

HYPOTHESES ACTUELLES CONCERNANT LE ROLE PHYSIOLOGIQUE DU GLUCAGON

PIERRE LEFEBVRE

Quarante-cinq ans après la découverte du glucagon par MURLIN et al.⁶³, le rôle joué par cette substance tant en physiologie qu'en pathologie n'a jamais été autant discuté. Et pourtant, au cours des dernières années, nos connaissances sur le glucagon se sont prodigieusement enrichies: origine principale du glucagon dans les cellules α des îlots de Langerhans (SUTHERLAND et DE DUVE⁹⁰), purification et cristallisation (STAUB et al.⁸³), établissement de la séquence des acides aminés (BROMER et al.^{6,7}), mise au point d'une méthode de dosage sensible et spécifique (UNGER et al.⁹⁷).

Nous tenterons, dans cette revue de la question, de faire le point des actions principales du glucagon dont on est en droit de supposer qu'elles ont une signification physiologique. Nous discuterons ensuite la signification téléologique des ces observations.

I - EFFETS DU GLUCAGON SUR LE FOIE

Le foie est le premier organe rencontré par le glucagon après sa sécrétion dans la circulation porte. Le glucagon stimule, à ce niveau, la glycogénolyse. Ce fait a été démontré in vitro sur tranches de foie (SUTHERLAND et DE DUVE⁹⁰, SUTHERLAND⁸⁹). Il a été confir-

PRESENT HYPOTHESES CONCERNING THE PHYSIOLOGICAL ROLE OF GLUCAGON. Forty-five years after the discovery of glucagon by MURLIN et al.⁶³, the role played by this substance both in physiology and pathology was never so much discussed. However, in these last years our knowledge on glucagon was extraordinarily amplified: main origin of glucagon in the α -cells of the Langerhans islets (SUTHERLAND and DE DUVE⁹⁰), purification and crystallization (STAUB et al.⁸³), establishment of aminoacid sequence (BROMER et al.^{6,7}), development of a sensitive and specific assay method (UNGER et al.⁹⁷).

We shall try in the present review to summarize the main actions of glucagon, which assumedly have a physiological significance. We shall discuss afterwards the teleological significance of these observations.

I - EFFECTS OF GLUCAGON ON THE LIVER

The liver is the first organ encountered by glucagon after its secretion into portal circulation. At this level glucagon stimulates glycogenolysis. This was shown *in vitro* on liver sections (SUTHERLAND and DE DUVE⁹⁰, SUTHERLAND⁸⁹). It was confirmed on the iso-

Key-words: Adipose tissue; Glucagon; Insulin secretion; Liver; Physiology.

Data di arrivo in Redazione 22-2-1968.

Acta Diab. Latina 5, 143, 1968.

mé sur le foie isolé et perfusé (MILLER et al.⁶¹) et *in vivo* par prélèvements biopsiques répétés (CAHILL et al.⁹). Cette glycogénolyse engendre une hyperglycémie dont l'origine hépatique a pu être démontrée, entre autres, par la méthode des cathétérismes multiples (KIBLER et al.³⁸, SHOEMAKER et al.⁷⁹) ou par celle du foie isolé et perfusé (MILLER et al.⁶¹, FINCKER²³, LUYCKX et LEFEBVRE⁵⁶, etc.).

Le mécanisme biochimique de cette glycogénolyse fait intervenir une activation de la phosphorylase hépatique par le 3',5'-adénosine monophosphate (3',5'-AMP) synthétisé à partir de l'ATP à l'intervention du système de l'adénylcyclase (SUTHERLAND et RALL⁹¹).

La stimulation de la glycogénolyse hépatique peut s'observer avec des doses très faibles de l'hormone, de l'ordre de 0,0004 µg/ml (SOKAL et al.⁸²). A titre d'exemple, les doses d'épinéphrine nécessaires pour obtenir un effet semblable sur le foie isolé et perfusé de rat sont 200 et 250 fois plus élevées (EZDINLI et SOKAL²¹). Ce fait est considéré par SOKAL⁸⁰ comme un argument majeur en faveur du caractère physiologique de la glycogénolyse hépatique induite par le glucagon.

En dehors de cette stimulation de la glycogénolyse, le glucagon est capable de promouvoir au niveau du foie une néoglucogénèse. Ce fait, suggéré par diverses observations déjà anciennes (KALANT³⁵, HELMER et al.³¹, CURRY et BEATON¹³, GLASSER et IZZO²⁷, WEINGES^{104,105}, SHOEMAKER et VAN ITALIE⁷⁸, etc.), a été récemment confirmé par plusieurs groupes d'AA. (STRUCK et al.⁸⁶, WILLIAMSON et al.¹⁰⁹, GARCIA et al.²⁶, EXTON et PARK^{20a}, EXTON et al.^{20b}, etc.). Ici encore interviendrait le 3',5'-AMP (EXTON et al.^{20b}).

Comme pour la glycogénolyse, les calculs de SOKAL⁸⁰ plaident en faveur du caractère physiologique de la néoglucogénèse induite par le glucagon, néoglucogénèse qui pourrait se faire à partir de nombreux substrats: alanine, pyruvate, lactate, acides gras, etc.

lated and perfused liver (MILLER et al.⁶¹) and *in vivo* by repeated punch biopsy (CAHILL et al.⁹). This glycogenolysis causes a hyperglycaemia whose hepatic origin could be demonstrated among others by the method of multiple catheterization (KIBLER et al.³⁸, SHOEMAKER et al.⁷⁹) or by the isolated perfused liver technique (MILLER et al.⁶¹, FINCKER²³, LUYCKX and LEFEBVRE⁵⁶, etc.).

The biochemical mechanism of this glycogenolysis induces an intervention of hepatic phosphorylase activation by 3',5'-adenosine monophosphate (3',5'-AMP) synthesized from ATP by means of the adenylylase system (SUTHERLAND and RALL⁹¹).

The stimulation of hepatic glycogenolysis may be observed with very low doses of this hormone in the order of 0.0004 µg/ml (SOKAL et al.⁸²). As an example, the epinephrine doses required to obtain a similar effect in the isolated and perfused rat liver are 200 and 250 times higher (EZDINLI and SOKAL²¹). This is considered by SOKAL⁸⁰ as a major argument in favour of the physiological character of the glucagon-induced hepatic glycogenolysis.

Apart from this stimulation of glycogenolysis, glucagon is able to promote neoglucogenesis in the liver. This was suggested by different observations in the past (KALANT³⁵, HELMER et al.³¹, CURRY and BEATON¹³, GLASSER and IZZO²⁷, WEINGES^{104,105}, SHOEMAKER and VAN ITALIE⁷⁸, etc.) and was recently confirmed by several groups of AA. (STRUCK et al.⁸⁶, WILLIAMSON et al.¹⁰⁹, GARCIA et al.²⁶, EXTON and PARK^{20a}, EXTON et al.^{20b}, etc.). Here also intervened 3',5'-AMP (EXTON et al.^{20b}).

As for glycogenolysis the calculations by SOKAL⁸⁰ are in favour of the physiological character of the glucagon-induced neoglucogenesis, which could start with several substrates, alanine, pyruvate, lactate, fatty acids, etc.

Enfin, des observations récentes de DE WULF et HERS¹⁵ mettent l'accent sur un phénomène qui pourrait être de première importance: le glucagon inhibe au niveau du foie la glycogène-synthétase à des doses de beaucoup inférieures à celles qui activent la phosphorylase. Ainsi, l'effet ou un des effets hépatiques du glucagon dépendrait largement de la concentration de l'hormone dans le sang portal: à faible concentration, le glucagon inhiberait la synthèse de glycogène; à plus forte concentration s'ajouterait à cet effet inhibiteur un effet de stimulation de la glycogénolyse par activation de la phosphorylase.

II - EFFETS DU GLUCAGON SUR LE TISSU ADIPEUX

A - In vitro

Le glucagon rentre dans le cadre des hormones lipolytiques. Il stimule *in vitro* la libération d'acides gras non estérifiés à partir de la graisse épидидymaire du rat (STEINBERG et al.⁸⁵, HAGEN²⁹, WEINGES¹⁰⁶). La concentration minimale de glucagon permettant d'observer ce phénomène est de l'ordre de 0,002 µg/ml (LEFEBVRE⁴⁶). Cet effet a été retrouvé par JOEL³⁴ sur le tissu adipeux brun interscapulaire du rat, et confirmé par plusieurs AA. (FAIN et al.²², LEFEBVRE⁴⁷), sur les cellules adipeuses du rat ou de la souris isolées par la méthode de RODBELL⁶⁶. Dans d'autres espèces, par contre, les études *in vitro* n'ont pas permis de démontrer d'effet lipolytique du glucagon. Il en est ainsi sur le tissu adipeux du hamster (RUDMAN et al.⁶⁷) ou de l'homme (MOSINGER et al.⁶²). La mobilisation des acides gras au niveau du tissu adipeux incubé *in vitro* en présence du glucagon, s'accompagne d'une mobilisation de glycérol (VAUGHAN et STEINBERG¹⁰², FAIN et al.²², LEFEBVRE et LUYCKX⁵³). La stimulation de la lipolyse sous l'effet du glucagon s'accompagne d'une stimulation concomitante des processus de réestérification des acides gras au sein de la cellule adipeuse. Le fait a été démontré par VAUGHAN et

Finally, recent observations by DE WULF and HERS¹⁵ point out a phenomenon which could be of primary importance: glucagon inhibits in the liver glycogene-synthetase at really lower doses than those which activate phosphorylase. The effect, or one of the hepatic effects of glucagon, would be thus dependent largely upon the hormone concentration in portal blood; at low concentrations glucagon could inhibit glycogen synthesis, at higher concentrations a stimulation effect on glycogenolysis to this inhibiting effect could be added by phosphorylase activation.

