

BetaDecline: predittori noti e meno noti di deficit beta-cellulare



G.T. Russo
Giuseppina.russo@unime.it

Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Policlinico Universitario "G. Martino", Messina

Parole chiave: Diabete mellito di tipo 2, Disfunzione beta-cellulare, Studio BetaDecline

Keywords: Type 2 diabetes, Beta-cell dysfunction, BetaDecline Study

Il Giornale di AMD, 2015;18:27-31

Riassunto

La disfunzione beta-cellulare è uno dei meccanismi patogenetici principali alla base del diabete di tipo 2 e rappresenta un evento precoce nella storia naturale della malattia. Lo studio BetaDecline ha valutato l'associazione tra disfunzione beta-cellulare e alcune variabili personali e cliniche in circa 500 pazienti diabetici di tipo 2 in trattamento ipoglicemizzante stabile da oltre un anno, attraverso lo studio del rapporto proinsulina/insulina, dell'indice HOMA-B e del modello HOMA-IR per la valutazione dell'insulino-resistenza. I dati basali dello studio indicano che in questa ampia coorte di pazienti diabetici di tipo 2 ambulatoriali, la disfunzione beta-cellulare, valutata in base al rapporto proinsulina/insulina, è più frequente nei soggetti di sesso maschile e nei pazienti che fanno uso di farmaci secretagoghi. Questi dati sottolineano la potenziale influenza dei farmaci oggi utilizzati nel trattamento del diabete sulla "sopravvivenza" della beta-cellula, oltre all'eterogeneità dei meccanismi e dei fattori che possono agire come predittori della disfunzione beta-cellulare.

Summary

Beta-cell dysfunction is one of the main mechanisms involved in the pathogenesis of type 2 diabetes and is an early event in the natural history of the disease.

The BetaDecline is a multicenter study that evaluated clinical predictors of beta-cell dysfunction in about 500 type 2 diabetes outpatients on stable hypoglycaemic treatment for more than one year. Beta-cell dysfunction was evaluated by calculating the proinsulin/insulin ratio, HOMA-B index, and insulin-resistance was assessed by HOMA-IR index. In this study population, baseline higher proinsulin/insulin ratio values were more frequent in men and in patients on secretagogues drugs. These results support the potential influence of hypoglycaemic agents on the "survival" of beta-cells, and underline the heterogeneity of mechanisms and factors that could predict beta-cell dysfunction.

Il diabete mellito di tipo 2 è un disordine cronico e progressivo che riconosce le sue basi fisiopatologiche nell'insulino-resistenza, cui si associano gradi variabili di disfunzione beta-cellulare.

Com'è noto, l'insulino-resistenza è il primo difetto metabolico a comparire ed accompagna il diabete per tutta la sua durata. Dapprima le beta-cellule pancreatiche sopperiscono a questa aumentata richiesta periferica incrementando la sintesi e secrezione di insulina e, come conseguenza, la glicemia si mantiene entro il range fisiologico. Successivamente, quando le beta-cellule pancreatiche non riescono più a sostenere questo *overload* funzionale, si assiste ad un relativo deficit secretivo che condiziona la comparsa dell'iperglicemia e quindi del diabete manifesto.

Come evidenziato in numerose ed eleganti rassegne sull'argomento, come quella del Prof. E. Ferranini, apparsa recentemente su *Metabolism*⁽¹⁾, il ruolo del deficit beta-cellulare nell'insorgenza e nella progressione del diabete di tipo 2 è sempre più riconosciuto, e si stanno moltiplicando gli sforzi per chiarire i meccanismi fisiopatologici che ne stanno alla base. Infatti, mantenere un pacchetto di beta-cellule normo-funzionanti il più a lungo possibile è l'unica strategia per scongiurare o quantomeno ritardare il passaggio definitivo alla terapia insulinica in questi pazienti.

Il deficit beta-cellulare è un evento piuttosto precoce nella storia naturale della malattia. Infatti, come ci ha dimostrato lo studio UKPDS (United Kingdom Prospective Diabetes Study)⁽²⁾, la funzione beta-cellulare, valutata con il metodo HOMA-B (Homeostatic Model Assessment-B), è già ridotta del 50% nei pazienti con diabete di tipo 2 al momento della diagnosi.

