UNIVERSITA' DEGLI STUDI DELL'AQUILA

Dipartimento di Scienze cliniche applicate e biotecnologiche

CORSO DI DOTTORATO IN MEDICINA SPERIMENTALE

COORDINATORE: Prof.essa Maria Grazia Perilli

TESI DI DOTTORATO DI RICERCA

Settore concorsuale 06/C1 – Chirurgia Generale

Settore Scientifico-Disciplinare MED/18- Chirurgia Generale

EFFETTI METABOLICI DELLA CHIRURGIA BARIATRICA

RELATORE:
Chiar.mo Prof.
Francesco Carlei

DOTTORANDO:
Dott. Federico Sista

XXXII Ciclo- Anno Accademico 2019-2020

…… Lentamente muore chi non capovolge il tavolo, chi è infelice sul lavoro, chi non rischia la certezza per l'incertezza per inseguire un sogno, chi non si permette almeno una volta nella vita di fuggire ai consigli sensati.

Pablo Neruda

IN MEMORIA DEL MIO COMPIANTO MAESTRO

PROF. ALESSIO AGNIFILI

Sintesi:

La chirurgia Bariatrica è basata su principi “malassorbitivi” come nel By-pass Gastrico e su principi “restrittivi” come nella sleeve gastrectomy (LSG). La riduzione dell’eccesso ponderale (%EWL)che ne consegue determina un aumento della responsività insulinica ed un conseguente miglioramento metabolico in termini di diabete(DM2), ipertensione e funzionalità d’organo. Al fianco della (%EWL)la chirurgia bariatrica permette un controllo metabolico grazie ad una alterazione che essa induce sull’attività di alcuni ormoni in grado di modificare l’omeostasi glucidica. Essi sono la Ghrelina (GH) ed il Glucagone like peptide 1 (GLP-1). Il GH è un ormone oressizzante prodotto dalle cellule oxintiche dello stomaco a digiuno. Esso determina un aumento dell’insulino-resistenza periferica ed una riduzione della produzione insulinica pancreatica. Il GLP-1 è invece un ormone anoressizzante prodotto dalle cellule L dell’ileo distale dopo il passaggio del chimo alimentare. Essa determina un aumento dell’insulino-sensibilità periferica ed un aumento della produzione insulinica pancreatica. La LSG, determinando una riduzione del volume gastrico, comporta

una riduzione della produzione di GH ed una più rapida produzione di GLP-1 a seguito di un incremento della velocità di svuotamento gastrico. Se quindi gli effetti metabolici legati alla %EWL si evidenziano solo dopo alcuni mesi dall'intervento, la correzione metabolica determinata da queste variazioni ormonali dovrebbero essere molto più immediate. Su questo presupposto si basa l'end-point primario del nostro studio che è quello di valutare le variazioni post operatorie della %EWL, GH e GLP-1 dopo LSG ed il loro effetto tempo-correlato sulla secrezione insulinica, l'insulino-resistenza periferica e la risoluzione del DM2 nei pazienti candidati a tale chirurgia. I parametri quindi valutati sono la secrezione insulinica (insulin total area under the curve– AUC; and insulinogenic index-IGI), l'insulino resistenza (homeostasis model assessment - $HOMA_{IR}$), la curva glicemica (plasma glucose level-PGL) e la %di emoglobina glicata (%HbA1c) usando il test di tolleranza al carico orale di glucosio (Oral Glucose Tolerance Test-OGTT) prima dell'intervento ed al terzo giorno, 6th,12th,24th e 36th mese dopo l'intervento. L'Analisi statistica che è stata eseguita con il test di chi quadro e la correlazione di Pearson (r). I risultati hanno mostrato che

durante il follow up il tasso di risoluzione del DM2 è stato rispettivamente del 9.4%, 42.3%, 71.8%, 81.2% e del 91.8%. E' stato poi riscontrato un graduale miglioramento della curva insulinica con un significativo incremento di IGI e dell'insulino resistenza - $HOMA_{IR}$ durante tutto il periodo di follow up. Le concentrazioni di Ghrelina plasmatica sono diminuite significativamente dopo le LSG (271,5 ±24,5 pg / mL vs. 122,4 ± 23,4 pg / mL - p= 0.04). La concentrazione plasmatica GLP-1 è invece aumentata significativamente dopo LSG (1,7 ± 2,6 pg / mL vs. 2,5 ± 3,4 pg / mL, P= 0,04). L' %EWL e l'IGI hanno presentato una correlazione lineare positiva (r) durante tutto il follow up con una correlazione lineare forte (r>0.8) a 12 e 24 mesi. Una correlazione lineare negativa è stata invece riscontrata tra la Ghrelina e e l'IGI durante i primi 3 gg dopo LSG (r= -0.9). Una correlazione lineare forte è stata poi riscontrata tra GLP-1 e l'IGI a 3 e 6 mesi (per entrambi di r=0.8).

Il miglioramento dell'assetto glicemico e la correlazione lineare forte mostrata dai test durante due timing distinti (precoce e tardivo), rispettivamente con l'assetto entero-ormonale e poi con l' %EWL, mostrano che la LSG può influenzare l'omeostasi glucidica con 2 diversi modi

correlati al tempo: in un primo step sono le variazioni dell’assetto ormonale a determinare un ruolo predominante nell’omeostasi glucidica, ed in un secondo step in cui è la riduzione di eccesso ponderale a determinare i risultati metabolici.

Indice:

1.0 Introduzione

1.1 Dimensione del problema

2.0 Obesità, comportamento alimentare e ruolo dei peptidi intestinali

2.1 Ghrelina:effetti metabolici e regolazione dell'appetito

2.2 GLP-1: effetti metabolici sul pancreas Endocrino

3.0 Ridotta tolleranza al Glucosio nell'obesità: carico orale di Glucosio (OGTT) e studio della funzionalità pancreatica

4.0 Bariatric Surgery

4.1 Sleeve Gastrectomy

4.2 Bypass Gastrico

5.0 Risoluzione del Diabete Mellito tipo II dopo Sleeve Gastrectomy: Effetti della Chirurgia Bariatrica

5.1 Introduzione allo studio

5.2 Materiali e Metodi

5.3 Risultati

5.4 Discussione

5.5 Conclusioni

6.0 References

1.0 Introduzione

Nei paesi industrializzati l'obesità è ormai considerata alla stregua di un'epidemia dilagante. E' ritenuta tra le più comuni forme di malnutrizione e rappresenta un problema di dimensioni medico-sociali preoccupanti anche in età pediatrica, in quanto potenzialmente causa di numerose patologie degenerative e di organo che possono determinare effetti negativi sulla qualità e sulla aspettativa di vita di un individuo. Allo stato attuale un interesse sempre crescente e rivolto quindi ad interventi di diagnosi, cura e prevenzione dell'obesità.

L'obesità ed il sovrappeso sono definiti dall'Organizzazione Mondiale della Sanita (OMS) come l'accumulo anormale o eccessivo di grasso, tale da avere ripercussioni sulla salute. Il Body Mass Index (BMI) è un indice che, comparando peso e altezza, è comunemente utilizzato per classificare il sovrappeso e l'obesità nell'adulto; è definito dal rapporto del peso espresso in kilogrammi diviso l'altezza in metri quadrati (kg/m^2). Il BMI è un utile parametro di misurazione del sovrappeso e dell'obesità poiché è lo stesso per entrambi i sessi e per ogni età nell'adulto. L'OMS definisce quindi in sovrappeso

un paziente con BMI ≥ 25 e obeso un soggetto con BMI ≥ 30. Questi valori rappresentano solo degli spartiacque in quanto è assodato che il rischio di malattie croniche aumenta progressivamente nella popolazione già con un BMI di 21.

1.1 La dimensione del problema

L'ultima stima dell'OMS ha calcolato nel 2005 la presenza di circa 1,6 bilioni di adulti (età maggiore di 15 anni) in sovrappeso e di circa 400 milioni di obesi. Questi numeri sono in continuo aumento, tanto da aver fatto calcolare che nel 2016 avremo circa 2,3 bilioni di adulti in sovrappeso e circa 700 milioni di obesi. Sempre nel 2005 i bambini al di sotto dei 5 anni in sovrappeso erano circa 20 milioni. L'incremento drammatico di queste condizioni nelle ultime tre decadi ha riguardato non solo i paesi più sviluppati, ma anche quelli meno sviluppati.

In Italia l'obesità rappresenta un problema sanitario di crescente e pressante gravità. La percentuale di soggetti in sovrappeso è di circa il 35%, con una prevalenza nel sesso maschile, mentre la percentuale di soggetti francamente

obesi e di circa il 10%, con una piccola prevalenza nel sesso femminile e nelle regioni meridionali. L'andamento è in preoccupante aumento se si considera che il numero degli obesi dal 1994 ad oggi è cresciuto del 25%, che ad aumentare non è tanto il numero dei soggetti in sovrappeso quanto quello dei pazienti obesi e che, infine, si registra il record europeo di bambini in sovrappeso (36%) ed obesi (10-15%) [1].

L'ultimo rapporto dell'Istituto Auxologico Italiano, pubblicato nel 2007, indica un ulteriore significativo peggioramento. Il dato più allarmante è costituito dal fatto che in soli 4 anni la popolazione dei soggetti in sovrappeso sia aumentata di circa 6.000.000 di unità. Ad aggravare queste considerazioni, come già detto, si aggiunge il dato emergente dagli ambienti pediatrici che indica un notevole incremento dell'obesità nella popolazione giovanile ed infantile [2]. Numerosi studi epidemiologici mostrano come dal 50 al 75% degli adolescenti obesi continuino ad esserlo anche nell'età adulta, ma la percentuale diventa dell'80% se anche uno solo dei genitori è obeso [3,4].

Rosenbaum e Liebel [5] affermano che: *"obesity is a complex phenotype that resolves the influence of genes,*

development and environment". L'importanza del fattore genetico deriva dall'osservazione non solo dell'obesità sindromica come si verifica nella sindrome di Prader-Willi o dell'obesità da causa endocrina, ma dalla maggiore aggregazione familiare per obesità riscontrata nei figli di genitori obesi rispetto a quelli normopeso, nei gemelli omozigoti e dizigoti, in particolari gruppi etnici quali gli Indiani Pima dell'Arizona (che mostrano una forte predisposizione per obesità e diabete) e nei bambini adottati. E' stato dimostrato infatti che il BMI dei bambini adottati mostra una correlazione significativa con quello dei genitori naturali e soprattutto con quello materno. E' comunque difficile stabilire quanto vi sia in questa predisposizione di genetico e quanto non sia invece dovuto ad abitudini alimentari e di vita scorrette. Tali comportamenti, abbastanza comuni in età pediatrica ed adolescenziale, possono indurre squilibri quantitativi e qualitativi, estremamente importanti nel determinare l'eccesso ponderale, specie se associati ad una ridotta attività fisica [6].

I meccanismi eziopatogenetici dell'obesità non sono comunque ancora completamente noti [7]. In particolare

non è chiaro se l'aumento di peso corporeo sia imputabile direttamente ad eccessivi apporti calorici, dovuti ad errate abitudini alimentari del gruppo familiare, oppure ad una diversa efficienza per i meccanismi del dispendio energetico. Secondo questa ipotesi la causa dell'obesità potrebbe risiedere in un difetto metabolico ereditario con incapacità ad adattare la spesa energetica alle variazioni degli apporti calorici. Degni di interesse nella patogenesi dell'obesità sembrano anche alcune ricerche condotte sull'ipotalamo, struttura cerebrale deputata al controllo dell'apporto calorico attraverso i due centri della sazietà e della fame, aspetti affrontati nei prossimi capitoli. Infatti anomalie funzionali dell'ipotalamo e/o dei fattori neuro-endocrini connessi sono stati riscontrati nei pazienti obesi. Nell'obesità infantile sono state dimostrate anche altre modificazioni endocrine, quali aumentata increzione di cortisolo, glucagone, androgeni surrenalici ecc. che generalmente si normalizzano nella fase di dimagrimento. Studi condotti sul metabolismo del tessuto adiposo hanno dimostrato che nel 50% dei bambini obesi è presente uno stato di iperinsulinismo, probabilmente dovuto ad una

condizione di insulino-resistenza dei tessuti, che provoca una ridotta utilizzazione periferica di glucosio.

L'obesità è più frequente intorno ai 5-6 anni e durante l'adolescenza, ma può manifestarsi ad ogni età, anche molto precocemente nelle prime epoche di vita. Per tale obesità precoce sono considerati fattori di rischio il peso della madre, l'incremento ponderale durante la gravidanza, uno stato di diabete o prediabete, ma anche l'errata malnutrizione materna ed il fumo di sigaretta [8]. Al momento attuale non sono disponibili informazioni specifiche sul destino auxologico e metabolico dei nati da madri obese, ma è comunque nota la maggiore predisposizione all'obesità di alcuni di questi bambini. Non va trascurato poi il peso che le abitudini alimentari, in termini di apporti calorici e di singoli nutrienti,le modalità stesse di nutrizione (al seno o al poppatoio), possono avere sull'obesità. Sono stati messi in discussione i fabbisogni, calcolati per neonati e lattanti, in quanto ritenuti sovrastimati ed in grado di determinare un'eccessiva introduzione di calorie e nutrienti fin dalle prime epoche di vita. L'importanza di tale problema deriva anche dall'osservazione che il bambino obeso presenta un rischio

notevole di rimanere tale anche da adulto (fenomeno del tracking) [9].

La diagnosi differenziale tra obesità essenziale e le rare forme secondarie può essere basata sull'esame clinico e su una accurata anamnesi, che deve valutare la presenza di familiarità per obesità, diabete, aterosclerosi e malattie cardio-vascolari, le abitudini alimentari della famiglia e del soggetto fin dai primi mesi di vita, l'epoca di insorgenza dell'eccesso ponderale ecc. All'obesità infantile si associano molto frequentemente alcune patologie che determinano una ridotta aspettativa di vita in questi soggetti e che determinano una peggiore qualità della vita rispetto ai bambini ed adolescenti normopeso:

- Diabete mellito tipo II (DmII): in questi bambini e adolescenti è più alto il rischio di patologie associate all'obesità (ipertensione arteriosa, dislipidemia, statosi epatica non alcolica, nefropatia, retinopatia, malattia aterosclerotica) [10].
- Apnee notturne ostruttive: più frequenti nei bambini con obesità grave; clinicamente si presentano con difficolta di apprendimento, iperattività, anomalie cardiovascolari [11].

- Steatosi epatica non alcolica: il 38% dei bambini e adolescenti obesi soffre di steatosi epatica.

  E' stata dimostrata nei pazienti trattati chirurgicamente la regressione della fibrosi [12,13].
- Pseudo-tumor cerebri: è una forte indicazione alla chirurgia bariatrica negli adolescenti; come negli adulti i sintomi migliorano diversi mesi dopo il trattamento [14].
- Rischio di malattie cardio-vascolari: l'obesità è associata ad ipertrofia del ventricolo sinistro. Lo spessore della plica cutanea e la pressione arteriosa sono parametri predittivi per il rischio di malattie cardiovascolari [15].
- Sindrome metabolica: (iperinsulinemia, insulino-resistenza, dislipidemia) la circonferenza del girovita e il valore dei trigliceridi nei bambini (9-10 aa) sono fattori predittivi per la sindrome metabolica nei giovani adulti (18-19 aa) [16].
- Depressione: c'è una significativa incidenza di depressione negli adolescenti in sovrappeso ed obesi [17]. In un loro lavoro Zeller et al. hanno riscontrato una depressione di grado moderato nel 53% pei

pazienti obesi: il 33% riferiva i sintomi da sè, nel 45% invece erano riferiti dalla madre [18].

- Disturbi del comportamento alimentare: la binge eating (alimentazione incontrollata) con comportamenti di compenso ricorre nel 5-30% degli obesi che vanno incontro al trattamento chirurgico.
- Sono anche presenti condizioni invalidanti ma con minor rischio di vita immediato, come le patologie osteoarticolari da sovraccarico e la steatoepatite [19,20].

2.0 Obesità, comportamento alimentare e ruolo dei peptidi intestinali

Il bilancio energetico viene controllato da un complesso insieme di sistemi fisiologici in equilibrio che convogliano i segnali di appetito e successiva sazietà al nostro cervello e che regolano l'attività di consumo energetico da parte dell'organismo. Molti distretti del corpo possono partecipare con differenti funzioni in questo contesto, ed in particolare il sistema nervoso centrale (SNC) svolge sicuramente un ruolo dominante di controllo dello stato metabolico, influenzando l'attività di altri sistemi e ricevendo informazioni da essi. L'ipotalamo ad esempio è riconosciuto da tempo essere coinvolto nella regolazione del comportamento alimentare. Esso è sottoposto ad un flusso continuo di segnali oressizzanti o anoressizzanti provenienti dalle aree cerebrali superiori e dalla periferia, che lo informano in tempo reale riguardo le condizioni energetico-nutrizionali dell'organismo. L'ipotalamo può anche direttamente gestire il metabolismo energetico, producendo neuropeptidi che possono modulare sia il comportamento alimentare che la spesa energetica degli organi periferici. Una regione ipotalamica che ha una valenza primaria nel controllo del comportamento alimentare è il Nucleo Arcuato (ARC) in cui troviamo due

popolazioni di neuroni: Neuropeptide Y (NPY) oressigeni che coesprimono NPY e Agouti-Related Peptide (AgRP), e Pro-opiomelanocortina (POMC) Anoressigeni che coesprimono la POMC ed il CART (Cocaine and amphetamine-regulated transcript).

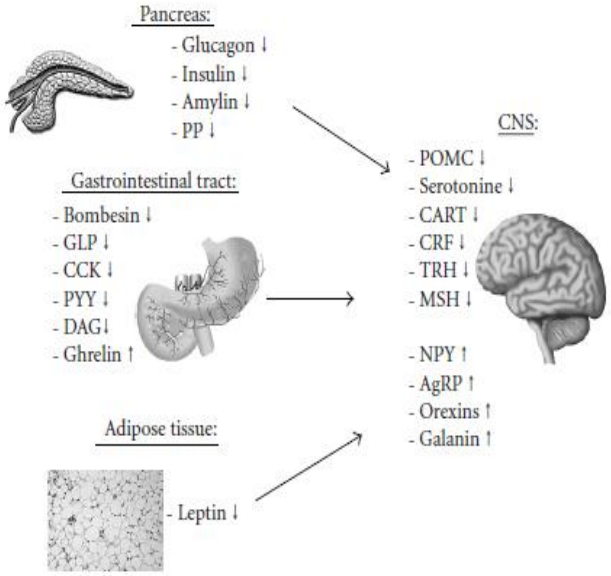


FIGURE 1: Peripheral and central peptides reducing (↓) or stimulating (↑) food intake (modified after Arora et al. [5]). AgRP: agouti-related peptide; CART: cocaine and amphetamine regulated transcript; CCK: cholecystokinin; CRF: corticotropin releasing factor; DAG: desacyl ghrelin; GLP: glucagon-like peptide; MSH: melanocyte stimulating hormone; NPY: neuropeptide Y; POMC: proopiomelanocortin; PP: pancreatic polypetide; PYY: peptide YY; TRH: thyreotropin releasing hormone.