II - EFFECTS OF GLUCAGON ON ADIPOSE TISSUE

A - In vitro

Glucagon belongs to the group of lipolytic hormones. It enhances *in vitro* non-esterified fatty acids release from epididymal fat of rat (STEINBERG et al.⁸⁵, HAGEN²⁹, WEINGES¹⁰⁶). The minimal glucagon concentration which allows observation of this phenomenon is within the order of 0.002 µg/ml (LEFEBVRE⁴⁶). This effect was found by JOEL³⁴ in the interscapular brown adipose tissue in rat, and confirmed by several AA. (FAIN et al.²², LEFEBVRE⁴⁷) in adipose cells of rat or mouse isolated by means of RODBELL's method⁶⁶. In other species on the contrary *in vitro* studies did not show the lipolytic effect of glucagon. This is the situation in adipose tissue of hamster (RUDMAN et al.⁶⁷) and man (MOSINGER et al.⁶²). The fatty acid mobilization in *in vitro* incubated adipose tissue in the presence of glucagon is accompanied by a glycerol mobilization (VAUGHAN and STEINBERG¹⁰², FAIN et al.²², LEFEBVRE and LUYCKX⁵³). The stimulation of lipolysis under the effect of glucagon is accompanied by a concomitant stimulation of re-esterification processes of fatty acids within the adipose cell. This was demonstrated by VAUGHAN and STEINBERG¹⁰² with their non-isotopic balan-

STEINBERG¹⁰² par leur non isotopic balance method, et confirmé par LEFEBVRE⁴⁶ par méthode isotopique.

Comme il a été montré pour d'autres hormones lipolytiques, le glucose présent dans le milieu d'incubation fournit l' α -glycérophosphate nécessaire à ce processus de réestérification. En témoignent une stimulation par le glucagon de la captation de glucose (VAUGHAN¹⁰¹, LEE et al.⁴³, HAGEN²⁹, etc.) et une augmentation de l'oxydation de ce substrat (FROESCH et al.²⁵, LEE et al.⁴³, WÖRNER et WEINGES¹¹⁰). Proportionnellement, l'oxydation du C₆ du glucose est stimulée de façon plus importante que l'oxydation du C₁: le rapport d'oxydation C₁/C₆ diminue. Ceci traduit une stimulation proportionnellement plus importante par le glucagon de la voie glycolytique que de la voie du shunt des pentoses et est en accord avec la théorie de la réestérification partielle (LEFEBVRE et LUYCKX⁴⁶). La stimulation de la lipolyse par le glucagon dépend de l'activation d'une lipase tissulaire (WEINGES et LÖFFLER¹⁰⁸) et, comme pour la glycogénolyse, le système ATP-adenylcyclase-3',5' AMP interviendrait dans ce phénomène (RIZACK⁶⁵, BRODIE et al.⁵). Comparé à d'autres hormones lipolytiques actives *in vitro* sur la graisse épидидymaire du rat, le glucagon apparaît comme l'une des plus puissantes (LEFEBVRE et LUYCKX⁴⁶).

B - *In vivo*

L'administration intraveineuse ou intramusculaire de doses élevées de glucagon engendre une chute précoce du taux plasmatique des acides gras non estérifiés (AGNE); cette baisse est contemporaine de l'hyperglycémie causée par l'hormone (DREILING et BIERMAN¹⁶, BIERMAN et al.⁴, DREILING et al.¹⁷, LEFEBVRE⁴⁴, DE PLAEN et GALANSINO¹⁴, etc.). Secondairement, s'observe une élévation importante du taux des AGNE dépassant très nettement le faible rebound que l'on observe après perfusion glucosée réalisant une hyperglycémie du même ordre de grandeur (LEFEBVRE⁴⁴). Cette élévation secondaire du taux pla-

ce method and confirmed by LEFEBVRE⁴⁶ with isotopic method.

As shown with other lipolytic hormones, the glucose present in the incubation medium provides the α -glycerophosphate required for this re-esterification process. This is confirmed by a glucagon stimulation of glucose uptake (VAUGHAN¹⁰¹, LEE et al.⁴³, HAGEN²⁹, etc.) and an increased oxidation of this substrate (FROESCH et al.²⁵, LEE et al.⁴³, WÖRNER and WEINGES¹¹⁰). Proportionally the oxidation of glucose C₆ is stimulated more markedly than C₁ oxidation; the C₁/C₆ oxidation ratio decreases. This reflects a proportionally more important stimulation by glucagon of the glycolytic pathway than of the pentose shunt pathway and is in agreement with the partial re-esterification theory (LEFEBVRE and LUYCKX⁴⁶). The stimulation of lipolysis by glucagon depends upon the activation of a tissue lipase (WEINGES and LÖFFLER¹⁰⁸) and, as for glycogenolysis, the system ATP-adenylcyclase-3',5'-AMP is involved in this phenomenon (RIZACK⁶⁵, BRODIE et al.⁵). When compared with other lipolytic hormones *in vitro* active on epididymal fat of rat, glucagon appears to be one of the most powerful (LEFEBVRE and LUYCKX⁴⁶).

B - *In vivo*

The intravenous or intramuscular administration of high doses of glucagon induces an early fall in the plasma level of non-esterified fatty acids (NEFA); this fall occurs simultaneously with hyperglycaemia caused by the hormone (DREILING and BIERMAN¹⁶, BIERMAN et al.⁴, DREILING et al.¹⁷, LEFEBVRE⁴⁴, DE PLAEN and GALANSINO¹⁴, etc.). Afterwards an important increase in NEFA level is seen which exceeds very markedly the slight rebound observed after glucose perfusion inducing a similar hyperglycaemia (LEFEBVRE⁴⁴). This secondary elevation of plasma NEFA level is observed, even if decreased, in

smatique des AGNE s'observe, quoique diminuée, chez le sujet hypophysectomisé (LEFEBVRE⁴⁷). Par contre, chez des chiens à jeun depuis 18 h, la perfusion intraportale d'une dose de glucagon que l'on s'accorde à considérer comme physiologique (0,002 µg/kg/min) élève de façon manifeste le taux artériel périphérique des AGNE (LEFEBVRE⁴⁵). Dans ces expériences, la réponse hyperglycémique du glucagon est minime, voire absente, en raison du jeûne préalable auquel ont été soumis ces animaux. Nous avons considéré ces observations comme un argument en faveur du caractère physiologique de l'action du glucagon sur les processus de lipolyse (LEFEBVRE^{45,46}, LEFEBVRE et LUYCKX⁵³).

III - EFFETS DU GLUCAGON SUR LA SECRETION D'INSULINE

Un effet du glucagon sur la sécrétion d'insuline avait été suggéré par les expériences de FOÀ et al.²⁴, de MIAHLE⁶⁰ et de CANDELA et al.¹¹. L'action directe du glucagon sur la sécrétion d'insuline a été démontrée chez l'homme par SAMOLS et al.⁷⁰, CROCKFORD et al.¹², KARAM et al.³⁶, MARRI et al.⁵⁹, BENEDETTI et al.^{2,3}, JARRETT et COHEN³³, et chez le chien par LEFEBVRE et LUYCKX⁵², CAMPBELL et RASTOGI¹⁰, KETTERER et al.³⁷. Ces expériences ont été confirmées par divers essais effectués *in vitro*: pancréas foetal de rat cultivé, puis incubé *in vitro* (LUYCKX⁵⁵, VECCHIO et al.¹⁰³, LAMBERT et al.³⁹), tranches de pancréas de lapin (TURNER et MAC INTYRE⁹²), pancréas de rat isolé et perfusé (GRODSKY et al.²⁸, SUSSMAN et VAUGHAN⁸⁸), îlots de Langerhans isolés (MALAISSE et al.⁵⁸). Les observations de SAMOLS et al.⁷⁰ ont montré clairement que cet effet était indépendant de l'élévation de la glycémie. L'effet peut être obtenu avec de très faibles doses de l'hormone: 0,002 µg/kg/min en perfusion portale (LEFEBVRE et LUYCKX⁵²) ou µg 0,1 à 1 en injection unique dans la veine porte (KETTERER et al.³⁷), chez le chien. Le mécanisme de l'effet insulino-sécré-

the hypophysectomized subject (LEFEBVRE⁴⁷). On the contrary in dogs fasted for 18 h the intraportal perfusion of a glucagon dose, which is considered as physiological (0.002 µg/kg/min), increases in a noticeable manner the peripheral arterial NEFA level (LEFEBVRE⁴⁵). In these experiences the hyperglycaemic response of glucagon is minimal or even absent owing to the previous fasting to which these animals were subjected. We considered these observations as an argument in favour of the physiological character of glucagon action on the lipolysis process (LEFEBVRE^{45,46}, LEFEBVRE and LUYCKX⁵³).