Il deficit beta-cellulare si caratterizza però per un deficit non solo funzionale ma anche "quantitativo", caratterizzato dalla riduzione del numero e della massa di beta-cellule^(3,4).

Per quanto riguarda le alterazioni "funzionali" tipicamente riscontrate nei pazienti diabetici di tipo 2, senz'altro la riduzione della prima fase di secrezione insulinica è il primo difetto a comparire e, insieme all'insulino-resistenza periferica, condiziona la comparsa dell'iperglicemia post-prandiale. Quando tale deficit secretivo si estende anche alla secrezione pulsatile basale, la mancata soppressione della secrezione epatica di

Basato su una relazione tenuta in occasione del VII Convegno Nazionale della Fondazione AMD, svoltosi a Baveno dal 23 al 25 ottobre 2014.

glucosio che ne deriva determina la comparsa dell'iper-glicemia a digiuno^(3,4).

Un'altra alterazione tipica del diabete di tipo 2 è un alterato processamento dell'insulina. Com'è noto, infatti, l'insulina nasce come pre-proormone che viene convertito a pro-ormone, la proinsulina, nel reticolo endoplasmatico. La proinsulina viene quindi convertita in insulina e C-peptide in quantità equimolari. Fisiologicamente, questo meccanismo è piuttosto efficiente e la quantità di proinsulina che si ritrova nella circolazione portale e sistemica è davvero esigua. Tuttavia, nel diabete di tipo 2, forse anche a causa di una eccessiva richiesta di sintesi dell'ormone per compensare l'insulino-resistenza, la capacità di convertire la proinsulina in insulina è deficitaria, con conseguente aumento dei valori di proinsulina e del rapporto proinsulina/insulina da 2 a 3 volte rispetto ai soggetti non diabetici^(5,6).

Ma la "disfunzione beta-cellulare" nel diabete di tipo 2 dipende anche da una riduzione quantitativa della massa di beta cellule, che si manifesta a prescindere dai livelli di BMI, anche se esiste un discreto grado di *overlapping* con i soggetti non diabetici⁽⁷⁾. Anche il deficit della massa beta-cellulare è un evento precoce nel diabete di tipo 2, come dimostrato da Butler et al. in uno studio miliare su reperti autoptici di pancreas di pazienti con diversi gradi di tolleranza glucidica⁽⁷⁾. In questo studio, è stato infatti dimostrato come la massa beta cellulare fosse ridotta del 40% in soggetti con IGT (Impaired Glucose Tolerance) e del 60% in quelli con diabete manifesto, se paragonati ai soggetti non diabetici⁽⁷⁾.

Posto che sia la funzione sia la massa delle beta-cellule sono ridotte già alla diagnosi di diabete, i meccanismi che sottendono queste alterazioni possono essere molto diversi e la loro identificazione è in continuo "aggiornamento"^(8,9). Quello che è certo è che il deficit delle beta-cellule dipende da un'interazione tra fattori genetici e fattori ambientali, che sottopongono a "stress" la beta-cellula, la quale risponderà innescando dei meccanismi adattativi che però determinano, come risultato finale, la morte della stessa cellula per apoptosi^(7,9).

Il ruolo fondamentale che ha il declino beta-cellulare nel diabete di tipo 2 si evince anche da studi genetici. Infatti, dei numerosi geni che sono stati associati al rischio di diabete di tipo 2, circa 60 secondo recenti stime degli studi GWAS (Genome Wide Association Studies), la maggior parte non è associato ad insulino-resistenza, ma appare coinvolta nello sviluppo e nella funzione della beta-cellula o nella regolazione della massa beta-cellulare⁽¹⁰⁻¹²⁾. Ad esempio, il gene TCF7L2, localizzato sul cromosoma 10, sembra conferire suscettibilità allo sviluppo del diabete di tipo 2 principalmente attraverso un'alterazione della secrezione insulinica^(12,13). Il gene KCNJ11 è stato associato ad una ridotta secrezione insulinica per ridotta sensibilità dei canali del potassio ATP-sensibili e per un aumento della soglia glicemica in grado di determinare il rilascio dell'insulina⁽¹⁴⁾. Altre varianti, tra cui quelle localizzate sul gene TCF7L2, MADD ed altri, sono anche state associate ai livelli circolanti di proinsulina⁽¹⁵⁾.