I neuroni contenuti nell'ARC possiedono recettori per una serie di ormoni coinvolti nella regolazione dell'introito alimentare, quali la leptina, i glicocorticoidi, gli estrogeni, il progesterone, l'ormone della crescita (GH), la ghrelina e la barriera emato-encefalica in questa parte del cervello è liberamente permeabile a queste molecole segnale. Pertanto il nucleo ARC può essere considerato un complesso sensore

metabolico che riceve e integra a livello centrale le informazioni metaboliche ed endocrine dalla periferia circa lo stato energetico del corpo, e controlla le altre aree ipotalamiche coinvolte nella regolazione di fame e sazietà, comunicando con esse. La sintesi e la secrezione di NPY dall'ipotalamo aumenta in risposta al digiuno, all'esercizio fisico, al deficit di leptina o di insulina, quindi il sistema neuronale NPYergico risponde in seguito ad un decremento delle riserve energetiche. L'Agouti related protein (AgRP), coespressa dai neuroni che secernono NPY, è dotata di considerevoli azioni oressigene NPY-indipendenti, e determina un aumento dell'introito di cibo agendo da antagonista endogeno dei recettori per la melanocortina MC3 e MC4, inibendo così l'azione anoressizzante di α-MSH , l'ormone stimolante i melanociti. I neuroni NPY/AgRP rappresentano il bersaglio più importante dei segnali oressigeni e anoressigeni centrali e periferici ed in particolare sono inibiti da leptina e Peptide YY, e 14 attivati dalla ghrelina. Nel controllo della funzione ipotalamica un contributo importante è fornito appunto dalla leptina, la cui identificazione ha dato il via all'era endocrina dell'adipocita. La leptina è un ormone prodotto

dalle cellule adipose, che, agendo sui neuroni del nucleo arcuato dell'ipotalamo, determina una risposta catabolica dell'organismo, ovvero una riduzione dell'introito calorico ed un incremento del dispendio energetico. In definitiva, quando le riserve energetiche raggiungono o superano una certa soglia, la leptina trasmette all'ipotalamo il famoso senso di sazietà. Altre molecole prodotte dall'apparato gastrointestinale regolano invece nel breve termine l'appetito interagendo con l'ipotalamo ed altri centri cerebrali. La ghrelina ad esempio, di cui approfondiremo successivamente nella discussione e già citata in precedenza, è un ormone di grande interesse prodotto dallo stomaco i cui livelli nel sangue aumentano prima del pasto per poi diminuire rapidamente nella fase post prandiale. La sua azione a livello ipotalamico è opposta a quella della leptina, ovvero attiva la via anabolica (stimola l'appetito, aumentando cioè l'assunzione di cibo e riducendo il dispendio energetico). Molti altri peptidi prodotti dall'intestino influenzano in modo diverso il comportamento alimentare agendo sia a livello del SNC ma soprattutto sul metabolismo pancreatico e il più conosciuto tra questi è il Glucagon-like peptide 1 (GLP-1) molecola

che ha la proprietà di regolare l'attività delle cellule beta e la conseguente funzione pancreatica [21].

2.1 Ghrelina: effetti metabolici e regolazione dell'appetito

Ghrelina è un peptide di 28 aminoacidi prodotto principalmente a livello gastrico dalle cellule enteroendocrine, probabilmente le cellule note come "X/A-like" che costituiscono la principale popolazione cellulare endocrina della mucosa ossintica [22, 23]. Una quantità minore di ghrelina deriva da intestino, pancreas, rene, placenta, ipofisi, testicolo, ovaio e ipotalamo [22-24]

La Ghrelina esplica la sua azione attraverso l'interazione con recettori specifici concentrati nell'area ipotalamo-ipofisaria ma distribuiti anche in altri tessuti centrali e periferici [23, 24]. Mentre i recettori ipotalamo-ipofisari spiegano il loro effetto sulla secrezione di GH e anche di PRL e ACTH, altri specifici siti di legame centrali e periferici spiegano altre importanti attività come:

a) l'effetto oressizzante accoppiato con il controllo del dispendio energetico

b) l'influenza sulla funzione del pancreas endocrino e sul metabolismo del glucosio

a) effetto oressizzante

La Ghrelina è coinvolta nella regolazione del bilancio energetico. La somministrazione di ghrelina esogena induce un incremento ponderale nei roditori aumentando l'introito alimentare e riducendo l'utilizzazione dei grassi [23, 25,26]. Tali effetti farmacologici sono indipendenti dal GH e probabilmente sono mediati da uno specifico network neuronale a livello centrale che è anche modulato dalla leptina; ghrelina e leptina possiederebbero attività complementari in un unico sistema regolatorio che, finalisticamente, si sarebbe sviluppato per informare il sistema nervoso centrale riguardo allo stato di bilancio energetico [23, 25-27]. Nell'obesità i livelli di leptina sono elevati mentre quelli di ghrelina sono ridotti, indicando un adattamento allo stato positivo di bilancio energetico piuttosto che un coinvolgimento nell'eziologia dell'obesità [23, 27].

Nell'uomo i livelli plasmatici circolanti di ghrelina sono ridotti negli stati cronici (obesità) e acuti (assunzione alimentare) di bilancio energetico positivo, mentre sono aumentati dal digiuno e in pazienti con anoressia nervosa [23, 27]. L'innalzamento pre-prandiale dei livelli circolanti

di ghrelina suggerisce il suo ruolo come segnale di fame innescando l'inizio del pasto e tale azione sembrerebbe mediata da sottotipi recettoriali del GHS-R come suggerito dall'evidenza che analoghi dei GHS privi di alcuna attività GH-liberatrice, stimolano l'introito di cibo [23, 27]. Ghrelina circolante è principalmente prodotta a livello del tratto gastro-intestinale e raggiungerebbe i GHS-R nel sistema nervoso centrale, soprattutto a livello ipotalamico, attraverso la circolazione sistemica generale per regolare l'introito alimentare e l'omeostasi energetica [22-25,28]. Cellule contenenti ghrelina sono anche presenti nell'ipotalamo mediobasale dove sono localizzati neuroni GHRH-secernenti e il network neuronale neuroendocrino che regola l'equilibrio energetico [22, 23, 26]. Inoltre, antagonisti del recettore tipo 1 di NPY così come agonisti della melanocortina e anti-sieri per NPY e AGRP (agoutirelated protein) sembrano interferire con l'effetto oressante di ghrelina che è tuttavia mantenuta in topi knock-out per NPY, suggerendo un ruolo chiave dell'AGRP [23]. L'effetto stimolatorio di ghrelina e dei GHS sintetici sull'introito alimentare ha suscitato un ovvio interesse, infatti analoghi sintetici dei GHS, con azione

agonista o antagonista sull'appetito, potrebbero essere impiegati come intervento farmacologico nei disordini dell'alimentazione.

b) Ghrelina e il pancreas endocrino

Numerosi autori hanno documentato che ghrelina è sintetizzata a livello pancreatico sebbene vi siano dati discordanti sull'esatta localizzazione della sua sintesi all'interno delle insule [28]. Studi effettuati con GHS sintetici avevano già suggerito il potenziale impatto sulla funzione pancreatica endocrina. Infatti, il trattamento cronico con GHS non peptidici era stato documentato: a) essere seguito da iperglicemia e insulino-resistenza in ratti obesi; b) indurre iperglicemia e insulino-resistenza in soggetti anziani normali; c) indurre aumento della massa grassa e peggioramento della sensibilità insulinica in soggetti obesi [22, 28]. A seconda della dose e delle condizioni sperimentali, ghrelina è stata riportata inibire o stimolare la secrezione di insulina nell'animale. Specificamente, ghrelina è risultata in grado di stimolare la secrezione insulinica da insule pancreatiche isolate di ratto e anche in vivo [22, 28]. Al contrario, ghrelina inibisce la secrezione insulinica dal pancreas isolato di ratto dopo

stimolazione con glucosio, arginina e carbacolo [22, 28]. Nell'uomo la somministrazione acuta di ghrelina è seguita da un aumento dei livelli glicemici che è sorprendentemente seguito da una riduzione della secrezione di insulina [28]. L'effetto iperglicemizzante di ghrelina non pare essere spiegabile da un effetto antagonista dell'attività inibitoria dell'insulina sulla neoglucogenesi, né da una modulazione della secrezione di glucagone. Teoricamente, ghrelina potrebbe attivare la glicogenolisi, direttamente o indirettamente, via stimolazione della secrezione di catecolamine o agendo direttamente sugli epatociti [22, 28]. La somministrazione di ghrelina aumenta inoltre i livelli circolanti di somatostatina e di polipeptide pancreatico (PP) nell'uomo, a ulteriormente supportare l'ipotesi di un legame funzionale tra somatostatina e ghrelina e, di per sé, l'incremento di somatostatina indotto da ghrelina potrebbe teoricamente spiegare la riduzione dei livelli di insulina [27,28]. Indipendentemente da quali possano essere i meccanismi endocrini/paracrini/autocrini alla base degli effetti di ghrelina sulla secrezione di insulina, deve essere inoltre sottolineato che sia l'insulina sia il glucosio inibiscono la

secrezione di ghrelina ulteriormente indicando l'esistenza di un meccanismo di feedback che unisce ghrelina con il pancreas endocrino e il metabolismo glicidico [23, 27,28]. Nonostante tali dati, è tuttavia importante ricordare che l'influenza di ghrelina sulla secrezione insulinica non può essere unicamente considerata come inibitoria. L'effetto acuto di ghrelina sulla secrezione insulinica potrebbe essere di breve durata e seguita da processi di adattamento diversi, dipendenti dalle condizioni metaboliche e dalla durata dell'esposizione agli elevati livelli di ghrelina. Le azioni metaboliche di ghrelina devono comunque essere considerate integrate alle azioni centrali di controllo dell'appetito, dell'introito alimentare e del bilancio energetico [23, 25, 28].

2.2 GLP-1: effetti metabolici sul pancreas endocrino

GLP-1 (7-36) amide è un polipeptide costituito da 31 aminoacidi trascritto dal gene del proglucagone localizzato nel braccio lungo del cromosoma 2 ed è espresso sia nelle beta cellule pancreatiche sia nelle cellule L dell'intestino ileale al passaggio del chilo come stimolazione diretta [29].

Inoltre tale produzione da parte delle cellule L parrebbe essere direttamente proporzionale alla quantità di chilo che vi giunge [29]. La maggior parte del GLP-1 attivo presenta 2 isotipi equipotenti: una forma nota come GLP-1 (7-37) che rappresenta all'incirca il 20% del GLP-1 attivo e una forma nota come GLP1 (7-36) amide che rappresenta l'80% del composto attivo ed è quello che svolge un ruolo metabolico nella regolazione della funzione pancreatica.

A differenza della Ghrelina le evidenze in possesso sui meccanismi biochimici e le vie di trasduzione del segnale del GLP-1 e di altri ormoni analoghi come PYY e CCK (definiti in gruppo con l'appellativo di "Incretine") sulle cellule pancreatiche risultano significativamente maggiori.

La sua emivita è dell'ordine di 2 min. Una volta secrete, probabilmente sotto impulsi di tipo vagale, le incretine sono rapidamente inattivate da enzimi chiamati dipeptidil dipeptidasi 4 (DPP-4). Le DPP-4 degradano rapidamente il GLP-1 (7-36) amide a GLP-1 (9-36) amide il quale risulta avere un'affinità 1000 volte inferiore per il recettore del GLP-1 (GLP-1R) e privo di proprietà insulino-tropiche [30].

La prima funzione è quella di potenziare la secrezione insulinica glucosio-dipendente da parte della β-cellula pancreatica. Il GLP-1 agisce legandosi a un recettore di membrana, GLP-1-R, la cui attivazione stimola la produzione di adenosina monofosfato ciclico (cAMP) da parte dell'enzima adenil-ciclasi con successiva attivazione dei meccanismi di trasmissione del segnale intracellulare. Studi in modelli animali hanno dimostrato che il GLP1 agisce su entrambe le fasi necessarie per la secrezione insulinica: la chiusura dei canali del potassio ATPdipendenti (con il conseguente aumento della concentrazione di calcio intracellulare) e la successiva esocitosi delle vescicole secretorie con rilascio dell'insulina in esse contenuta [31,32]. Il meccanismo molecolare tramite il quale il GLP-1 facilita la chiusura dei canali del potassio ATP-dipendenti non è stato ancora completamente chiarito, ma si tratta probabilmente di un'azione mediata dalla proteina chinasi A in quanto viene bloccata dall'uso di inibitori specifici per questa chinasi [32]. Diversi mediatori intracellulari sembrano invece coinvolti nella regolazione del rilascio delle vescicole secretorie da parte del GLP-1; in particolare, numerose evidenze sperimentali suggeriscono

che esso può agire sulle proteine della famiglia SNARE (soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptors) che hanno un ruolo fondamentale nel regolare la fusione delle vescicole secretorie con la membrana cellulare [32]. È stato, ad esempio, suggerito che il GLP-1 induca, probabilmente sempre mediante la proteina chinasi A, la fosforilazione della proteina SNAP-25 (un importante membro della famiglia SNARE) e l'utilizzo di inibitori specifici della fosforilazione attenua effettivamente il rilascio delle vescicole secretorie, stimolato dal GLP-1 [32].

In aggiunta agli effetti stimolatori sulla secrezione insulinica, studi sperimentali hanno evidenziato che il GLP-1 agisce a più lungo termine favorendo l'aumento della massa β-cellulare in modelli animali sia diabetici sia normoglicemici [33].

La massa β-cellulare è regolata essenzialmente attraverso 2 meccanismi:

a) aumento della proliferazione delle β-cellule pre-esistenti;

b) inibizione dell'apoptosi;

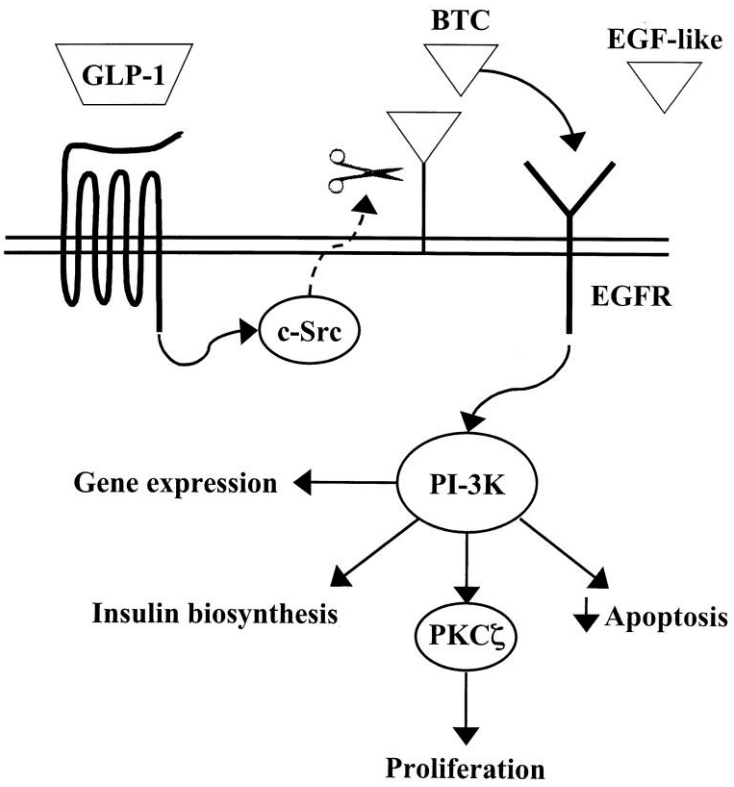
a) Aumento della proliferazione delle β-cellule pre-esistenti

Per comprendere meglio i meccanismi molecolari che sono alla base degli effetti proliferativi osservati nei modelli animali, sono stati condotti numerosi studi in modelli di β-cellule pancreatiche [34-37]. Utilizzando tali modelli è stato dimostrato che gli effetti proliferativi del GLP-1 e dei suoi analoghi coinvolgono molteplici vie di trasmissione del segnale intracellulare, incluse quelle che portano all'attivazione di mitogenactivated protein kinase (MAPK), fosfatidilinositolo-3 chinasi (PI-3K), fosfoinositide-dipendente chinasi-1 (PDK1), Akt e protein-chinasi Czeta (PKCzeta) [34-36]. Le PKC costituiscono una famiglia di molecole con attività enzimatica che ha vari effetti cellulari tra cui l'induzione della proliferazione. È stato dimostrato che uno dei meccanismi di attivazione di PKCzeta coinvolge l'attivazione sequenziale di PI-3K PDK1

In risposta a vari stimoli proliferativi, PKCzeta è traslocata nel nucleo della cellula dove attiva la trascrizione di geni necessari per la duplicazione cellulare. Studi in vitro hanno dimostrato che il GLP-1 stimola la traslocazione di PKCzeta nel nucleo in cellule di insulinoma INS (832/13). Tale fenomeno era associato a un aumento della

duplicazione cellulare. Gli effetti proliferativi indotti dal GLP-1 erano bloccati sia dall'esposizione delle cellule di insulinoma a uno pseudosubstrato di PKCzeta, sia dalla trasfezione delle cellule con una forma dominante negativa di PKCzeta priva dell'attività chinasica [31,35]. Altri studi hanno dimostrato che il GLP-1 agisce come fattore di crescita promuovendo la maturazione proteolitica della betacellulina, un membro della famiglia degli epidermal growth factor (EGF) che stimola il recettore dell'EGF [36-40]. Studi che hanno analizzato gli effetti mitogenici degli agonisti dei recettori G protein-coupled receptor (GPCR) hanno portato a ritenere che alcuni recettori di questa famiglia, che sono privi di intrinseca attività chinasica, possano transattivare il recettore dell'EGF per promuovere la proliferazione cellulare [39,40]. In alcuni casi la trans-attivazione del recettore dell'EGF da parte dei recettori GPCR richiede la produzione di ligandi endogeni per il recettore dell'EGF a partire da precursori attraccati alla membrana plasmatica delle cellule attraverso l'attivazione di endoproteasi stimolate dall'attivazione di c-Src, una tirosino-chinasi di tipo non recettoriale [41,42]. In uno studio eseguito su cellule di insulinoma INS (832/13) è

stato dimostrato che il GLP-1 stimola la proliferazione della β-cellula pancreatica attraverso la trans-attivazione del recettore dell'EGF indotta dalla produzione di betacellulina e che questo meccanismo è coinvolto nell'attivazione di PI-3K da parte del GLP-1. Tale complesso modello è esemplificato dall'immagine seguente



b) Inibizione dell'apoptosi

Un incremento della massa β-cellulare da parte del GLP-1 e dei suoi analoghi può essere dovuto non solo a un aumento della proliferazione cellulare, ma anche a una riduzione della apoptosi, anche definita morte cellulare programmata.

Le azioni antiapoptotiche del GLP-1 e dei suoi analoghi sembrano essere mediate dal recettore per il GLP-1 in quanto la trasfezione con il cDNA codificante per tale recettore in linee cellulari non-pancreatiche rende queste cellule sensibili agli effetti anti-apoptotici del GLP-1 [41,43], mentre l'uso dell'antagonista specifico per il recettore exendina-9-39 inibisce l'effetto anti-apoptotico sia del GLP-1 sia del suo analogo liraglutide in isole purificate da ratti neonati [43] A conferma del ruolo antiapoptotico del GLP-1, è stato riportato che animali knock-out privi del recettore per il GLP-1 esibiscono un incremento dell'apoptosi e una aumentata suscettibilità agli effetti iperglicemizzanti della streptozotocina rispetto agli animali di controllo [43]. In accordo con i risultati osservati con il GLP-1 e i suoi analoghi, il trattamento con inibitori di DPP-4, l'enzima che degrada il GLP-1, inibisce l'apoptosi delle β-cellule pancreatiche in ratti resi diabetici mediante somministrazione di streptozotocina [43,44].

Recenti studi, in cui sono stati utilizzati linee cellulari e animali transgenici, hanno evidenziato una nuova via attraverso cui il GLP-1 induce la sopravvivenza delle β-cellule coinvolgente il fosforilazione del fattore di

trascrizione cAMPresponsive element-binding protein (CREB) [45]. l'inibizione di CREB provocava una diminuzione dell'espressione dell'insulin receptor substrate (IRS)-2, uno dei principali substrati intracellulari sia del recettore insulinico sia di quello dell'IGF-1 che svolge un ruolo chiave nella sopravvivenza della β-cellula pancreatica [45]

3.0 Ridotta tolleranza al glucosio nell'obesità: Carico orale di glucosio (OGTT) e studio della funzionalità pancreatica

L'omeostasi del glucosio nell'organismo è strettamente controllata, e conseguentemente la glicemia a digiuno è mantenuta in un range molto circoscritto (70-90 mg/dl). Nel diabete mellito tipo 2 sia la secrezione sia la sensibilità all'insulina sono alterate [46] e l'iperglicemia cronica è la caratteristica di questo frequente disordine metabolico. Diversamente dal diabete mellito tipo 1, nel quale l'insorgenza della malattia è relativamente acuta, il decorso del diabete mellito tipo 2 è lento e le anomalie metaboliche che sfociano nell'iperglicemia si stabiliscono molto tempo

prima della sua diagnosi. La condizione nella quale sono presenti anomalie del metabolismo glucidico, ma con valori glicemici inferiori al livello soglia necessario per formulare la diagnosi di diabete, comprende due categorie di elevato rischio: IFG (impaired fasting glucose) e IGT (impaired glucose tolerance). L'IFG comprende soggetti con glicemia plasmatica a digiuno (FPG) > 100 ed < 126 ma con normale risposta al carico glucidico. L'IGT comprende soggetti con escursione abnorme della glicemia all'OGTT (glicemia plasmatica a 2 h ≥ 140 mg/dl ma < 200 mg/dl), ma con concentrazione normale di FPG. Esistono infine soggetti con combinazione di IGT ed IFG [47] . Studi epidemiologici, che hanno confrontato la prevalenza di IFG e IGT, hanno dimostrato che esse definiscono due popolazioni distinte, con sovrapposizione solamente parziale. Solo una piccola percentuale di soggetti con IGT (20-25%) presentava una FPG > 110 mg/dl e oltre la metà dei soggetti con IFG presentava la glicemia a 2 h < 140 mg/dl. IGT e IFG differiscono nella distribuzione per età e sesso. La prevalenza di entrambe le categorie aumenta con l'età, ma prima di 55 anni mentre l'IGT è più frequente nelle donne, la prevalenza di IFG è più elevata di oltre il

doppio negli uomini, rispetto alle donne. Le differenze fra IFG ed IGT relativamente a prevalenza, età e sesso, come anche alla mancanza della loro sovrapponibilità, indicano che anche se IFG ed IGT rappresentano stadi intermedi di intolleranza glucidica, probabilmente sono condizioni distinte con meccanismi etiopatogenetici differenti. Omeostasi normale del glucosio Nello stato post-assorbitivo (mattino a digiuno) la maggior parte (65-70%) della captazione del glucosio (2 mg • $kg.^{-1}$ • min^{-1}) avviene nei tessuti insensibili all'insulina (cervello, eritrociti e tessuti splancnici)[48] ed è controbilanciata da un equivalente tasso di produzione endogena, principalmente da parte del fegato[48] e, in misura minore, dal rene [49] . Pertanto la produzione di glucosio epatico contribuisce in maniera primaria alla concentrazione della FPG [50] ed è principalmente regolata dalle concentrazioni di insulina e glucagone. Dopo ingestione di glucosio l'aumento conseguente della glicemia plasmatica stimola la secrezione d'insulina. La combinazione di iperglicemia e iperinsulinemia sopprime la produzione epatica di glucosio da un lato e stimola la captazione del glucosio ingerito da parte dei tessuti splancnici e periferici (soprattutto muscolo)

dall'altro, ripristinando così la normoglicemia. La captazione del glucosio epatico è di gran lunga maggiore con il glucosio orale, rispetto a quello endovenoso. Pertanto solamente il 10-15% del glucosio infuso e.v. è captato dal fegato, mentre la frazione passa al 30-40% quando il glucosio è somministrato per via orale.

