



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PISA
SCUOLA DI SPECIALIZZAZIONE IN MEDICINA INTERNA

Dipartimento di Medicina Interna
Sezione Medicina Generale III
(Indirizzo metabolico)
Direttore: Prof. E. Ferrannini

**BY-PASS GASTRICO E SLEEVE GASTRECTOMY:
MECCANISMI DI REMISSIONE DEL DIABETE,
RUOLO DELL'INTESTINO**

Relatori:
Prof. Andrea Natali
Dott.ssa Monica Nannipieri

Candidata:
Dott.ssa Daniela Guarino

- ANNO ACCDEMICO 2012/2013 -

1. Prefazione

Il diabete mellito tipo 2 comprende un gruppo eterogeneo di alterazioni caratterizzate da gradi variabili di insulinoresistenza ed alterata secrezione insulinica che inducono iperglicemia.

L'esordio del diabete tipo 2 è preceduto da una fase di alterata omeostasi del glucosio di durata non ancora definita, che può presentarsi con alterata glicemia a digiuno (*impaired fasting glucose*, IFG) o alterata tolleranza glucidica (*impaired glucose tolerance*, IGT).

La prevalenza del diabete di tipo 2 (DMT2) è aumentata rapidamente nel corso degli ultimi decenni, sia negli Stati Uniti sia in molti paesi in via di sviluppo.

Questo fenomeno rappresenta una sfida per controllare la malattia cardiovascolare, in quanto oltre il 75% dei pazienti con diabete di tipo 2 morirà per complicanze cardiovascolari (Fig. 1) (1,2).

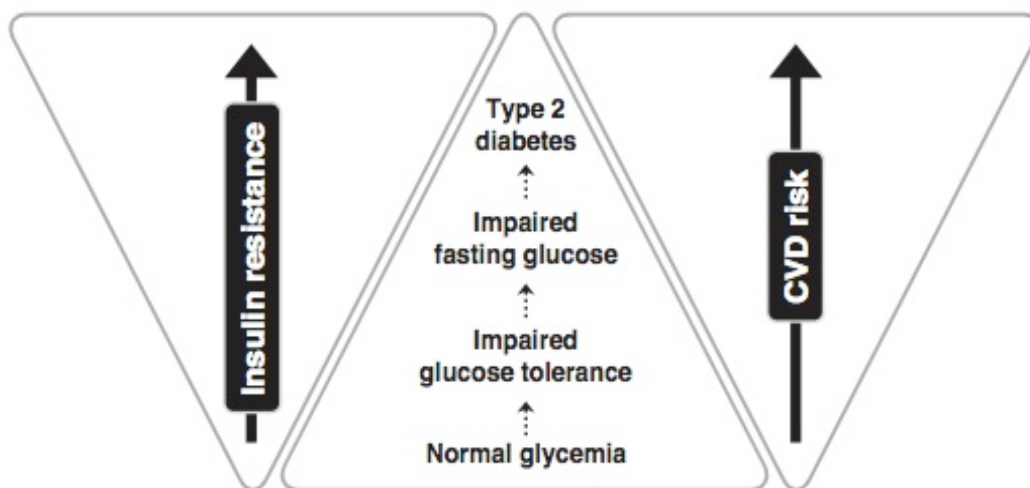


Figura 1- Il rischio di diabete di tipo 2 aumenta in funzione della glicemia crescente. Questo fenomeno, in tutto o in parte, è la conseguenza di uno stato di insulino-resistente. D'altra parte, il rischio di malattia cardiovascolare (CVD) aumenta in modo graduale all'aumentare della glicemia, e la maggior parte dei pazienti con diabete di tipo 2 (> 75%) moriranno per malattie cardiovascolari. (3)

La prevalenza di diabete mellito in tutto il mondo è aumentata drammaticamente negli ultimi due decenni, da una stima di 30 milioni di casi nel 1985 a 177 milioni nel 2000. Sulla base dell'attuale tendenza, si ritiene che più di 360 milioni di individui saranno diabetici nell'anno 2030. Rappresenta una delle cause principali di mortalità, ma diversi studi indicano che è probabilmente sottostimato come causa di morte. Negli Stati Uniti, il diabete è stato indicato come sesta causa principale di

morte nel 2002: una stima recente ha suggerito che il diabete sia la quinta causa principale di morte nel mondo e che sia responsabile di quasi 3 milioni di morti all'anno (1,7-5,2% delle morti in tutto il mondo). (4)

Poiché la rapida crescita parallela di sovrappeso-obesità e diabete di tipo 2 è impressionante, Zimmet *et al.* (5) hanno coniato il termine *diabesità* a sottolineare il legame tra queste due condizioni; l'eccesso di peso corporeo (grasso) è la principale causa di diabete di tipo 2 e l'obesità è un fattore di rischio per il diabete di tipo 2 (6-8).

A questo proposito, da molti anni è stata riportata in studi epidemiologici una forte correlazione positiva tra eccesso di adiposità e rischio di diabete di tipo 2. Più recentemente, i risultati dello studio *Nurses' Health*, che ha seguito per 14 anni quasi 12.000 donne, hanno messo in evidenza il fatto che il rischio di diabete di tipo 2 è più elevato nelle donne il cui indice di massa corporea (BMI, un marcatore di adiposità totale) era nell'intervallo di 23-25 kg/m² (considerato come peso "normale") rispetto alle donne cui BMI era inferiore a 22 kg/m². Questo studio ha anche riferito che un aumento del peso corporeo (7-10,9 kg) era associato ad un aumento di 2 volte del rischio di sviluppare diabete di tipo 2 nei 14 anni di follow-up. Inoltre, donne di mezza età che avevano perso più di 5 kg avevano un rischio significativamente ridotto di diabete di tipo 2 rispetto alle donne con un peso corporeo stabile. Tuttavia, nonostante questo ben consolidato contributo dell'obesità al rischio di diabete di tipo 2, è anche riconosciuto che non tutti gli individui obesi svilupperanno questa malattia metabolica.

Sono stati identificati alcuni fattori che possono contribuire a spiegare l'eterogeneità associata all'obesità. A questo proposito, numerosi studi hanno dimostrato che la distribuzione regionale del grasso corporeo gioca un ruolo importante nella modulazione del pericolo per la salute. E' importante prestare attenzione alla distribuzione del grasso corporeo, in particolare all'adiposità viscerale come forma di obesità più pericolosa nella valutazione del rischio di diabete di tipo 2.

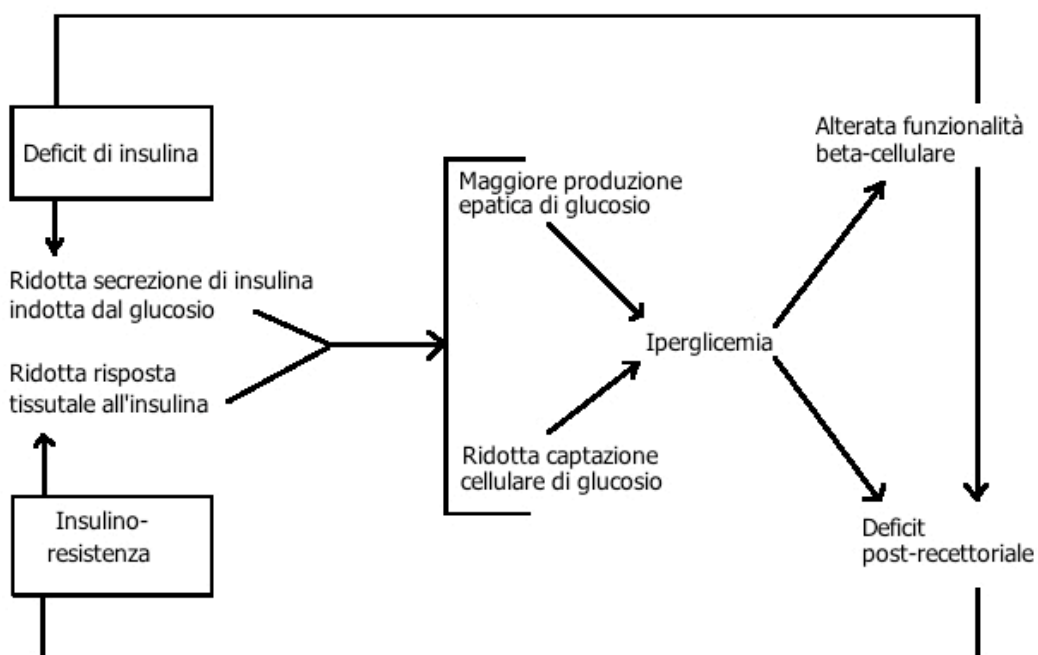
Etiopatogenesi

Il diabete di tipo 2 è una patologia eterogenea correlata ad eziologie multigeniche. La malattia dimostra ampie variazioni fenotipiche, dalla prevalenza dell'insulino-resistenza alla prevalenza dell'aspetto di insufficiente produzione di insulina.

Nella grande maggioranza dei diabetici di tipo 2, non è stato chiarito nessun singolo difetto genetico per spiegare l'eziologia di questo processo, ma deriva da effetti combinati di cause eterogenee e complesse. Solo una piccola percentuale di questi individui con cause monogeniche di diabete di tipo 2, sono responsabili geni mutanti ereditati da entrambi i genitori o da eredità autosomica.

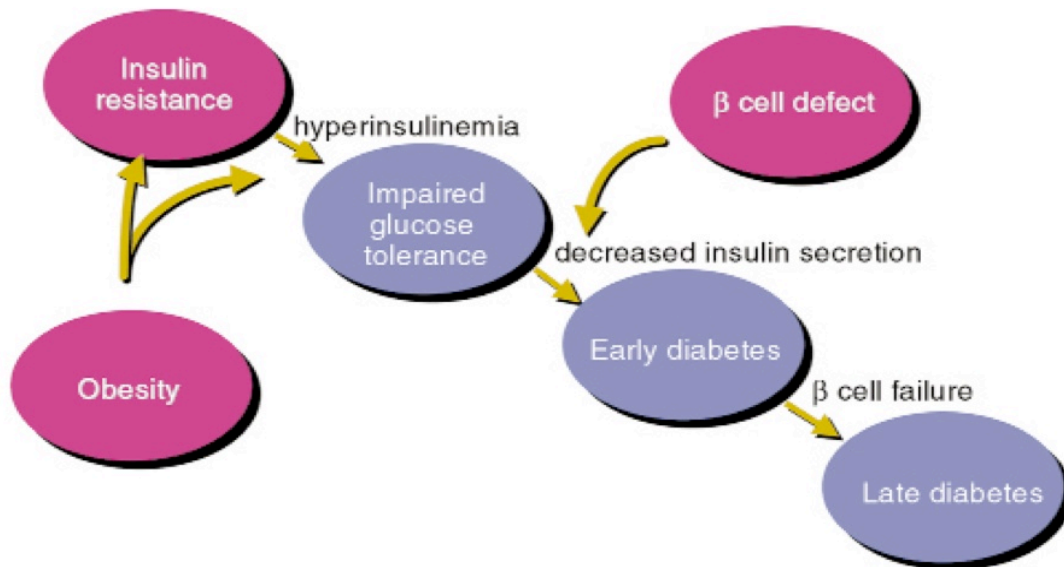
Nonostante questa eterogeneità genetica il diabete tipo 2 diventa manifesto quando si sviluppa la condizione di malattia, caratterizzata da:

1. Alterata secrezione di insulina
2. Insulino-resistenza (9-14)



E' stato discusso se l'anomalia iniziale nella patogenesi del diabete di tipo 2 sia l'insulino-resistenza (alterazione dell'azione insulinica) o un'alterata secrezione insulinica. Nei soggetti con diabete di tipo 2 che hanno un'iperglicemia con valori glicemici a digiuno tra 180 e 200 mg/dL, tuttavia, risultano alterate sia la secrezione che l'azione dell'insulina. Nel corso degli anni si sono accumulate evidenze che indicavano che le anomalie dell'azione insulinica possono portare a un'alterata secrezione dell'insulina e che un'alterata secrezione insulinica e l'iperglicemia possono ridurre l'effetto dell'insulina. Pertanto, una volta che il diabete si è consolidato, è difficile stabilire nel singolo paziente se l'anomalia primitiva risieda nelle cellule beta o nella risposta dei tessuti all'insulina.

Diversi studi epidemiologici prospettici attraverso diversi gruppi di popolazione indicano che il diabete di tipo 2 progredisce in continuum, cominciando da una resistenza periferica all'insulina e terminando con una ridotta secrezione di insulina (15).



Nella maggior parte dei pazienti, l'insulino-resistenza può essere rilevata molto prima che si verifichi il deterioramento dell'intolleranza al glucosio. La conseguente disregolazione del metabolismo glucidico e lipidico che si verifica come conseguenza dell'insulino-resistenza aggrava ulteriormente la sua progressione. Le cellule- β del pancreas normalmente compensano lo stato insulino-resistente aumentando la secrezione di insulina basale e post-prandiale. Ad un certo punto, le cellule- β non riescono più compensare rispondendo in modo adeguato alle variazioni glicemiche.