Queste ed altre evidenze suggeriscono come il background genetico condizioni la capacità di adatta-

mento della beta-cellula ai diversi "insulti" e quindi l'evoluzione o meno verso il deficit beta-cellulare ed il diabete manifesto.

Infatti, sono diversi gli stimoli lesivi che possono intaccare la funzione e la massa beta-cellulare. Senz'altro gluco- e lipotossicità giocano un ruolo determinante nell'indurre il deficit beta-cellulare, come dimostrato da numerosi studi sperimentali. Infatti, in genere secondariamente ad un *overload* di nutrienti, si determina un eccesso di carboidrati ed acidi grassi liberi circolanti che possono alterare l'espressione di fattori di trascrizione che regolano importanti funzioni della beta-cellula⁽¹⁶⁾. Oltre a interferire con la sintesi di insulina, i fenomeni di gluco- e lipotossicità possono anche favorire i processi apoptotici e alterare i meccanismi di rigenerazione tipici della beta-cellula⁽¹⁶⁾. La presenza di elevati livelli di glucosio e acidi grassi circolanti contribuiscono inoltre ad aumentare l'espressione del polipeptide amiloide insulare (IAPP), o amilina, che è il principale costituente dei depositi di amiloide nel pancreas, con effetti citotossici a livello cellulare⁽¹⁷⁾. La formazione delle placche amiloidi a livello delle isole pancreatiche è infatti associato al danno della massa beta-cellulare, ed è presente in circa il 90% dei soggetti con diabete di tipo 2, sebbene il nesso di causalità resti ancora da definire⁽¹⁷⁾.

Tra i meccanismi che possono contribuire al malfunzionamento delle cellule insulari gioca un ruolo anche l'infiammazione cronica di basso grado⁽¹⁸⁾. L'infiammazione è infatti una componente importante degli stati di insulino-resistenza⁽¹⁸⁾, ma il tessuto pancreatico può rappresentare una delle sedi del processo infiammatorio, tanto che nel suo contesto è stata descritta la presenza di infiltrati di macrofagi e altre cellule produttrici di citochine pro-infiammatorie, che possono interferire con la funzione della beta-cellula⁽¹⁹⁾.

Tutti questi fattori, sia genetici che acquisiti, determinano nel tempo una progressiva "perdita" delle beta-cellule. Tuttavia, Tachai et al. hanno recentemente proposto la de-differenziazione delle beta-cellule mature verso cellule meno differenziate come possibile meccanismo alla base di questa "perdita"⁽²⁰⁾.

In qualsiasi modo si determini la disfunzione beta-cellulare, lo studio UKPDS ha mostrato come questo sia un evento progressivo ed inesorabile⁽²⁾. Se così fosse, tutti i pazienti con diabete di tipo 2 dovrebbero seppur in un tempo variabile, aver bisogno della terapia insulinica "sostitutiva". Tuttavia, è osservazione comune che la "storia naturale" del diabete di tipo 2 sia estremamente variegata con alcuni pazienti che riescono a mantenere un buon compenso glicemico con la stessa terapia ipoglicemizzante, se non addirittura con la sola dieta, per moltissimi anni, mentre in altri si rende rapidamente necessario il ricorso alla terapia insulinica multi-iniettiva.

La velocità di progressione del deficit beta cellulare è quindi molto variabile e potenzialmente influenzata da diversi fattori clinici, metabolici, legati allo stile di vita e/o alle diverse terapie ipoglicemizzanti. Identificare questi fattori è un passaggio necessario per migliorare gli *outcomes* delle attuali terapie sul diabete.

Per rispondere a questi quesiti è nato lo studio BetaDecline, una ricerca promossa dall'Associazione Medici Diabetologi (AMD), con lo scopo di valutare prospettivamente l'associazione tra disfunzione beta-cellulare e diverse variabili biochimiche e cliniche nel diabete di tipo 2.

I risultati dell'analisi dei dati al basale di questo studio, che ha coinvolto oltre 500 pazienti ambulatoriali in trattamento dietetico o con ipoglicemizzanti orali, stabile da oltre un anno, è stata di recente pubblicata su PlosOne⁽²¹⁾.