Per valutare i contributi dell'alterata sensibilità all'insulina e della ridotta secrezione d'insulina alla genesi di IFG ed IGT sono state impiegate numerose metodiche. Il test di tolleranza orale al glucosio (OGTT) è il più utilizzato.

a) Misura della sensibilità insulinica

La misurazione delle concentrazioni della glicemia e dell'insulina plasmatica nelle condizioni di digiuno e nel corso dell'OGTT[51] è stata usata per determinare alcuni indici di sensibilità all'insulina che correlano con la sensibilità all'insulina misurata con il clamp iperinsulinemico-euglicemico. Dopo l'ingestione di glucosio la soppressione della produzione epatica di glucosio è molto meno completa, rispetto a quanto avviene durante il clamp euglicemico iperinsulinemico mentre circa il 30-40% del glucosio ingerito è captato dall'area

splancnica. Di conseguenza la concentrazione della glicemia plasmatica nel corso di OGTT è influenzata dall'insulino-resistenza epatica e da quella nei tessuti periferici (muscoli), che utilizzano il 60-70% del glucosio ingerito. Pertanto gli indici della sensibilità insulinica derivati dalle concentrazioni della glicemia e dell'insulina durante l'OGTT riflettono la sensibilità muscolare ed epatica all'insulina.

b) Misura della secrezione insulinica

La secrezione dell'insulina è influenzata in maniera sostanziale dalla via di somministrazione del glucosio. Quando il glucosio è somministrato tramite il tratto intestinale si osserva una stimolazione molto maggiore della secrezione dell'insulina, rispetto a quella osservabile con iperglicemia simile ottenuta mediante glucosio iniettato e.v.. La differenza nella risposta insulinemica tra la somministrazione endovenosa e quella orale di glucosio è conosciuta come effetto incretinico ed è mediata dal peptide-1 simil glucagone (GLP-1) e dal peptide insulinotropico (GIP) glucosio-dipendente. Nel diabete mellito tipo 2 è stata osservata una secrezione ridotta di GLP-1 glucosio stimolata e questo ha un forte impatto sulla

risposta insulinemica in corso di OGTT ma alcuno su quella in risposta al glucosio somministrato per via endovenosa. Gli indici di secrezione insulinica derivati dall'OGTT forniscono una stima della secrezione d'insulina in risposta allo stimolo più fisiologico della somministrazione del glucosio. L'indice insulinogenico (Δ incrementale dell'insulina plasmatica/incremento della glicemia plasmatica) durante i primi 30 min. dell'OGTT è stato utilizzato negli studi epidemiologici come misura surrogata della prima fase della secrezione insulinica, sebbene non sia stata del tutto validata. Uno studio iniziale ha dimostrato una correlazione ($r = 0.61$, $P < 0.001$) tra $\Delta I_{0-30} / \Delta G_{0-30}$ e risposta acuta dell'insulina durante l'IVGTT. Anche il rapporto $\Delta I_{0-120}/\Delta G_{0-120}$ è stato usato come indice di secrezione insulinica durante l'OGTT [52] .

Nei soggetti con normale tolleranza al carico glucidico (NGT) la glicemia raggiunge il picco al 30-60 min. nel corso di OGTT[52] . Da quel momento in poi essa si riduce drasticamente verso il valore basale, raggiungendo normalmente valori < 140 mg/dl alla 2 h. Nei soggetti NGT il valore del picco della glicemia raramente supera 150- 160 mg/dl. I soggetti con IGT isolata hanno concentrazioni di

FPG simili a quelli con NGT. Tuttavia, dopo l'ingestione di glucosio, la glicemia plasmatica aumenta rapidamente a 30 min., continua a crescere a 60 min. e rimane > 140 mg/dl a 120 min.[52] . Pertanto i pazienti con IGT manifestano due anomalie durante l'OGTT: a) innalzamento rapido e continuo della concentrazione della glicemia plasmatica e b) assenza di riduzione della glicemia plasmatica a 2 h.

I soggetti con IFG invece hanno la FPG più elevata, rispetto ai soggetti con NGT o IGT[53] , ma dopo l'ingestione del glucosio la concentrazione della glicemia plasmatica a 30 e a 60 min. aumenta, fino a raggiungere valori di glicemia superiori a quelli di NGT e IGT. Tuttavia, diversamente da quanto avviene nei soggetti con IGT, la concentrazione plasmatica di glucosio nella IFG declina progressivamente e raggiunge valori < 140 mg/dl a 120 min. Nei soggetti con IFG e IGT isolate, la concentrazione d'insulina plasmatica al 30 min. in corso di OGTT, è confrontabile o significativamente più bassa rispetto alla NGT, nonostante una concentrazione significativamente più elevata della glicemia [54] . Pertanto il ridotto rapporto $\Delta I_{0\text{-}30} / \Delta_{G\ 0\text{-}30}$ è un dato consistente nei soggetti con IFG e IGT e sta ad indicare una iniziale inerzia nella risposta della secrezione

insulinica al glucosio ingerito.Anche la risposta $\Delta I_{0-120}/\Delta G_{0-120}$ durante l'OGTT dell'insulina è significativamente ridotta nei soggetti con IFG e IGT isolate. La riduzione della risposta iniziale dell'insulina (0-30 min) durante l'OGTT in soggetti con IFG e IGT concorda con l'AIR ridotta durante l'IVGTT in tutti e due i gruppi e concorda con la riduzione della prima fase della secrezione insulinica osservata nei soggetti IGT studiati con clamp iperglicemico. Nel complesso i soggetti con IFG ed IGT hanno una riduzione della prima fase della secrezione insulinica, che può spiegare il loro elevato rischio di progressione al diabete di tipo 2 osservabile negli studi epidemiologici. Il ruolo centrale della disfunzione β-cellulare nella conversione dell'IGT a diabete mellito tipo 2 è sottolineato da studi di intervento, che hanno dimostrato che preservando la funzione beta cellulare si riduce il tasso di conversione dell'IGT in diabete

La disfunzione delle cellule alfa e beta recita un ruolo fondamentale nello sviluppo e nella progressione dell'alterata tolleranza al glucosio, soprattutto nella fase in cui sarebbe estremamente opportuna un'efficace

funzionalità delle isole pancreatiche al fine di compensare lo stato di insulino-resistenza. I meccanismi patogenetici del diabete mellito tipo 2 sono molto eterogenei e coinvolgono non solo la secrezione ma anche l'azione dell'insulina. L' attenta fenotipizzazione ottenuta mediante lo studio dell'OGTT ci permette una più accurata stratificazione della patologia al fine di valutare la terapia più mirata sul movente patogenetico preponderante contribuendo ad un controllo metabolico migliore e più duraturo.

4.0 Bariatric Surgery

Scopo della terapia dell'obesità è quello di ridurre l'eccedenza di peso ponderale e di mantenere nel tempo il risultato ottenuto, evitandone il recupero. Negli anni la terapia dietetica nell'obesità patologica si è dimostrata fallimentare. Essa prevede storicamente due diverse impostazioni:

a) Dieta chetogena a risparmio proteico; b) Dieta ipocalorica bilanciata.

Tali regimi dietetici impongono al paziente un condotta alimentare alla quale difficilmente risulterà compliante a causa di un disturbo psichiatrico che spesso è alla base di questa patologia [55]. Inoltre la terapia farmacologica occupa un ruolo solo marginale e va generalmente proscritta per i gravi e dannosi effetti collaterali che possono derivare dall'uso di particolari sostanze come gli anoressizzanti o farmaci che stimolano il senso della sazietà o la termogenesi. Anche alcune sostanze come gli inibitori degli enzimi digestivi possono causare gravi danni all'apparato gastroenterico. Per tutti questi motivi un "trattamento medico" di questa patologia risulta fallimentare in oltre l'ottanta percento dei casi. Con un tale stato di cose la chirurgia bariatrica può essere considerata

l’unica alternativa valida per l’obesità e le patologie associate che possono determinare un rischio per la vita [56].

La prima procedura chirurgica utilizzata per il trattamento dell’obesità e stato il *bypass digiuno-colico*, gravato da alta mortalità per squilibri elettrolitici, seguito a breve dal *bypass digiuno-ileale*. Quest’ultimo approccio è stato introdotto nel 1954 e consisteva nell’anastomizzare 35 cm di digiuno a 10 cm di ileo (anastomosi termino-terminale o termino-laterale) in modo da escludere la maggior parte del piccolo intestino.

Questa tecnica permetteva una grossa perdita di peso, ma era gravata da un alto rischio di complicanze a breve e lungo termine come l’insufficienza epatica e renale, la cirrosi epatica, la nefropatia da ossalati, la malattia da immuno-complessi e deficit nutrizionali. Per questi motivi il bypass digiuno-ileale non è stato più eseguito [57].

La terapia chirurgica dell’obesità si fa strada in Italia verso la metà degli anni ’70 con lo sviluppo del *bypass gastrico*. Inizialmente era persino difficile accettare, da parte di tutta la comunità medica, il concetto stesso che l’obesità si potesse curare chirurgicamente. La soluzione chirurgica,

però, nasce e via via si afferma perché è l'unica in grado di comportare un notevole calo ponderale e, soprattutto, di mantenerlo, per un lunghissimo periodo di tempo se non per tutta la vita. Ciò comporta anche un netto miglioramento o addirittura la scomparsa delle co-morbilità, una maggiore aspettativa di vita ed una migliore qualità della stessa. Tutto questo a sua volta dimezza, di fatto, gli esorbitanti costi sociali, diretti ed indiretti, dell' obesità e delle malattie ad essa correlate.

Per tutte queste ragioni, il trattamento chirurgico dell'obesità grave, agli inizi assai discusso da molti e rifiutato di principio dai più, è, oggi, diventato una realtà ampiamente consolidata e condivisa.

Nella seconda metà degli anni '90 si assiste poi ad una vera e propria svolta epocale grazie al rapido diffondersi della chirurgia laparoscopica.

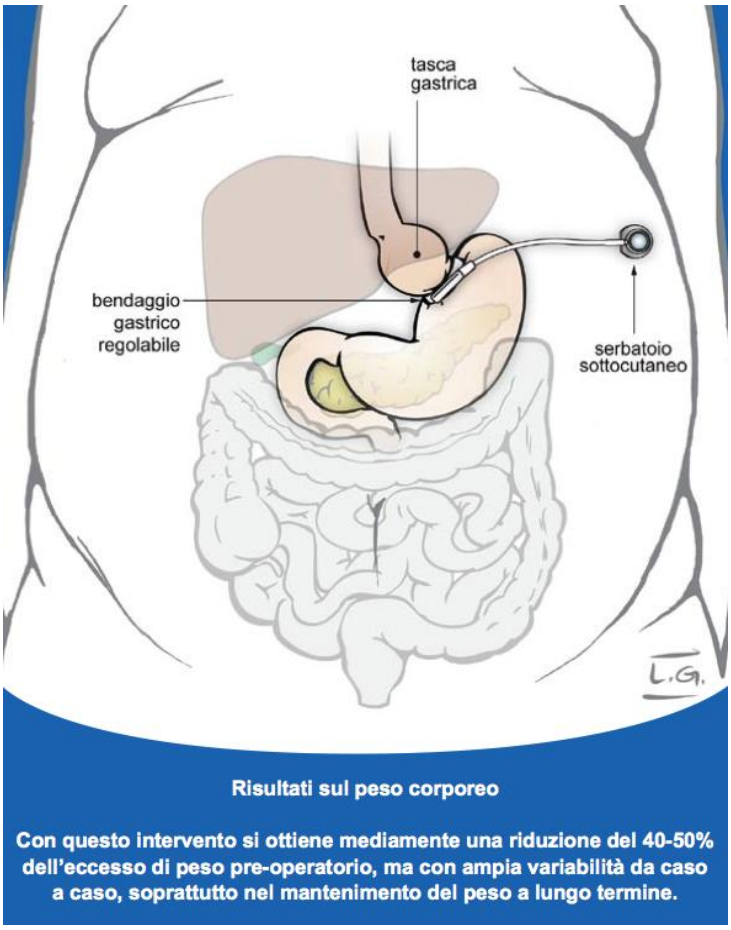
La chirurgia bariatrica, anche per la notevole estensione a livello mondiale del "fenomeno obesità" (globesity), è, oggi, la chirurgia in maggiore e più rapida espansione. L'attuale e più stimolante sfida è il trattamento chirurgico del diabete, attraverso metodiche chirurgiche più o meno diversificate dalle attuali a seconda che sia associata

(diabesity) o meno l'obesità. Vi sono, infatti, inconfutabili evidenze, sperimentali e cliniche, della remissione del diabete, più o meno immediata e più o meno importante nei vari interventi di chirurgia bariatrica [58].
Quando, quindi, siano rispettate le indicazioni ormai codificate, è ampiamente dimostrato che la terapia chirurgica dell'obesità ha una sua ampia giustificazione ed e superiore al trattamento medico nel mantenimento del calo ponderale ottenuto e nella consequenziale scomparsa o riduzione dell'incidenza e della gravità delle co-morbilità.

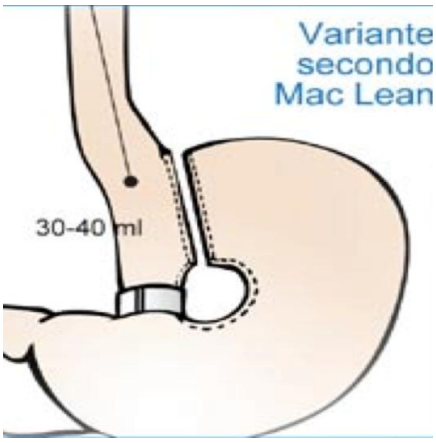
Gli interventi chirurgici attualmente in uso, suffragati da casistiche molto ampie e da un follow-up adeguatamente prolungato sono i seguenti:

1. Interventi che limitano l'introduzione del cibo:
   a) ad azione prevalentemente meccanica (interventi restrittivi):

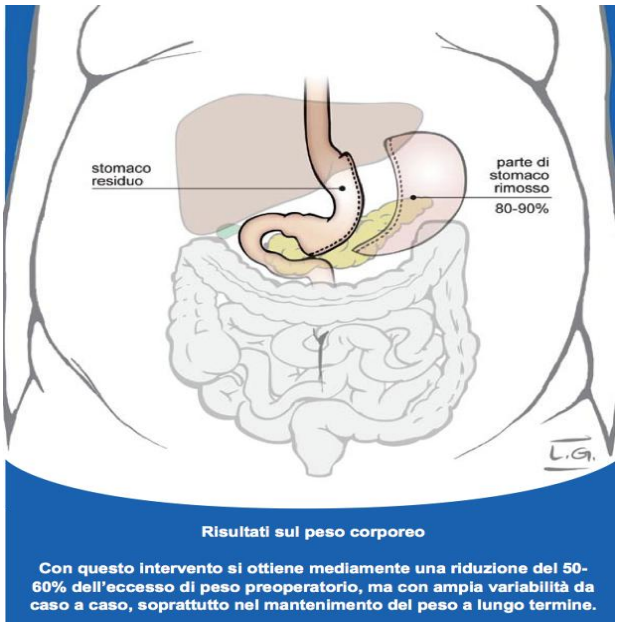
      - bendaggio gastrico regolabile;



• gastroplastica verticale;

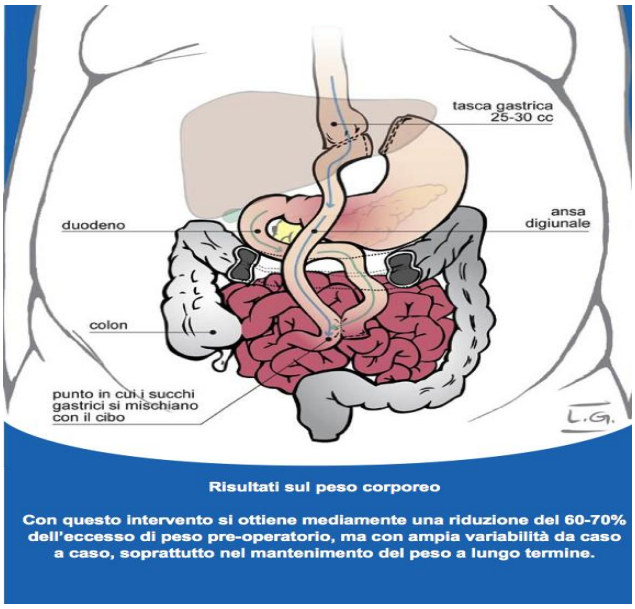


• sleeve gastrectomy (resezione gastrica variamente definibile: verticale longitudinale, parietale o della grande curva);



b) ad azione prevalentemente funzionale:

• bypass gastrico e varianti.



2. Interventi che limitano l'assorbimento di calorie:

• diversione bilio-pancreatica classica secondo Scopinaro e varianti.

La gastroplastica verticale secondo le tecniche di Mc Lean e Mason è di sempre minore applicazione e, negli ultimi casi, eseguita maggiormente per via laparoscopica. Il bypass gastrico e la sleeve gastrectomy sono di contro in costante aumento.

L'applicazione della diversione bilio-pancreatica che ha visto il suo boom negli anni '70 ed '80 è sempre meno applicata oggi per l' ampia morbidità che caratterizza i pazienti trattati a breve e lungo termine.

La chirurgia dell'obesità negli ultimi anni si è trasformata in una chirurgia metabolica capace di influire non soltanto sull'introito calorico ma anche sulle capacità metaboliche attraverso un complicato studio dei pattern biochimici alla base della stimolazione ipotalamica dei centri dell'appetito [58]. Lo studio della grelina e delle incretine[58,59] in particolar modo, ha portato la chirurgia bariatrica ad abbandonare la maggior parte degli interventi restrittivi e malassorbitivi a vantaggio di quelli che influiscono sul metabolismo di quest'ormone [58,59]. Si tratta di due

interventi oggi molto comuni in chirurgia bariatrica: la Sleeve Gastrectomy ed il Bypass Gastrico.

La sleeve Gastrectomy rappresenta un'evoluzione della gastroplastica verticale ideata da Manson negli anni '50 e modificata poi da Mc Leane nel decennio successivo.

Si tratta di un intervento restrittivo che, attraverso una resezione gastrica atipica detta "a manicotto" eseguita su una sonda di calibrazione posta sulla piccola curvatura gastrica, permette di ottenere un volume gastrico residuo di circa 100-150 ml. Tale strategia chirurgica permette da un lato di ottenere un ridotto introito di alimenti e dall'altro una deplezione di grelina che influisce negativamente sui centri dell'appetito. Sfortunatamente, a distanza di un periodo che varia tra i 3 ed i 5 anni si assiste ad un recupero ponderale.