La prima manifestazione del diabete di tipo 2 è conseguente all'aumento della glicemia a digiuno e post-prandiale in associazione a progressiva insulino-resistenza. Ciò si traduce in una fase iniziale in cui si assiste ad un'ipertrofia di compenso delle beta-cellule, che esula negli anni in una progressiva riduzione della massa e della funzione beta-cellulare. E' noto che già in una fase precoce e spesso antecedente l'esordio della malattia si assiste alla perdita della I fase della secrezione di insulina in risposta ad un carico di glucosio che contribuirà all'iperglicemia post-prandiale.

La regolazione della glicemia post-prandiale dipende dalla stimolazione della secrezione insulinica con conseguente soppressione della gluconeogenesi e glicogenolisi epatica. Il rilascio di insulina promuove poi l'assorbimento del glucosio nei muscoli e nei tessuti periferici. L'effetto dell'insulina nel sopprimere la produzione epatica di glucosio e l'uptake muscolare è più potente che l'effetto della sola iperglicemia.

I livelli della glicemia a digiuno sono dipendenti dalla produzione epatica di glucosio (glicogenolisi e gluconeogenesi epatica), dalla sensibilità all'insulina e dai livelli basali di insulina. A seguito di un pasto o di carico di glucosio, livelli elevati di glucosio stimolano il rilascio di insulina da parte delle cellule beta.

L'insulino resistenza

Un'alterazione dell'azione endogena dell'insulina era stata suggerita per la prima volta dall'osservazione che numerosi pazienti con diabete di tipo 2 hanno una risposta insulinemica normale o aumentata dopo assunzione di glucosio. In seguito numerosi ricercatori hanno dimostrato con varie tecniche la presenza di insulino-resistenza nella maggior parte dei pazienti con diabete di tipo 2. L'insulino-resistenza era correlata positivamente con l'incremento della glicemia a digiuno. E' oggi noto che l'insulino-resistenza è presente nelle fasi precoci dello sviluppo del diabete tipo 2.

L'insulino resistenza ha infatti determinanti sia ambientali sia genetici. Fumo, eccesso di adiposità e stile di vita sedentario sembrano contribuire al suo sviluppo, tuttavia la componente genetica sembra avere un ruolo principale. Ad esempio, è stato rilevato che parenti di primo grado di pazienti affetti da diabete mellito tipo 2 risultano insulino-resistenti rispetto ai soggetti senza familiarità per diabete con simile indice di massa corporea (BMI). Tuttavia, il grado di insulino-resistenza è ulteriormente aumentato quando la predisposizione genetica è combinata con lo stile di vita che promuove l'insulino-resistenza.

Meccanismi di insulino-resistenza a livello cellulare

Dopo la scoperta di insulina da Banting e Best nel 1922, fu opinione diffusa che il diabete umano fosse dovuto esclusivamente ad una carenza nella secrezione dell'ormone. Tuttavia, 10 anni dopo, Himsworth ha scoperto che i pazienti diabetici mostravano variazioni nelle risposte all'insulina e ha proposto il concetto che a definire il difetto biochimico in molti diabetici non fosse tanto il deficit di insulina, quanto invece l'insensibilità all'insulina. Questa idea non è stata seriamente considerata fino allo sviluppo del dosaggio radioimmunologico (*radioimmunoassay*) da parte di Berson e Yalow, che ha mostrato che i soggetti con insorgenza di diabete di tipo 2 in età adulta tendono ad avere in circolazione livelli medi di insulina più elevati. Studi successivi condotti da Roth, Reaven, Olefsky, e altri hanno confermato questi risultati e hanno fornito una base meccanicistica al concetto che la resistenza all'insulina ha un ruolo importante nel diabete.

In un'ottica più generale, l'azione dell'insulina comprende due processi. Innanzitutto l'insulina si lega a un recettore specifico situato sulla superficie cellulare. In secondo luogo il legame dell'insulina al recettore attiva una sequenza di eventi intracellulari che culminano in un potenziamento del trasporto di glucosio e nella stimolazione di una varietà di vie enzimatiche intracellulari.

- *Anomalie del legame*

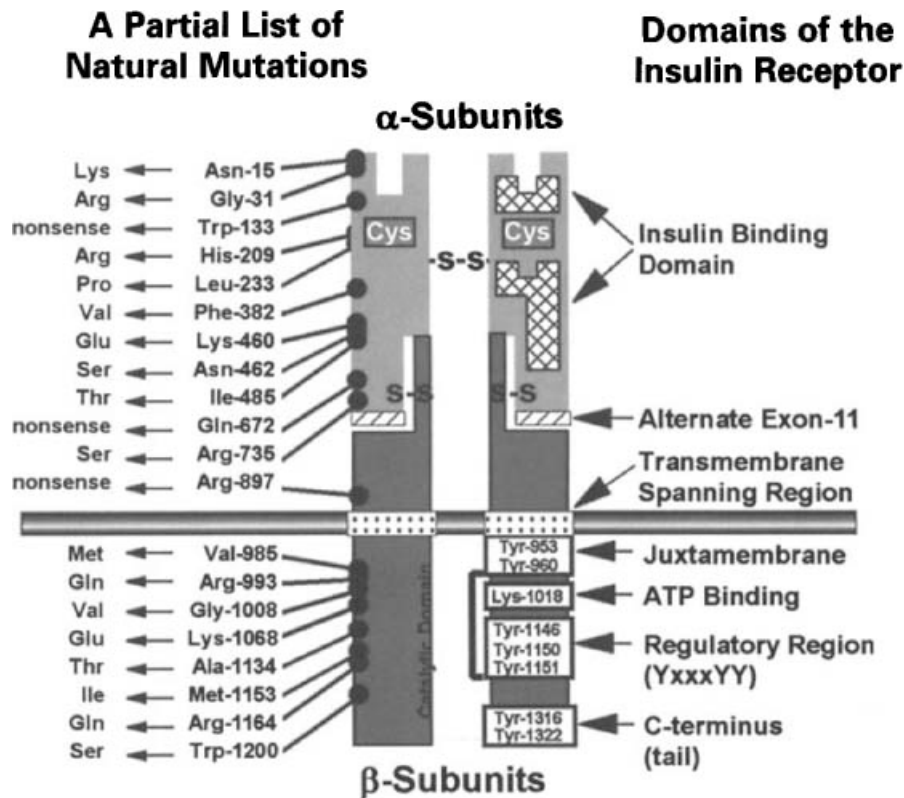


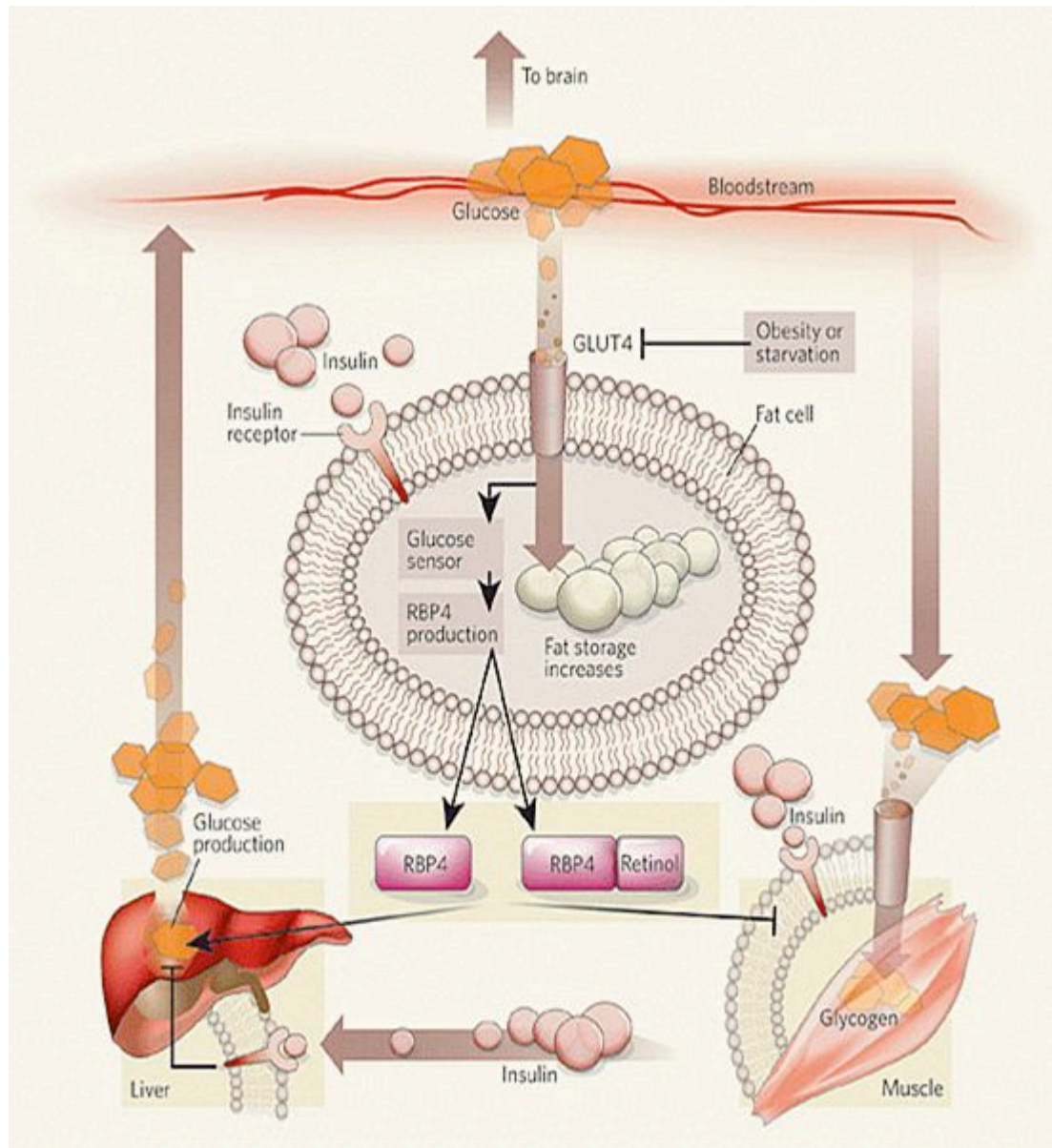
Figura: La struttura del recettore dell'insulina ed alcune tipiche mutazioni del recettore. Il recettore dell'insulina consiste in due subunità alfa (che sono interamente extracellulari e legano la molecola insulina) ciascuna collegata ad una delle due subunità beta attraverso ponti disolfuro, formando un tetramero. Le subunità beta sono proteine transmembrana che possiedono attività tirosinocinasi nei loro domini intracellulari. La chinasi è attivata dal legame all'insulina alla subunità alfa e conduce il segnale dell'insulina ai substrati intracellulari. Sono state identificate circa 100 diverse mutazioni nel recettore dell'insulina; queste mutazioni possono avvenire nel contesto dell'intera lunghezza del recettore (x). Molte di queste sono mutazioni missenso e comportano cambiamenti nella sequenza del recettore o degradazione prematura della proteina-recettore. I pazienti con mutazioni del recettore di solito presentano sindromi caratterizzate da grave insulino-resistenza, come il leprecaunismo, la sindrome da insulino-resistenza tipo A, l'acantosis nigricans o la sindrome di Rabson-Mendenhall.

Sono stati inoltre identificati pazienti con anticorpi che si legano competitivamente al recettore. Nel complesso queste anomalie sono rare e sono responsabili di meno dell'1% dei pazienti diabetici. Benché gli studi su tessuto epatico, muscolare e adiposo di pazienti con diabete di tipo 2 abbiano dimostrato una riduzione del legame, tale riduzione è probabilmente secondaria all'iperinsulinemia osservata in questi pazienti e forse non svolge un ruolo importante nell'insulino-resistenza del diabete di tipo 2.

- *Anomalie post-recettoriali*

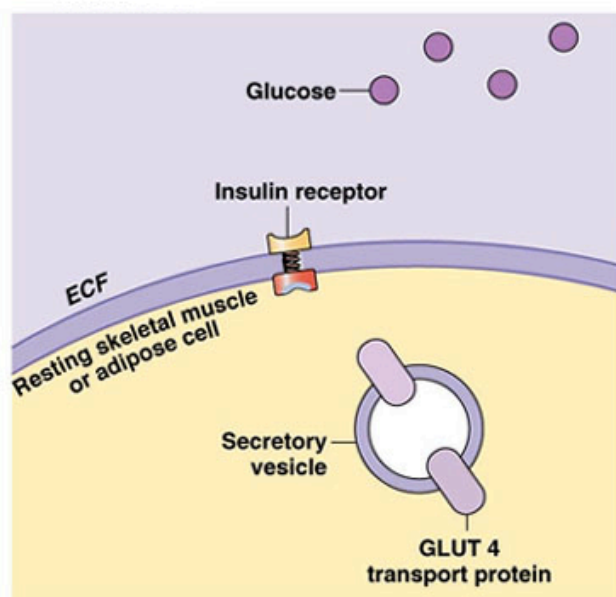
Le anomalie post-recettoriali sono principalmente responsabili dell'insulino-resistenza nei pazienti con diabete di tipo 2 e la ricerca delle alterazioni responsabili del diabete di tipo 2 si sta concentrando sull'identificazione di queste anomalie.

