7-day treatment period and improves diabetic dyslipoproteinemia in NIDDM patients. *Diabetes Care* 1996; **19**: 1200–1206.
- 56 Matikainen N, Manttari S, Schweizer A, Ulvestad A, Mills D, Dunning BE *et al*. Vildagliptin therapy reduces postprandial intestinal triglyceride-rich lipoprotein particles in patients with type 2 diabetes. *Diabetologia* 2006; **49**: 2049–2057.
- 57 Ussher JR, Drucker DJ. Cardiovascular biology of the incretin system. *Endocr Rev* 2012 Apr; 33(2): 187-215.
- 58 Vila Petroff MG, Egan JM, Wang X, Sollott SJ. Glucagon-like peptide-1 increases cAMP but fails to augment contraction in adult rat cardiac myocytes. *Circ Res* 2001;**89**: 445–452.
- 59 Hattori Y, Jojima T, Tomizawa A, Satoh H, Hattori S, Kasai K *et al*. A glucagon-like peptide-1 (GLP-1) analogue, liraglutide, upregulates nitric oxide production and exerts anti-inflammatory action in endothelial cells. *Diabetologia* 2010;**53**: 2256–2263.
- 60 Ishibashi Y, Matsui T, Takeuchi M, Yamagishi S-I. Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) inhibits advanced glycation end product (AGE)-induced up-regulation of VCAM-1 mRNA levels in endothelial cells by suppressing AGE receptor (RAGE) expression. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; **391**: 1405–1408.
- 61 Nathanson D, Erdogdu O, Pernow J, Zhang Q, Nyström T. Endothelial dysfunction induced by triglycerides is not restored by exenatide in rat conduit arteries ex vivo. *Regul Pept* 2009; **157**: 8–13.
- 62 Goud A, Zhong J, Peters M, Brook RD, Rajagopalan S. GLP-1 Agonists and Blood Pressure: A Review of the Evidence. *Curr Hypertens Rep* 2016; **18**: 16.
- 63 Sauve M, Ban K, Momen MA, Zhou Y-Q, Henkelman RM, Husain M *et al*. Genetic deletion or pharmacological inhibition of dipeptidyl peptidase-4 improves cardiovascular outcomes after myocardial infarction in mice. *Diabetes* 2010; **59**: 1063–1073.
- 64 Nagashima M, Watanabe T, Terasaki M, Tomoyasu M, Nohtomi K, Kim-Kaneyama J *et al*. Native incretins prevent the development of atherosclerotic lesions in apolipoprotein E knockout mice. *Diabetologia* 2011; **54**: 2649–2659.
- 65 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* 1993; **91**: 301–307.
- 66 Puddu A, Sanguineti R, Montecucco F, Viviani GL. Effects of High Glucose Levels and Glycated Serum on GIP Responsiveness in the Pancreatic Beta Cell Line HIT-T15. *J Diabetes Res* 2015; 326359.
- 67 National Institute for Health and Care Excellence. Type 2 diabetes in adults: management.[Internet] 2015 [Updated 2017 May; cited 2018 Mar]. Available from: <https://www.nice.org.uk/guidance/ng28/chapter/1-Recommendations#blood-glucose-management-2>.
- 68 Butler AE, Campbell-Thompson M, Gurlo T, Dawson DW, Atkinson M, Butler PC. Marked Expansion of Exocrine and Endocrine Pancreas with Incretin Therapy in Humans with increased Exocrine Pancreas Dysplasia and the potential for Glucagon-producing Neuroendocrine Tumors. *Diabetes* 2013 Jul; 62(7): 2595-2604.
- 69 Egan AG, Blind E, Dunder K, de Graeff PA, Hummer BT, Bourcier T *et al*. Pancreatic Safety of Incretin-Based Drugs — FDA and EMA Assessment. *N Engl J Med* 2014; **370**: 794–797.
- 70 Klinger S, Poussin C, Debril M-B, Dolci W, Halban PA, Thorens B. Increasing GLP-1-induced beta-cell proliferation by silencing the negative regulators of signaling cAMP response element modulator-alpha and DUSP14. *Diabetes* 2008; **57**: 584–593.