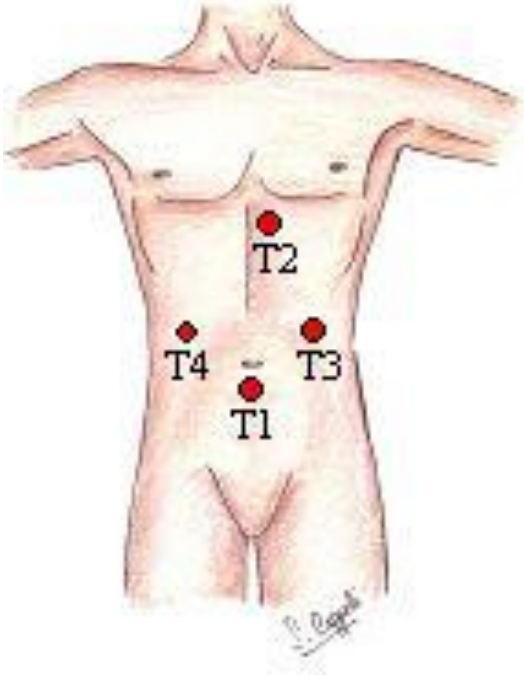
Tale evento è legato ad un progressivo ri-aumento del volume gastrico negli anni successivi all'intervento [57,70]

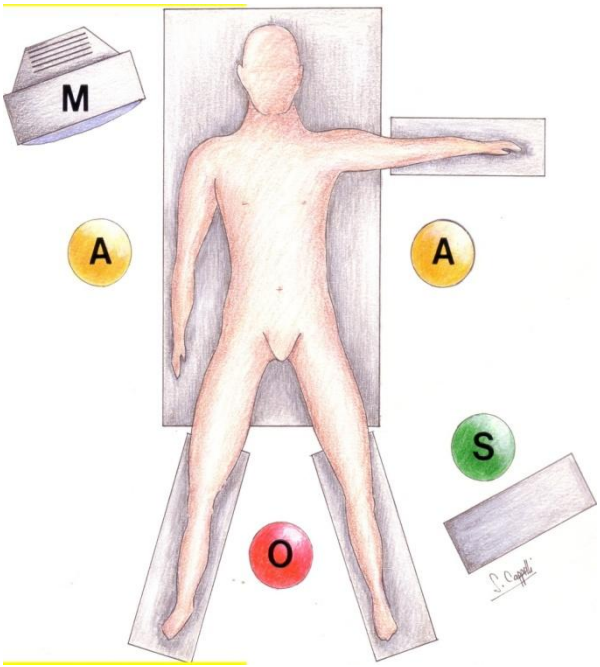
Questa tecnica trova indicazione

- Nei soggetti giovani
- BMI>40 con co-morbidità
- Nel disturbo dell'alimentazione incontrollata

4.1 Sleeve Gastrectomy

L’induzione dello pneumoperitoneo, ad una pressione di insufflazione di 14-16 mmHg di CO2, avviene mediante l’introduzione dell’ago di Veress preferibilmente in sede sottocostale sinistra, attraverso un’incisione che verrà ampliata per il posizionamento di un trocar. Si utilizzano generalmente 4 trocars:





T_{1-4}: trocars

A: Assistenti

S: Strumentista

O: Operatore

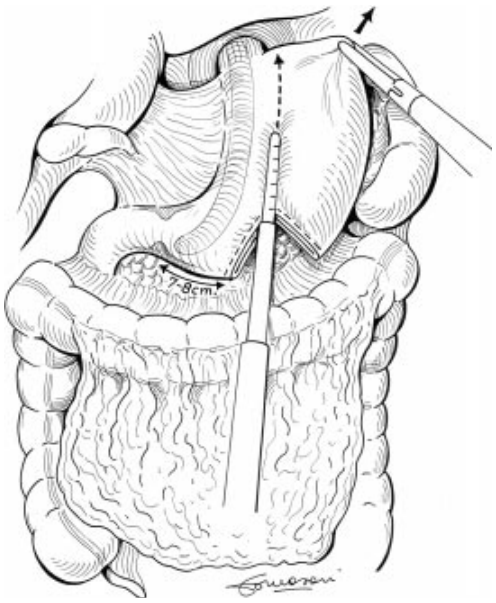
M: Colonna Laparoscopica

La tecnica di introduzione può prevedere un trocar ottico a livello ombelicale (Visiporty - Tyco) o un trocar di Hasson (tecnica open);

– trocar 1 (10/12 mm) posizionato a livello ombelicale, sarà utilizzato per l'ottica.
– trocar 2 (10/12 mm) sottoxifoideo: sarà utilizzato per lo strumento (dissettore o pinza da presa) della mano sinistra dell'aiuto e per il retrattore epatico.
- trocar 3 (10/12 mm) posizionato in sede sottocostale sinistra a livello dell'ascellare anteriore, servirà per l'introduzione di una pinza da presa, per il dissettore e per posizionare l'ottica in fase di sezione gastrica prossimale.
– trocar 4 (10/12 mm) in ipocondrio dx: posizionato in sede sottocostale a livello dell'emiclaveare destra, per l'introduzione della pinza da presa e della suturatrice lineare.

Si esegue la scheletrizzazione dello stomaco lungo la grande curvatura gastrica dalla regione pilorica fino al fondo. E' consigliabile eseguire tale manovra mediante un dissettore ad ultrasuoni o un dissettore a radiofrequenza.
L'anestesista introduce con estrema cautela una sonda oro-gastrica, del diametro di 40F, che fungerà da guida per la tubulizzazione dello stomaco con la creazione di una tasca gastrica verticale della capacita massima di circa 200ml.

Mediante l'utilizzo di una suturatrice lineare introdotta dal trocar in ipocondrio dx (12 mm) si procede alla sezione dell'antro partendo a circa 6-7 cm dal piloro (60 x 4,8 mm).



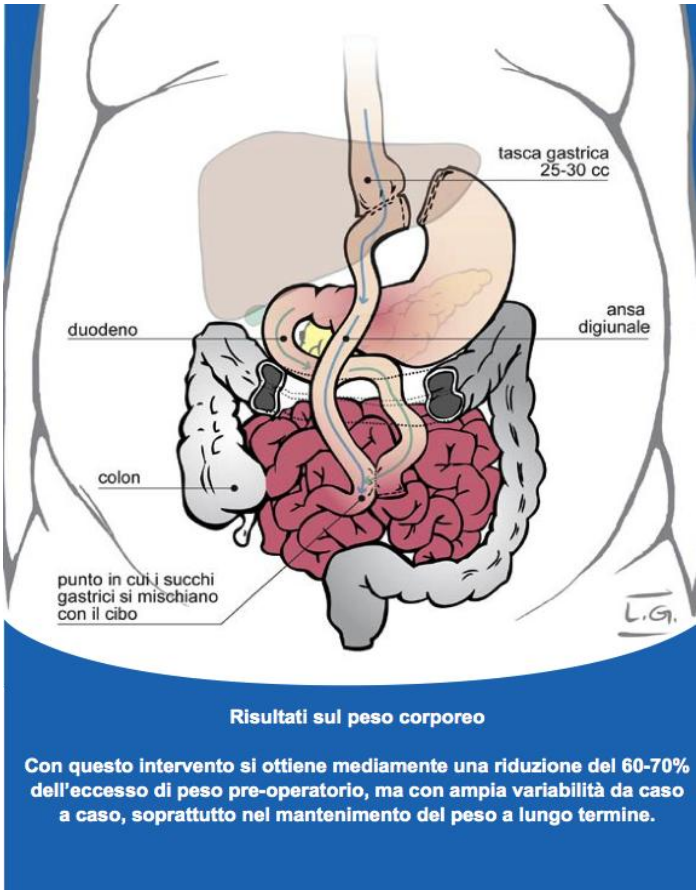
Procedendo in senso craniale rispettando il lume gastrico residuo mantenuto dalla sonda, addossata alla piccola curva gastrica, si sezionano il corpo ed il fondo gastrico utilizzando cariche di diverso spessore (60 x 3,5 mm). Introducendo la suturatrice endoscopica dal trocar ombelicale con spostamento dell'ottica nel trocar in ipocondrio sx si ultima la sezione gastrica.

In questa fase è di primaria importanza la trazione esercitata dall'aiuto sulla grande curva gastrica in modo da poter correttamente determinare la direzione della linea di sezione. Completata la tubulizzazione gastrica si estrae la

parte di stomaco resecata dopo averla introdotta in un endobag.

4.2 Bypass gastrico

Il Bypass Gastrico si basa sulla creazione di una pouche gastrica di 60ml su cui si anastomizza con un' ansa digiunale, a sua volta anastomizzata ad "Y"vcon i primi 60-70 cm di ileo.



In tal modo si induce un senso di sazietà precoce a causa del ridotto volume gastrico, si riduce l'introito calorico per l'esclusione al transito della gran parte degli alimenti, ed

infine si induce anche in questo caso una deplezione di grelina che influisce negativamente sui centri dell'appetito. Gli studi condotti su questa chirurgia [61] mostrano un miglioramento dell'omeostasi glucidica e riduzioni ponderali molto soddisfacenti. Le principali indicazioni per questa chirurgia sono:

- BMI> 50
- Fallimento di pregresse procedure chirurgiche restrittive
- Eating disorder caratterizzata un assunzione costante di piccole quantità di cibo (*Glazing)* oppure di ripetuti "spuntini"ipercalorici *(Snacking).*
- *Sweet eaters*: Ingestione di alimenti glucidici molto calorici e liquidi

Il confronto tra le due tecniche e la migliore indicazione per il singolo paziente è molto discussa in letteratura [62].
La gran parte dei lavori mostra come il Bypass gastrico è associato ad un più alto tasso di riduzione del DM2 e migliori risultati sul calo ponderale rispetto alla Sleeve gastrica. Da tali dati si evince quindi che i pazienti con una

sindrome metabolica ed iperlipidemia hanno un'indicazione maggiore per il bypass. In letteratura la riduzione del DM2 nel Bypass gastrico è dell' 80% contro il 50% ottenuto nella Sleeve [63,64]. Comunque, essendo la Sleeve un intervento meno complesso, è da preferire nei soggetti che hanno fattori di comorbidità maggiori, in quanto gravata da una minore incidenza di complicanze.

Schauer et al. [65] hanno mostrato che in un anno i pazienti trattati con Terapia chirurgica (Sleeve gastrectomy o bypass gastrico) seguita da terapia medica hanno avuto una riduzione dei livelli di emoglobina glicata del 6% rispetto a quelli trattati con la sola terapia medica. In particolare, quelli con il bypass ottenevano controlli glicemici migliori senza l'uso della terapia medica .Tali dati ci indicano che con entrambe le tecniche chirurgiche si ottengono ottimi risultati sul controllo del DM2.

I possibili meccanismi alla base del controllo glicemico sono ancora ampiamente discussi [66,67]. Tra le ipotesi più probabili vi sono quella della grelina [67] e quella dell' intestino corto [66].

La prima ipotesi è comune ad entrambe le tecniche chirurgiche, mentre la seconda più propria del bypass

gastrico. Probabilmente in quest'ultima procedura l'effetto combinato dei due meccanismi permetterebbe il migliore controllo glicemico descritto in letteratura. Inoltre i dati attuali [62-66] mostrano che nel bypass c'è anche un più rapido controllo del DM2, probabilmente perché l'effetto dell'intestino corto con l'esclusione duodenale incide in maniera significativamente maggiore rispetto alla deplezione grelinica. Tuttavia in letteratura non vi sono ancora evidenze certe per questa ipotesi. Sicuramente la maggiore rapidità nel controllo del diabete dipende dal miglioramento dell'insulino resistenza. In un recente studio [67] Korner et al. hanno mostrato che la riduzione dell'insulino resistenza è correlata con la perdita di peso solo nei pazienti sottoposti a bendaggio gastrico e non in quelli con il bypass. Bickman et al. [61] invece, hanno supposto che il miglioramento dell'insulino-sensibilità dopo bypass gastrico è dovuto ad altri fattori rispetto alla perdita di peso, ipotizzando una nuova azione *"intestine-brain-liver"* mediata da fattori ormonali duodenali. Secondo tale teoria questo neuro-circuito aumenterebbe l'insulino sensibilità epatica e la chirurgia bariatrica potrebbe mediare queste funzioni. Chiaramente queste

ipotesi necessitano di ulteriori studi ed evidenze scientifiche.

L'effetto della deplezione ghrelinica non è stato ancora dimostrato in letteratura. Unica evidenza scientifica è che questo ormone è prodotto dalle cellule della mucosa gastrica oxintica ed in minor parte dalla mucosa duodenale.

I risultati presenti in letteratura sulla sleeve gastrectomy sono ascrivibili al suo ruolo di "chirurgia restrittiva". Alcuni autori in letteratura [68-71] hanno valutato i risultati di questa chirurgia in rapporto al volume gastrico residuo mostrando risultati contraddittori.

Utilizzando sonde di 40F e 50F in 2 gruppi di pazienti, Atkins ER at al. [69] hanno confrontato i gruppi in termini di riduzione ponderale e risoluzione delle comorbilità.

I loro risultati hanno mostrato vantaggi significativi per il primo gruppo: una perdita ponderale nei primi 24 mesi (calcolata con %EWL: eccesso BMI =[BMI iniziale – BMI del Follow up/ BMI iniziale –25]×100.) del 73,7% e del 60,4% rispettivamente. In studi analoghi per uno stesso periodo di follow up i risultati sono stati in favore della sonda da 50Fr: % EWL è stata del 65% (gruppo sonda da 40 Fr) e del 71% (gruppo sonda da 50 Fr) [70]. Un altro

studio [60] su 53 pazienti con un follow-up di 3 anni ha riportato % EWL dell' 89% con una sonda più piccola (34F) [71].

Pur mostrando in tale ambito grande disaccordo, questi autori [60,69,70] hanno mostrato un comune recupero ponderale da 30 a 48 mesi post-LSG, indipendentemente dalle dimensioni della sonda. E' ormai acclarato che dopo la perdita di peso iniziale (primi 18 mesi), i pazienti non riescono a fare i significativi cambiamenti di stile di vita necessari per sostenere il ridotto Peso raggiunto [71]. C'è inoltre un certo grado di dilatazione gastrica negli anni successivi alla chirurgia [60,71,72].

Il periodo in cui si verifica il plateau di perdita di peso fornisce una finestra in cui una revisione dello stile di vita, la dieta e l'attività fisica possono contribuire al calo ponderale.

Se tali risultati sono contraddittori, la letteratura è univocamente d'accordo sul fatto che sonde di diamentro inferiore a 40 F possano comportare un incremento delle complicanze e della morbilità post operatoria. È stato recentemente dimostrato che l'utilizzo di grandi sonde può ridurre l'incidenza di leakage post-operatorio del 66% [70].

Tuttavia uno studio francese afferma, con dati non esaustivi, che anche una sonda da 36 F è ben tollerata [72]. In questo studio non è stata riscontrata alcuna differenza nelle complicanze nei gruppi esaminati ed il RR è stato dell'8,5%. Lo studio di Atkins ER [69], invece, ha mostrato una differenza significativa tra l'utilizzo di sonde di 40F e 50F in termini di riduzione di comorbidità: la probabilità di dislipidemia, HTA e DM2 erano rispettivamente 19.0 , 3.6 e 5.3 volte maggiore in quelli trattati con la sonda da 40F rispetto a quelli trattati con la 50F.

La risoluzione della dislipidemia in quelli trattati con la 40F è di circa il 42%. Un altro studio con 126 pazienti ha riportato tassi di risoluzione del 73% [73].

Come si evince dal confronto di questi dati esiste una eccessiva variabilità dei risultati ottenuti. Tutto ciò rende difficile trarre delle conclusioni certe. Questo fatto è a nostro avviso, dovuto alla grande quantità di variabili presenti. Inoltre, ci sono dei potenziali fattori confondenti del rapporto con comorbilità, come ad esempio i fattori socio-demografici, che spesso variano ampiamente tra le diverse popolazioni e che possono influire in termini di stile di vita sui risultati. Ad esempio nello studio di Atkins [69]

la percentuale di pazienti con assicurazione sanitaria privata era significativamente più bassa in quelli trattati con la sonda da 50F rispetto a quelli trattati con la sonda 40F. La non omogeneità sociale ed economica dei gruppi studiati da questi autori può essere alla base della variabilità dei risultati ottenuti.

Un' altro limite di questi studi è la perdita dei pazienti al follow up: mediamente il 28,2% dei pazienti vengono persi a 48 mesi [60,69,72,73]: i risultati vengono influenzati perché i pazienti persi al follow-up sono quelli con i risultati peggiori, creando un bias non indifferente.

5.0 Risoluzione del Diabete mellito di tipo II dopo Laparoscopic Sleeve Gastrectomy:

Effetti metabolici della Chirurgia bariatrica

5.1 Introduzione dello studio

I risultati dei molteplici studi presenti in Letteratura riportano risultati diversi per quanto riguarda sia la perdita di eccesso ponderale (% EWL) e sia la riduzione di comorbidità a medio e lungo termine dopo LSG [74-76]. Tale contraddittorio è sostanzialmente legato alla multifattorialità dell'obesità che non rende possibile identificare una sola strategia terapeutica per tutti i pazienti che ne sono affetti.

Tuttavia alla luce di quanto esposto fin'ora la Letteratura scientifica ha messo in evidenza due meccanismi per spiegare la risoluzione del Diabete Mellito di tipo II (DM2) dopo LSG : il recupero dell' insulino-sensibilità dopo riduzione ponderale e le modificazioni dell'assetto degli ormoni intestinali indotte dall'LSG [76–82]. La rimozione del fondo gastrico e l'accellerato svuotamento gastrico dopo LSG sono stati proposti per spiegare queste

variazioni ormonali sottolineando il ruolo dello stomaco nella regolazione del metabolismo del glucosio[80,83,85].

Inoltre alcuni autori hanno suggerito che le variazioni dei livelli di Ghrelina e di GLP-1 dopo LSG possono giocare un ruolo pilota nel controllo glicemico e nell'insulino resistenza [80–82].

Tuttavia gli effetti a lungo termine di tali variazioni ormonali e della riduzione ell'eccesso ponderale sull'omeostasi glucidica dopo LSG non sono stati ancora chiaramente definiti.

L'obiettivo dello studio presente è quello di valutare a lungo termine le variazioni in termini di percentuale di riduzione dell'eccesso ponderale (%EWL), della Ghrelina e del GLP-1 dopo LSG e i loro effetti sulla secrezione insulinica, sull'insulino resistenza e risoluzione del Diabete Mellito tipo II nei pazienti obesi.

5.2 Materiali e metodi

In uno studio prospettico osservazionale sono stati osservati pazienti affetti da obesità patologica sottoposti a LSG tra il Luglio 2016 e aprile 2017.

In accordo con il National Institutes of Health, sono stati arruolati tutti i pazienti con body mass index (BMI) ≥40 kg/ m^2 o pazienti con BMI ≥35 kg / m^2 e almeno un fattore di coomorbilità correlato (ipertensione, Diabete mellito tipo 2,sindrome metabolica, OSAS). Altri criteri di inclusione sono stati:

1-diabete di durata inferiore a 10 anni (La letteratura evidenzia un cut-off di 10 anni come fattore prognostico negativo per gli effetti dell'LSG sul diabete) [85,86];

2-diagnosi di Diabete mellito tipo 2 scarsamente controllato negli ultimi 6 mesi) nonostante la somministrazione di farmaci ipoglicemizzanti per 6 mesi;

3- livelli di emoglobina glicata (HbA1C) ≥6,5%;

4- età compresa tra 20 ed i 60 anni;

5- no terapia corticoidea.

Prima dell'intervento chirurgico, ogni paziente è stato valutato e seguito per almeno 6 mesi da un equipe multidisciplinare che includeva lo psicologo, l'endocrinologo, il gastroenterologo ed il nutrizionista per meglio definire le indicazioni all'intervento bariatrico.