I soggetti affetti da diabete tipo 2 mostrano un'alterata captazione muscolare del glucosio, ridotta clearance del glucosio, aumentata produzione epatica di glucosio, ridotta sintesi del glicogeno ed ossidazione del glucosio in presenza di iperinsulinemia come conseguenza di resistenza insulinica. Il difetto comprende una riduzione significativa del trasporto del glucosio e di altri processi intracellulari coinvolti nel metabolismo del glucosio, soprattutto della sintesi del glicogeno stimolata dall'insulina. Il trasporto del glucosio mediato dall'insulina è facilitato da un glucotrasportatore regolato specificatamente dall'insulina (GLUT-4), che si trova nel tessuto muscolare e negli adipociti.

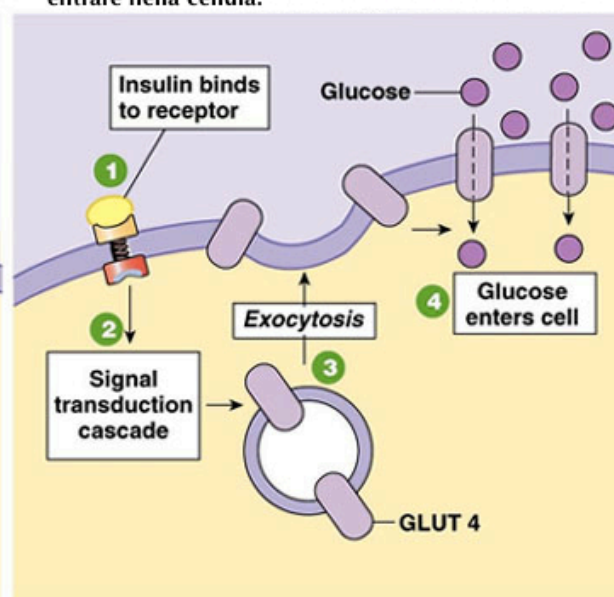


Dei cinque tipi di trasportatori del glucosio identificati, la proteina GLUT-4 è conosciuta come trasportatore del glucosio insulino-sensibile. Questo trasportatore si trova in alte concentrazioni nelle cellule adipose, nel muscolo scheletrico e cardiaco ed è principalmente responsabile per l'assorbimento del glucosio e dei suoi effetti. Le proteine GLUT-4 sono contenute in vescicole intracellulari e vengono trasferite sulla superficie cellulare, inserendosi sulla membrana plasmatica, dopo il legame insulina-recettore. Ciò permette al glucosio di entrare nella cellula.

(a) In assenza di insulina, il glucosio non può entrare nella cellula.



(b) L'insulina segnala alla cellula di inserire i trasportatori GLUT-4 nella membrana, permettendo al glucosio di entrare nella cellula.



I diabetici di tipo 2 di solito hanno normali livelli di GLUT-4, ma insufficiente trasporto del glucosio. Questo potrebbe indicare che in questi pazienti è presente un difetto nella traslocazione insulino-indotta di GLUT-4 sulla superficie cellulare.

Sedi di insulino-resistenza

Numerosi studi hanno dimostrato che l'insulino-resistenza esiste sia nel tessuto epatico che in quelli periferici. Nella compromissione della captazione del glucosio da parte del tessuto muscolare secondaria all'insulino-resistenza, l'insulino-resistenza si manifesta con l'alterazione di vie non ossidative del metabolismo del glucosio, principalmente della sintesi del glicogeno, e con una lieve riduzione dell'ossidazione del glucosio. Nei pazienti con diabete di tipo 2, la riduzione dello smaltimento del glucosio muscolare mediato dall'insulina contribuisce all'eccessivo incremento glicemico dopo assunzione di glucosio.

- Tessuto epatico

Molti studi dimostrano chiaramente che l'insulino-resistenza è un importante meccanismo patogenetico che contribuisce alla ridotta tolleranza al glucosio nel diabete tipo 2. Comunque, va ben tenuto presente che i tessuti responsabili dell'insulino-resistenza nella fase che segue l'assorbimento sono differenti da quelli responsabili del difetto d'azione dell'insulina nella fase in cui è presente la regolazione insulinica. In condizioni basali, il fegato rappresenta la sede più importante dell'insulino-resistenza e questo si riflette nella sovrapproduzione di glucosio nonostante la presenza di iperglicemia e iperinsulinemia a digiuno.

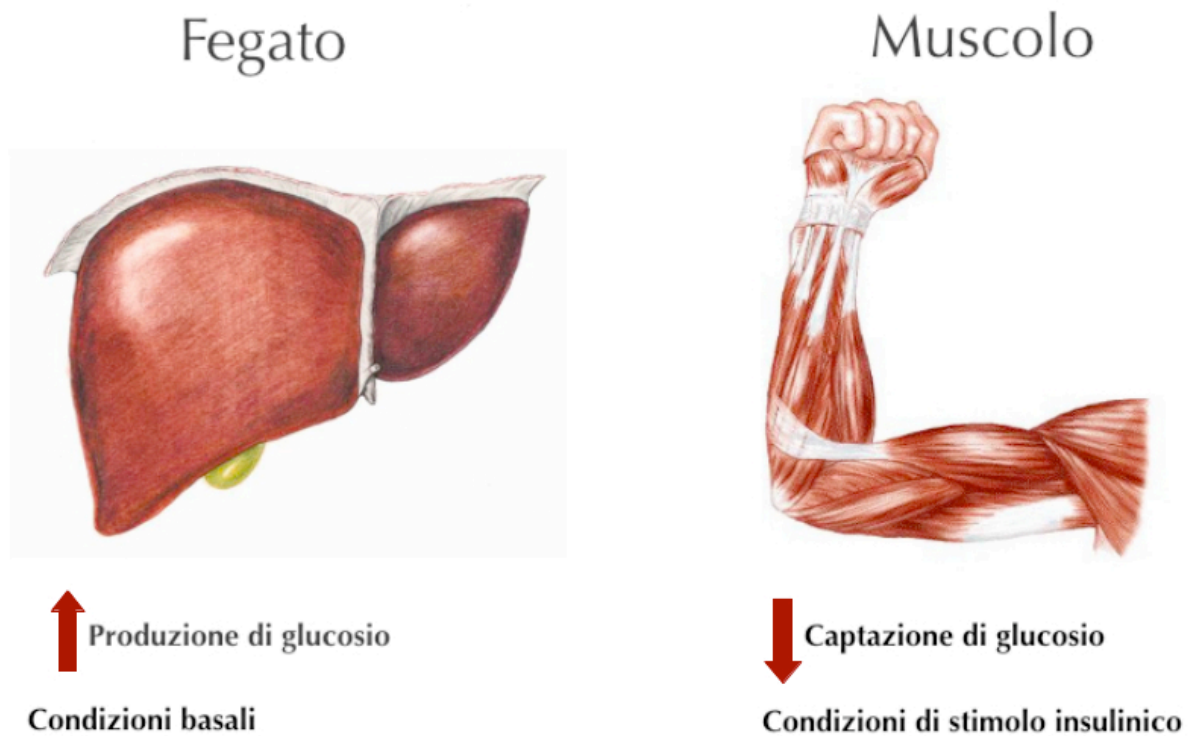


Figura: In condizioni basali, il fegato dei pazienti con diabete di tipo 2 produce una quantità eccessiva di glucosio nonostante la presenza di iperinsulinemia a digiuno; nelle condizioni di stimolo insulinico la capacità dell'iperinsulinemia di aumentare la captazione muscolare di glucosio è marcatamente ridotta.

La velocità basale di produzione di glucosio aumenta quando la glicemia a digiuno supera i 140 mg/dL, e tale incremento è correlato al valore della glicemia a digiuno.

Questo aumento della velocità di rilascio del glucosio da parte del fegato gioca un ruolo importante nel mantenimento dell'iperglicemia a digiuno nei soggetti con diabete di tipo 2. Sebbene la captazione epatica di glucosio nella fase successiva all'assorbimento sia aumentata in termini assoluti, l'efficacia con cui il glucosio viene eliminato dall'organismo (*clearance* del glucosio) è diminuita. Dopo infusione o ingestione di glucosio (quindi in condizioni di stimolazione insulinica) sia la riproduzione della captazione muscolare del glucosio sia la soppressione della produzione epatica di glucosio hanno un ruolo importante nel determinare insulino-resistenza. Da un punto di vista quantitativo, la riduzione della captazione di glucosio insulino-mediata da parte del muscolo e il deficit di soppressione da parte dell'insulina della produzione epatica di glucosio contribuiscono in modo pressoché uguale all'alterazione dell'omeostasi glucidica dell'organismo nel diabete di tipo 2 dopo assunzione orale di glucosio. I pazienti con diabete di tipo 2 non presentano la normale soppressione del rilascio epatico di glucosio quando l'insulina viene infusa a basse concentrazioni

per via endovenosa. A concentrazioni infusionali più elevate di insulina, la dismissione di glucosio dal fegato può ridursi, indicando una capacità parziale di compensare l'insulino-resistenza.

Comunque, in condizione di euglicemia e iperinsulinemia, il rilascio epatico di glucosio è in gran parte soppresso e la riduzione della captazione di glucosio da parte del muscolo è la principale responsabile dell'insulino-resistenza.

Effetti dei NEFA sull'azione epatica dell'insulina

I livelli di acidi grassi non esterificati (NEFA) in circolo sono aumentati nei soggetti obesi, soprattutto quelli con obesità viscerale. È ben dimostrato che il tessuto adiposo è più metabolicamente attivo che il grasso sottocutaneo, con alti livelli del turnover di trigliceridi e rilascio dei NEFA. Questa situazione può derivare dalla vicina posizione anatomica del fegato, la densa rete vascolare ed innervazione simpatica ed aumentati livelli di beta-adrenocettori che mediano lipolisi (Rosell and Belfrage, 1979). I NEFA originati dal grasso viscerale entrano nella circolazione portale e vengono mandati direttamente al fegato ed immediatamente ossidati ad acetilCoA. L'AcetilCoA stimola la piruvato carbossilasi e pertanto la produzione gluconeogenica di glucosio dal piruvato. Quindi la produzione epatica di glucosio aumenta. Tuttavia, oltre all'aumento dell'insulino-resistenza da parte del tessuto adiposo, esistono altre caratteristiche metaboliche, come un'aumentata risposta lipolitica alle catecolamine, che esita in un aumento della quota di lipolisi (x Richelsen et al., 1991). Questo, assieme al drenaggio venoso del grasso intraperitoneale, espone il fegato ad alti livelli di NEFA e glicerolo (Bjorntorp, 1990). Questo comporta un'aumentata secrezione di VLDL trigliceridi, come i NEFA sono il maggior substrato per la produzione epatica di trigliceridi, e come la secrezione di VLDL è normalmente sotto inibizione tonica da parte dell'insulina e che è persa nello stato di insulino-resistenza (Durrington et al., 1982). C'è anche una ridotta degradazione dell'ApoB; anche questo è un processo regolato dall'insulina (Jackson et al., 1990), con conseguente formazione di LDL. Questo alto flusso riduce anche la clearance epatica con successiva iperinsulinemia periferica ed aumentata gluconeogenesi epatica.