III - EFFECTS OF GLUCAGON ON INSULIN SECRETION

A glucagon effect on insulin secretion was suggested by the experiences of FOÀ et al.²⁴, MIAHLE⁶⁰ and CANDELA et al.¹¹. The direct action of glucagon on insulin secretion was demonstrated in man by SAMOLS et al.⁷⁰, CROCKFORD et al.¹², KARAM et al.³⁶, MARRI et al.⁵⁹, BENEDETTI et al.^{2,3}, JARRETT and COHEN³³, and in dog by LEFEBVRE and LUYCKX⁵², CAMPBELL and RASTOGI¹⁰, KETTERER et al.³⁷. These experiences were confirmed by different trials carried out *in vitro*: foetal pancreas of rat cultured, then incubated *in vitro* (LUYCKX⁵⁵, VECCHIO et al.¹⁰³, LAMBERT et al.³⁹), slices of pancreas of rabbit (TURNER and MAC INTYRE⁹²), isolated and perfused rat pancreas (GRODSKY et al.²⁸, SUSSMAN and VAUGHAN⁸⁸), isolated islets of Langerhans (MALAISSE et al.⁵⁸). The observations of SAMOLS et al.⁷⁰ clearly showed that this effect was independent of blood glucose increase. The effect may be obtained with very low doses of this hormone: 0.002 µg/kg/min by portal perfusion (LEFEBVRE and LUYCKX⁵²) or µg 0.1 to 1 as a single intraportal injection (KETTERER et al.³⁷) in the dog. The mechanism of the insulin effect of glucagon is still debated.

teur du glucagon fait encore l'objet de discussions. La démonstration *in vitro* (LAMBERT *et al.*³⁹) et *in vivo* (LEFEBVRE et LUYCKX⁵⁴) d'une potentiation des effets du glucagon par la caféine ou la théophylline sont des arguments en faveur d'une intervention, dans l'insulino-sécrétion induite par le glucagon, du système adénylcyclase-3',5' AMP-phosphodiesterase.

La question de savoir si une éventuelle glycogénolyse au sein de la cellule β est indispensable ou non pour que se manifeste l'effet du glucagon sur la sécrétion d'insuline, n'a pas encore reçu de réponse satisfaisante.

IV - LE RÔLE PHYSIOLOGIQUE DU GLUCAGON

Nous nous bornerons, pour discuter le rôle physiologique du glucagon, aux effets qui viennent d'être passés en revue, à savoir les effets exercés par l'hormone sur le foie, le tissu adipeux et les cellules β des îlots de Langerhans du pancréas. Beaucoup d'autres actions sont attribuées au glucagon: effets sur les contractions gastriques et la sensation de faim (STUNKARD *et al.*⁸⁷, PENICK et HINCKLE⁶⁴, *etc.*), stimulation de la médullo-surrénale (SCIAN *et al.*⁷⁶, LEFEBVRE et DRESSE⁵¹, DRESSE et LEFEBVRE¹⁸, SARCIONE *et al.*⁷⁴, LAWRENCE⁴⁰, LEFEBVRE *et al.*^{49,50}, LAWRENCE⁴²), modifications hémodynamiques (HENNEMAN et SHOEMAKER³², LEFEBVRE et BEAUJEAN⁴⁸, LEFEBVRE et LUYCKX⁵²), effets rénaux (STAUB *et al.*⁸⁴, DEWONCK *et al.*¹⁹) *etc.* Nous n'insisterons pas dans cette revue sur ces actions qui ne sont observées qu'avec des doses pharmacologiques de l'hormone.

1 - Rôle physiologique du glucagon dans la répartition des substrats énergétiques dans le jeûne ou l'hypoglycémie

La sécrétion du glucagon par le pancréas serait stimulée par le jeûne ou l'hypoglycémie. Ce fait a été démontré chez le chien par UNGER *et al.*⁹⁸ et chez l'hom-

The *in vitro* (LAMBERT *et al.*³⁹) and *in vivo* (LEFEBVRE and LUYCKX⁵⁴) demonstration of a potentiation of glucagon effects by caffeine or theophylline are arguments in favour of an intervention of the adénylcyclase-3',5'-AMP-phosphodiesterase system in the glucagon-induced insulin secretion.

The question as to whether a possible glycogenolysis within the β -cell is indispensable or not for glucagon effect on insulin secretion has not yet been satisfactorily answered.

IV - THE PHYSIOLOGICAL ROLE OF GLUCAGON

In discussing the physiological role of glucagon we shall consider only the effects which are reviewed, that is, the hormonal effects on the liver, adipose tissue and β -cells of islets of Langerhans in the pancreas. Many other actions are ascribed to glucagon: effects on gastric contraction and sensation of hunger (STUNKARD *et al.*⁸⁷, PENICK and HINCKLE⁶⁴, *etc.*), stimulation of adrenal medulla (SCIAN *et al.*⁷⁶, LEFEBVRE and DRESSE⁵¹, DRESSE and LEFEBVRE¹⁸, SARCIONE *et al.*⁷⁴, LAWRENCE⁴⁰, LEFEBVRE *et al.*^{49,50}, LAWRENCE⁴²), hemodynamic changes (HENNEMAN and SHOEMAKER³², LEFEBVRE and BEAUJEAN⁴⁸, LEFEBVRE and LUYCKX⁵²), renal effects (STAUB *et al.*⁸⁴, DEWONCK *et al.*¹⁹), *etc.* We shall not insist in this review on these actions, which are observed only with pharmacological doses of the hormone.

1 - *Physiological role of glucagon in the distribution of energy substrates in the fasting or hypoglycaemic state*

Glucagon secretion from the pancreas seems to be stimulated by fasting or hypoglycaemia. This was shown in dogs by UNGER *et al.*⁹⁸ and in man by UNGER *et*

me par UNGER et al.⁹⁶. Il a été confirmé par LAWRENCE⁴¹, mais n'a pas été retrouvé par SAMOLS, TYLER et MARKS⁷² et BUCHANAN et al.⁸. Réciproquement, une surcharge glucosée i.v. rapide abaisse la glucagonémie (UNGER et al.⁹⁸, ASSAN et al.¹). Ces observations donnent à penser que le besoin en glucose (jeûne, hypoglycémie) stimule la sécrétion de glucagon et, inversement, que la surcharge glucosée (intraveineuse) en diminue la sécrétion. Dans cette optique, le glucagon apparaîtrait comme une substance de premier plan dans la répartition des substrates énergétiques dans ces circonstances. Nous avons vu, en effet, l'extrême sensibilité du foie et du tissu adipeux au glucagon. Si l'on admet que la sécrétion endogène de glucagon est stimulée par le jeûne, on conçoit le rôle fondamental de cette hormone nouvelle qui fournirait à l'organisme à la fois le glucose (par glycogénolyse et néoglucogénèse hépatiques) et les acides gras non estérifiés (par lipolyse) et assurerait ainsi à la fois les besoins du système nerveux central (glucose) et des tissus périphériques (glucose et surtout acides gras non estérifiés).

Un argument nouveau et important vient d'être apporté par la démonstration d'une régulation de la sécrétion de glucagon en fonction du taux circulant des acides gras non estérifiés (SEYFFERT et MADISON⁷⁷).

Ce premier ensemble de faits conduit donc à considérer le glucagon surtout comme une hormone du besoin en glucose (UNGER et EISENTRAUT⁹⁴, WEINGES¹⁰⁷, UNGER⁹³, LEFEBVRE⁴⁶, LEFEBVRE et LUYCKX⁵³).

2 - Rôle physiologique du glucagon en période post-prandiale

L'administration par voie orale de glucose stimulerait la sécrétion de glucagon. Le fait a été démontré chez l'homme par SAMOLS et al.^{70,72}. Il dépend de la dose de glucose administrée per os: l'ingestion de 1,75 g/kg de glucose augmente la glucagonémie; celle de 1,0 g/kg l'abaisse (LAWRENCE⁴¹). Signalons que

al.⁹⁶. It was confirmed by LAWRENCE⁴¹, but was not found by SAMOLS, TYLER and MARKS⁷² and BUCHANAN et al.⁸. Conversely, a rapid i.v. glucose load decreases blood glucagon level (UNGER et al.⁹⁸, ASSAN et al.¹). These observations suggest that the *glucose need* (fasting, hypoglycaemia) stimulates glucagon secretion and, inversely, that the *glucose load* (intravenous) decreases its secretion. From this point of view glucagon appears as a very important substance in the distribution of energetic substrates in these circumstances. Actually, we have seen the extreme sensitivity of the liver and adipose tissue to glucagon. If we admit that endogenous glucagon secretion is stimulated by fasting, we understand the fundamental role of this new hormone which supplies the body both with glucose (through hepatic glycogenolysis and neoglucogenesis) and non-esterified fatty acids (through lipolysis) and could so at the same time satisfy the requirements of the central nervous system (glucose) and peripheral tissues (glucose and above all non-esterified fatty acids).

A new and important argument was provided by the demonstration of a regulation of glucagon secretion as a function of circulating levels of non-esterified fatty acids (SEYFFERT and MADISON⁷⁷).

On the basis of these preliminary facts glucose must thus be considered primarily as a hormone for *glucose requirements* (UNGER and EISENTRAUT⁹⁴, WEINGES¹⁰⁷, UNGER⁹³, LEFEBVRE⁴⁶, LEFEBVRE and LUYCKX⁵³).