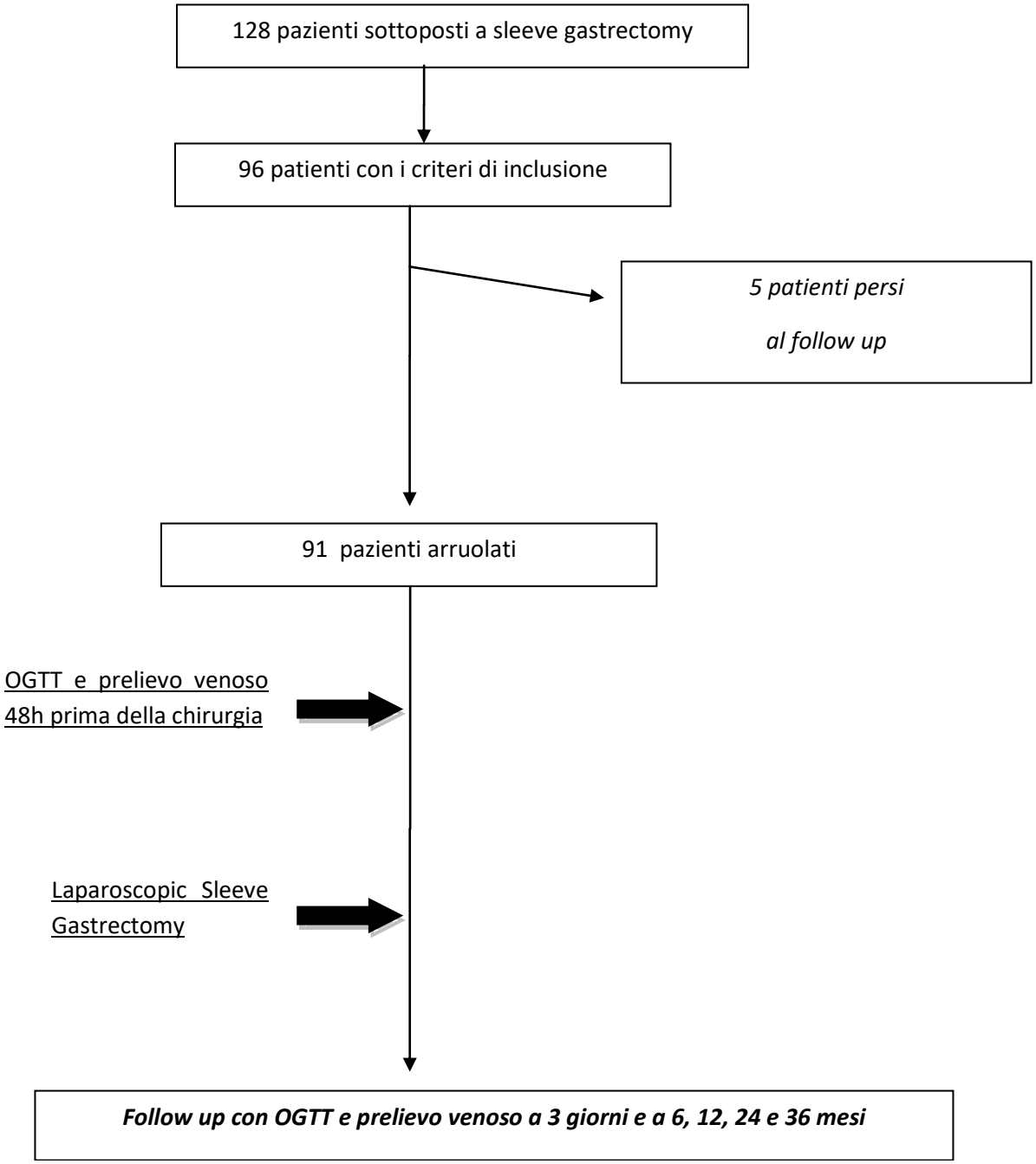
La perdita di peso è stata espressa in termini di % EWL %Excess Weight Loss, calcolato con un ideal body weight (IBW) equivalente ad un BMI di25 kg / m^2 secondo la formula seguente.

Percentage of excess weight loss

$$(\%EWL) = \frac{baseline\ weight - follow\ up\ weight}{baseline\ weight - IBW}\ x\ 100$$

Solo 96 pazienti su un totale di 128 arruolati per LSG hanno rispettato i criteri di inclusione (2 pz con durata del diabete superiore a 10 anni e 30 pazienti senza diabete sono stati esclusi dallo studio). Inoltre 4 pazienti sono stati persi durante il follow up: il numero finale dei pazienti arruolati è stato quindi di 91.

Study design



5.2.1 Tecnica chirurgica e management post-operatorio

La LSG è stata eseguita con 4 trocars: 3 trocars da 10 mm (ombelicale, sottocostale destro, sottocostale sinistro) e uno da 5 mm in epigastrio. L'omento è stato sezionato usando la dissezione ad ultrasuoni (ACE® Ethicon Endo-Surgery). La sezione gastrica è stata eseguita a partire da 6 cm oltre il piloro, sulla guida di un tubo gastrico da 40 French. Si è utilizzata una suturatrice lineare per sezionare il corpo gastrico (Echelon® 60 millimetri Ethicon Endo-Surgery), con 6 cariche: 2 verdi e 4 blu. Un drenaggio è stato sempre posizionato in prossimità della linea di sezione. Un test con blu di metilene è stato utilizzato per dimostrare l'integrità del manicotto gastrico. Nessuna sutura di rinforzo è stata utilizzata in caso di negatività a tale prova. Uno studio contrastografico del tratto gastro-intestinale superiore è stato effettuato in tutti i pazienti nel secondo giorno postoperatorio. I pazienti sono stati dimessi in VIII giornata post-operatoria.

5.2.2 Investigations

Un test di tolleranza orale al glucosio (OGTT) con 75 g di glucosio (volume in un totale di 400 ml) è stato somministrato la mattina dopo 12 ore di digiuno notturno. Durante la notte solo 1,5 litri di soluzione fisiologica IV è stata somministrata senza farmaci antidiabetici. Sono stati esclusi dallo studio i pazienti con un livello di glucosio plasmatico basale (PGL) superiore a 200mg / dl. L'OGTT è stato eseguito a tutti i pazienti 48 ore prima dell'intervento chirurgico, 3 giorni dopo la procedura e poi rispettivamente a 6, 12, 24 e 36 mesi dopo LSG. Dopo il test sono stati misurati:

-PGL

-%HbA1C

- secrezione di insulina

-insulino-resistenza

- Ghrelina

-GLP-1

I Campioni di sangue per il dosaggio dell'insulina ,calcolati dall'area totale sotto la curva (AUC), sono stati raccolti

rispettivamente a 1 , 30 , 60 , 90 e 120 minuti dopo il carico orale di glucosio.

La risposta glicemica precoce è stata misurata con l'indice insulino genico (IGI) : (insulina radio-immune (IRI) $_{30\ min}$ - $IRI_{digiuno}$ / $PGL_{30\ min}$ - $PGL_{fasting}$) [87]. L'insulino-resistenza è stato valutata usando l' *Homeostasis model assessment* ($HOMA_{IR}$): ($IRI_{fasting}$ [mU / mL] × $PGL_{fasting}$ [mM] /22.5) [15]. Il livello di Ghrelina e GLP-1 è stato valutato prima dell'intervento e 15 minuti dopo l'OGTT. Il follow-up postoperatorio è stato condotto da un chirurgo bariatrico del nostro Team 3, 6, 12, 24 e 36 mesi dopo l'operazione. Il nostro team ha monitorato il paziente ogni 3 settimane.

Abbiamo quindi considerato come risolto il diabete con PGL < 100 mg / dL e %HbA1<6,5% senza l'utilizzo di terapia ipoglicemizzante [81].

Gli end-points sono stati quelli di valutare la risoluzione del DM2, la risposta secretoria insulinica, l'insulino resistenza e le modificazioni delle concentrazioni plasmatiche di Ghrelina e GLP-1 dopo LSG. Il nostro obiettivo è stato quello di valutare se LSG influenzi il metabolismo del

glucosio come effetto diretto delle variazioni ormonali indotte dall'intervento o come evento correlato alla %EWL

5.2.3 Indagini di Laboratorio

I prelievi ematici sono stati eseguiti 48 prima dell'intervento, 3 giorni dopo la procedura e nel proseguimento del follow-up rispettivamente a 6, 12, 24, 36 mesi . I PGL sono stati misurati immediatamente usando il "*Glucose Oxidate method"* (YSI 2300 STAT Plus; YSI Yellow Springs, OH). La concentrazione plasmatica dell'insulina è stata misurata come radio-immuno-insulina (IRI) con il *"INSI-CTK radioimmunoassay"*(DiaSorin S.P.A., Saluggia (VC), Italy).

La concentrazione di HbA1C è stata determinata con un immunotest di inibizione turbidimetrica diretta che determina Hb1AC come una pecentuuale del totale dell'emoglobina (% HbA1C; Thermo Fisher Scientific). I test sono stati eseguiti su un analizzatore automatico *"Indiko Plus"* (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, United States) e i risultati sono stati riportati come %HbA1C.

La Ghrelina Plasmatica è stata misurata utilizzando un RIA Kit commerciale (Phoenix Pharmaceuticals Inc., Phoenix, AZ). Il GLP-1 invece è stato misurato utilizzando un ELISA Kit (Linco Research, St. Charles, MO). I campioni sono stati infine raccolti in tubi contenenti l' inibitore DPP-IV (Millipore, Billerica, MA).

5.2.4 Analisi Statistica

Lo studio è stato disegnato come prospettico osservazionale. La distribuzione dei dati è stata calcolata con il Test di Shapiro-Wilk. I Calcoli sono stati fatti sulla base di una potenza statistica di 1-β =0.90, una significatività Alpha a 0.5 , un errore di II tipo = 0.10 e una correlazione durante il follow up di 0.70 usando il 2-tailed test (SoftwareStata/IC12.1: sampsi – sample size and power formeans and proportions; StataCorp., College Station, Texas, USA). Poiché i dati non hanno una distribuzione normale, le medie delle differenza sono state confrontate tra i 2 gruppi con un analisi di varianza non parametrica (Kruskal-Wallis test). Una analisi post-hoc è stata poi utilizzata per confrontare le coppie di medie con il Mann-Whitney U test e l'aggiustamento di Bonferroni per le comparazioni multiple. La significatività per l'analisi

univariata è stata valutata con un $p < 0.0167$. Le variabili di categoria, espresse in percentuale, sono state comparate con il test del chi quadro, la correlazione di Pearson (r) e l'ANOVA per le misurazioni ripetute. La potenza della correlazione lineare è stata infine valutata come moderata ($0.3 < r < 0.8$) e forte ($r \geq 0.8$). Un modello di regressione lineare aggiustato a sesso, età e livello iniziale di BMI è stato infine eseguito per determinare l'associazione tra la risoluzione del DM2 e le caratteristiche generali dei pazienti 36 mesi dopo la chirurgia

5.3 Risultati

Quattro pazienti sono stati esclusi a causa di un PGL> 200 mg/dl. Le caratteristiche dei pazienti, totalmente sovrapponibili, sono mostrate nella tabella sottostante

Età, media±SD	41.4±12.6
BMI, media±SD	45.3±6.1
sesso, n(%) donne	55 (64.7%)
Durata del Diabete (mesi)	47 ± 19
Indice insulinogenico	0.02 ± 0.03
$HOMA_{IR}$	9.3 ± 6.7
HbAc1%±SD	8.1 ± 1.5
PGL ±SD (mg/dl)	175±24
Utilizzo di ipoglicemizzanti orali (%)	68 (80%)
Utilizzo di insulina (%)	45 (52.9%)

BMI: body mass index
SD: deviazione standard
HbAc1: Emoglobina A1c Glicata
PGL: Livello di glucosio plasmatico
$HOMA_{IR}$: homeostasis model assessment

I paramentri biochimici dell'insulino-sensibilità e dell'insulino-resistenza hanno mostrato una media di IGI e di $HOMA_{IR}$ rispettivamente di 0.02± 0.03 e 9.3± 6.8. L'utilizzo di insulina e di ipoglicemizzanti orali è stato

	Before Surgery	*3th days*	*6th month*	*12th month*	*24th month*	*36th month*
Hypertension	56 (65.8%)	56(58.8%)	28 (65.8%)	20 (23.5%)	18 (21.2%)	15 (17.7%)
Sleep apnea	24 (28.2%)	22 (25.9%)	15 (17.6%)	12 (11.8%)	8 (9.4%)	8 (9.4%)
GERD	30 (35.1%)	49 (57.6%)	47 (55.3%)	39 (45.9%)	39 (45.9%)	32 (37.6%)
%EWL	-	4.4±8.7	23.9± 14.4	36.5± 11.9	55.8±12.7	62.9±11.3
HbA1c %	-	8.1±1.8	6.5± 1.5	6.1 ±1.6	5.4±1.4	4.9±1.8
Basal PGL (mg/dl)	-	153±47	128±26	117±25	109±22	107±19
Postoperative resolution of DM2 n. pts (%)	-	8(9.4%)	36(42.3%)	61(71.8%)	69(81.2%)	78(91.8%)

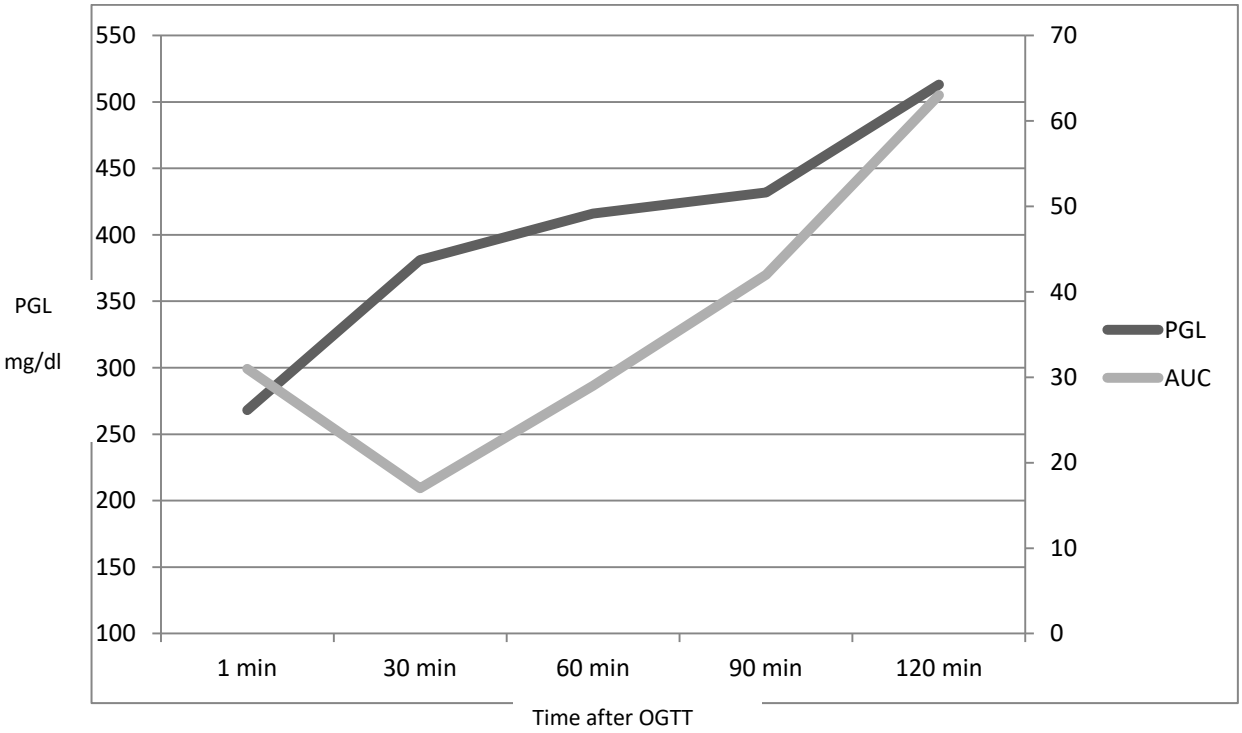
rispettivamente di 52.9 (45 pazienti) e di 80% (68pazienti).

5.3.1 Percentuale di riduzione di eccesso ponderale e remissione del Diabete

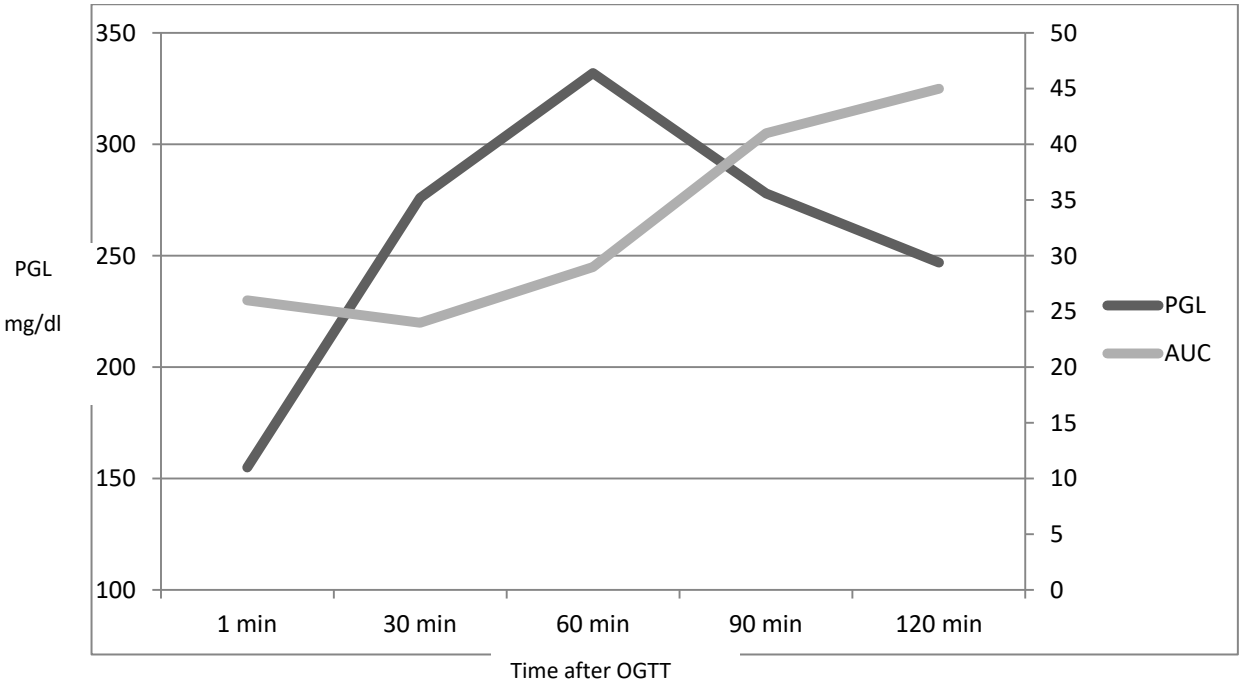
La media di %EWL in terza giornata e poi 6, 12, 24, 36 mesi dopo LSG è stata rispettivamente di 4.4%, 23.9%, 36.5%, 55.8%, 62.9% rispettivamente. Inoltre durante il follow-up si è assistito ad una progressiva riduzione in PGL ed in %HbA1C.Una tipica curva glicemica diabetica è stata registrata 48 ore prima dell'intervento. Si è assistito poi ad un miglioramento di questa curva durante il follow up diventando quasi normale al 36 mese post-intervento. Medesimo trend si è evidenziato per i livelli di concentrazione glicemica plasmatica. Per quanto concerne invece AUC, una tipica curva di secrezione insulinica diabetica OGTT-Pattern è stata osservata prima dell'intervento. In accordo con quanto si evidenzierà per IGI e $HOMA_{IR}$, già dalla terza giornata post-opertoria la AUC è risultata migliorata. Inoltre a 24 e 36 mesi come mostrato dalle figure sottostanti,

I grafici della pagina seguente mostrano tali modificazioni avvenute nel corso del follow up