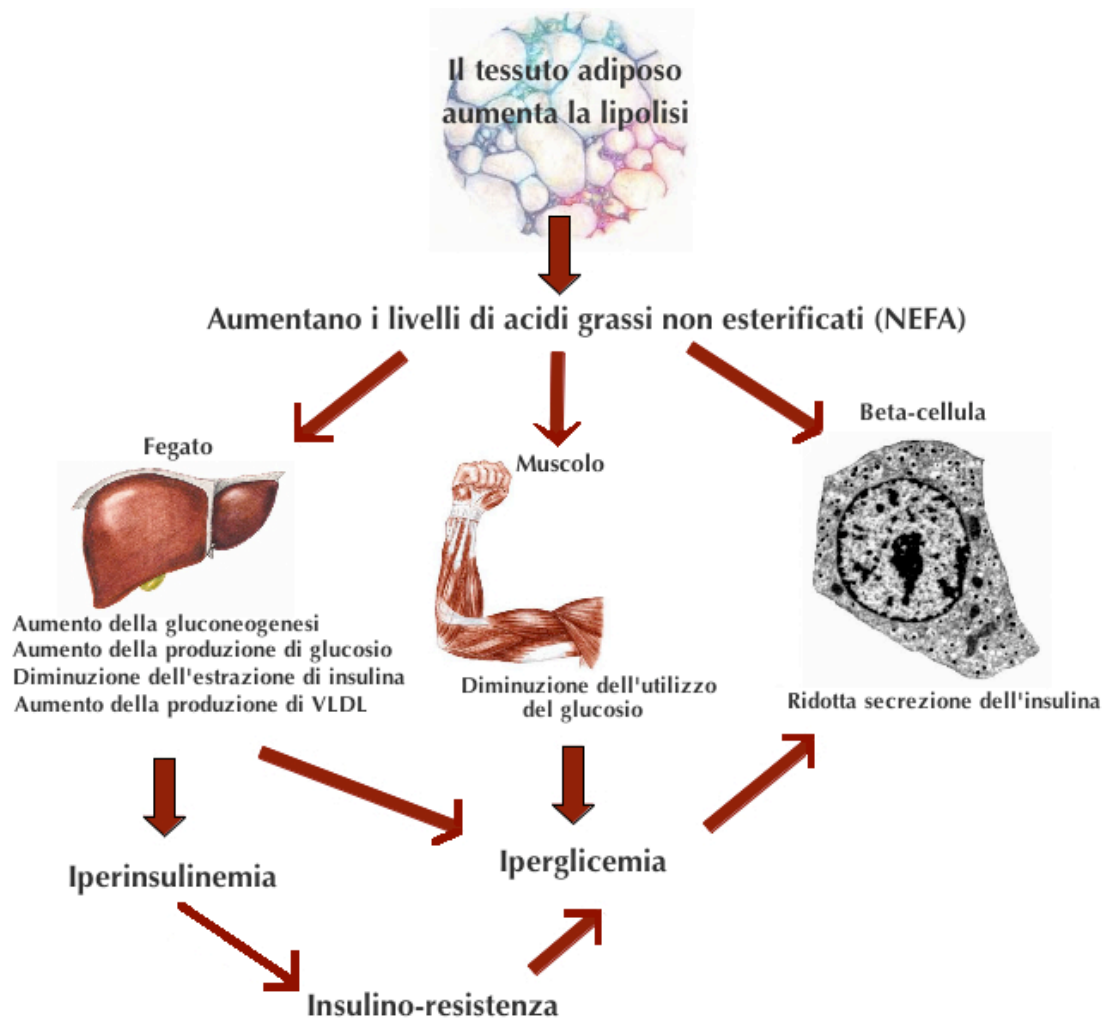


Figura: L'esposizione del fegato ad alti livelli di FFA e glicerolo esita in un'aumentata produzione di VLDL, una riduzione della clearance epatica di insulina che comporta iperinsulinemia periferica, la quale induce insulino-resistenza periferica ed aumentata gluconeogenesi epatica.

Questa situazione è ulteriormente esacerbata, quanto LPL adiposo, un ormone insulino-dipendente, che è normalmente responsabile della rimozione dei trigliceridi dalle VLDL, appare essere insulino-resistente – una situazione che culmina nell'ipertrigliceridemia. Sfortunatamente, gli studi si concentrano sulla questione fondamentale se l'insulino-resistenza preceda e peggiori durante l'obesità (x Ludvil et al., 1995), o se sia una conseguenza dell'obesità (x Campbell e Gerich, 1990).

Secrezione insulinica

Il diabete di tipo 2 è caratterizzato da un'alterazione della secrezione e dell'azione dell'insulina. Nelle popolazioni etniche ad alto rischio (Indigeni Americani, Messicani Americani, abitanti delle isole del Pacifico) che presentano un'alta prevalenza di diabete, la secrezione di insulina è aumentata e l'insulinemia a digiuno e dopo stimolo con glucosio è elevata nelle prime fasi della

storia naturale del diabete di tipo 2 rispetto a quella dei controlli non diabetici di pari età e peso. La maggior parte dei risultati disponibili suggeriscono che in queste popolazioni l'insulino-resistenza è l'alterazione di origine genetica primaria e l'aumento dell'attività delle beta-cellule rappresenta un adattamento compensatorio per superare il difetto dell'azione dell'insulina.

Al contrario della situazione descritta precedentemente, sembrano diventare più numerosi gli studi che dimostrano che in alcuni sottogruppi è più importante il difetto di secrezione insulinica nella patogenesi del diabete di tipo 2. In una significativa minoranza di articoli sono stati descritti soggetti con diabete di tipo 2, ridotta secrezione insulinica e sensibilità normale. Tali pazienti con diabete di tipo 2 sono generalmente magri, anziani (età superiore ai 60 anni all'esordio) e di origine europea. In questo gruppo sono prevalenti soprattutto mutazioni dei geni della glucochinasi e dei geni del DNA mitocondriale, ma anche quando questi vengono considerati, l'origine del difetto della beta-cellula rimane inspiegata nella maggior parte dei soggetti.

- *Risposta insulinica stimolata dal glucosio*

La funzione delle beta-cellule nella patogenesi del diabete di tipo 2 non è stata tuttora chiarita. Le cellule-beta rilasciano insulina dopo che il glucosio è stato captato dai trasportatori GLUT-2 e dopo essere stato fosforilato da parte della glucochinasi.

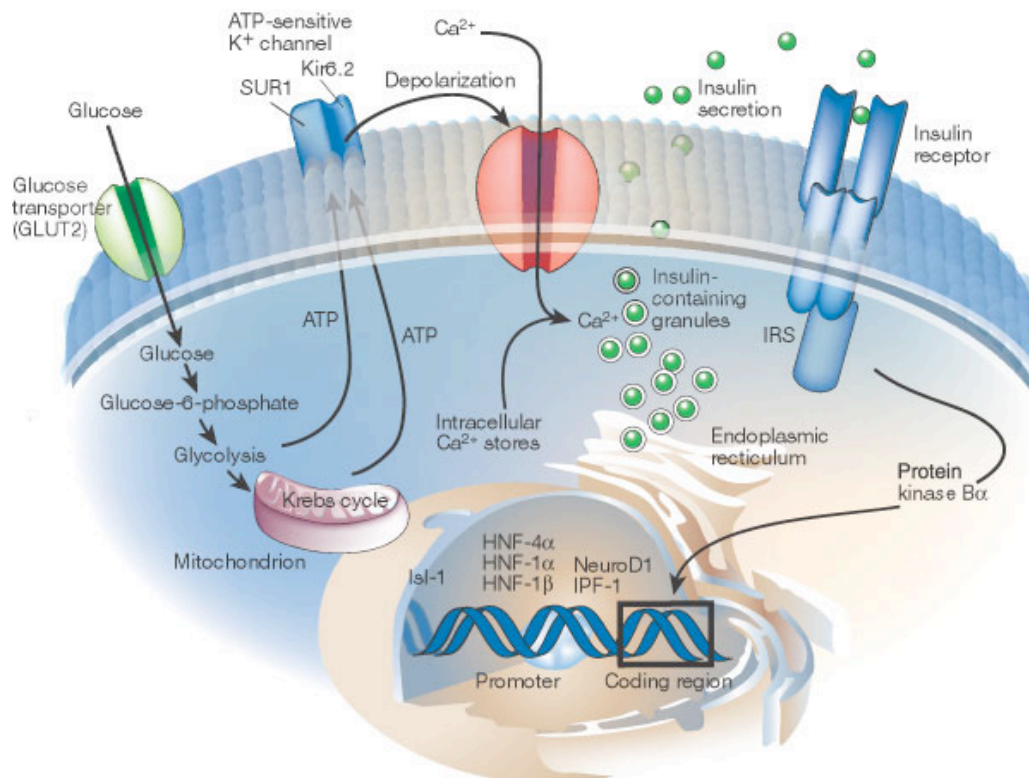


Figura: Sensibilità ai nutrienti e secrezione dell'insulina da parte della cellula-beta. La cellula-beta prende il glucosio e gli aminoacidi attraverso trasportatori specifici sulla membrana cellulare, come il trasportatore per il glucosio GLUT-2 indicato in figura. Questa isoforma del trasportatore è espressa solo dalle cellule-beta e dal fegato ed ha una Km nel

range fisiologico. Una volta entrato nella cellula, il glucosio viene fosforilato da una specifica forma di esochinasi, chiamata glucochinasi. Il seguente metabolismo del glucosio comporta il cambiamento in ATP della quota di ADP presente all'interno della cellula, che a sua volta causa l'attivazione del canale del potassio ATP-dipendente. Questo comporta la depolarizzazione della cellula, un ingresso di calcio, ed il successivo rilascio di insulina dai granuli secretori. Anche il recettore della sulfonilurea (non mostrato in figura) può attivare il canale del potassio ATP-dipendente, mimando l'effetto del glucosio. Altri secretagoghi, come il GLP-1, bypassano questo sistema andando a modificare i livelli intracellulari di AMPc. Il livello di espressione delle diverse molecole coinvolto nella sensibilità al glucosio, come il trasportatore del glucosio GLUT-2, e lo sviluppo della beta-cellula, sono controllati da diversi fattori di trascrizione. I più studiati tra questi sono HNF-1 α , HNF-1 β , HNF-4 α , e PDX-1 (IPF-1). Il diabete giovanile insorto in età adulta può derivare da difetti genetici in uno qualsiasi di questi fattori di trascrizione o in difetti della glucochinasi. Nel diabete di tipo 2, non è ancora noto quale sia l'esatto sito del difetto nella sensibilità al glucosio, ma studi in modelli animali hanno suggerito che potrebbe essere una down-regulation del trasportatore del glucosio GLUT-2 (19).

L'insulina è rilasciata in modo pulsatile sia nello stato basale sia sotto stimolo di glucosio. Questa pulsatilità è largamente persa nei pazienti con diabete di tipo 2 e nella condizione pre-diabetica.

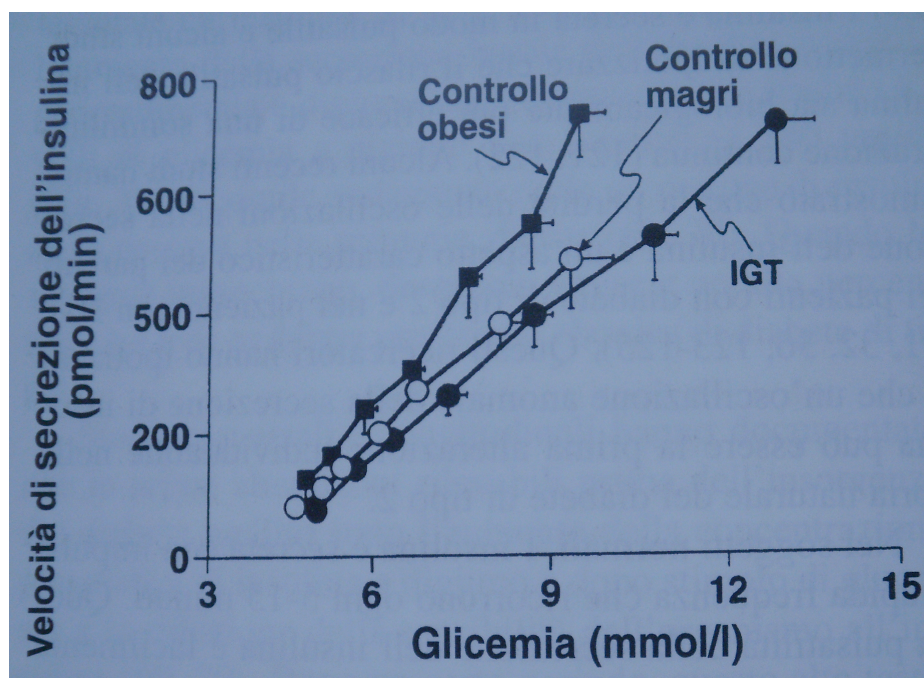


Figura: Relazione tra glicemia media e velocità di secrezione dell'insulina durante un'infusione a scalini di glucosio con velocità compresa tra 1 e 8 mg · kg⁻¹ · min⁻¹ (ciascuna infusione durava 40 minuti) in soggetti di controllo magri, in soggetti obesi non diabetici e in soggetti obesi con IGT)

Dato che la secrezione insulinica è regolata dalla concentrazione plasmatica di glucosio, non deve sorprendere che le concentrazioni plasmatiche assolute di insulina dopo assorbimento/a digiuno in risposta all'iperglicemia siano state trovate normali o aumentate nel diabete di tipo 2. Il prevalere della carenza insulinica e della ridotta funzionalità delle cellule-beta nel rilasciare l'insulina si rende

palese nella maggioranza dei pazienti diabetici tipo 2 quando le concentrazioni plasmatiche di insulina sono in relazione al glucosio plasmatico. Questa disfunzione si applica in parte anche alla concentrazione plasmatica di insulina stimolata da carico orale o EV di glucosio, che è ridotta in termini assoluti nel 50% dei pazienti se si considera la risposta insulinica precoce ai 30 minuti. L'iperinsulinemia, stimolata dal glucosio in uno stato di insulino-resistenza, è stata trovata per essere associata non solo alla prevalente glicemia ma anche alla riduzione della captazione splancnica di insulina (20).

Negli stadi iniziali del diabete di tipo 2 i pazienti presentano di solito una concentrazione plasmatica di insulina a digiuno normale o elevata.

Tale valori di insulinemia rispecchiano la maggiore secrezione di insulina in risposta all'insulino-resistenza e agli elevati livelli glicemici. Negli stadi successivi dell'evoluzione del diabete di tipo 2, quando la glicemia a digiuno supera i 250 mg/dL, la funzionalità beta-cellulare risulta gravemente compromessa e i valori di insulinemia a digiuno appaiono ridotti.