2 - Physiological role of glucagon during the postprandial period

The administration of glucose by the oral route stimulates glucagon secretion. This was shown in man by SAMOLS et al.^{70,72}. It depends on the orally administered glucose dose: the ingestion of 1.75 g/kg of glucose increases the blood glucagon level; the dose of 1.0 g/kg decreases it (LAWRENCE⁴¹). We

pour BUCHANAN *et al.*⁸ l'élévation de la glucagonémie lors de la surcharge glucosée orale chez l'homme et chez le chien est très discrète et non statistiquement significative.

Le phénomène décrit par le groupe de SAMOLS a attiré une nouvelle fois l'attention sur le problème déjà ancien de la présence éventuelle de glucagon dans l'intestin. Cette question avait été soulevée par SUTHERLAND et DE DUVE⁹⁰ et réétudiée par MAKMAN et SUTHERLAND⁵⁷. A l'aide des techniques radioimmunologiques de dosage, la présence de « glucagon » dans le tube digestif a été confirmée par SAMOLS *et al.*⁷³, UNGER *et al.*⁹⁹ et SCHOPMANN *et al.*⁷⁵. L'identification de ce glucagon d'origine intestinale (« enteroglucagon » ou gut glucagon-like immunoreactive material) au glucagon d'origine pancréatique impose des réserves. Des études récentes du groupe de UNGER (VALVERDE *et al.*¹⁰⁰) ont montré des différences fondamentales, chez le chien du moins, entre le glucagon d'origine intestinale et le glucagon pancréatique. Le gut glucagon-like immunoreactive material aurait un poids moléculaire de 6000 (à peu près le double de celui du glucagon pancréatique); il serait dépourvu d'activité glycogénolytique et n'activerait ni la phosphorylase ni l'adénylcyclase hépatiques. Il serait dépourvu d'activité hyperglycémiant, mais serait capable de stimuler la sécrétion d'insuline.

Toujours selon les mêmes AA. (VALVERDE *et al.*¹⁰⁰), le tube digestif serait bien le lieu d'origine du « glucagon » sécrété lors de l'ingestion ou de la perfusion intrainestinale de glucose, car son taux sanguin continue à s'accroître même après exclusion pancréatique. Cette substance d'origine intestinale, donnant une réaction croisée avec le glucagon pancréatique dans le radio-immunoassay, pourrait être un des médiateurs de l'insulino-sécrétion observée lors de l'ingestion de glucose. Ce rôle pourrait être partagé avec d'autres hormones d'origine digestive (gastrine, sécrétine, pancréozymine, etc.) (UNGER *et*

point out that according to BUCHANAN *et al.*⁸ the blood glucagon increase after an oral glucose load in man and dog is very small and statistically non-significant.

The phenomenon described by SAMOLS' group has drawn again attention to the old problem of the possible presence of glucagon in the gastro-intestinal tract. This question was raised by SUTHERLAND and DE DUVE⁹⁰ and studied again by MAKMAN and SUTHERLAND⁵⁷. With the aid of radioimmunoassay the presence of « glucagon » in the digestive tract was confirmed by SAMOLS *et al.*⁷³, UNGER *et al.*⁹⁹ and SCHOPMANN *et al.*⁷⁵. The identification of this gut-originated glucagon (« enteroglucagon » or « glucagon-like immunoreactive material ») with pancreas-originated glucagon is done with some reservations. Recent studies of UNGER's group (VALVERDE *et al.*¹⁰⁰) showed fundamental differences, at least in the dog, between glucagon of intestinal origin and pancreatic glucagon. The « intestinal glucagon-like immunoreactive material » ought to have a molecular weight of 6,000 (nearly double that of pancreatic glucagon), it would be devoid of glycogenolytic activity, activating neither hepatic phosphorylase nor adénylcyclase. It would be devoid of hyperglycaemic activity, but seems to be able to stimulate insulin secretion.

Always according to the same AA. (VALVERDE *et al.*¹⁰⁰), the digestive tract is the site of origin of « glucagon » secreted after ingestion or intra-intestinal perfusion of glucose, as its blood level shows a steady increase also after pancreatic exclusion. This substance of intestinal origin, which gives a cross-reaction with pancreatic glucagon in radio-immunoassay would be one of the mediators of insulin secretion observed when glucose is ingested. This role could be played also by other hormones of digestive origin (gastrin, secretin, pancreaticozymine, etc.) (UNGER *et al.*⁹⁵). This concept is not accepted by SAMOLS and

al.⁹⁵). Cette conception n'est pas partagée par SAMOLS et MARKS⁶⁹ qui pensent que le glucagon d'origine pancréatique est en cause dans l'insulino-sécrétion observée lors de l'administration orale de glucose: il s'agit de la from cell to cell provocative hypothesis de SAMOLS⁶⁸.

3 - Essai d'intégration

Deux grandes voies d'approche ont été utilisées pour tenter d'éclaircir le rôle physiologique du glucagon. La première est basée sur la démonstration d'un certain nombre d'effets bien définis de l'hormone (glycogénolyse, gluconéogenèse, lipolyse, insulino-sécrétion, etc.), sur leur analyse expérimentale, et sur leur obtention avec des doses très faibles de l'hormone, se rapprochant autant que possible des concentrations réellement observées dans les milieux biologiques. Ce premier groupe de travaux a permis de montrer: 1) que le glucagon est, au niveau du foie, un agent glycogénolytique extrêmement puissant, beaucoup plus que l'adrénaline par exemple, et que ses effets métaboliques ne se limitent pas à cette seule glycogénolyse (stimulation de la néoglucogénèse, inhibition de la glycogène-synthétase); 2) que le glucagon est un polypeptide lipolytique des plus actifs *in vitro* et qu'*in vivo*, dans des conditions expérimentales très précises, son effet lipolytique peut également être démontré du moins dans certaines espèces animales; 3) que le glucagon stimule l'insulino-sécrétion, et ce également avec des doses si faibles qu'on ne peut méconnaître le phénomène sur le plan physiologique.

La seconde voie d'approche expérimentale est basée sur l'étude des variations de la concentration du glucagon dans les milieux biologiques et particulièrement dans le sang, et ce dans diverses conditions: jeûne, surcharge glucosée intraveineuse ou digestive, perfusion d'émulsions lipidiques ou d'acides aminés, etc. Jusqu'à il y a peu, on a cru que l'extrême sensibilité et la spécificité du dosage radioimmunologique étaient

MARKS⁶⁹, who think that pancreatic glucagon is involved in insulin secretion observed when glucose is given orally: this is the « from cell to cell provocative hypothesis » of SAMOLS⁶⁸.

3 - Integration attempt

Two main ways of approach were used to try to clarify the physiological role of glucagon. The first one is based on the demonstration of a certain number of well-defined effects of the hormone (glycogenolysis, glycogenesis, lipolysis, insulin secretion, etc.), on their experimental analysis, and on the fact that these effects are obtained with very small doses of the hormone which are as close as possible to the concentrations really observed in biologic media. This first group of investigations shows: 1) that glucagon on the liver is an extremely powerful glycogenolytic agent, e.g., much more potent than adrenaline; that its metabolic effects not only consist of glycogenolysis (stimulation of neoglucogenesis, inhibition of glycogen synthetase); 2) that glucagon is one of the most active lipolytic polypeptide *in vitro* and *in vivo*, under precise experimental conditions, its lipolytic effect may be also demonstrated at least in certain animal species; 3) that glucagon stimulates insulin secretion also at such low doses that this phenomenon cannot be ignored on the physiological level.

The second way of experimental approach is based upon the study of variations in glucagon concentration in the biologic media and especially in blood, and this also in different conditions such as fasting, intravenous or oral glucose load, perfusion of lipidic emulsion or aminoacids, etc. Until a short while ago it was thought that the extreme sensitivity and specificity of the radioimmunoassay would solve all the pro-

telles que tous les problèmes allaient se trouver résolus. On a dû se rendre compte qu'il n'en était rien: 1) les valeurs de la glucagonémie à jeun chez l'homme normal varient très largement d'un laboratoire à l'autre (200 μg Eq/ml à 8000 μg Eq/ml de plasma); 2) selon les laboratoires, le jeûne élève, abaisse ou n'influence pas la glucagonémie, l'ingestion de glucose accroît, abaisse ou ne modifie pas la glucagonémie; 3) comparées aux valeurs maximum admissibles sur la base d'un bioassay, beaucoup de valeurs fournies par le radioimmunoassay semblent trop élevées (SOKAL et EZDINLI⁸¹); 4) les observations récentes de VALVERDE et al.¹⁰⁰ ont mis en doute la spécificité même de la méthode de dosage puisque les propriétés biologiques du glucagon d'origine pancréatique et de l'« entéroglucagon » sont différentes alors qu'ils donnent tous deux une réaction avec l'antisérum dans l'immunoassay.