A) 48 ore prima LGS

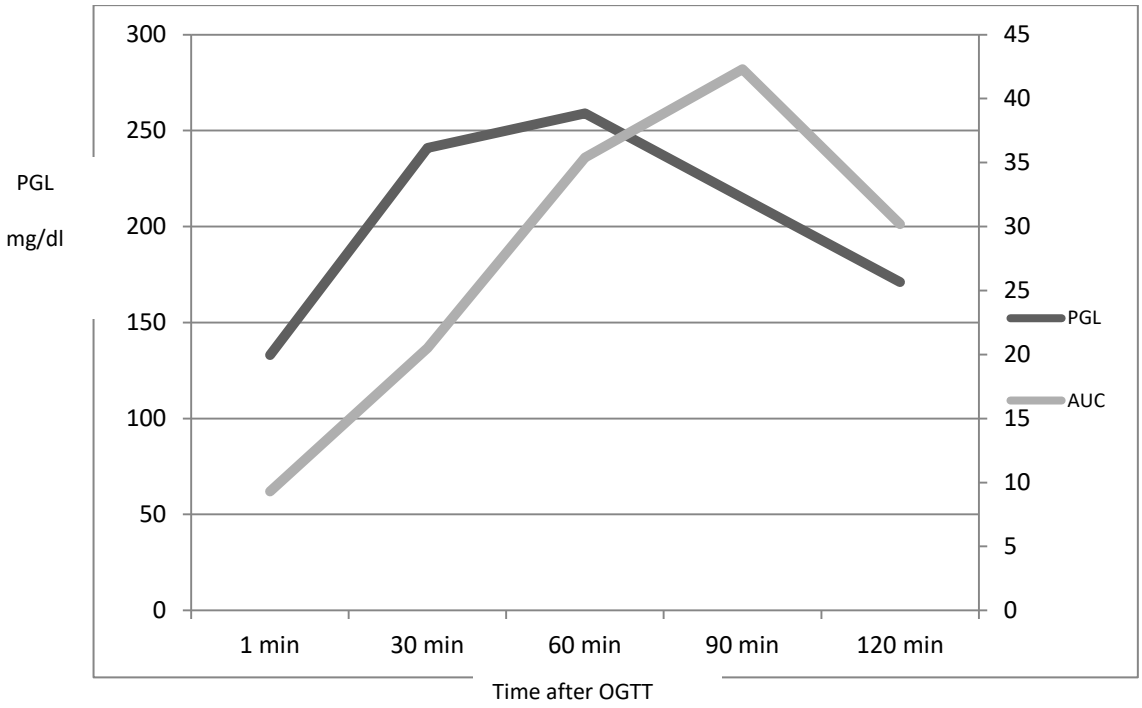


B) 3 giorni dopo LGS

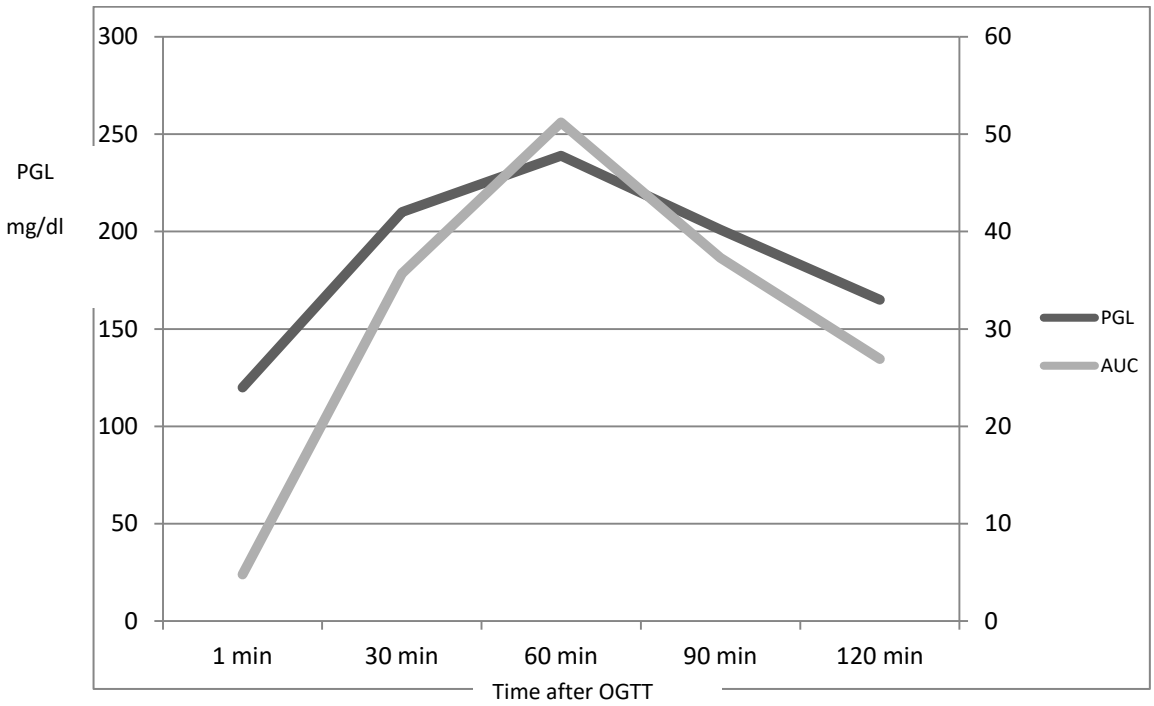


PGL: Plasma Glucose Level ; AUC: Area totale sotto la curva

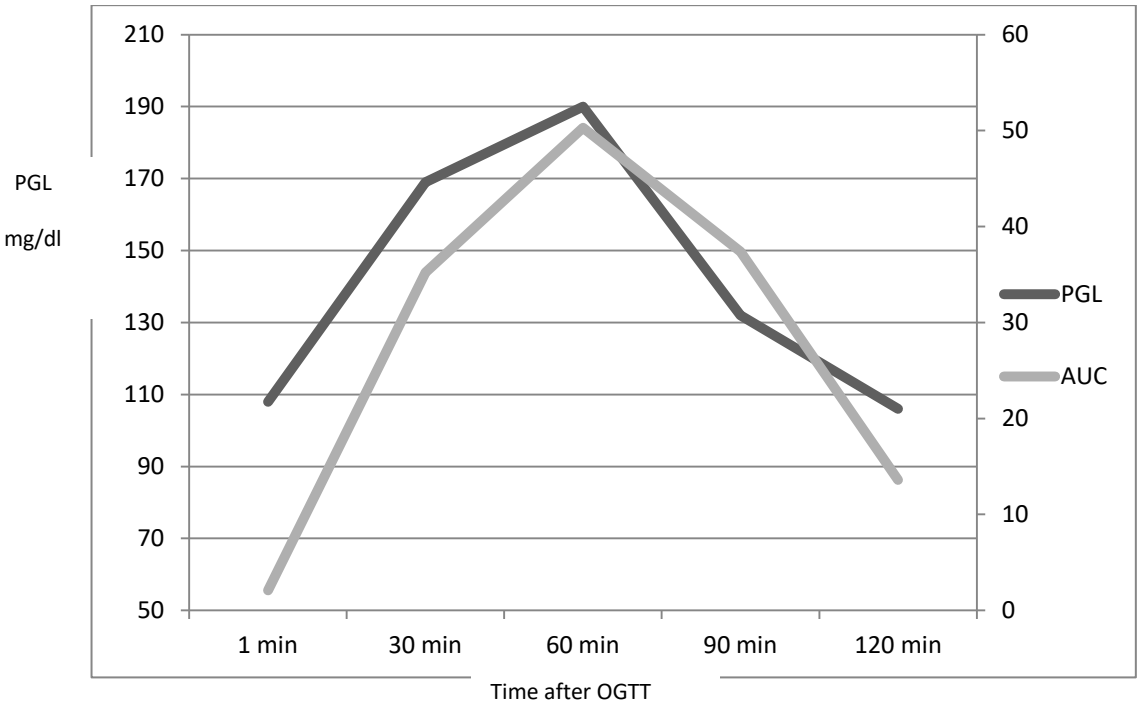
C) 6 mesi dopo LGS



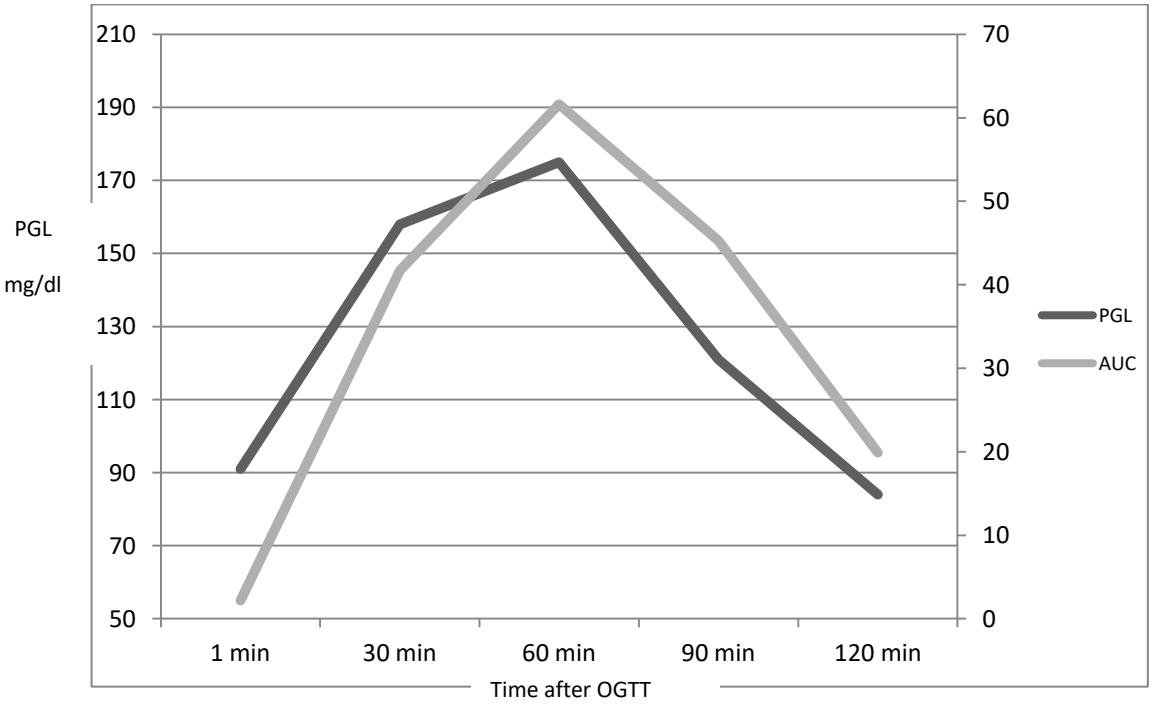
D) 12 mesi dopo LGS



E) 24 mesi dopo LGS



F) 36 mesi dopo LGS



In accordo con questi risultati il tasso di risoluzione del DM2 è stato del 9.4%, 42.3%, 71.8%, 81.2% and 91.8% rispettivamente in terza giornata e poi 6, 12, 24, 36 mesi Inoltre i risultati dall'analisi di regressione logica multivariata del tasso di risoluzione del DM2 controllato sull'effetto di sesso, età, iniziale BMI, utilizzo di ipoglicemizzanti orali e durata del diabete come mostra la tabella seguente, non ha evidenziato differenze

	O.R.	95% C.I.	P value
Sesso	1.38	0.46; 3.37	p=0.77
età	1.23	0.71; 1.28	P=0.06
Iniziale BMI	1.41	0.73; 1.16	p=0.12
uso di ipoglicemizzanti orali	1.35	0.46; 2.20	p=0.66
Uso di insulina	1.72	0.69; 1.37	P=0.24
Durata del Diabete	2.07	0.97; 1.28	p=0.43

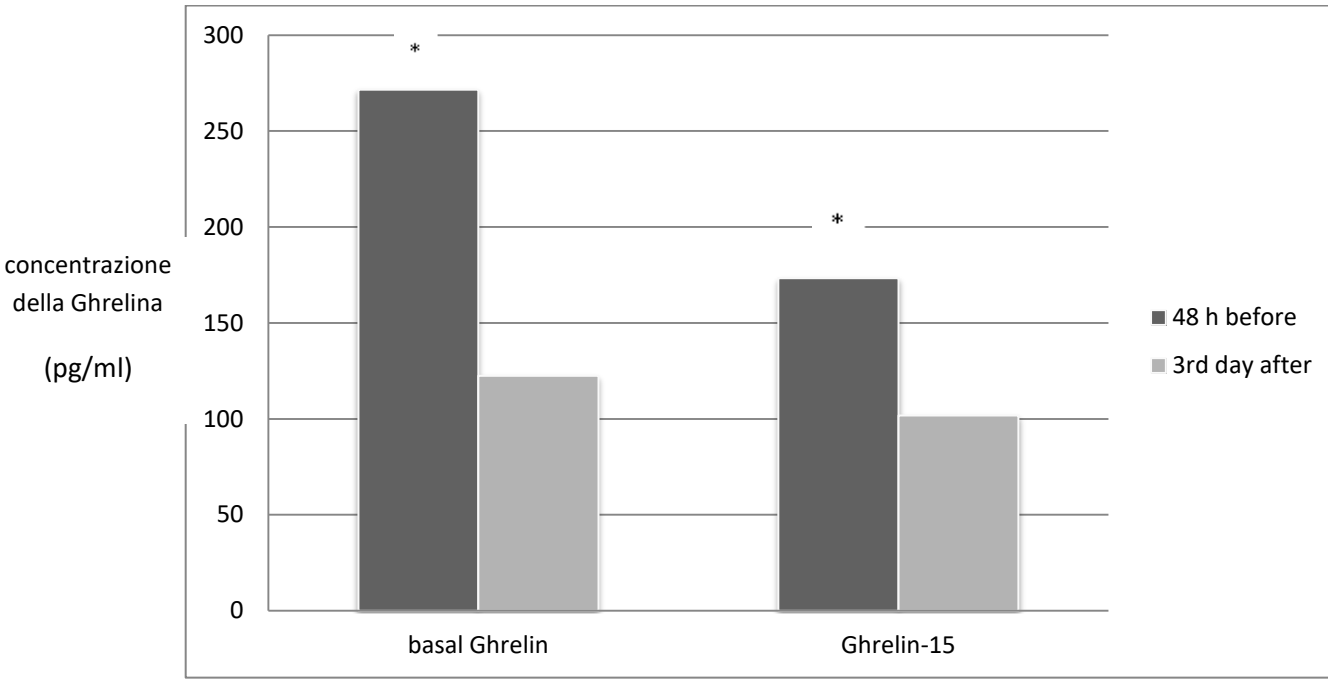
significative.

5.3.2 Variazioni di concentrazione plasmatica di Ghrelina e GLP-1

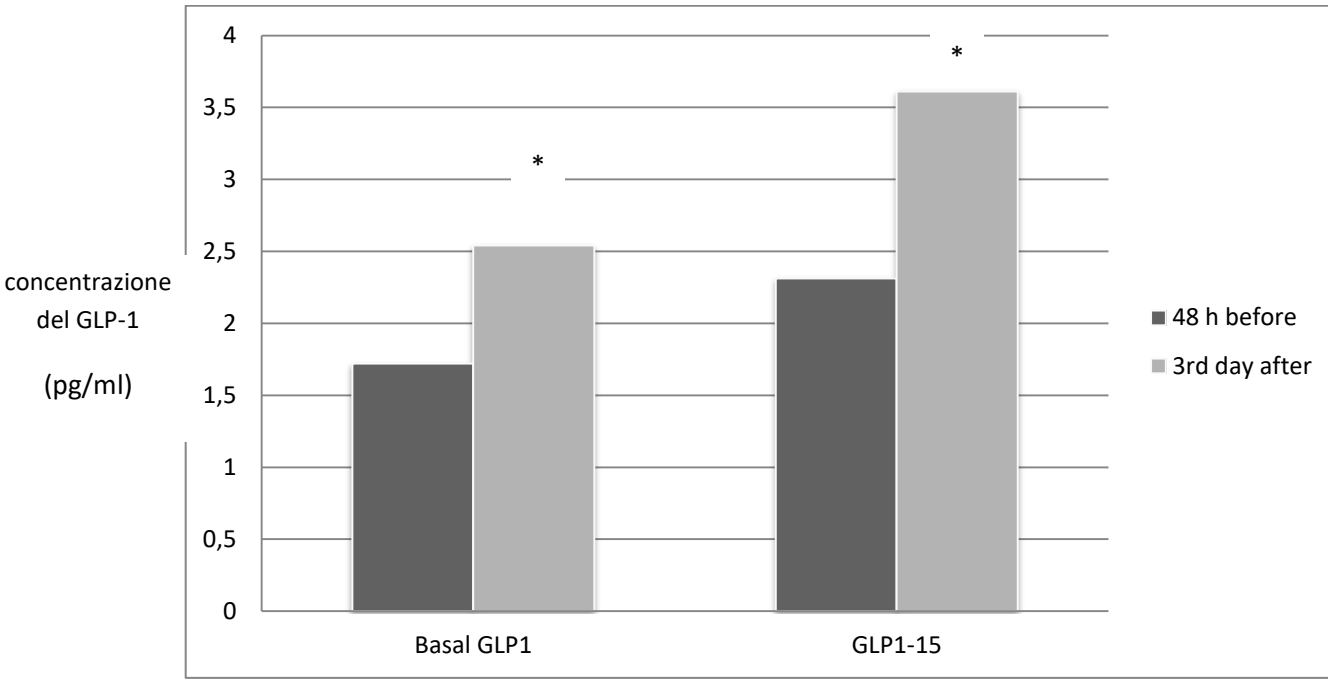
La concentrazione basale di Ghrelina plasmatica si riduce in maniera significativamente rapida dopo LSG (271.5 ± 24.5 pg/mL versus 122.4 ± 23.4 pg/mL, P =0 .04), cosiccome i livelli di Ghrelina dopo 15 min (Ghrelina-15) durante l'OGTT (173.4 ± 36.1 pg/mL versus 101.7 ± 28.9 pg/mL, P =0.03).La Ghrelina-15, dopo un'iniziale riduzione, tendeva a riaumentare lentamente durante i 36 mesi successivi, come evidenziato dai grafici nelle pagine seguenti. Inoltre la concentrazione di Ghrelina Plasmatica ha mostrato un significativo aumento a 36 mesi confrontata con la medesima misurazione eseguita 3 giorni dopo LSG (2.5 ± 2.4 pg/mL versus 0.07 ± 1.3 pg/mL, P = 0.03).

Contrariamente, la concetrazione plasmatica basale di GLP-1 è significativamente aumentata subito dopo LSG (1.7 ± 2.6 versus 2.5 ± 3.4 pg/mL, P =0.04) per raggiungere il picco dopo 6 mesi dalla procedura chirurgica (2.8 ± 2.6 pg/mL). Inoltre GLP-1-15 nell' OGTT ha mostrato una progressiva riduzione durante il restante periodo del follow up.