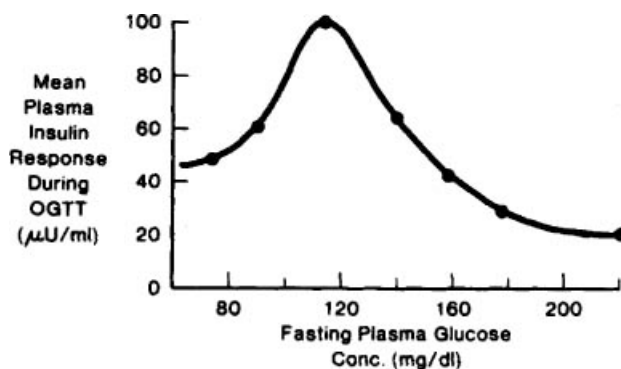


Figura: La "curva di Starling" del pancreas. Nelle prime fasi del diabete di tipo 2, i livelli di insulina aumentano all'aumentare dei livelli di glucosio. In seguito, tuttavia, la beta-cellula perde la sensibilità al glucosio ed i livelli di insulina iniziano a calare. Questo crea una curva a campana, che ricorda la curva di Starling della contrattilità cardiaca.

Sebbene lo stato di iperinsulinemia preceda sempre lo sviluppo del diabete (21), questa controversia dipende chiaramente dalla definizione della concentrazione plasmatica di glucosio che è considerata diagnostica per il diabete di tipo 2. La più alta concentrazione plasmatica di glucosio e la più precoce iperinsulinemia sono trovate nella storia naturale della malattia diabetica.

L'ipoinsulinemia è stata designata, comunque, non solo come difetto primario nel MODY (*maturity-onset diabetes of the young*, caratterizzato da mutazioni del gene della glucochinasi in età precoce) ma anche nel diabete di tipo 2 ed in particolare per il rilascio di insulina sotto stimolo. In questo contesto, è stato osservato che la carenza precoce di insulina (prima fase), dopo stimolo, può esitare in un'iperglicemia seguita da un'iperinsulinemia tardiva. Dopo correzione degli eccessi plasmatici di proinsulina plasmatica, usando anticorpi altamente specifici contro l'insulina o il C-peptide, queste osservazioni potrebbero essere più frequentemente mettersi in relazione con la carenza di insulina stimolata.

Nei pazienti con glicemia a digiuno o tolleranza al glucosio alterate la risposta insulinica totale dopo somministrazione orale o endovenosa di glucosio è di solito aumentata. Con l'aumento dei valori glicemici a digiuno, la fase precoce della secrezione insulinica risulta ridotta dopo l'assunzione di cibo; la fase tardiva, tuttavia, può essere normale o aumentata. Nei soggetti con diabete di tipo 2 con moderata iperglicemia a digiuno (140-180 mg/dL), entrambe le fasi di secrezione insulinica risultano ridotte. A causa dell'insulino-resistenza i livelli abituali di secrezione insulinica sono inadeguati a mantenere una normale tolleranza al glucosio. La presenza di insulino-resistenza per obesità, ad esempio, è compensata da un aumento della secrezione insulinica. Quando il diabete si sviluppa e progredisce verso un grado più marcato di iperglicemia a digiuno (>180 mg/dL), la risposta secretoria dell'insulina alla somministrazione orale ed endovenosa di glucosio si riduce progressivamente. In generale, un'inadeguata risposta insulinica al glucosio è un indicatore di diabete di tipo 2.

Oltre ai difetti quantitativi nella secrezione insulinica, il diabete di tipo 2 è anche caratterizzato da cambiamenti qualitativi nel rilascio di insulina. Questi cominciano con una perdita del normale pattern pulsatile della secrezione di insulina e finiscono con un progressivo fallimento del rilascio di insulina in risposta allo stimolo del glucosio (20), ma meno in risposta a quello degli aminoacidi (22).

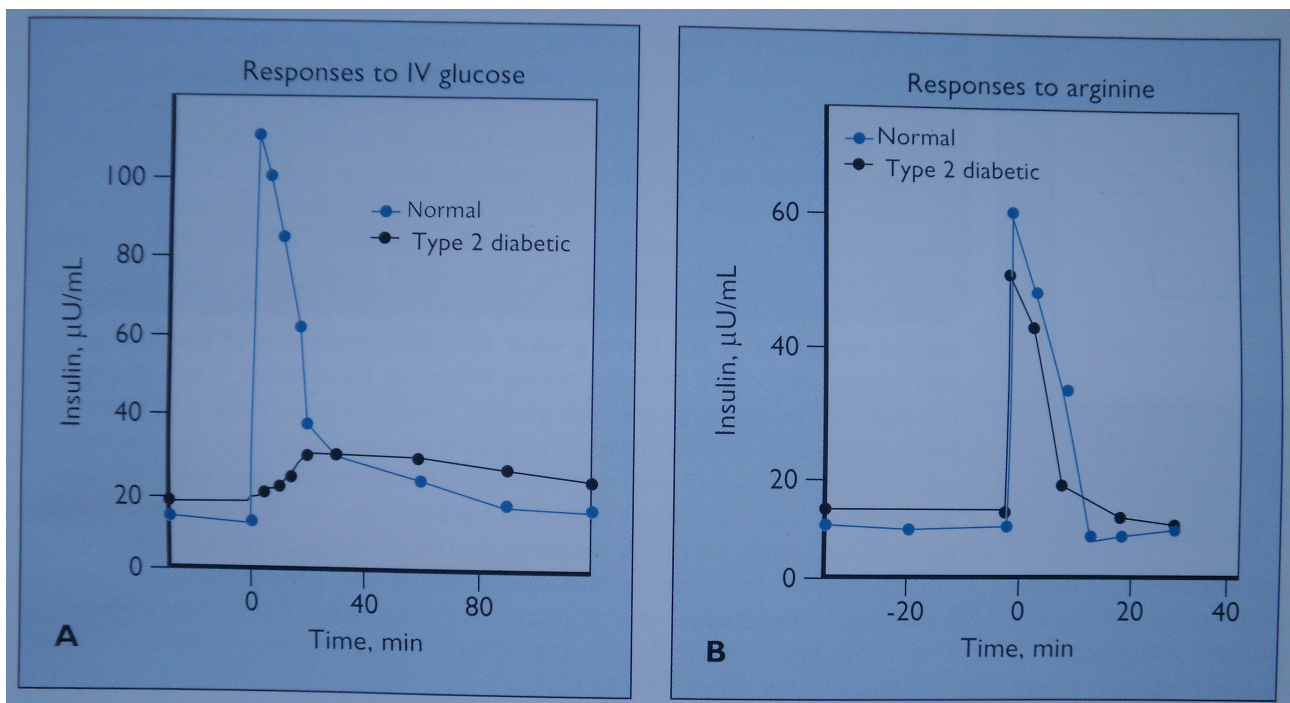
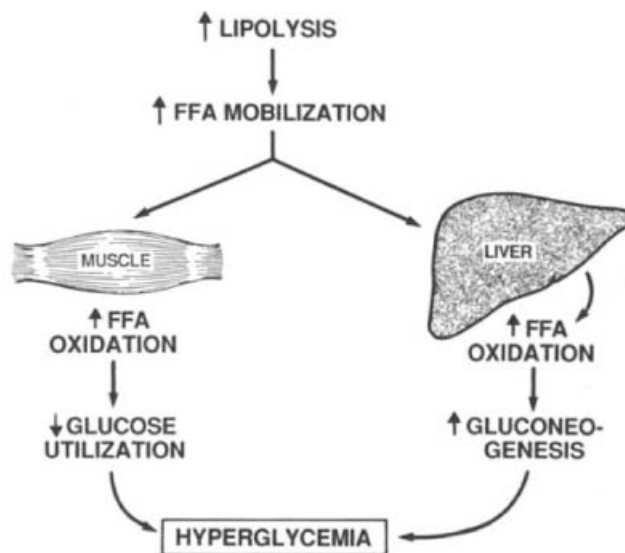


Figura: Tipico difetto secretorio dell'insulina in pazienti con diabete di tipo 2. Questo consiste nella perdita della prima fase di secrezione di insulina allo stimolo di glucosio somministrato per via EV (A); mentre è mantenuta la risposta all'arginina EV (B) e altri secretatoghi.

Questa sequenza di eventi, tuttavia, non esclude la carenza di insulina in presenza di iperinsulinemia assoluta, che di solito rimane inappropriatamente bassa rispetto ai soggetti non-diabetici e prevalente sulle concentrazioni plasmatiche di glucosio. Questo si applica in particolare quando le concentrazioni plasmatiche di glucosio superano i 120 mg/dL ed è persa la prima fase di secrezione insulinica. Un pattern simile è visibile anche nella prole non ancora diabetica di genitori diabetici tipo 2. Come diretti discendenti, sono predisposti a sviluppare diabete di tipo 2 ed hanno una secrezione di insulina disordinata e non-stazionaria ed irregolari oscillazioni spontanee di insulina. Inoltre, la prima fase di secrezione insulinica, in risposta sia a carico orale sia EV di glucosio, tende ad essere ridotta nei pazienti diabetici tipo 2 con glicemia a digiuno.

Un altro ruolo importante nel controllo del rilascio di insulina è stato assegnato agli acidi grassi liberi plasmatici (FFA), che stimolano la secrezione di insulina nel breve termine ma la riducono del 60% dopo infusione prolungata di lipidi per 24-ore. Questo comporta una mancata compensazione appropriata dell'insulino-resistenza indotta da FFA. Questo comportamento ambivalente degli FFA significa che in qualsiasi momento la secrezione di insulina potrebbe dipendere dalle prevalenti concentrazioni plasmatiche di glucosio ed aminoacidi, ma anche dagli FFA e dalla loro natura



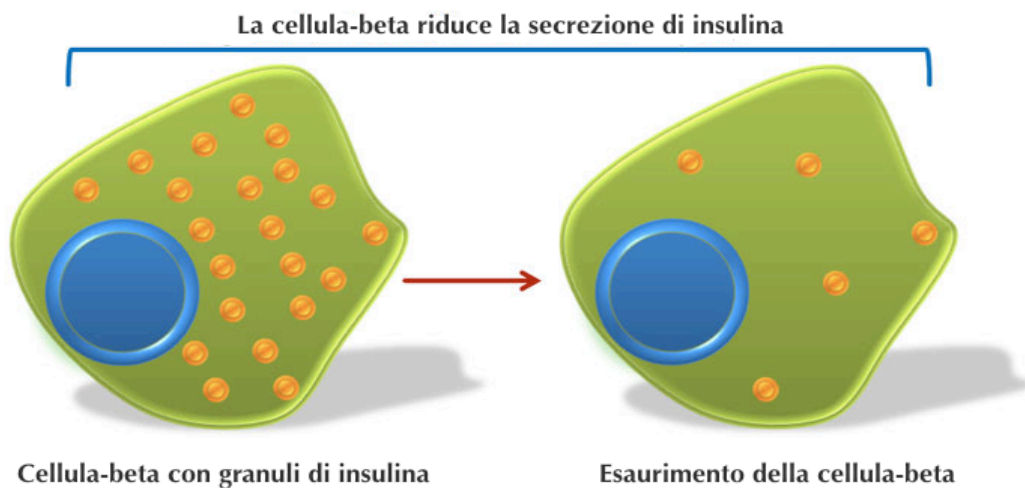
qualitativa.

- Conseguenze fisiologiche dell'alterata secrezione insulinica

L'alterazione della secrezione insulinica ha importanti conseguenze fisiologiche. Quando la fase precoce della secrezione insulinica è ridotta, la concentrazione di insulina nella vena porta resta bassa dopo l'assunzione di alimenti e la produzione epatica di glucosio non viene soppressa. La

dismissione continua di glucosio da parte del fegato associata al glucosio circolante di derivazione intestinale porta a un eccesso glicemico. Inoltre, a causa della ridotta secrezione insulinica, la captazione di glucosio da parte del muscolo è ridotta, aggravando l'iperglicemia. Nelle prime fasi dell'evoluzione verso il diabete, la secrezione insulinica inizialmente ridotta è seguita da un successivo aumento della secrezione insulinica; infine, la glicemia torna alla normalità ma soltanto passando attraverso lo stadio dell'iperglicemia e della conseguente iperinsulinemia. Con la progressione del deficit della secrezione insulinica delle cellule beta, si riduce anche la secrezione insulinica tardiva. Quando ciò si verifica si manifestano l'iperglicemia e il diabete clinico.

L'iperglicemia cronica sembra essere dannosa per le cellule-beta ed indebolisce il rilascio di insulina attraverso la glucotossicità.