Dans ces conditions, il ne faut pas s'étonner des discordances et des divergences d'Écoles quant au rôle physiologique du glucagon, les bases mêmes des théories en présence reposant sur des protocoles expérimentaux identiques, mais dont les résultats sont diamétralement opposés. Trop souvent, on oublie l'absence de caractère rigoureusement quantitatif de l'immunoassay en ce qui concerne le glucagon, puisque ni l'antisérum ni l'hormone marquée, ni surtout la courbe de référence ne sont obtenus avec une hormone de même origine que celle de l'espèce chez laquelle on effectue les expériences. De même, il est très vraisemblable que la physiologie du glucagon est très différente d'une espèce à l'autre, la situation extrême étant probablement celle des oiseaux et des reptiles dont le pancréas est particulièrement riche en cellules α , et qui présentent une hypoglycémie dans les suites d'une pancréatectomie. De même, l'effet lipolytique *in vivo* du glucagon est-il beaucoup moins équivoque chez les oiseaux (HEALD et al.³⁰) que chez les mammifères et particulièrement chez l'homme.

blems. But it is admitted that it is not so: 1) the values of fasting blood glucagon in normal man vary widely from one laboratory to another (200 μg Eq/ml to 8,000 μg Eq/ml plasma); 2) according to the laboratories, fasting increases, decreases or does not affect blood glucagon levels, the ingestion of glucose increases, decreases or does not modify blood glucagon levels; 3) when compared with the highest admissible values on the basis of bioassay, many values obtained by radioimmunoassay appear too high (SOKAL and EZDINLI⁸¹); 4) the recent observations by VALVERDE et al.¹⁰⁰ question the specificity itself of the measuring method since the biologic properties of pancreatic glucagon and « enteroglucagon » are different, whereas they both give a reaction with antiserum in the immunoassay.

Under these conditions we should not be surprised at discrepancies and divergencies among investigators on the physiological role of glucagon, as the basis itself of these theories rests upon identical experimental protocols, but with results that are diametrically opposed. Too often the lack of rigorous quantitative characterization in immunoassay is forgotten in regard to glucagon, because neither antiserum nor labelled hormone nor the reference curve are obtained with an hormone of the same origin as the one of the species under study. Moreover, it is likely that glucagon physiology differs from one species to another, reaching probably the extreme situation found in birds and reptiles, whose pancreas is particularly rich in α -cells and who show hypoglycemia after pancreatectomy. Likewise the lipolytic effect of glucagon *in vivo* is much less equivocal in birds (HEALD et al.³⁰) than in mammals and especially in man.

Compte tenu de ces réserves, il semble que nous devons prochainement réformer notre conception uniciste du glucagon. Il existe vraisemblablement deux, et peut-être plusieurs substances actuellement réunies sous le vocable « glucagon » et contribuant, dans une part qui reste à déterminer, à l'immunoréactivité de type glucagon appréciée par l'immunoassay. L'une de ces substances est le glucagon d'origine pancréatique, dont le poids moléculaire et la structure sont bien connus, et dont, à notre avis, le rôle physiologique est d'être d'abord une hormone du besoin en glucose, dont la sécrétion est vraisemblablement stimulée entre autres par le jeûne et l'hypoglycémie, et dont l'importance est grande pour la répartition de ces deux substrats énergétiques majeurs que sont le glucose et les acides gras non estérifiés. Le rôle physiologique du glucagon pancréatique dans l'insulino-sécrétion reste à démontrer. L'autre, ou une des autres substances serait le glucagon d'origine intestinale, dont l'identification au glucagon pancréatique n'est pas prouvée, qui pourrait — comme ce dernier — réagir avec l'antisérum dans l'immunoassay, et dont le poids moléculaire, la structure et certaines propriétés biologiques pourraient être très différents de ceux du glucagon pancréatique. Seul, ou avec d'autres hormones d'origine digestive, comme par exemple la gastrine ou la sécrétine, cet « entéroglucagon » pourrait agir en tant que médiateur de l'insulino-sécrétion en période post-prandiale. La purification, l'analyse chimique et l'étude détaillée des propriétés de l'« entéroglucagon » devraient permettre de mieux le distinguer du glucagon pancréatique. Le problème sera alors celui de la mise au point d'un dosage différentiel dans le sang de ces deux composés, voisins sur le plan immunologique, mais peut-être fondamentalement différents sur le plan de la signification physiologique.

When we keep this in mind we have probably to change our unitarian concept of glucagon. There are probably two and perhaps several substances, which are at present called « glucagon », contributing to an as yet unknown part to the glucagon-type immunoreactivity measured by immunoassay. One of these substances is glucagon of pancreatic origin, whose molecular weight and structure are well-known, and whose physiological role seems to us to be *above all* a glucose-requirement hormone whose secretion is probably stimulated by fasting and hypoglycaemia among others, and whose importance is great in the distribution of these two major energy substrates, glucose and non-esterified fatty acids. The physiological role of pancreatic glucagon in insulin secretion has still to be demonstrated. The other, or one of the other substances, could be the intestinal glucagon, whose identification with pancreatic glucagon has not been demonstrated, which could react — like this latter — with antiserum in immunoassay; its molecular weight, structure and some biological properties could be very different from those of pancreatic glucagon. This « enteroglucagon » alone or with other digestive hormones, e.g., gastrin or secretin, could act as a mediator of insulin secretion during the postprandial period. Purification, chemical analysis and detailed study of « enteroglucagon » properties ought to allow better to distinguish it from pancreatic glucagon. There will be then the problem of developing a differential determination method of these two compounds in blood, which are close on the immunologic level, but perhaps fundamentally different on the physiological significance level.

RIASSUNTO

Tra le numerose azioni del glucagone vengono discusse quelle che si suppone abbiano un significato fisiologico. Si hanno così degli effetti del glucagone sul fegato, sul tessuto adiposo e sulla secrezione insulinica. L'A. discute poi il ruolo fisiologico del glucagone: 1) nella ripartizione dei substrati energetici in caso di digiuno o di ipoglicemia; 2) nel periodo post-prandiale. Egli giunge alla conclusione che il concetto unitario del glucagone deve essere modificato e che occorre distinguere da una parte il glucagone di origine pancreatica e dall'altra il o i glucagoni di origine digestiva.

RESUME

Parmi les nombreuses actions du glucagon, celles qui sont supposées avoir une signification physiologique sont discutées. Il en est ainsi des effets du glucagon sur le foie, sur le tissu adipeux et sur l'insulino-sécrétion. L'A. discute ensuite le rôle physiologique du glucagon: 1) dans la répartition des substrats énergétiques lors du jeûne ou de l'hypoglycémie; 2) en période post-prandiale. Il en arrive à la conclusion que la conception uniciste du glucagon doit être réformée et qu'il convient de distinguer d'une part le glucagon d'origine pancréatique et d'autre part le ou les glucagons d'origine digestive.

RESUMEN

Entre las numerosas acciones del glucagón, se discuten aquellas que — según se cree — tengan un significado patológico. De tal manera, se obtienen efectos del glucagón sobre el hígado, el tejido adiposo y la secreción de insulina. El A. discute luego el papel fisiológico del glucagón: 1) en la repartición de los substratos energéticos en ayunas y en hipoglucemia; 2) en período *post-prandium*. Se llega a la conclusión que el concepto unitario del glucagón debe ser modificado, y que cabe distinguir por una parte el glucagón de origen pancreática, y por la otra el (o los) glucagón de origen digestiva.

ZUSAMMENFASSUNG

Von den durch Glukagon bewirkten Effekten werden nur die erörtert, die vermutlich von physiologischer Bedeutung sind. Dasselbe gilt für die durch Glukagon auf Leber, Fettgewebe und Insulin-Sekretion erbrachten Wirkungen. Der Verfasser bespricht danach die physiologische Rolle von Glukagon: 1) bei der Verteilung der Energie-Substrate im Falle von Nüchternheit und Hypoglykämie; 2) nach dem Essen. Der A. schließt daraus, daß die einheitliche Auffassung über Glukagon einer Erneuerung bedarf und deshalb die Unterscheidung der Glukagon-Produktion einerseits durch die Bauchspeicheldrüse und andererseits durch den Verdauungskanal angeraten ist.

SUMMARY

Among the numerous actions of glucagon those of probable physiological significance are here discussed. These are the effects of glucagon on the liver, adipose tissue and insulin secretion. The A. discusses afterwards the physiological role of glucagon: 1) in the distribution of energy substrates in a fasting or hypoglycaemic state; 2) during the postprandial period. He reaches the conclusion that the unitarian concept of glucagon must be changed and that we have to distinguish on one hand glucagon of pancreatic origin and glucagon or glucagons of intestinal origin on the other hand.

Indépendamment des références citées, une bibliographie importante sur la question du glucagon peut être trouvée dans les monographies ou revues générales suivantes:

Apart from mentioned references, an important bibliography on glucagon question may be found in the following monographies or general reviews:

BERTHET J.: Some Aspects of the Glucagon Problem - Am. J. Med. 26, 703, 1959.

CAVALLERO C., MALANDRA B., MOSCA L.: Isole pancreatiche e glucagone - Poligrafico Belforte, ed. Livorno, 1957.

DE DUVE C., BERTHET J.: Le glucagon - Ann. Endocrinol. 18, 333, 1957.

FOA P. P., GALANSINO G.: Glucagon. Chemistry and Function in Health and Disease - C. C. Thomas, Springfield, Illinois, USA, 1962.

- LEFEBVRE P.: Le glucagon, seconde hormone pancréatique - Maloine, Paris, et Arsacia, Bruxelles, 1967.
- LEFEBVRE P., VAN CAUWENBERGE H.: Où en est le problème du glucagon - Rev. Fr. Et. Clin. Biol. 8, 805, 1963.
- WEINGES K.: Glucagon - Georg Thieme, Stuttgart, 1968.
- Journées Annuelles de Diabétologie de L'Hôtel-Dieu, Paris 1967. Les Editions Médicales Flammarion, Paris 1967.