A) concentrazione Plasmatica Basale e dopo 15 min dall' OGTT

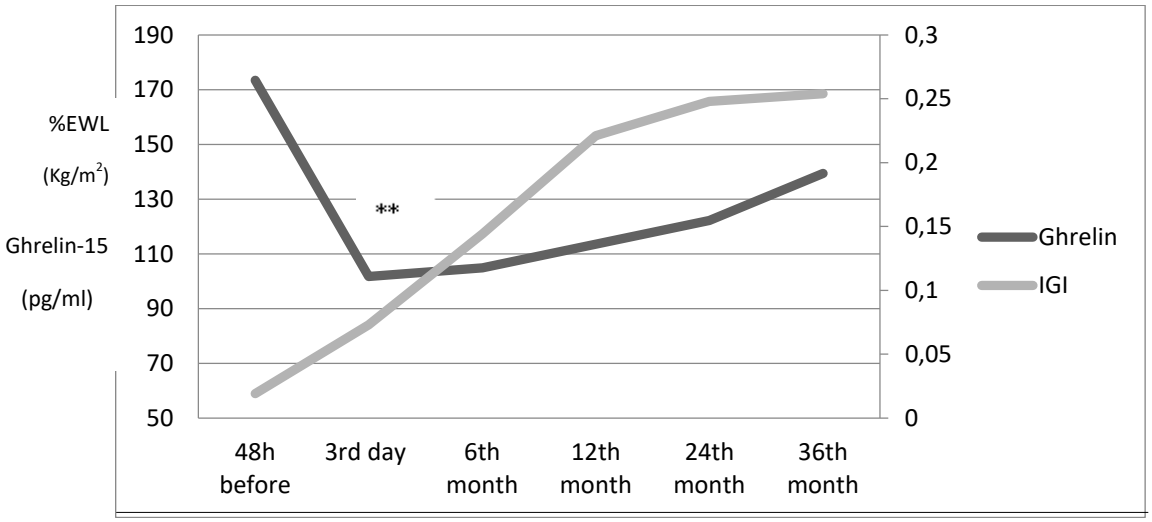


B) concentrazione Plasmatica Basale del GLP-1 e dopo 15 min dall' OGTT

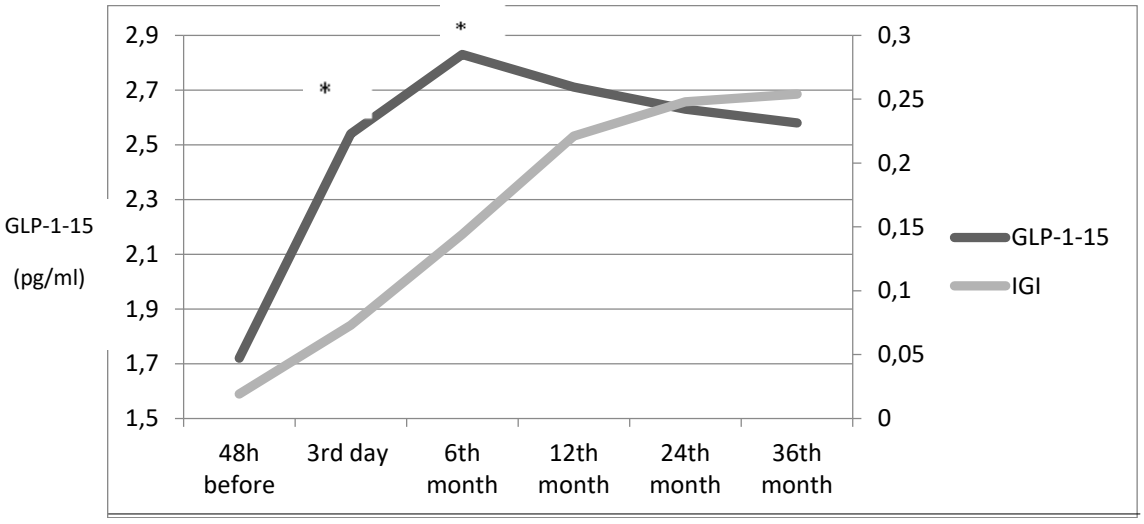


* Statistically significant difference between each group using Kruskal Wallis test

A) Ghrelin-15 and IGI



B) GLP-1 -15 and IGI



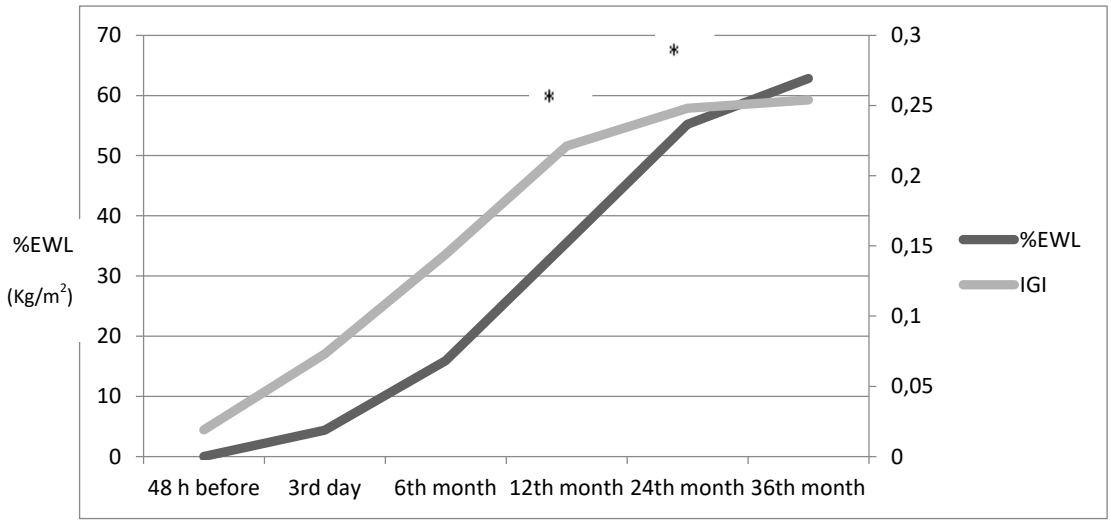
* significativa correlazione positiva (coefficiente di Pearson : r>0.8)

** significativa correlazione negativa (coefficiente di Pearson : r>0.8)

5.3.3 Insulino secrezione, insulino resistenza e correlazione lineare

La media di IGI prima dell'intervento è stata di 0.2 ± 0.03.

La figura sottostante ha evidenziato che IGI aumenta costantemente durante l'intero periodo di follow up.



*significativa correlazione lineare positive (Test di Pearson r>0.8)

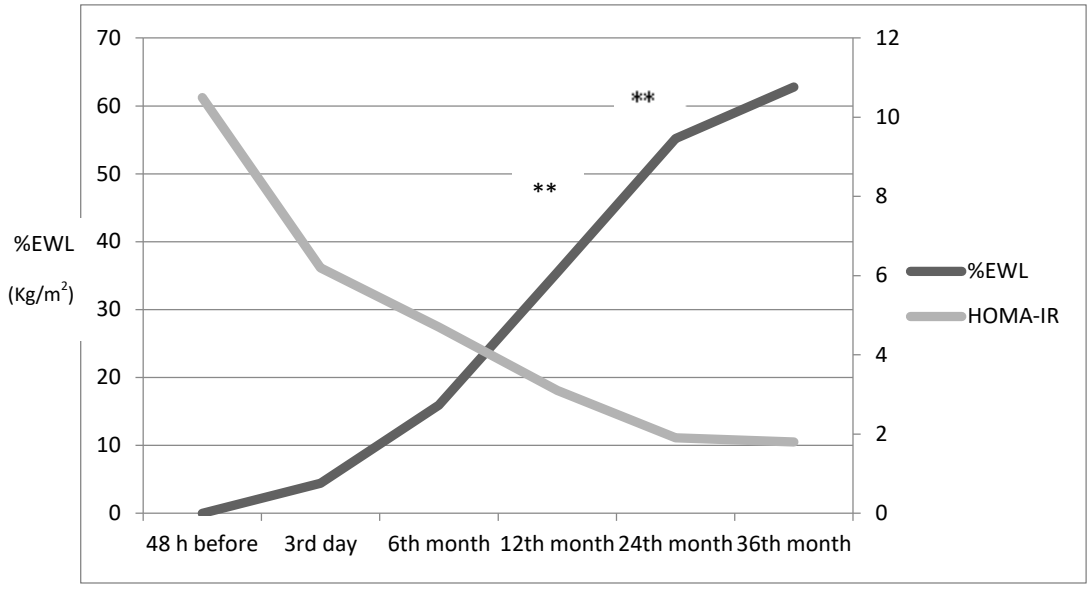
Un immediato miglioramento dell'insulino-secrezione è stata osservato, con un significativo incremento dell' IGI in terza giornata post-operatoria confrontata con lo stesso valore nelle 48 ore prima della chirurgia (0.02 ± 0.03 versus 0.07 ± 0 .02 P =0.03). Come evidenziato dai grafici

precedenti, %EWL e IGI mostrano una correlazione lineare positiva (r) durante l'intero periodo di follow up: 0.4, 0.5, 0.8, 0.8 e 0.1 rispettivamente in terza giornata post operatoria, a 6, a 12, a 24 ed a 36 mesi dopo l'intervento chirurgico. Inoltre si è evidenziata una "forte" correlazione positiva (r>0.8) a 12 e 24 mesi. Il nostro studio ha poi mostrato una forte correlazione, questa volta negativa (r<-0.9) tra Ghrelina, IGI in terza giornata post-operatoria ed una forte correlazione positiva con GLP-1 in terza giornata post-operatoria (r=0.8) ed a 6 mesi (r=0.8).

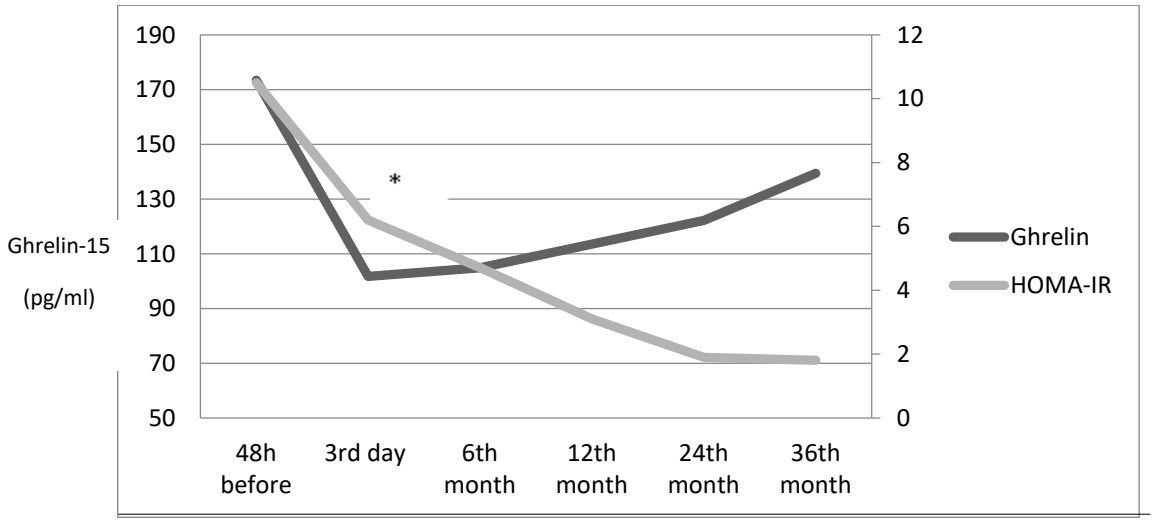
Risultati simili sono stati registrati nella valutazione di $HOMA_{IR}$. Dopo LSG, la media degli indici di $HOMA_{IR}$ è stata di 10.5 ± 5.7. Tali valori si sono ridotti istantaneamente dopo la chirurgia e durante l'intero periodo di follow-up dopo LSG.

Una differenza significativa è stata poi riscontrata in terza giornata post operatoria in rapporto ai valori dello stesso indice misurati 48 prima dell'intervento (10.5 ± 5.7 versus 6.2 ± 4.8 P= 0.04). Inoltre si è evidenziata una correlazione lineare negativa (r) tra %EWL e $HOMA_{IR}$ durante l'intero periodo di follow-up. Tale correlazione diventava forte a 12 e 24 mesi con valori rispettivamente di -0.9 e -0.9.

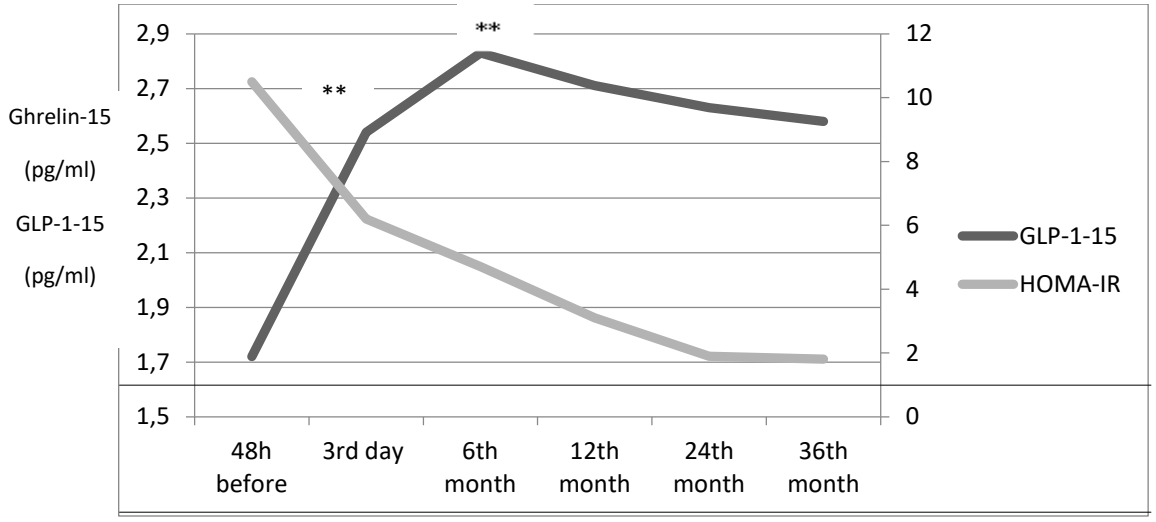
A) %EWL e $HOMA_{IR}$



B) Ghrelin-15 e $HOMA_{IR}$



C) GLP-1 -15 e $HOMA_{IR}$



Infine, $HOMA_{IR}$ ha mostrato una forte correlazione lineare negativa anche con la Ghrelina in terza giornata post-operatoria e a 6 mesi ($r = -0.8$ e -0.8 rispettivamente).

5.4 Discussione

È stato ampiamente dimostrato che la chirurgia metabolica migliora il controllo glicemico e riduce il rischio di malattie cardiovascolari [75,77]. Tra le procedure bariatriche, la LSG è risultata efficace nell'indurre una remissione del DM2 in un alto tasso di pazienti, con risultati comparabili al bypass gastrico in parecchie casistiche presenti in letteratura [76,89-91]. Confrontandola con le procedure bariatriche puramente restrittive, come ad esempio il gastric banding, il controllo glicemico dopo LSG spesso sopraggiunge prima che la riduzione ponderale risulti significativa [92]. Questa evidenza suggerisce che il controllo glicemico potrebbe essere un effetto diretto della chirurgia metabolica prima ancora dell'effetto della riduzione ponderale [75,93]. In questa direzione, diversi studi [85,93-97] hanno riportato una correlazione tra un miglioramento della secrezione insulinica e le variazioni di concentrazione plasmatica dei "Gut Hormones". Di questo gruppo di polipeptidi intestinali quelli più frequentemente coinvolti nei processi sopradescritti sembrerebbero essere proprio la Ghrelina e GLP-1.

La produzione di Ghrelina da parte delle cellule Oxintiche, che risulta essere soppressa dall'azione dell'insulina come esposto nei paragrafi precedenti, determinerebbe anche un inibizione del rilascio di insulina glucosio indotto da parte delle cellule Beta delle insule pancreatiche[93,94]. Altre evidenze hanno mostrato come l'infusione di Ghrelina indurrebbe un incremento dell'insulino-resistenza, e che la rimozione del fondo gastrico potrebbe contribuire migliorare l'insulino sensibilità [93]. Il GLP-1 invece da un lato normalizza i livelli di glucosio nel sangue up-regolando la sintesi insulinica e l'espressione del gene della proinsulina, dall'altro incrementa la sensibilità periferica all'insulina [94,95]. La prima conseguenza metabolica della resezione gastrica della LSG è quella di ridurre la concentrazione plasmatica di Ghrelina in virtù dell'asportazione di una copiosa parte di stomaco e delle cellule oxintiche ivi contenute [93,97-100]. In più il rapido transito del bolo alimentare ai tratti distali dell'ileo, dovuto ad un accelerato gastric emptying dopo LSG, indurrebbe un up-regulation della secrezione di GLP-1 da parte delle cellule L enteroendocrine dell'ileo distale[83,93-95]. Come visto nei paragrafi precedenti tali cellule produrrebbero il

GLP-1 attraverso una stimolazione diretta del materiale alimentare a contatto con la mucosa intestinale in cui queste cellule sono presenti. A seguito del rapido svuotamento gastrico una quota di materiale alimentare non digerito e abbondante giungerebbe a contatto rapidamente con queste cellule inducendo la produzione del GLP-1. Tale teoria prende il nome di “Hindgut Theory” ed è supportata da diverse evidenze scientifiche [83,93]. I nostri risultati sono conformi a queste evidenze mostrando una riduzione della concentrazione plasmatica di Ghrelina ed un incremento di GLP-1 già al terzo giorno dopo l’intervento. Come mostrato dai grafici precedenti inoltre, questo trend ormonale risulterebbe associato con un miglioramento sia di AUC che del PGL immediatamente dopo l’intervento e quindi non correlabile con la perdita di peso.

Inoltre crediamo che il successivo incremento della concentrazione plasmatica della Ghrelina tra la terza giornata post-operatoria e 36 mesi dopo LSG, mostrato dai nostri dati, potrebbe essere legato ad una proliferazione di cellule secernenti Ghrelina nel duodeno e nel digiuno, come suggerito da diversi studi sul modello animale murino [101,102]. Parimenti il nostro studio ha mostrato una

riduzione delle concentrazioni plasmatiche di GLP-1 tra il sesto ed il trentaseiesimo mese di follow-up. Molte evidenze in letteratura mostrano una progressiva redilatazione post-operatoria del moncone gastrico che determinerebbe una incremento dei tempi di svuotamento gastrico [83,84,103]. Questo evento condurrebbe a una riduzione della secrezione di GLP-1 da parte delle cellule L per i meccanismi precedentemente esposti. Per cui la dilatazione dello stomaco potrebbe, attraverso un rallentamento dello svuotamento gastrico, ridurre la sebbene in maniera non significativa la produzione di GLP-1. Tuttavia, sebbene la Letteratura ci ha mostrato che lo svuotamento gastrico risulta accelerato già nei primi giorni dopo l'intervento [83,93-95], non ci sono studi conclusivi concernenti un rallentamento graduale dello svuotamento gastrico a lungo termine dopo LSG.

Per quanto concerne la risposta insulinica, i nostri dati hanno evidenziato che durante l'OGTT sia tutti gli indicatori della secrezione insulinica (AUC e IGI) e sia l'insulino-resistenza ($HOMA_{IR}$) risultano migliorati dopo LSG già in terza giornata post-operatoria continuando durante tutto il periodo di follow-up come evidenziato nei

grafici precedentemente illustrati. Questi risultati spiegano la repentina risoluzione del Diabete nel 9.3% nell'immediato post-operatorio. Inoltre il modello di regressione logica multivariata ha mostrato che sesso, età, BMI basale, ipoglicemizzanti orali, utilizzo di insulina e durata del diabete non giocano un ruolo nella remissione del diabete.

I dati della Letteratura circa l'omeostasi insulinica dopo LSG sono frammentari e non esaustivi. Tali studi infatti hanno un periodo di follow-up che non supera i 12 mesi dopo l'intervento [96-98]. Lee et Al.[96] riporta una riduzione nell'insulino-resistenza e un incremento dell'insulino-secrezione durante il primo anno dopo LSG. Più recentemente, risultati simili sono stati mostrati da Casella ed Al. [97] a 12 mesi dall'intervento chirurgico. Rizzello et AL. [98] descrive nei primi 60 giorni dopo LSG un rapido miglioramento dell'insulino-resistenza indipendente dalla perdita di peso, suggerendo che meccanismi ormonali potrebbero contribuire alle variazioni dell'insulino-resistenza. In accordo con questi autori abbiamo registrato un precoce miglioramento nell'omeostasi glucidica come evidenziato dalla curva del

PGL dopo OGTT che già in terza giornata ha mostrato un andamento similare ad una curva fisiologica. I valori di AUC e PGL risultano poi normali a 24 e 36 mesi dopo LSG come mostrato dai grafici del paragrafo precedente.

I nostri risultati sembrano quindi suggerire che LSG influenza l'omeostasi glucidica in 2 differenti modi tempo-correlati. Nel primo periodo infatti, LSG promuove un cambiamento nelle concentrazioni plasmatiche ormonali con un effetto positivo sulla secrezione insulinica e sull'insulino-resistenza, come evidenziato dalla forte correlazione lineare tra i "gut hormones", IGI e gli indici HOMA nei primi giorni post-operatori (Ghrelina) e i primi sei mesi dopo LSG (GLP-1). Tra il sesto ed il trentaseiesimo mese, la concentrazione plasmatica di Ghrelina e il GLP-1 aumenta, come la percentuale di riduzione dell'eccesso ponderale (%EWL). In questo secondo periodo, le variazioni osservate nel controllo del DM2, secrezione insulinica e insulino-resistenza sono maggiormente correlate alla perdita di peso come suggerito dalla forte correlazione lineare con %EWL che era assente nei primi sei mesi. Numerosi studi hanno sottolineato l'effetto positivo della perdita di peso sull'insulino

attività[74,75,77,99], suggerendo che la massa grassa partecipa alla modulazione del metabolismo del glucosio e dell'insulino resistenza [99].

Questo studio presenta tuttavia diversi limiti, primo tra tutti il relativamente breve periodo di follow up ed le dimensioni esigue del campione studiato che non ci permette di giungere a delle conclusioni con elevato potere statistico.

5.5 Conclusioni

Alla luce di quanto esposto concludiamo che un modello

a 2 steps ormonale-ponderale potrebbe spiegare i miglioramenti metabolici risultanti da LSG.

Questo modello identifica un primo step in cui le variazioni ormonali giocano un ruolo predominante nell'omeostasi glucidica e un secondo step in cui è la riduzione ponderale a determinare la risposta metabolica.

Ulteriori studi con un follow up più lungo e con campionamenti più ampi risultano necessari per confermare questa ipotesi.

6.0 References:

1. Foresteri P et al. Linee guida e stato dell'arte della chirurgia bariatrica e metabolica in Italia. Societa Italiana di Chirurgia dell' Obesita e delle Malattie metaboliche. EDISES srl, Napoli 2008.