Tra le indagini eseguite, il grado di disfunzione beta-cellulare è stato valutato con il rapporto proinsulina/insulina (PI/I) e con l'indice HOMA-B, il grado di insulino-resistenza con il modello HOMA_{IR}: sono stati inoltre dosati i comuni parametri di laboratorio ed i livelli di NEFA (acidi grassi liberi), hsPCR e IL-6. Sono quindi state raccolte informazioni sulla durata e sulle complicanze del diabete e sui farmaci ipoglicemizzanti, ipolipemizzanti e anti-ipertensivi in corso.

In realtà, come è noto, esistono diversi metodi per la valutazione della disfunzione beta-cellulare, tra cui il calcolo HOMA-B, la risposta dell'insulina 5 minuti dopo un carico ev di glucosio (AIRg), il rapporto incrementale tra insulina e glucosio 30 min dopo un OGTT (insulinogenic index, $\Delta I/\Delta G-30$), così come altri metodi di ancora più complessi⁽²²⁾. Tuttavia, seppur attendibili, molti di questi metodi non sono facilmente applicabili nella pratica clinica, per cui nello studio BetaDecline è stato usato il rapporto PI/I, che stima la capacità della beta-cellula di convertire la proinsulina ad insulina e rappresenta un metodo accettabile per valutare la capacità secretiva delle cellule⁽²³⁾. Quando la popolazione è stata stratificata per valori di PI/I, il primo risultato che è emerso riguardava la distribuzione del genere, con oltre il 70% dei pazienti nel quartile con PI/I più elevato, quello con un maggior grado di disfunzione beta cellulare, che era di sesso maschile.

I risultati al basale di questo studio hanno inoltre dimostrato una relazione lineare inversa del PI/I con BMI, livelli di colesterolo totale, LDL e HDL e con la hsPCR e un'associazione diretta con i valori di HbA1c, glicemia a digiuno e trigliceridi (P trend<0.05 tutti), mentre non vi erano differenze significative nei livelli di IL-6 e NEFA, così come nei livelli di pressione arteriosa in base ai quartili di PI/I. Sia l'indice HOMA-B che l'HOMA_{IR} si riducevano progressivamente all'aumentare del rapporto PI/I (P<0.0001, entrambi). Quando sono state valutate le terapie in corso, l'uso di secretagoghi (SU e Glinidi) era significativamente maggiore nel quartile più alto di PI/I (P<0.0001), mentre non vi erano differenze nella distribuzione degli altri farmaci ipoglicemizzanti orali, anti-ipertensivi o ipolipemizzanti in base al grado di secrezione insulinica. All'analisi multivariata, il rischio di avere un valore di PI/I nel quartile più alto era nettamente maggiore in chi usava farmaci secretagoghi (OR=4.2; IC95% 2.6-6.9) e, seppur a livelli minori, negli uomini (OR=1.8; IC95% 1.1-2.9).

La diversa distribuzione del genere in base ai quartili di PI/I suggerisce una parziale protezione delle donne

nei confronti del deficit beta-cellulare, una protezione che potrebbe essere mediata dall'influenza degli estrogeni nel tempo. Questa ipotesi sembra supportata da diversi studi, per lo più sperimentali, che mostrano una maggiore incidenza di diabete negli animali da esperimento maschi rispetto alle femmine^(24,25) e da studi *in vitro* che mostrano come gli estrogeni possano avere un effetto diretto, riducendo l'apoptosi delle beta-cellule pancreatiche⁽²⁴⁻²⁶⁾.

Inoltre, studi di intervento come il Women's Health Initiative Study⁽²⁷⁾ e lo Heart and Oestrogen/Progestin Replacement Study⁽²⁸⁾ hanno entrambi dimostrato una ridotta incidenza di diabete nel braccio che faceva estrogeni.

L'altro risultato del BetaDecline è che, all'analisi basale, un rapporto PI/I "patologico" era più frequente nei soggetti in terapia con secretagoghi (glinidi e sulfaniluree), con un rischio di disfunzione beta-cellulare che era di 4 volte maggiore rispetto a chi non faceva uso di questi farmaci. Le ragioni per spiegare questa associazione possono essere molto diverse, andando da un *indication bias* cioè l'uso preferenziale di questi farmaci in soggetti che già presentavano un deficit beta-cellulare, al loro meccanismo d'azione, di stimolo della secrezione di insulina e verosimilmente anche di proinsulina. Tuttavia, altri studi, tra cui lo studio ADOPT^(29,30), hanno dimostrato un maggior grado di deficit beta-cellulare con la glibenclamide rispetto al trattamento con rosigliptazione o metformina, maggiormente evidente nel lungo follow-up.