BIBLIOGRAPHIE

- 1) ASSAN R., ROSSELIN G., DOLAIS J.: Effets sur la glucagonémie des perfusions et ingestions d'acides aminés, in: Journées Annuelles de Diabétologie de l'Hôtel-Dieu, 1967, Editions Médicales Flammarion, Paris.
- 2) BENEDETTI A., SIMPSON R. G., GRODSKY G. M., FORSHAM P. H.: Exaggerated Insulin Response to Glucagon in Simple Obesity - *Diabetes* 16, 666, 1967.
- 3) BENEDETTI A., SIMPSON R. G., GRODSKY G. M., FORSHAM P. H.: Serum Insulin Response to Glucagon as an Index of Insulinogenic Reserve - Communication à l'« International Symposium on the Pharmacology of Hormonal Polypeptides and Proteins », Milano, 1967.
- 4) BIERMAN E., DOLE V. P., ROBERTS T. N.: An Abnormality of Non-esterified Fatty Acid Metabolism in Diabetes Mellitus - *Diabetes* 6, 475, 1957.
- 5) BRODIE B. B., DAVIES J. I., HYNIE S., KRISHNA G., WEISS B.: Interrelationship of Catecholamines with Other Endocrine System - *Pharmac. Rev.* 18, 273, 1966.
- 6) BROMER W. W., SINN L. G., STAUB A., BEHRENS O. K.: The Amino-acid Sequence of Glucagon - *J. Am. Chem. Soc.* 78, 3858, 1956.
- 7) BROMER W. W., SINN L. G., STAUB A., BEHRENS O. K.: The Amino-acid Sequence of Glucagon - *Diabetes* 6, 234, 1957.
- 8) BUCHANAN K. D., VANCE J. E., AOKI R. H., WILLIAMS R. H.: Effect of Starvation and Refeeding on Serum Levels of Glucagon and Insulin (Abstract) - *Diabetes* 16, 517, 1967.
- 9) CAHILL G. F., ZOTTU S., EARLE A. S.: In Vivo Effects of Glucagon on Hepatic Glycogen, Phosphorylase and Glucose-6-phosphatase - *Endocrinology* 60, 265, 1957.
- 10) CAMPBELL J., RASTOGI K. S.: The Effects of Glucagon and Epinephrine on Serum Insulin and Insulin Secretion in Dogs - *Endocrinology* 79, 830, 1966.
- 11) CANDELA J. L. R., CANDELA R. R., MARTIN-HERNANDEZ D., CASTILLA-CORTAZAR: Insulin Secretion in Vitro (Preliminary communication), Proc. 4th. Congress I.D.F., Genève, 1961. pp. 629-632.
- 12) CROCKFORD P. M., PORTE D. Jr., WOOD F. C. Jr., WILLIAMS R. H.: Effect of Glucagon on Serum Insulin, Plasma Glucose and Free Fatty Acids in Man - *Metabolism* 15, 114, 1966.
- 13) CURRY D. M., BEATON G. H.: Glucagon Administration in Pregnant Rats - *Endocrinology* 63, 252, 1958.
- 14) DE PLAEN J., GALANSINO G.: Effect of Glucagon and Epinephrine in Fasted Dogs - *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 121, 501, 1966.
- 15) DE WULF H., HERS H. G.: Communication personnelle, 1967.
- 16) DREILING D. A., BIERMAN E. L.: Correlation between Plasma Amylase Activity and Concentration of Non-esterified Fatty Acids (NEFA) - *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 95, 496, 1957.
- 17) DREILING D. A., BIERMAN E. L., DEBONS A. F., ELSBACH P., SCHWARTZ I. L.: Effect of ACTH, Hydrocortisone and Glucagon on Plasma Non-esterified Fatty Acid Concentrations (NEFA) in Normal Subjects and in Patients with Liver Disease - *Metabolism* 11, 572, 1962.
- 18) DRESSE A., LEFEBVRE P.: Nouvelle mise en évidence de la libération par le glucagon de l'adrénaline surrénalienne - *C.R. Soc. Biol.* 155, 1168, 1961.
- 19) DEWONCK G., BACQ Z. M., BARAC G.: Influence du glucagon sur l'excrétion urinaire du calcium chez le chien - *C.R. Soc. Biol.* 157, 897, 1963.
- 20 a) EXTON J. H., PARK C. R.: The Stimulation of Gluconeogenesis from Lactate by Epinephrine, Glucagon and Adenosine 3',5'-Monophosphate in the Perfused Rat Liver - *Pharmacol. Rev.* 18, 181, 1966.
- 20 b) EXTON J. H., JEFFERSON Jr. L. S., BUTCHER R. W., PARK C. R.: Gluconeogenesis in the Perfused Liver - *Am. J. Med.* 40, 709, 1966.
- 21) EZDINLI E. Z., SOKAL J. E.: Comparison of Glucagon and Epinephrine Effects in Dogs - *Endocrinology* 78, 47, 1966.
- 22) FAIN J. N., KOVACEV V. P., SCOW R. O.: Antilipolytic Effect of Insulin on Isolated Fat Cells of the Rat - *Endocrinology* 78, 773, 1966.
- 23) FINCKER L.: Mise au point d'une technique de perfusion du foie de lapin isolé. Application à l'étude du glucagon. Université de Strasbourg - Thèse n. 70, 1960.

- 24) FOÀ P. P., GALANSINO G., POZZA G.: Glucagon, a Second Pancreatic Hormone - Recent Progress in Hormone Res. *13*, 473, 1957.
- 25) FROESCH E. R., BALLY P., GUHL U., RAMSEIER E., LABHART A.: Die Wirkung des Glukagon auf das Fettgewebe - Schweiz. Med. Wschr. *90*, 1329, 1960.
- 26) GARCIA A., WILLIAMSON J. R., CAHILL G. F. Jr.: Studies on the Perfused Rat Liver. II. Effect of Glucagon on Gluconeogenesis - *Diabetes* *15*, 188, 1966.
- 27) GLASSER S. R., IZZO J. L.: Interrelationships of Growth Hormone and Glucagon on Protein Metabolism in Fasting Hypophysectomized Rat - 41th Meet. Endocrine Soc. 1959, p. 76.
- 28) GRODSKY G. M., BENNETT L. L., SMITH D. F., SCHMID F. G.: Effect of Pulse Administration of Glucose or Glucagon on Insulin Secretion in Vitro - *Metabolism* *16*, 222, 1967.
- 29) HAGEN J. H.: Effects of the Glucagon on the Metabolism of Adipose Tissue - *J. biol. chem.* *236*, 1023, 1961.
- 30) HEALD P. J., MCLACHLAN P. M., ROOKLEDGE K. A.: The Effect of Insulin, Glucagon and Adrenocorticotrophic Hormone on the Plasma Glucose and Free Fatty Acids of the Domestic Fowl - *J. Endocrin.* *33*, 83, 1965.
- 31) HELMER O. M., KIRTLEY W. R., RIDOLFO A. S.: Clinical and Metabolic Changes Induced by Glucagon in Patients with Rheumatoid Arthritis - *J. Lab. and Clin. Med.* *50*, 824, 1957.
- 32) HENNEMAN D. H., SHOEMAKER W. C.: Effect of Glucagon and Epinephrine on Regional Metabolism of Glucose, Pyruvate, Lactate and Citrate in Normal Conscious Dogs - *Endocrinology* *68*, 889, 1961.
- 33) JARRETT R. J., COHEN N. M.: Intestinal Hormones and Plasma-Insulin - *Lancet* *2*, 861, 1967.
- 34) JOEL C. D.: Stimulation of Metabolism of Rat Brown Adipose Tissue by Addition of Lipolytic Hormones in Vitro - *J. Biol. Chem.* *241*, 814, 1966.
- 35) KALANT H.: Metabolic Effects of the Pancreatic Hyperglycemic Factor - *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* *86*, 617, 1954.
- 36) KARAM J. H., GRASSO S. G., WEGIENKA L. C., GRODSKY G. M., FORSHAM P. H.: Effect of Selected Hexoses, of Epinephrine and of Glucagon on Insulin Secretion in Man - *Diabetes* *15*, 571, 1966.
- 37) KETTERER H., EISENTRAUT A. M., UNGER R. H.: Effect upon Insulin Secretion of Physiologic Doses of Glucagon Administered Via the Portal Vein - *Diabetes*, *16*, 283, 1967.
- 38) KIBLER R. F., TAYLOR W. J., MYERS J. D.: Effects in Man of the Hyperglycemic Glycogenolytic Factor of the Pancreas - *Amer. J. Med.* *13*, 647, 1952.
- 39) LAMBERT A. E., JEANRENAUD B., RENOLD A. E.: Enhancement by Caffeine of Glucagon-induced and Tolbutamide-induced Insulin Release from Isolated Foetal Pancreatic Tissue - *Lancet* *1*, 819, 1967.
- 40) LAWRENCE A. M.: A New Provocative Test for Pheochromocytoma - *Ann. intern. Med.* *63*, 905, 1965.
- 41) LAWRENCE A. M.: Radio-immunoassayable Glucagon Levels in Man: Effects of Starvation, Hypoglycemia and Glucose Administration - *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* *55*, 316, 1966.
- 42) LAWRENCE A. M.: Glucagon Provocative Test for Pheochromocytoma - *Ann. intern. Med.* *66*, 1091, 1967.
- 43) LEE H. M., ELLIS R. M., BROMER W. W.: Insulin-like-Activity of Crystalline Glucagon as Measured with Epididymal Fat Pad Preparation - *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* *104*, 4, 1960.
- 44) LEFEBVRE P.: Glucagon et taux sanguins des acides gras non estérifiés chez l'homme - *Ann. Endocrinol.* *26*, 602, 1965.
- 45) LEFEBVRE P.: The Physiological Effect of Glucagon on Fat Mobilization - *Diabetologia* *2*, 130, 1966.
- 46) LEFEBVRE P.: Contribution à l'étude du rôle physiologique du glucagon - Arscia éd., Bruxelles, 1 vol., pp. 271, 1966.
- 47) LEFEBVRE P.: Résultats non publiés, 1967.
- 48) LEFEBVRE P., BEAUJEAN M. avec la collaboration de PHILIPPART C.: Modifications circulatoires périphériques après administration de glucagon - *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, *72*, 9, 1964.
- 49) LEFEBVRE P., CESSION-FOSSION A., LUYCKX A.: Glucagon Test for Pheochromocytoma - *Lancet* *2*, 1366, 1966.
- 50) LEFEBVRE P., CESSION-FOSSION A., LUYCKX A., LECOMTE J. et VAN CAUWENBERGE H.: Interrelationships Glucagon-adrenergic System in Experimental and Clinical Conditions - *Arch. int. Pharmacodyn.* *172*, 393, 1968.
- 51) LEFEBVRE P., DRESSE A.: Influence du glucagon sur le taux des catécholamines surrénaïennes chez le rat - *C.R. Soc. Biol.* *155*, 412, 1961.
- 52) LEFEBVRE P., LUYCKX A.: Influence du glucagon sur le débit circulatoire pancréatico-duodéal et sur l'insulinémie du sang veineux pancréatique du chien - *Arch. internat. Physiol. Bioch.* *74*, 867, 1966.
- 53) LEFEBVRE P., LUYCKX A.: Glucagon et métabolisme du tissu adipeux. Journées Annuelles de Diabétologie de l'Hôtel-Dieu, 1967. Editions Médicales Flammarion, Paris.