In questo contesto, la glucochinasi gioca un ruolo decisivo ed è associata al meccanismo di sensibilità al glucosio. Questo meccanismo dipende dagli appropriati trasporto e fosforilazione fisiologici del glucosio, che sono passaggi limitanti per l'induzione di una risposta fisiologica dell'insulina al segnale glucidico. Inoltre, la scarsa funzionalità delle beta-cellule è stata anche attribuita al polipeptide amiloide insulare (*Islet-Amyloid Polipeptide*, IAPP). Questo non solo sopprime l'azione insulinica ma anche è un componente dell'amiloide pancreatico insulare, che è stato trovato in eccesso nelle isole di più del 50% dei pazienti diabetici di tipo 2 (23).

Sequenze patogenetiche responsabili del diabete di tipo 2

Quando la maggior parte dei pazienti affetti da diabete di tipo 2 giunge all'osservazione del medico, è presente l'iperglicemia a digiuno e i deficit dell'azione e della secrezione insulinica sono ormai consolidati. A tutt'oggi non è noto quale sia il difetto principale nella genesi della malattia. Le anomalie dell'azione insulinica possono tradursi in un'insufficienza beta-cellulare e le anomalie

della secrezione insulinica possono portare alla comparsa di insulino-resistenza. In assenza di una compromissione della secrezione insulinica, l'insulino-resistenza raramente determina l'iperglicemia.

- *L'ipotesi che attribuisce l'anomalia principale alla compromissione delle cellule-beta* propone quanto segue. Quale prima anomalia, la risposta secretoria dell'insulina al glucosio è ritardata. Inoltre, l'andamento pulsato della secrezione insulinica osservato nei soggetti non diabetici è assente o ridotto nei pazienti con diabete di tipo 2. La carente risposta secretoria dell'insulina porta a una soppressione inadeguata della produzione epatica di glucosio ed a una riduzione della captazione del glucosio da parte dei tessuti periferici nel periodo immediatamente successivo all'assunzione di glucosio. L'iperglicemia post-prandiale che ne consegue è uno stimolo persistente per la secrezione di insulina e quindi per l'iperinsulinemia che, alla fine, determineranno il ripristino della normoglicemia. In questo stato l'euglicemia a digiuno viene mantenuta soltanto mediante l'aumento dell'insulinemia.

L'iperinsulinemia determina la down-regulation del numero di recettori insulinici causando anomalie post-recettoriali. Questo meccanismo potrebbe provocare lo sviluppo o il peggioramento dell'insulino-resistenza. Quando il deficit delle cellule-beta peggiora, la risposta secretoria dell'insulina al glucosio diventa più deficitaria e compare l'iperglicemia a digiuno. La causa del carattere progressivo del deficit delle cellule-beta non è nota, ma potrebbe, in teoria, essere dovuta a fattori genetici, ad effetti nocivi dell'iperglicemia sulle cellule-beta, oppure ad altre alterazioni metaboliche che si verificano nel diabete.

- *L'ipotesi che attribuisce l'anomalia principale all'insulino-resistenza* presuppone che quest'ultima sia geneticamente determinata ed accentuata dall'obesità. In condizioni basali, l'insulino-resistenza nel fegato porta ad una maggiore produzione epatica di glucosio, che richiede la secrezione di ulteriore insulina per sopprimere il fegato e prevenire l'iperglicemia a digiuno. In condizioni basali, circa il 70% del glucosio viene captato dai tessuti insulino-indipendenti, principalmente dal cervello, il che minimizza l'importanza del tessuto muscolare. Dopo assunzione di glucosio, i tessuti insulino-dipendenti (muscolo e fegato) assumono un ruolo fondamentale nello smaltimento di un carico di glucosio e, se l'iperinsulinemia non determinasse un'aumentata rimozione del glucosio, si manifesterebbe un'iperglicemia post-prandiale. Infine, la necessità, indotta dall'insulino-resistenza, di una maggiore secrezione di insulina in condizioni sia basali che post-prandiali non potrà più essere soddisfatta dalle cellule-beta, con conseguente insorgenza di iperglicemia. La comparsa

dell'iperglicemia aggrava ulteriormente sia l'insulino-resistenza che la compromissione delle cellule-beta (glucotossicità).

2.2 Ruolo degli ormoni gatrointestinali

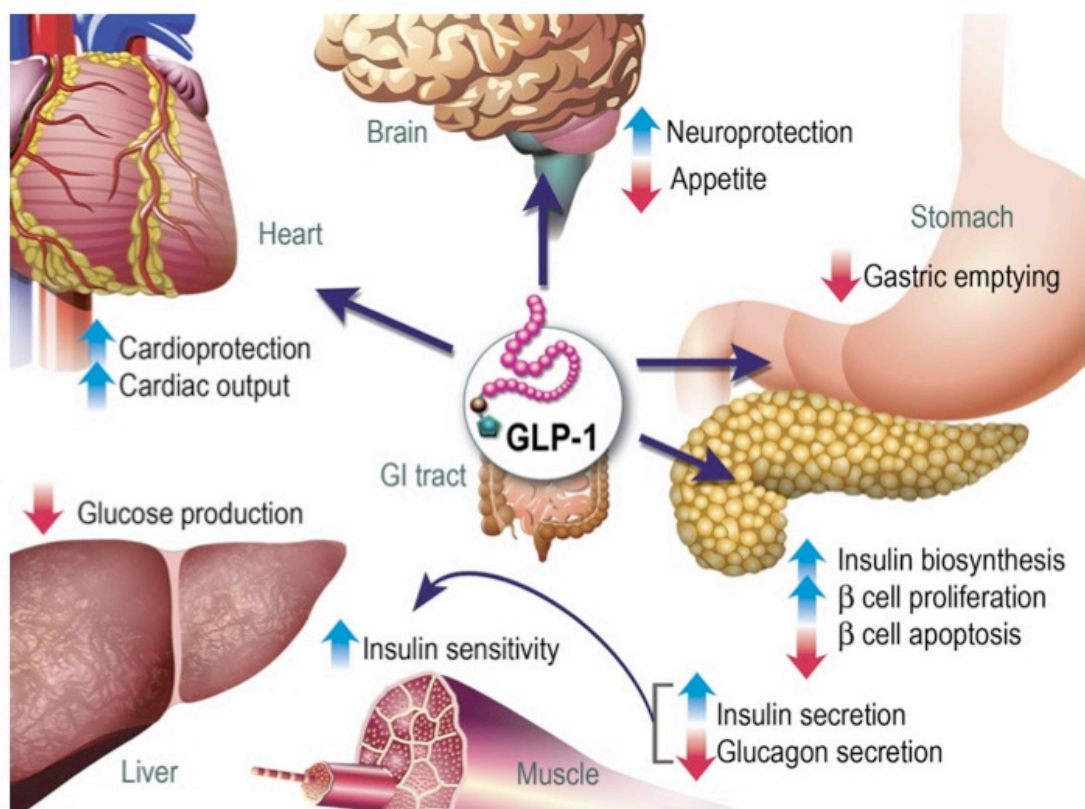
L'intestino è nella posizione ideale per essere ricettivo alla disponibilità di nutrienti, per segnalare tali informazioni al cervello e poi regolare l'assunzione di cibo a seconda delle richieste energetiche del corpo. In linea con questo concetto, sono stati trovati diversi ormoni intestinali non solo per regolare la digestione, ma anche per modulare l'appetito negli animali e nell'uomo. Così, l'intestino può essere visto come un organo endocrino, che funziona sia per mediare, ma anche per controllare l'introito energetico.

Infatti, oltre al glucosio, sono stati individuate altre molecole con effetti insulino-secretagogo che potrebbero avere un ruolo nella disfunzione delle cellule beta del diabete di tipo 2. Per esempio, gli ormoni gastro-intestinali influenzano il metabolismo del glucosio a livelli diversi:

- modificando l'assunzione di cibo e il peso corporeo, e quindi la sensibilità all'insulina;
- influenzando sullo svuotamento gastrico e sulla motilità intestinale, e quindi sulle fluttuazioni del glucosio pasto-correlate;
- influenzando la secrezione di insulina, e quindi i livelli plasmatici di glucosio;
- influenzando la sensibilità insulinica tessuto-specifica del metabolismo del glucosio.

L'attenzione nell'ultimo decennio si è concentrata sul ruolo degli ormoni gastro-intestinali nella patogenesi del diabete, tanto che la recente classe di farmaci anti-diabetici ampiamente utilizzata è basata su analoghi del GLP-1 o inibitori della sua degradazione(DPPIV) (24).

Glucagone-like peptide-1

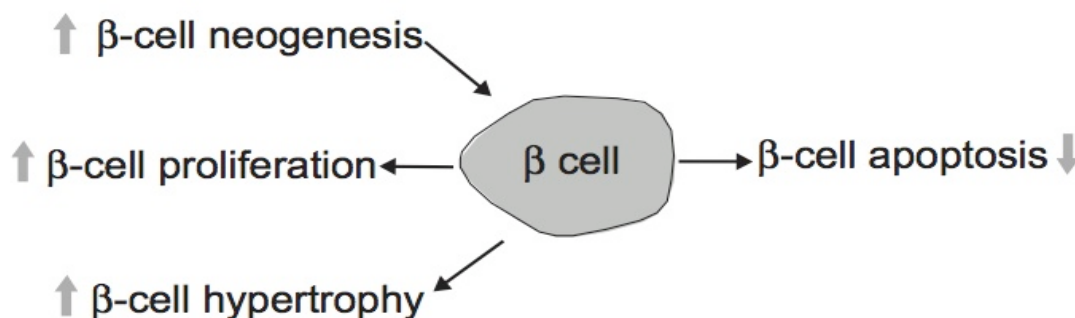


GLP-1 è secreto e rilasciato dalle cellule L dell'intestino, insieme PYY ed un altro frammento del preproglucagone, OXM. Il clivaggio differenziale del preproglucagone esita in un peptide di 36 o 37 aminoacidi, diversi per un di un residuo C-terminale di glicina. Tuttavia, è necessario un ulteriore clivaggio per produrre i frammenti bioattivi, GLP-1_{7-36amide} e GLP-1₇₋₃₇. Anche se entrambe le isoforme attive di GLP-1 hanno mostrato una potenza equivalente, GLP-1_{7-36amide} è la forma principale circolante. Il recettore GLP-1 è accoppiato a proteina G ed è l'unico recettore attualmente identificato per legare GLP-1.

In termini generali, GLP-1 è meglio pensato come una componente del “freno ileale”, con un ulteriore ruolo nel metabolismo di carboidrati. Di conseguenza, GLP-1 inibisce la secrezione di acido gastrico e ritarda lo svuotamento gastrico. Inoltre, ha una potente attività incretinica perché up-regola varie fasi della produzione e del rilascio di insulina, insieme con attenuazione del rilascio di glucagone. GLP-1 viene rilasciato dall'intestino in risposta all'ingestione di cibo e la sua secrezione è proporzionale al valore calorico del pasto.

della proliferazione delle cellule β e la neogenesi dalle cellule precursori duttali, oltre alla aumentata espressione dei trasportatori GLUT-2 e della glucochinasi, che regolano l'assorbimento del glucosio ed il metabolismo pancreatico.

Nel 2002, Zander et al hanno studiato gli effetti di GLP-1 sulla prima e seconda fase della risposta insulinica di in pazienti con diabete di tipo 2. I soggetti hanno ricevuto un'infusione continua di GLP-1 o soluzione salina per 6 settimane, con una batteria di esami eseguiti alle settimane 0 (prima dell'infusione), 1° e 6°. Per misurare la funzionalità delle cellule β , è stato utilizzato un clamp iperglicemico a 30 mM di glucosio per 90 minuti, con stimolazione di L-arginina della secrezione insulinica per 45 minuti. I risultati di questo studio hanno dimostrato che la prima fase di risposta insulinica di (0-10 minuti) e la seconda fase (10-45 minuti) migliora con infusione continua di GLP-1. Il picco di risposta insulinica, misurata con i livelli di C-peptide, aumentata in media di 3,3 volte rispetto ai valori basali ($p < .0001$) dopo 6 settimane di infusione continua GLP-1. Miglioramenti significativi nella funzione β -cellulare, sensibilità all'insulina e degli altri parametri misurati sono stati mostrati in risposta alla infusione continua di GLP-1.