La possibilità che tra i fattori che possono contribuire a modificare la funzione beta-cellulare nel tempo vi sia l'uso di alcuni farmaci, soprattutto quelli ipoglicemizzanti, ha un rilievo clinico particolarmente importante, dal momento che esistono ormai chiare evidenze sulla necessità di preservare la riserva beta-cellulare per ritardare il peggioramento del compenso glicemico ed il passaggio definitivo alla terapia insulinica nei pazienti con diabete di tipo 2.

Tra i vari ipoglicemizzanti orali ad oggi disponibili, metformina⁽³¹⁾, pioglitazone⁽³²⁾ e incretino-mimetici^(33,34) hanno evidenza di un miglioramento dei surrogati di funzione beta cellulare, anche se con risultati non univoci.

Una recente meta-analisi ha valutato, ad esempio, gli studi randomizzati e controllati (RCTs) che hanno indagato l'effetto di metformina, pioglitazone e sitagliptin sui valori di HOMA-beta e PI/IR⁽³⁵⁾. Dai trials valutati, che erano per lo più di breve durata (12-54 settimane), si evince come la metformina migliorasse la funzione beta-cellulare più degli altri due farmaci, e l'associazione metformina-sitagliptin più delle altre associazioni⁽³⁵⁾.

Ma le evidenze sul ruolo della terapia farmacologica sulle insule di Langherans sono sempre più numerose e riguardano ormai quasi tutte le classi di farmaci a nostra disposizione. Esistono infatti diverse evidenze che gli incretino-mimetici possano preservare la funzione della beta-cellula, sia in termini funzionali che di massa cellulare^(33,36). D'altra parte, una letteratura ancora più corposa ha dimostrato queste proprietà anche per i gli-

tazoni⁽³²⁾; qualche evidenza esiste anche per la metformina^(37,38), così come per altri farmaci ipoglicemizzanti, inclusi i SGTL2 antagonisti⁽³⁹⁾. Tuttavia, seppur ormai numerosi, i risultati sono globalmente non univoci e fortemente influenzati dalla tipologia di pazienti esaminati, dalle specifiche condizioni sperimentali oltre che dagli eventuali effetti mediati dalla riduzione “in acuto” della gluco-tossicità.

A questo riguardo, i risultati del BetaDecline suggeriscono che il trattamento con sulfaniluree sia associato ad una ridotta *performance* secretiva delle beta-cellule. Certo è necessario tenere a mente che i risultati di questo studio, fin qui riassunti, si riferiscono a dati trasversali, con i limiti che questo tipo di analisi comporta e devono essere confermati da studi prospettici, come ad esempio i dati del follow-up di 4 anni, che si è appena concluso.

Conclusioni

L'attuale gestione del diabete di tipo 2 è ancora centrata sulla correzione dell'iperglicemia, intesa sia come valori puntuali di glicemia che come HbA1c, con lo scopo ultimo di prevenire le complicanze a lungo termine della malattia. Un approccio che, come dimostrato dai grandi trials, si è dimostrato efficace sulla microangiopatia e meno sul rischio di complicanze macroangiopatiche. Tuttavia, “curare” la glicemia non è “curare” il diabete, ma solo migliorare la sua espressione clinica più tipica.

Con la continua e costante ricerca in campo diabetologico, esiste la possibilità che il nostro obiettivo terapeutico si modifichi nei prossimi anni e, nell'ottica di prolungare il più possibile il “*time to insulin*”, cioè la necessità di passare ad una terapia insulinica, abbia come target la preservazione della beta-cellula. In quest'ottica la terapia sulla beta-cellula sarà tanto più efficace quanto più precoce nel corso della storia naturale del diabete, ancora di più se si inizia a trattare la condizione di “prediabete”, così come ci hanno insegnato gli studi di prevenzione primaria.