- 54) LEFEBVRE P., LUYCKX A. S.: Arguments for a Role of Adenosine 3',5'-Monophosphate in the Glucagon Induced Insulin Secretion in Dog. Communication au « Sixth Congress of the International Diabetes Federation ». Stockholm, 1967 - *Excerpta Medica Ed.*, in stampa.
- 55) LUYCKX A.: Discussion of the Communication of SAMOLS E. and MARKS V. in: Euratom Conference on Problems Connected with the Preparation and Use of Labelled Proteins in Tracer Studies, Pisa, 1966, p. 300.
- 56) LUYCKX A., LEFEBVRE P.: Description d'une technique de perfusion du foie isolé de rat - *Rev. Fr. Et. Clin. Biol.* 10, 1104, 1965.
- 57) MAKMAN M. H., SUTHERLAND E. W.: Use of Liver Adenyl-cyclase for Assay of Glucagon in Human Gastrointestinal Tract and Pancreas - *Endocrinology* 75, 127, 1964.
- 58) MALAISSE W. J., MALAISSE-LAGAE F., WRIGHT P. H., ASHMORE J.: Communication à l'« International Symposium on the Pharmacology of Hormonal Polypeptides and Proteins », Milan, septembre 1967.
- 59) MARRI G., TYLER J., MARKS V., SAMOLS E.: Stimolazione della secrezione insulinica nell'uomo mediante glucagone - *Minerva med.* 57, 2733, 1966.
- 60) MIAHLE P.: Glucagon, insuline et régulation endocrine de la glycémie chez le canard - *Acta Endocrinol.*, suppl. 36, 1958.
- 61) MILLER L. L., SOKAL J. E., SARCIONE E. J.: Effects of Glucagon and Tolbutamide on Glycogen in Isolated Perfused Rat Liver - *Amer. J. Physiol.* 199, 286, 1959.
- 62) MOSINGER B., KUHN E., KUJALOVA V.: Action of Adipokinetic Hormones on Human Adipose Tissue in Vitro - *J. Lab. Clin. Med.* 66, 380, 1965.
- 63) MURLIN J. R., CLOUGH H. D., GIBBS C. B. F., STOKES A. M.: Aqueous Extracts of the Pancreas. I. Influence on the Carbohydrate Metabolism of Depancreatized Animals - *J. Biol. Chem.* 56, 253, 1923.
- 64) PENICK S. B., HINKLE L. E. Jr.: Depression of Food Intake in Healthy Subjects by Glucagon - *New England J. Med.* 264, 893, 1961.
- 65) RIZACK M. A.: Activation of an Epinephrine-sensitive Lipolytic Activity by Adenosine-3',5'-phosphate - *J. Biol. Chem.* 239, 392, 1964.
- 66) RODBELL M.: Metabolism of Isolated Fat Cells. I. Effect of Hormones on Glucose Metabolism and Lipolysis - *J. Biol. Chem.* 239, 375, 1964.
- 67) RUDMAN D., DI GIROLAMO M., GARCIA L. A.: Evolutionary Changes in Fat Cell Physiology. Communication à l'« International Symposium on the Pharmacology of Hormonal Polypeptides and Proteins », Milan, septembre 1967.
- 68) SAMOLS E.: Communication au « Research Symposium on Glucagon, organized by the American Diabetes Association », San Francisco, Oct. 7-8, 1966.
- 69) SAMOLS E., MARKS V.: Nouvelles conceptions sur la signification fonctionnelle du glucagon (pancréatique et extrapancréatique) in: *Journées Annuelles de Diabétologie de l'Hôtel-Dieu*, 1967. Editions Médicales Flammarion, Paris.
- 70) SAMOLS E., MARRI G., MARKS V.: Promotion of Insulin Secretion by Glucagon - *Lancet* 2, n. 7409, 415, 1965.
- 71) SAMOLS E., MARKS V.: Application of Insulin Radioimmunoassay in Diagnosis and Clinical Investigation, in: *Conference on Problems Connected with the Preparation and Use of Labelled Proteins in Tracer Studies*. Pisa, Jan. 17-19, 1966.
- 72) SAMOLS E., TYLER J., MARKS V.: Radioimmunoassays. Clinical and Physiological Applications - *Proc. Roy. Soc. Med.* 59, 818, 1966.
- 73) SAMOLS E., TYLER J., MEGYESI C., MARKS V.: Immunochemical Glucagon in Human Pancreas, Gut and Plasma - *Lancet* 2, 727, 1966.
- 74) SARCIONE E. J., BACK N., SOKAL J. E., MAHLMAN B., KNOBLOCK E.: Elevation of Plasma Epinephrine Levels Produced by Glucagon in Vivo - *Endocrinology* 72, 523, 1963.
- 75) SCHOPMAN W., HACKENG W. H. L., STEENDIJK C.: The Purification of ¹²⁵I Glucagon of High Specific Activity for Radioimmunochemical Estimation of Glucagon and a Qualitative Comparison of Glucagon from Different Sources - *Acta Endocr.* 54, 527, 1967.
- 76) SCIAN L. F., WESTERMANN C. D., VERDESCA A. S., HILTON J. G.: Adrenocortical and Medullary Effects of Glucagon - *Amer. J. Physiol.* 199, 867, 1960.
- 77) SEYFFERT W. A. Jr., MADISON L. L.: Physiologic Effects of Metabolic Fuels on Carbohydrate Metabolism. I. Acute Effect of Elevation of Plasma Free Fatty Acids on Hepatic Glucose Output, Peripheral Glucose Utilization, Serum Insulin and Plasma Glucagon Levels - *Diabetes* 16, 765, 1967.
- 78) SHOEMAKER W. C., VAN ITALLIE T. B.: The Hepatic Response to Glucagon in the Unanesthetized Dog - *Endocrinology* 66, 260, 1960.
- 79) SHOEMAKER W. C., VAN ITALLIE T. B., WALKER W. F.: Measurement of Hepatic Glucose Output and Hepatic Blood Flow in Response to Glucagon - *Amer. J. Physiol.* 196, 315, 1959.
- 80) SOKAL J. E.: Glucagon: an Essential Hormone - *Amer. J. Med.* 41, 331, 1966.
- 81) SOKAL J. E., EZDINLI E. Z.: Basal Plasma Glucagon Levels of Man - *J. Clin. Invest.* 46, 778, 1967.