2. Istituto Auxologico Italiano: 6° Rapporto sull' Obesita in Italia. Franco Angeli Editore, Milano, 2006

3. Freedman DS, Khan LK, Dietz WH, Srinivasan SR, Berenson GS. Relationship of childhood obesity to coronary heart disease risk factors in adulthood: the Bogalusa Heart Study. Pediatrics. 2001;108 :712 −718

4. Serdula MK, Ivery D, Coates RJ, Freedman DS, Williamson DF, Byers T. Do obese children become obese adults? A review of the literature. Prev Med. 1993;22 :167 −177

5. Rosenbaum M., Leibel RL.: The physiology of body weight regulation: the relevance to the etiology of obesity in children. Pediatrics 1998; 101 (Suppl): 525-539

6. American Academy of pediatrics: Pediatric nutrition handbook. Third edition. Elk Grove Village, 1993

7. Kelishadi R. Childhood overweight, obesita, and the metabolic sindrome in developing countries. Epidemiol Rev. Advance Access published May 3, 2007:1-15

8. Giorgi PL., Catassi C.: Il bambino obeso. Il pensiero scientifico, Roma, 1993 39

9. Singhal V., Schwenk WF., Kumar S. Evaluation and management of childhood and adolescent obesity. Mayo Clin Proc. 2007; 82(10):1258-64

10. Pinhas-Hamiel O., Zaitler P., the global spread of type 2 diabetes mellitus in children and adolescents. J Pediatr 2005; 146: 693-700

11. Kalra M., Inge T., Garcia V et al. Obstructive sleep apnea in extremly overweight adolescent undergoing bariatric surgery. Obes Res 2005; 13:1175-79

12. Schwimmer JB., Deutsch R., Kahen T. Et al., prevalence of fatty liver in children and adolescents. Pediatrics 2006; 118:1388-93

13. Mathurin P., Gonzales F., Kendron O. et al. The evolution of severe steatosis after bariatric surgery is related to insulin resistance. Gastroenterology 2006; 130:1617-24

14. Surgeman HJ., Felton WL. 3rd; Sismanis A. et al., Gastric surgery for pseudotumor cerebri associated with severe obesity. An Surg 1999; 229: 634-40

15. Juonala M., Raitakari MSA., Wiikari J., Raitakari OT., Obesity in youht is not an indipendent predictor of carotid IMT in adulthood. The Cardiovascular Risk in young Finns study. Atherosclerosis 2006; 185:388-93

16. Morrison JA., Friedmann LA., Harlan WR., et al. Development of the metabolic syndrome in black and white adolescent girls: a longitudinal assestment. Pediatrics 2005; 116:1178-82

17. Strauss RS., Pollack Ha. Social marginalization of overweight children. Arch Pediatr Adolesc Med 2003; 157:746-52

18. Zeller MH., Silence BE., Roehrig H. et al., Psychological adjustement of obese youth presenting for weight management treatment. Obes Res 2004;12: 1576-86

19. Dietz WH., Health consequences of obesity youth : childhood predictors of adult disease. Pediatrics 1998; 101:518-25

20. Karlson EW., Mandl LA., Awen GH., et al. Total hip replacement due to osteoarthritis : the importance of age, obesity, and other modificable risk factors. Am J Med 2003; 114:93-98

21. Moran TH. Gut peptides in the control of food intake. Int. J. Obes. (Lond). 2009; 33 Suppl 1:S7-10.

22. Kojima M, Hosoda H, Matsuo H, Kangawa K: Ghrelin: discovery of the natural endogenous ligand for the growth hormone secretagogue receptor. Trends Endocrinol Metab 12, 118-122, 2001

23. Muccioli G, Tschop M, Papotti M, Deghenghi R, Hieman M, Ghigo E: Neuroendocrine and peripheral activities of ghrelin: implications in metabolism and obesity. Eur J Pharmacol 404, 235-254, 2002

24. Gnanapavan S, Kola B, Bustin SA, Morris DG, McGee P, Fairclough P, Bhattacharya S, Carpenter R, Grossman AB, Korbonits M: The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor,GHS-R, in humans. J Clin Endocrinol Metab 87, 2988-2992, 2002

25. Yoshihara F, Kojima M, Hosoda H, Nakazato M, Kangawa K: Ghrelin: a novel peptide for growth hormone release and feeding regulation. Curr Opin Clin Nutr Metab Care 5, 391-395, 2002

26. Inui A: Ghrelin: an orexigenic and somatotrophic signal from the stomach. Nat Rev Neurosci 2, 551-560, 2001

27. Cummings DE, Schwartz MW: Genetics and pathophysiology of human obesity. Annu Rev Med 54, 453-471, 2003

28. Broglio F, Arvat E, Benso A, Papotti M, Muccioli G, Deghenghi R, Ghigo E: Ghrelin: endocrine and nonendocrine actions. J Pediatr Endocrinol Metab 15, 1219- 1227, 2002

29. Hansen L, Deacon CF, Orskov C, Holst JJ. Glucagon-like peptide-1-(7-36)amide is transformed to glucagon-like peptide-1- (9-36)amide by dipeptidyl peptidase IV in the capillaries supplying the L cells of the porcine intestine. Endocrinology 1999; 140: 5356-63.

30. Holst JJ. The physiology of glucagon-like peptide 1. Physiol Rev 2007; 87: 1409-39.

31. Doyle ME, Egan JM. Mechanisms of action of glucagon-like peptide-1 in the pancreas. Pharmacology & Therapeutics 113: 546–593, 2007.

32. Drucker DJ. Glucagon-like peptides: Regulators of cell proliferation, differentiation, and apoptosis. Mol Endocrinol; 17: 161–171, 2003.

33. Rolin B, Larsen MO, Gotfredsen CF, et al. The long-acting GLP1 derivative NN2211 ameliorates glycemia and increases b-cell mass in diabetic mice. Am J Physiol Endocrinol Metab 283: E745–E752, 2002.

34. Buteau J, Roduit R, Susini S, et al. Glucagon-like peptide-1 promotes DNA synthesis, activates phosphatidylinositol 3-kinase and increases transcription factor pancreatic and duodenal homeobox gene 1 (PDX-1) DNA binding activity in β (INS-1)- cells. Diabetologia 42: 856–864, 1999.

35. Buteau J, Foisy S, Rhodes CJ, et al. Protein kinase C zeta activation mediates glucagon-like peptide-1-induced pancreatic β-cell proliferation. Diabetes 50: 2237–2243, 2001.

36. Buteau J, Foisy S, Joly E, et al. Glucagon-like peptide 1 induces pancreatic b-cell proliferation via transactivation of the epidermal growth factor receptor. Diabetes 52: 124–132, 2003.

37. Wang Q, Li L, Xu E, et al. Glucagon-like peptide-1 regulates proliferation and apoptosis via activation of protein kinase B in pancreatic (INS-1) b-cells. Diabetologia 47: 478–487, 2004.

38. Wang Q, Brubaker PL. Glucagon-like peptide-1 treatment delays r a s s e g n a il Diabete • vol. 20 • n. 1 • Marzo 2008 15 the onset of diabetes in 8 week-old db/db mice. Diabetologia 45: 1263–1273, 2002.

39. Voisin L, Foisy S, Giasson E, et al. EGF receptor transactivation is obligatory for protein synthesis stimulation by G protein-coupled receptors. Am J Physiol Cell Physiol 283: C446–C455, 2002.

40. Daub H, Weiss FU, Wallasch C, et al. Role of transactivation of the EGF receptor in signalling by G-protein-coupled receptors. Nature 379: 557–560, 1996.

41. Gao Y, Tang S, Zhou S, et al. The thromboxane A2 receptor activates mitogen-activated protein kinase via protein kinase Cdependent Gi coupling and Src-dependent phosphorylation of the epidermal growth factor receptor. J Pharmacol Exp Ther 296: 426–433, 2001.

42. Eguchi S, Iwasaki H, Inagami T, et al. Involvement of PYK2 in angiotensin II signaling of vascular smooth muscle cells. Hypertension 33: 201–206, 1999.

43. Li Y, Hansotia T, Yusta B, et al. Glucagon-like peptide-1 receptor signaling modulates β-cell apoptosis. J Biol Chem 278: 471–478, 2003.

44. Pospisilik JA, Martin J, Doty T, et al. Dipeptidyl peptidase IV inhibitor treatment stimulates b-cell survival and islet neogenesis in streptozotocin-induced diabetic rats. Diabetes 52: 741–750, 2003.

45. Jhala US, Canettieri G, Screaton RA, et al. cAMP promotes pancreatic β-cell survival via CREB-mediated induction of IRS2. Genes Dev 17: 1575–1580, 2003.

46. Kahn SE. The relative contributions of insulin resistance and beta-cell dysfunction to the pathophysiology of type 2 diabetes. Diabetologia 2003; 46:3–19.

47. Genuth S, Alberti KG, Bennett P, Buse J, Defronzo R, Kahn R, et al. The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus: Follow-up report on the diagnosis of diabetes mellitus. Diabetes Care 2003; 26: 3160-7.

48. DeFronzo RA. Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus: metabolic and molecular implications for identifying diabetes genes. Diabetes Rev 1997; 5:117–269.

49. Gerich JE, Meyer C, Woerle HJ, Stumvoll M. Renal gluconeogenesis: its importance in human glucose homeostasis. Diabetes Care 2001; 24:382–91.

50. DeFronzo RA, Ferrannini E, Simonson DC. Fasting hyperglycemia in non-insulin-dependent diabetes mellitus: contributions of excessive hepatic glucose production and impaired tissue glucose uptake. Metabolism 1989; 38:387-95.

51. Matsuda M, DeFronzo RA. Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing: comparison with the euglycemic glucose clamp. Diabetes Care 1999; 22: 1462–70.

52. Gastaldelli A, Ferrannini E, Miyazaki Y, Matsuda M, DeFronzo RA. San Antonio Metabolism study: beta-cell dysfunction and glucose intolerance: results from the San Antonio metabolism (SAM) study. Diabetologia 2004; 47:31–9.

53. Weyer C, Bogardus C, Pratley RE. Metabolic characteristics of individuals with impaired fasting glucose and/or impaired glucose tolerance. Diabetes 1999; 48:2197–203.

54. Abdul-Ghani MA, Sabbah M, Kher J, Minuchin O, Vardi P, Raz I. Different contributions of insulin resistance and betacell dysfunction in overweight Israeli Arabs with IFG and IGT. Diabetes Metab Res Rev 2006; 22:126–30.

55. McGovern L., Johnson JN., Paulo R., Hettinger A., Singhal V., Kamath C et al. Treatment of pediatric obesity. A systematic review and meta-analysis of randomized trials. J Clin Endocrinol metab. 2008;93: 4600-5

56. Stunkard A J, Mc Laren Hume M: The result of treatment for obesity Arc.Intern Med. 1959; 103: 79-85

57. Kalaiselvan R, Abu Dakka M, Ammori BJ. Late perforation at the jejuno-jejunal anastomosis after laparoscopic gastric bypass for morbid obesity. Surg Obes Relat Dis. 2013 Nov-Dec;9(6):874-8.

58. Van Name M, Giannini C, Santoro N, Jastreboff AM, Kubat J, Li F, Kursawe R, Savoye M, Duran E, Dziura J, Sinha R, Sherwin RS, Cline G, Caprio S. Blunted suppression of acyl-ghrelin in response to fructose ingestion in obese adolescents: The role of insulin resistance.Obesity (Silver Spring). 2015 Feb 3

59. Sweeney TE, Morton JM Metabolic surgery: action via hormonal milieu changes, changes in bile acids or gut microbiota? A summary of the literature. Best Pract Res Clin Gastroenterol. 2014 Aug;28(4):727-40.

60. Melissas J, Daskalakis M, Koukouraki S, et al. Sleeve gastrectomy— a “food limiting” operation. Obes Surg. 2008;18(10):1251–6.

61. Bikman BT, Zheng D, Pories WJ, et al. Mechanism for improved insulin sensitivity after gastric bypass surgery. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93:4656-63

62. Fernando Santos B, Wallaert JB, Trus TL. Band removal and conversion to sleeve or bypass: are they equally safe? Surg Endosc. 2014 Nov;28(11):3086-91

63. Buchwald H, Avidor Y, Braunwald E, et al. Bariatric surgery: a systematic review and meta-analysis. *JAMA* 2004;292:1724-37.

64. Buchwald H, Estok R, Fahrbach K, et al. Weight and type 2 diabetes after bariatric surgery: systematic review and meta-analysis. *Am J Med* 2009;122:248-56.

65. Schauer PR, Kashyap SR, Wolski K, et al. Bariatric surgery versus intensive medical therapy in obese patients with diabetes. *N Engl J Med* 2012;366:1567-76.

66. Thaler JP, Cummings DE. Minireview: hormonal and metabolic mechanisms of diabetes remission after gastrointestinal surgery. *Endocrinology* 2009;150:2518-25.

67. Ferrannini E, Mingrone G. Impact of different bariatric surgical pro - ced ures on insulin action and β-cell function in type 2 diabetes. *Diabetes*

Care 2009;32:514-20.

68. Korner J, Inabnet W, Febres G, et al. Prospective study of gut hormone andmetabolic changes after adjustable gastric banding and Roux-en-Y gastric bypass. *Int J Obes (Lond)* 2009;33:786-95.

69. Atkins ER, Preen DB, Jarman C, Cohen LD Improved obesity reduction and co-morbidity resolution in patients treated with 40-French bougie versus50- French bougie four years after laparoscopic sleeve gastrectomy. Analysis of 294 patients. Obes Surg. 2012 Jan;22(1):97-104

70. Srinivasa S, Hill LS, Sammour T, et al. Early and mid-term outcomes of single-stage laparoscopic sleeve gastrectomy. Obes Surg. 2010;20(11):1484–90

71. Himpens J, Dobbeleir J, Peeters G. Long-term results of laparoscopic sleeve gastrectomy for obesity. Ann Surg. 2010;252 (2):319–24.

72. Silecchia G, Boru C, Pecchia A, et al. Effectiveness of laparoscopic sleeve gastrectomy (first stage of biliopancreatic duodenal switch) on co-morbidities in super-obese high-risk patients. Obes Surg. 2006;16(9):1138–44.

73. Cottam D, Qureshi F, Mattar S, et al. Laparoscopic sleeve gastrectomy as an initial weight-loss procedure for high-risk patients with morbid obesity. Surg Endosc. 2006;20(6):859–63.

74. Danaei G, Finucane MM, LuY, et al. Global burden of metabolic risk factors of chronic diseases collaborating group (blood glucose). National,

regional, and global trends in fasting plasma glucose and diabetes prevalence since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 370 country-years and 2.7 million participants. Lancet2011;378(9785):31–40.

75. Buchwald H, Estok R, Fahrbach K, et al. Weight and type 2 diabetes after bariatric surgery: systematic review and metanalysis. Am J Med 2009;122(3):248–56. e5.

76 Cho JM ,Kim HJ ,Menzo El ,Park S, Szomstein S, Rosenthal RJ. Effect of sleeve gastrectomy on type 2 diabetes as analternative treatment modality to Roux-en-Y gastric bypass :sistemi review and meta-analysis. Surg Obes Relat Dis 2015;11(6):1273–80.

77. Sjöström L, Lindroos AK, Peltonen M, et al; for the Swedish Obese Subjects Study Scientific Group. Lifestyle, diabetes, and cardiovascular risk factors 10 years after bariatric surgery. N Engl J Med 2004;351(26):2683–93.

78. Buchwald H, Oien DM. Metabolic/bariatric surgery world wide 2011. Obes Surg 2013;23(4):427–36.

79. Plourde CE ,Grenier-Larouche T, Caron-Dorval D, et al. Bilio-pancreatic diversion with duodenal switch improbe insulin sensitivity and secretion through caloric restriction. Obesity (SilverSpring) 2014;22(8):1838–46.

80. Anderson B, Switzer NJ ,Almama rA, Shi X, Birch DW, Karmali S. The impact of laparoscopic sleeve gastrectomy on plasma ghrelin levels: a systematic review. ObesSurg 2013;23(9):1476–80.

81. Gill RS, Birch DW, ShiX, Sharma AM, Karmali S. Sleeve gastrectomy and type2 diabetes mellitus: a sistemi review. Surg Obes Relat Dis 2010;11(6):707–13.

82.Yada T, Damdindorj B, Rita RS ,et al. Ghrelin signalling in β-cells regulates insulin secretion and blood glucose. Diabetes Obes Metab 2014;16 (Suppl1):111–7.

83. Sista F, Abruzzese V, Clementi M, Carandina S, Cecilia M, Amicucci G. The effect of sleeve gastrectomy on GLP-1secretion and gastric emptying: a prospective study. Surg Obes Relat Dis 2017;4(1):7–14.

84. Cai J, Zheng C, Xu L,et al.Therapeutic effects of sleeve gastrectomy plus gastric remnant banding on weight reduction and gastric dilatation: an animal study .Obes Surg 2008;18(11):1411–7.

85. Basso N, Capoccia D, Rizzello M, et al. First-phase insulin secretion, insulin sensitivity, ghrelin, GLP-1, and PYY changes 72h after sleeve gastrectomy in obese diabetic patients: the gastric hypothesis. Surg Endosc 2011;25(11):3540–50.

86. Laville M, Disse E .Bariatric surgery for diabetes treatment: why should we go rapidly to surgery. Diabetes Metab 2009; 35 (6 Pt2):562–3.

87. Philips DIW, Clark PM, Hales CN, Osmond C. Understanding oral glucose tolerance: comparison of glucose or insulin measurements during the oral glucose tolerance test with specific measurements of insulin resi stance and insulin secretion. Diabetic Med 1994;11 (3):286–292.

88. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RL. Homeostasis model assessment insulin resi stance and b-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man .Diabetologia1985;28(7):412–9.

89. Schauer PR, Bhatt DL, Kirwan JP,et al. Bariatric surgery versus intensive medical therapy for diabetes–5-years outcomes. N Engl J Med 2017;376(7):641–51.

90. De Gordejuela AG ,Pujol Gebelli J, Garcia NV,Alsina EF, Medayo LS, Masdevall Noguera C.I sleeve gastrectomy as effective as gastric bypass for remission of type 2 diabetes in morbidly obese patients? SurgObesRelatDis2011;7(4):506–9.

91. Nocca D, Guillaume F, Noel P, et al. Impact of laparoscopic sleeve gastrectomy and laparoscopic gastric bypass on HbA1c blood level and pharmacological treatment of type2 diabetes mellitus in severe or morbidly obese patients: results of a multicentre prospective study at 1 year.Obes Surg2011;21(6):738–43.

92. D'Alessio D. Peptide hormone regulation of islet cells. Horm Metab Res 1997;29:297–300.

93. Maleckas A ,Venclauskas L, Wallenius V, Lönroth H,Fändriks L. Surgery in the treatment of type2 diabetes mellitus. Scand J Surg 2015;104(1):40–7.

94. Romero F, Nicolau J , Flores L, et al. Comparable early changes in gastrointestinal hormones after sleeve gastrectomy and Roux-En-Y gastric bypass surgery for morbidly obese type2 diabetic subjects. Surg Endosc2012;26(8):2231–9.

95. Miholic J, Hoffmann M, Holst JJ, et al.Gastric emptying of glucose solution and associated plasma concentrations of GLP-1,GIP,and PYY before and after fundoplication. SurgEndosc2007;21 (2):309–14.

96. Lee WJ, Ser KH, Chong K,et al. Laparoscopic sleeve gastrectomy for diabetes treatment in non morbidly obese patients: efficacy and change of insulin secretion. Surgery2010;147(5):664–9.

97. Casella G, Soricelli E, Castagneto-Gissey L, Redler A, Basso N, Mingrone G. Changes in insulin sensitività and secretion after sleeve gastrectomy. BrJSurg2016;103(3):242–8.

98. Rizzello M, Abbatini F, Casella G,et al. Early post operative insulin-resistance changes after sleeve gastrectomy. ObesSurg2015;20 (1):50–5.

99. Faraj M, Lu HL,Cianflone K. Diabetes, lipids, and adipocyte secretagogues. BiochemCellBiol2004;82(1):170–90.

100. Sista F, Abruzzese V, Clementi M, Carandina S, Amicucci G. Effect of resecate gastric volume on gherlino and GLP-1plasma levels:a prospective study. JGastrointestSurg2016;20(12):1931–41.

101. Park JM, Kakimoto T, Kuroki T, et al. Suppression of intestinal mucosal apoptosis by gherlino in fasting rats. ExpBiolMed2008;233 (1):48–56.

102. Sakata I, Sakai T. Ghrelin cells in the gastrointestinal tract. IntJPept 2010 2010.pii:945056.

103. Yehoshua RT, Eidelman LA,Stein M,et al. Laparoscopic sleeve gastrectomy-volume and pressure assessment.ObesSurg2008;18 (9):1083–8.