BIBLIOGRAFIA

- Ferrannini E, Mari A. β -Cell function in type 2 diabetes. *Metabolism*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2014.05.012>, 2014.
- UKPDS Group, UK Prospective Diabetes Study 16. Overview of six years' therapy of type 2 diabetes- a progressive disease. *Diabetes* 44:1249-58, 1995.
- Del Prato S, Marchetti P. Beta- and alpha-cell dysfunction in type 2 diabetes. *Horm Metab Res* 36:775-781, 2004.
- DeFronzo RA, Bonadonna RC, Ferrannini E. Pathogenesis of NIDDM: a balanced overview. *Diabetes Care* 15:318-68, 1992.
- Kahn SE, Carr DB, Faulenbach MV, Utzschneider KM. An examination of beta-cell function measures and their potential use for estimating beta-cell mass. *Diabetes Obes Metab* 10(4):63-76, 2008.
- Røder ME, Dinesen B, Hartling SG, Houssa P, Vestergaard H, Sodoyez-Goffaux F, Binder C. Intact proinsulin and beta-cell function in lean and obese subjects with and without type 2 diabetes. *Diabetes Care* 22:609-14, 1999.
- Butler AE, Janson J, Bonner-Weir S, Ritzel R, Rizza RA, Butler PC. Beta-cell deficit and increased beta-cell apoptosis in humans with type 2 diabetes. *Diabetes* 52:102-10, 2003.
- Prentki M, Nolan CJ. Islet β cell failure in type 2 diabetes. *J Clin Invest* 116:1802-12, 2006.
- Halban PA, Polonsky KS, Bowden DW, Hawkins MA, Ling C, Mather KJ, et al. β -cell failure in type 2 diabetes: postulated mechanisms and prospects for prevention and treatment. *Diabetes Care* 37:1751-8, 2014.
- Jonsson A, Ladenvall C, Ahluwalia TS, Kravic J, Krus U, Taneera J, et al. Effects of Common Genetic Variants Associated With Type 2 Diabetes and Glycemic Traits on α - and β -Cell Function and Insulin Action in Humans. *Diabetes* 62:2978-83, 2013.
- Lyssenko V, Jonsson A, Almgren P, Pulizzi N, Isomaa B, Tuomi T, et al. Clinical risk factors, DNA variants, and the development of type 2 diabetes. *N Engl J Med* 359:2220-32, 2008.
- 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* 117:2155-63, 2007.
- Saxena R, Gianniny L, Burtt NP, Lyssenko V, Giuducchi C, Sjögren M, et al. Common single nucleotide polymorphisms in TCF7L2 are reproducibly associated with type 2 diabetes and reduce the insulin response to glucose in nondiabetic individuals. *Diabetes* 55:2890-5, 2006.
- Rosengren AH, Braun M, Mahdi T, Andersson SA, Travers ME, Shigeto M, et al. Reduced insulin exocytosis in human pancreatic β -cells with gene variants linked to type 2 diabetes. *Diabetes* 61:1726-33, 2012.
- Strawbridge RJ, Dupuis J, Prokopenko I, Barker A, Ahlqvist E, Rybin D, et al. Genome-wide association identifies nine common variants associated with fasting proinsulin levels and provides new insights into the pathophysiology of type 2 diabetes. *Diabetes* 10:2624-34, 2011.
- Poitout V, Amyot J, Semache M, Zarrouki B, Hagman D, Fontés G. Glucolipototoxicity of the pancreatic beta cell. *Biochim Biophys Acta* 1801:289-98, 2010.
- Clark A, Nilsson MR. Islet amyloid: a complication of islet dysfunction or an aetiological factor in Type 2 diabetes? *Diabetologia* 47:157-169, 2004.
- Shoelson SE, Herrero L, Naaz A. Obesity, inflammation, and insulin resistance. *Gastroenterology* 132:2169-80, 2007.
- Esser N, Legrand-Poels S, Piette J, Scheen AJ, Paquot N. Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 105:141-150, 2014.
- Talchai C1, Xuan S, Lin HV, Sussel L, Accili D. Pancreatic β cell dedifferentiation as a mechanism of diabetic β cell failure. *Cell* 150:1223-34, 2012.
- Russo GT, Giorda CB, Cercone S, Nicolucci A, Cucinotta D; BetaDecline Study Group. Factors Associated with Beta-Cell Dysfunction in Type 2 Diabetes: The BETADECLINE Study. *PLoS One* 27; 9(10):e109702, 2014.
- Cersosimo E, Solis-Herrera C, Trautmann ME, Malloy J, Triplitt CL. Assessment of pancreatic β -cell function: review of methods and clinical applications. *Curr Diabetes Rev* 10:2-42, 2014.
- Pfützner A, Forst T. Elevated intact proinsulin levels are indicative of Beta-cell dysfunction, insulin resistance, and cardiovascular risk: impact of the antidiabetic agent pioglitazone. *J Diabetes Sci Technol* 5:784-93, 2011.
- Godsland IF. Oestrogens and insulin secretion. *Diabetologia* 48:2213-20, 2005.