- 82) SOKAL J. E., SARCIONE E. J., HENDERSON A. M.: Relative Potency of Glucagon and Epinephrine as Hepatic Glycogenolytic Agents. Studies with the Isolated Perfused Rat Liver - *Endocrinology* 74, 930, 1964.
- 83) STAUB A., SINN L., BEHRENS O. K.: Purification and Crystallization of Hyperglycemic-glycogenolytic Factor (HGF) - *Science* 117, 628, 1953.
- 84) STAUB A., SPRINGS V., STOLL F., ELRICK H.: A Renal Action of Glucagon - *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 94, 57, 1957.
- 85) STEINBERG D. M., SHAFRIR E., VAUGHAN M.: Direct Effect of Glucagon on Release of Unesterified Fatty Acid (UFA) from Adipose Tissue - *Clin. Res.* 7, 250, 1959.
- 86) STRUCK E., ASHMORE J., WIELAND P.: Stimulierung der Gluconeogenese durch langkettige Fettsäuren und Glucagon - *Biochem. Z.* 343, 107, 1965.
- 87) STUNKARD A. J., VAN ITALLIE T. B., REIS B. B.: The Mechanism of Satiety: Effect of Glucagon on Gastric Hunger Contractions in Man - *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 89, 258, 1955.
- 88) SUSSMAN K. E., VAUGHAN G. D.: Insulin Release after ACTH, Glucagon and Adenosine 3',5'-phosphate (Cyclic AMP) in the Perfused Isolated Rat Pancreas - *Diabetes* 16, 449, 1967.
- 89) SUTHERLAND E. W.: The Effect of the Hyperglycemic Factor of the Pancreas and of Epinephrine on Glycogenolysis - Recent Progress in Hormone Res. 5, 441, 1950.
- 90) SUTHERLAND E. W., DE DUVE C. A.: Origin and Distribution of the Hyperglycemic Glycogenolytic Factor of the Pancreas - *J. Biol. Chem.* 175, 663, 1948.
- 91) SUTHERLAND E. W., RALL T. W.: The Relation of Adenosine 3',5'-phosphate and Phosphorylase to the Actions of Catecholamines and Other Hormones - *Pharmac. Rev.* 12, 265, 1960.
- 92) TURNER D. S., MCINTYRE N.: Stimulation by Glucagon of Insulin Release from Rabbit Pancreas in Vitro - *Lancet* 1, n. 7433, 351, 1966.
- 93) UNGER R. H.: Communication au « Research Symposium on Glucagon, organized by the American Diabetes Association », San Francisco, Oct. 7-8, 1966.
- 94) UNGER R. H., EISENTRAUT A. M.: Studies of the Physiologic Role of Glucagon - *Diabetes* 13, 563, 1964.
- 95) UNGER R. H., EISENTRAUT A. M.: Etudes récentes sur la physiologie du glucagon, in: Journées Annuelles de Diabétologie de l'Hôtel-Dieu, 1967. Editions Médicales Flammarion, Paris.
- 96) UNGER R. H., EISENTRAUT A. M., MADISON L. L.: The Effects of Total Starvation upon the Levels of Circulating Glucagon and Insulin in Man - *J. Clin. Invest.* 42, 1031, 1963.
- 97) UNGER R. H., EISENTRAUT A. M., MC CALL M. S., MADISON L. L. with the technical assistance of SIMS K. R., TIMM L. and PATMAN L.: Glucagon Antibodies and an Immunoassay for Glucagon - *J. Clin. Invest.* 40, 1280, 1961.
- 98) UNGER R. H., EISENTRAUT A. M., MC CALL M. S., MADISON L. L. with technical assistance of SIMS K. R. and PATMAN L.: Measurements of Endogenous Glucagon in Plasma and the Influence of Blood Glucose Concentration upon Its Secretion - *J. Clin. Invest.* 41, 682, 1962.
- 99) UNGER R. H., KETTERER H., EISENTRAUT A. M.: Distribution of Immunoassayable Glucagon in Gastrointestinal Tissues - *Metabolism* 15, 865, 1966.
- 100) VALVERDE I., OHNEA A., EISENTRAUT A. M., UNGER R. H.: Enteric Glucagon-like Immuno-reactivity (GLI) (Abstract) - *Diabetes* 16, 517, 1967.
- 101) VAUGHAN M.: Effect of Hormones on Phosphorylase Activity in Adipose Tissue - *J. Biol. Chem.*, 235, 3049, 1960.
- 102) VAUGHAN M., STEINBERG D.: Effect of Hormones on Lipolysis and Esterification of Free Fatty Acids during Incubation of Adipose Tissue in Vitro - *J. Lipid. Res.* 4, 193, 1963.
- 103) VECCHIO D., LUYCKX A., ZAHND G. R., RENOLD A. E.: Insulin Release Induced by Glucagon in Organ Culture of Fetal Rat Pancreas - *Metabolism* 15, 577, 1966.
- 104) WEINGES K. F.: Die Wirkung des Glukagons auf die Gesamtaminosäuren im Serum - *Arch. exp. Path. u. Pharmakol.* 237, 17, 1959.
- 105) WEINGES K. F.: Der Einfluss eines protrahiert wirkenden Glukagons auf den Blutzucker, das anorganische Serumphosphat und die Gesamtaminosäuren im Serum - *Arch. exp. Path. u. Pharmakol.* 237, 22, 1959.
- 106) WEINGES K. F.: The Effect of Glucagon and Insulin on the Metabolism of Non-esterified-fatty-acids in Isolated Fatty Tissue of the Rat in Vitro - *Klin. Wschr.* 39, 293, 1961.
- 107) WEINGES K. F.: The Influence of Glucagon on Adipose Tissue, a Physiological Effect - *Excerpta Medica International Congress Series* 74, 164, 1964.
- 108) WEINGES K. F., LÖFFLER G.: Glukagon-empfindliche lipolytische Aktivität im Fettgewebe - *Klin. Wschr.* 43, 175, 1965.
- 109) WILLIAMSON J. R., GARCIA A., RENOLD A. E., CAHILL G. F. Jr.: Studies on the Perfused Rat Liver. I. Effects of Glucagon and Insulin on Glucose Metabolism - *Diabetes* 15, 183, 1966.
- 110) WÖRNER H., WEINGES K. F.: Über den Einfluss von Insulin und Glukagon auf den Glucostoffwechsel des epididymalen Fettanhangs der Ratte in Vitro. II. Der Einfluss von Glukagon im Vergleich mit dem Insulineffekt - *Klin. Wschr.* 39, 243, 1961.

Traduzione a cura della Redazione.

ADDENDUM

Depuis la rédaction de ce manuscrit, une analyse détaillée des propriétés respectives du glucagon pancréatique et du gut glucagon-like immunoreactive material a été publiée par UNGER et al. Il a été confirmé par BUCHANAN et al. que le taux sanguin du « glucagon » s'élève chez le chien dépancréaté lors de la perfusion orale de glucose.

GRIES a rapporté une sensibilité des cellules adipeuses humaines au glucagon. LEFEBVRE et LUYCKX ont discuté en détail l'action lipolytique du glucagon in vivo et in vitro. VANCE et al. ont démontré que la libération de glucagon in vitro par les îlots de Langerhans isolés du rat est réduite lorsque la concentration de glucose dans le milieu d'incubation est portée de 30 à 300 mg %.

LUYCKX et LEFEBVRE ont mis en évidence in vitro une libération du gut glucagon-like immunoreactive material à partir de fragments de jéjunum de rat lorsqu'une solution de glucose à 20 % est introduite dans la lumière de celui-ci.

ADDENDUM

After submission of this manuscript, an extensive study of the biological properties of pancreatic glucagon and of gut glucagon-like immunoreactive material has been reported by UNGER et al. The rise in serum immunoreactive glucagon after intrajejunal glucose in the pancreatectomized dog has been confirmed by BUCHANAN et al.

GRIES reported the sensibility of isolated human adipose cells to glucagon. LEFEBVRE and LUYCKX have discussed, with some details, the lipolytic action of glucagon *in vivo* and *in vitro*.

VANCE et al. demonstrated a decreased secretion of glucagon by isolated islets of Langerhans of the rat when the glucose concentration in the incubation medium is raised from 30 to 300 mg %.

LUYCKX and LEFEBVRE reported a release of gut glucagon-like immunoreactive material from rat jejunum incubated *in vitro* when 20 % glucose is present in the lumen.

- BUCHANAN K. D., VANCE J. E., AOKI T., WILLIAMS R. H.: Rise in Serum Immunoreactive Glucagon after Intrajejunal Glucose in Pancreatectomized Dogs - Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 126, 813, 1967.
- GRIES A.: Communication at the 14th Symposium of the German Society of Endocrinology, Heidelberg, March 1968, in press.
- LEFEBVRE P., LUYCKX A.: Discussion of the Lipolytic Action of Glucagon in Vitro and in Vivo. Communication to the Third International Meeting of Endocrinology, Marseille, May, 1968. Excerpta Medica, in press.
- LUYCKX A., LEFEBVRE P.: Release of Glucagon or a Glucagon-like Immunoreactive Material by Rat Jejunum Incubated in Vitro. Communication to the International Symposium on Protein and Polypeptides Hormones, Liège May 19-25, 1968 - Excerpta Medica. International Congress Series, n° 161, Part 3, in press.
- UNGER R. H., OHNEDA A., VALVERDE I., EISENTRAUT A. M., EXTON J.: Characterization of the Responses of Circulating Glucagon-like Immunoreactivity to Intraduodenal and Intravenous Administration of Glucose - J. Clin. Invest. 47, 48, 1968.
- VANCE J. E., BUCHANAN K. D., CHALLONER D. R., WILLIAMS R. H.: Effect of Glucose Concentration on Insulin and Glucagon Release from Isolated Islets of Langerhans of the Rat - Diabetes 17, 187, 1968.

PIERRE LEFEBVRE
Institut de Médecine
 Département de Clinique et de Pathologie Médicales
 Université de Liège - Belgique