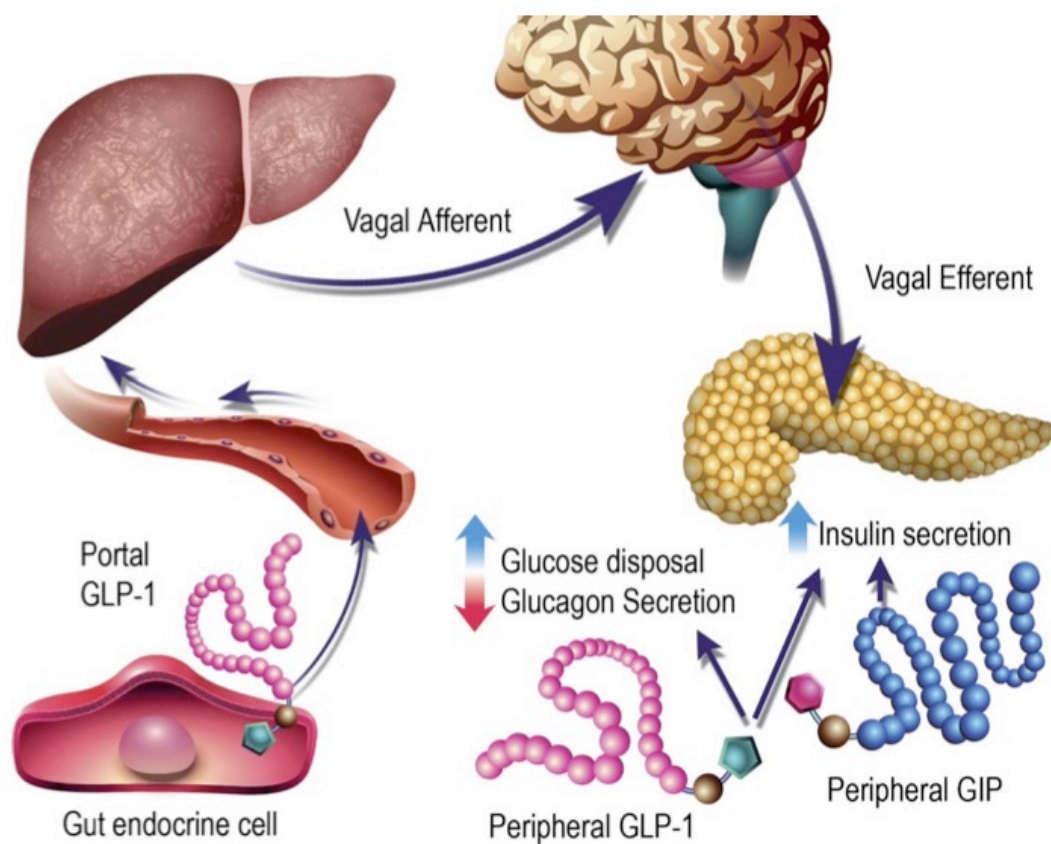


Sistemi modello hanno dimostrato che il trattamento con GLP-1 stimola la rigenerazione e la massa delle cellule- β . Studi hanno dimostrato il trattamento con GLP-1 è associato con un'aumentata neogenesi della β -cellula, proliferazione ed ipertrofia, oltre ad una riduzione dell'apoptosi delle β -cellule. Utilizzando il modello murino obeso di Zucker, Farilla *et al.* hanno dimostrato che dopo trattamento con GLP-1, aumenta significativamente la proliferazione della β -cellula, mentre diminuisce l'apoptosi delle β -cellule. L'insieme di questi effetti contribuisce ad aumentare la massa β -cellulare. Gli effetti di GLP-1 sull'apoptosi delle cellule β sono stati dimostrati su cellule insulari umane isolate (26). Cellule coltivate in assenza e presenza di GLP-1 fino a 5 giorni hanno mostrato che il trattamento con GLP-1 riduce significativamente la percentuale di apoptosi delle cellule ($P < 0,01$ vs controllo).

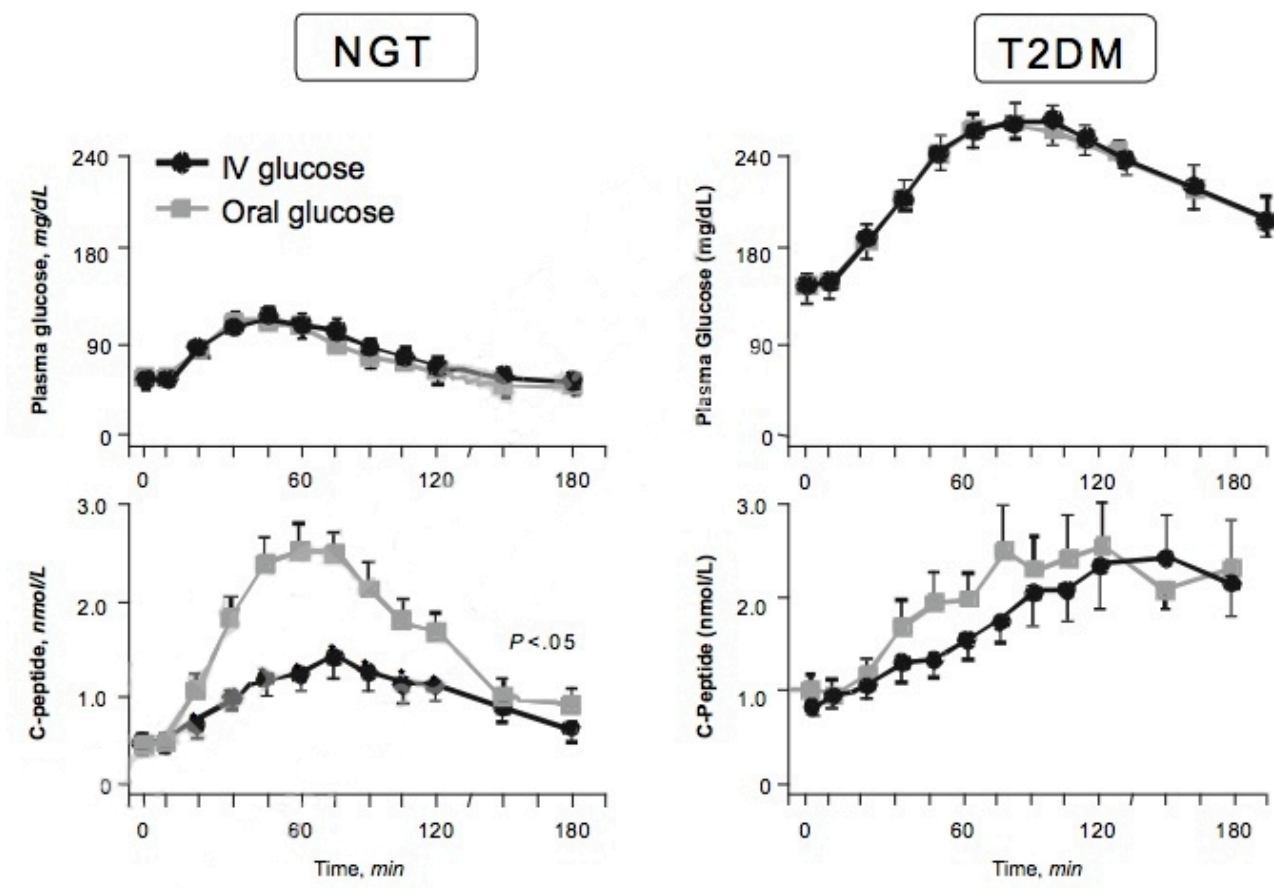
Da tempo è stato definito che nel diabete di tipo 2 vi è un indebolimento della funzione delle isole pancreatiche. Già nel 1970, Muller et al hanno riportato deficit β - e α -cellulare nella

secrezione. In questo studio, soggetti con diabete di tipo 2 hanno mostrato una drastica e sostenuta riduzione iniziale della secrezione insulinica dopo un pasto orale di 200 g di carboidrati rispetto ad un vivace e forte aumento di aumento di insulina nei soggetti non-diabetici. Inoltre, un carico orale di glucosio comporta livelli elevati di secrezione di glucagone dalle cellule- α del pancreas in soggetti con diabete di tipo 2 in confronto a livelli soppressi nei soggetti non diabetici. Questi risultati dimostrano il doppio difetto nelle cellule insulari pancreatiche dei soggetti con diabete di tipo 2.

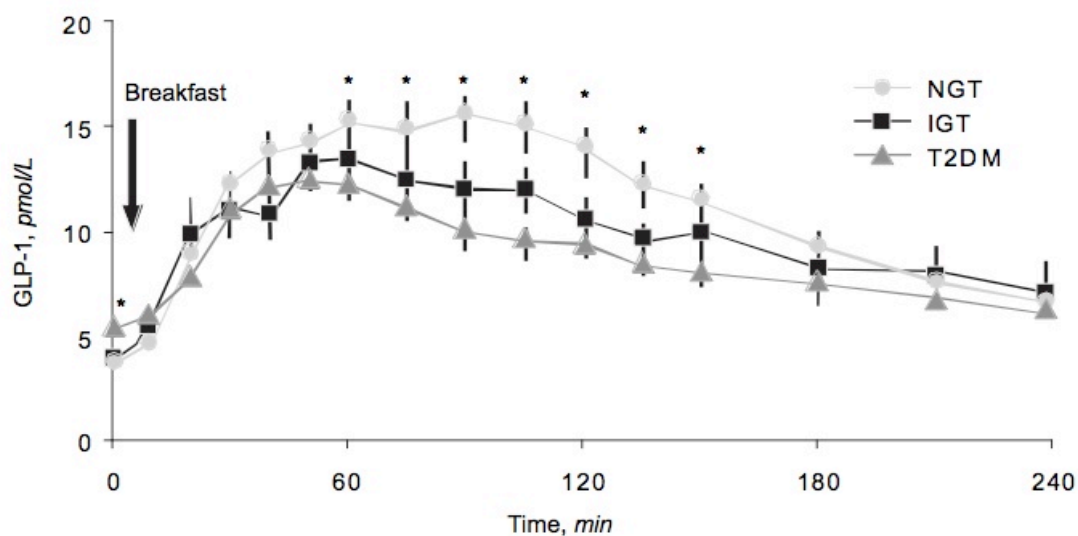
Il ridotto effetto di GLP-1 e diabete di tipo 2



L'insufficiente effetto incretinico associato al diabete di tipo 2 è stato dimostrato da Nauck et al nel 1986. In questo studio, tramite somministrazione di glucosio per via orale e per via endovenosa, venivano suscitate identiche variazioni della glicemia per un periodo di 3 ore in soggetti con normale la tolleranza al glucosio. Allo stesso modo, per i soggetti con diabete di tipo 2. I livelli di C-peptide, indice di secrezione insulinica endogena, sono stati misurati durante entrambe le modalità di somministrazione di glucosio.



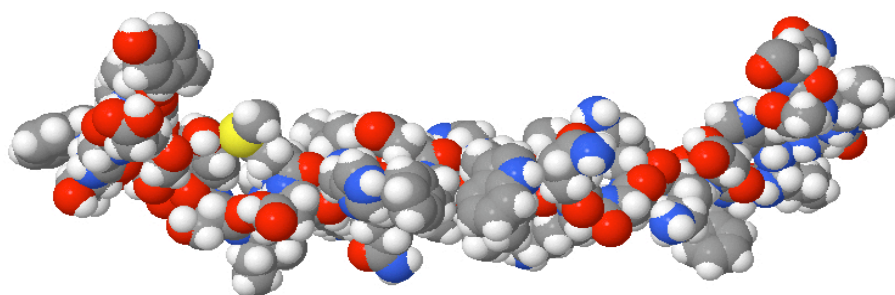
La Figura mostra i risultati di questo studio: i soggetti non diabetici hanno livelli ridotti di C-peptide in risposta a somministrazione intravenosa di glucosio rispetto a quella orale, pur avendo livelli simili di glucosio plasmatico. Tuttavia, nel gruppo di pazienti diabetici di tipo 2 del diabete con iperglicemia equivalente, i livelli di C-peptide erano simili indipendentemente dalla via di somministrazione di glucosio. Pertanto, i soggetti con diabete di tipo 2 mancano dell'effetto incretinico derivante dal glucosio somministrato per via orale. Il difetto delle incretine nel diabete di tipo 2 sembra avere due cause: una ridotta secrezione di GLP-1 e un effetto insulino-tropico di GIP profondamente indebolito. Oltre ad un ridotto effetto incretinico, il diabete di tipo 2 è stato anche associato con una compromissione del rilascio di GLP-1.



Toft-Nielsen *et al* hanno studiato la secrezione incretinica per un periodo di 4 ore dopo la prima colazione in soggetti con diabete di tipo 2 confrontandola a quella di soggetti con normale tolleranza al glucosio. Essi hanno trovato una significativa riduzione della risposta al GLP-1 nei pazienti con diabete di tipo 2.

GIP

Conosciuto in passato come il polipeptide inibitorio gastrico (*gastric inhibitory polypeptide*), il GIP è un ormone formato da 42 aminoacidi, prodotto dalle cellule K del duodeno e del digiuno.



La maggior parte delle cellule K intestinali sono situate nel duodeno prossimale. La secrezione di GIP è principalmente regolata da sostanze nutritive, in particolare grassi, il GIP tagliato, che così può esercitare funzione biologica, viene captato anche dalle alfa-cellule del pancreas, aumentando la possibilità di connessione intra-insulari tra cellule-alfa e cellule-beta.

GIP ed il suo recettore sono stati trovati anche nel sistema nervoso centrale di roditori, inclusi i neuroni, le cellule di Schwann e gli oligodendrociti.

GIP mostra una potente attività incretinica nei roditori e nell'uomo. A differenza di GLP-1, che esercita diverse attività non-incretine nella regolazione della glicemia, l'azione primaria del GIP è la stimolazione della secrezione di insulina glucosio-dipendente. GIP può anche giocare un ruolo nella biologia degli adipociti, tuttavia il significato fisiologico dell'azione di GIP sugli adipociti è ancora poco conosciuta. L'interazione del GIP con il suo recettore è stata studiata a alta risoluzione, dimostrando l'importanza delle interazioni idrofobiche dell'interazione dell'alfa elica GIP con il dominio extracellulare del recettore di GIP.