25. Tiano JP, Mauvais-Jarvis F. Importance of oestrogen receptors to preserve functional β -cell mass in diabetes. *Nat Rev Endocrinol* 8:342-51, 2012.
26. Le May C, Chu K, Hu M, Ortega CS, Simpson ER, Korach KS, et al. Estrogens protect pancreatic beta-cells from apoptosis and prevent insulin-deficient diabetes mellitus in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103: 9232-37, 2006.
27. Margolis KL, Bonds DE, Rodabough RJ, Tinker L, Phillips LS, Allen C, et al; Women's Health Initiative Investigators. Effect of oestrogen plus progestin on the incidence of diabetes in postmenopausal women: results from the Women's Health Initiative Hormone Trial. *Diabetologia* 47:1175-87, 2004.
28. Kanaya AM, Herrington D, Vittinghoff E, Lin F, Grady D, Bittner V, et al; Heart and Estrogen/progestin Replacement Study. Glycemic effects of postmenopausal hormone therapy: the Heart and Estrogen/progestin Replacement Study. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med* 138:1-9, 2003.
29. Kahn SE, Lachin JM, Zinman B, Haffner SM, Aftring RP, Paul G, et al; ADOPT Study. Effects of rosiglitazone, glyburide, and metformin on β -cell function and insulin sensitivity in ADOPT. *Diabetes* 60:1552-60, 2011.
30. Kahn SE, Haffner SM, Heise MA, Herman WH, Holman RR, Jones NP, et al; ADOPT Study Group. Glycemic durability of rosiglitazone, metformin, or glyburide monotherapy. *N Engl J Med* 2006;355:2427-2443 15. Bonora E. Protection of pancreatic beta-cells: is it feasible? *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 18:74-83, 2008.
31. Kirpichnikov D, McFarlane SI, Sowers JR. Metformin: an update. *Ann Intern Med* 137:25-33, 2002.
32. Gastaldelli A1, Ferrannini E, Miyazaki Y, Matsuda M, Mari A, De Fronzo RA. Thiazolidinediones improve beta-cell function in type 2 diabetic patients. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 292:E871-83, 2007.
33. Mu J, Woods J, Zhou YP, Roy RS, Li Z, Zycband E, et al. Chronic inhibition of dipeptidyl peptidase-4 with a sitagliptin analog preserves pancreatic beta-cell mass and function in a rodent model of type 2 diabetes. *Diabetes* 55:1695-704, 2006.
34. Riche DM, East HE, Riche KD. Impact of sitagliptin on markers of b-cell function: a meta-analysis. *Am J Med Sci* 337:321-328, 2009.
35. Jin Lu, Jiajie Zang, Huihua Li. Impact of Three Oral Antidiabetic Drugs on Markers of b-Cell Function in Patients with Type 2 Diabetes: A Meta- Analysis. *PLoS One* 5;8:e76713, 2013.
36. Farilla L, Hui H, Bertolotto C, Kang E, Bulotta A, Di Mario U, et al. Glucagon-like peptide-1 promotes islet cell growth and inhibits apoptosis in Zucker diabetic rats. *Endocrinology* 143:4397-408, 2002.
37. Patanè G, Piro S, Rabuazzo AM, Anello M, Vigneri R, Purrello F. Metformin restores insulin secretion altered by chronic exposure to free fatty acids or high glucose: a direct metformin effect on pancreatic β -cells. *Diabetes* 49:735-740, 2000.
38. Marchetti P, Del Guerra S, Marselli L, Lupi R, Masini M, Pollera M, et al. Pancreatic islets from type 2 diabetic patients have functional defects and increased apoptosis that are ameliorated by metformin. *J Clin Endocrinol Metab* 89:5535-41, 2004.
39. Polidori D, Mari A, Ferrannini E. Canagliflozin, a sodium glucose co-transporter 2 inhibitor, improves model-based indices of beta cell function in patients with type 2 diabetes. *Diabetologia* 57:891-901, 2014.