Il sito di espressione di GIP, il sistema endocrino delle cellule K dell'intestino, possiede chiaramente il macchinario molecolare necessario per rilevare l'assunzione di nutrienti e per la secrezione di GIP dopo l'ingestione di nutrienti.

Mentre le cellule K dell'intestino sono poche e difficili da studiare, c'è poco conosciuto circa la biologia molecolare del GIP-secrenti cellule K. Parker *et al.* hanno isolato popolazioni pure di cellule K immortalizzate da topi transgenici che esprimono una proteina gialla fluorescente sotto il controllo del promotore di GIP. Murini cellule K sono stati trovati per esprimere Kir6.2, SUR1, SglT1, GPR40, GPR119 e GPR120 e GIP la secrezione è stimolata da glucosio, AMP ciclico e acido linoleico e tolbutamide, ma non attraverso la modulazione di attività gusto recettore. Le cellule GIP positive esprimono anche il gene proglucagone, e ad un livello molto più elevato, il gene PYY.

L'importanza della cellula K per l'omeostasi del glucosio e per il risparmio energetico è stata studiata in topi con ablazione mirata transgenica di GIP. La completa ablazione delle cellule K è stata raggiunta e associata con l'estinzione quasi totale dell'espressione di GIP nell'intestino tenue murino. Inaspettatamente, in questi topi la risposta incretinica è stata completamente persa, nonostante i normali livelli di GLP-1.

Le azioni del GIP sono state studiate con la somministrazione di GIP nelle cellule, l'infusione nei roditori e nell'uomo. Anche se classicamente considerato come un'incrina, GIP può anche modulare l'insulina plasmatica attraverso gli effetti sull'estrazione di insulina o di clearance dell'insulina in particolari condizioni sperimentali. Anche se l'infusione GIP in soggetti umani normali non ha influito sul glucosio, sull'insulina, o sul C-peptide in condizione di normoglicemia (5 mM di glucosio), il GIP co-somministrato con la glibenclamide SU ha portato ad un aumento dell'insulina nel plasma, ma non del C-peptide. I meccanismi alla base di questa osservazione intrigante rimangono poco chiari.

Un fattore determinante dell'azione GIP è la scissione N-terminale del peptide al GIP inattivo. L'enzima DPP-4, che scinde anche GLP-1 e GLP-2, inattiva rapidamente GIP sia in vitro che in vivo.

Gli effetti di GIP sulle cellule-beta

GIP stimola la proliferazione delle cellule-beta ed esercita azioni anti-apoptotiche in vitro. Gli studi che utilizzano beta-cellule INS-1 hanno dimostrato la stimolazione della proliferazione delle cellule-beta e l'aumentata sopravvivenza delle cellule-beta.

Al contrario, ci sono molti meno dati se GIP possa esercitare la stimolazione della proliferazione o la promozione della sopravvivenza delle cellule-beta anche in vivo. Maida *et al.* hanno confrontato le azioni di un GIP-analogo degradazione-resistente, con quelle della exendin-4 o dell'inibitore del DPP-4 sitagliptin, in modelli murini di apoptosi delle cellule-beta o di rigenerazione nel contesto della somministrazione di streptozotocina. Exendin-4 promuove una forte espansione della massa delle cellule-beta dopo STZ, ed ha anche ridotto il loro grado di apoptosi. Sitagliptin ha avuto un effetto minimo sull'apoptosi delle beta-cellule, ma ha aumentato la massa delle cellule-beta dopo somministrazione cronica. Al contrario, d [Ala2]-GIP aveva solo un modesto effetto anti-apoptotico e non era in grado di aumentare la massa delle cellule-beta, nemmeno in studi cronici. Inoltre, topi *Gipr*^{-/-} non hanno mostrato maggiore suscettibilità all'apoptosi delle cellule-beta STZ-indotta. Quindi, il recettore GLP-1 sembra essere fortemente connesso alla proliferazione delle cellule-beta e meccanismi di sopravvivenza *in vivo*, mentre il recettore GIP promuove la sopravvivenza della cellula-beta *in vitro*, ma se GIP eserciti anche significativi effetti pro-sopravvivenza in vivo in condizioni di iperglicemici resta incerto.

In contrasto, Widenmeir *et al.* hanno dimostrato potenti azioni pro-sopravvivenza utilizzando un analogo del GIP tagliato, D-Ala (2)-GIP, D-GIP, in modelli di ratto di T2DM e in cellule-beta INS-1. Il trattamento con D-GIP ha prodotto effetti salutari sulla massa delle cellule-beta in più modelli, con livelli ridotti di proteine insulari pro-apoptotiche osservate nei ratti diabetici trattati con streptozotocina e nei ratti obesi di Vancouver.

Polipeptidi pancreatici

La famiglia degli ormoni peptidici polipeptide pancreatico (PP)-fold comprende il peptide del sistema nervoso centrale (CNS), il neuropeptide Y (NPY) ed i due ormoni intestinali polipeptide pancreatico (PP) e peptide tirosina-tirosina (PYY). Ciascuno di questi ormoni si ritiene abbia un ruolo importante ma distinto nella regolazione dell'appetito. Si pensa che i geni che codificano per ciascun ormone siano sorti da duplicazioni successive di un gene ancestrale comune.

La struttura generale di un ormone PP-fold è una catena di 36 aminoacidi, che è α -ammidato al terminale-C per espletare attività biologica. Inoltre, la struttura tridimensionale possiede una struttura a forcina (chiamata *stem-loop*) tipo PP-fold, che è essenziale per il legame col recettore. Il

signaling dei peptidi PP-fold è mediato da una famiglia di recettori accoppiati a proteine G denominati Y1, Y2, Y4, Y5 e Y6.

Peptide tirosina-tirosina

Il PYY è co-rilasciato dalle cellule L del tratto gastrointestinale con altri due ormoni intestinali, il glucagone-like peptide (GLP)-1 e la ossintomodulina (OXM) (27). L'immunoreattività di PYY è al suo livello più alto nel retto, e diminuisce fino a bassi livelli prossimalmente nel duodeno e nel digiuno. L'immunoreattività di PYY è distribuita anche nell'uomo nella midollare del surrene e nelle regioni del sistema nervoso centrale del ratto, come l'ipotalamo, midollo allungato, ponte, e del midollo spinale. Vengono sintetizzate due forme endogene circolanti di PYY nell'intestino, PYY₁₋₃₆ e PYY₃₋₃₆. Di questi, PYY₃₋₃₆ è prodotto mediante clivaggio dei residui terminali amminici Tyr-Pro di PYY₁₋₃₆ ad opera dell'enzima ubiquitario, dipeptidil peptidasi (DPP-IV).

Il pattern di secrezione di PYY suggerisce un ruolo nella sazietà. PYY viene rilasciato in circolo dopo l'ingestione di cibo, in proporzione all'introito calorico. In un modello canino, utilizzando fistole per isolare sezioni dell'intestino, il rilascio di PYY (principalmente dall'intestino distale) era equivalente, indipendentemente se il grasso fosse collocato nell'intestino prossimale o distale. Quindi, devono esistere fattori che segnalano all'intestino distale di rilasciare PYY in risposta ai nutrienti all'interno dell'intestino prossimale. In effetti, si pensa che a mediare questo rapido rilascio di PYY siano fattori umorali (come gastrina e colecistochinina [CCK]) o un riflesso vagale, che si verificano prima che il cibo transiti verso l'intestino distale.

Prove da modelli umani patologici e iatrogeni di anoressia supportano anche un ruolo di PYY nella sazietà. Condizioni anoressizzanti come la malattia infiammatoria intestinale sprue tropicale e la cachessia cardiaca sono caratterizzate da elevati livelli circolanti di PYY₃₋₃₆. Inoltre, l'intervento chirurgico di bypass gastrico è associato ad elevati livelli basali e post-prandiali di PYY₃₋₃₆. E' possibile che la diversione postchirurgica di nutrienti oltre la maggior parte dello stomaco e dell'intestino prossimale, verso l'intestino distale PYY-secerne, potrebbe spiegare questo fenomeno.

In linea con il suo ruolo putativo come un ormone della sazietà, la somministrazione periferica di PYY₃₋₃₆ ha dimostrato di inibire l'assunzione di cibo in ratti a digiuno rispetto ai controlli iniettati con soluzione salina. Alcuni ricercatori non hanno dimostrato un'azione anoressizzante di PYY, ma questo potrebbe essere a causa di un'inadeguata acclimatazione degli animali controllo e trattati. Come risultato, un aumento dello stress (una condizione potentemente anoressizzante) può aver mascherato l'effetto anoressizzante di PYY.

Come potrebbe PYY agire per sopprimere l'appetito? PYY sembra agire sull'ipotalamo come un segnale di sazietà. Il nucleo arcuato (ARC) dell'ipotalamo è in stretta prossimità all'interruzione

della barriera ematoencefalica (BBB) dell'eminenza mediana, quindi è ben in grado di rispondere al PYY circolante. L'iniezione di PYY in roditori aumenta l'espressione di *c-fos* (un marker dell'attività neuronale) nel ARC. E' inoltre ridotta l'espressione del peptide oressizzante, NPY, e up-regolata l'espressione del peptide anoressigeno, pro-opiomelanocortina (POMC), all'interno del ARC. PYY potrebbe anche agire sul tronco cerebrale, poiché lo ¹²⁵iodio (¹²⁵I)-PYY₃₋₃₆ perifericamente iniettato si accumula non solo nell'eminenza mediana ma anche nell'area postrema (AP). PYY ha molteplici effetti che rallentano il passaggio di sostanze nutritive attraverso l'intestino, tale che esso è considerato come un componente del meccanismo funzionale noto come il "freno ileale". PYY ritarda lo svuotamento gastrico ed inibisce la contrazione della cistifellea, le secrezioni esocrine del pancreas e la secrezione acida gastrica. Pertanto, PYY inibisce l'alimentazione modulando i circuiti ipotalamici del controllo dell'appetito e rallentando il transito di cibo attraverso l'intestino.

Polipeptide pancreatico

E' stato il primo ormone peptidico PP-fold ormone peptidico ad essere identificato, originariamente isolato come prodotto di scarto dell'insulina dal pancreas di pollo (28). Successivi lavori hanno trovato la sua fonte nelle cellule di tipo F (PP) nella periferia degli isolotti pancreatici.

Lo stimolo principale della secrezione di PP è l'ingestione di cibo. Infatti, livelli circolanti di PP riflettono l'assunzione di calorie e rimangono elevati per circa 6 ore dopo i pasti. Sono stati trovati diversi fattori umorali che stimolano il rilascio di PP (CCK, ghrelina, motilina e secretina) ed altri che ne inibiscono il rilascio (somatostatina). Inoltre, aumentano i livelli circolanti di PP la stimolazione adrenergica secondaria ad ipoglicemia o esercizio.

PP è considerato una componente del "freno ileale", perché agisce in vari modi per rallentare il transito del cibo attraverso l'intestino; PP ritarda lo svuotamento gastrico, attenua la secrezione esocrina pancreatica ed inibisce la contrazione della cistifellea.

La correlazione inversa del rilascio di PP con il peso corporeo implica un ruolo nella sazietà. Una ridotta secrezione postprandiale è associata con l'obesità umana ed elevati livelli post-prandiali si trovano nei soggetti con anoressia nervosa. Anche se è stato dimostrato che i livelli circolanti di PP sono ridotti dopo alcune forme di chirurgia gastrico per obesità patologica, il bypass digiuno-ileale effettivamente aumenta i livelli di PP. Quindi, una parte della perdita di peso secondaria al bypass digiuno-ileale può essere il risultato dei livelli elevati di PP.

Nei roditori e nell'uomo, l'iniezione periferica inibisce l'assunzione di cibo. Nei topi, ripetute iniezioni intraperitoneali di PP riducono l'assunzione di cibo ed il peso corporeo.

L'iniezione periferica di PP può anche inibire l'alimentazione attraverso la riduzione del rilascio di grelina. Nei topi, l'iniezione periferica di PP porta a ridotta espressione dell'ormone oressizzante, grelina, nello stomaco (29).

Oxyntomodulin

OXM è un peptide di 37 aminoacidi originariamente isolato dalle cellule digiuno-ileali suine, trovato per mostrare un'attività glucagone-simile nel fegato. Infatti, OXM contiene l'intera sequenza del glucagone, con l'aggiunta di una base octapeptide di estensione C-terminale denominata *spacer peptide-1*. E' co-rilasciato assieme a GLP-1 e PYY dalle cellule L, in particolare quelle delle sezioni più distali del tratto gastrointestinale. Le somiglianze tra OXM e GLP-1 vanno dalla via di sintesi alle loro azioni biologiche. Inoltre, l'unico recettore finora identificato per mediare il segnale di OXM è il recettore GLP-1. Anche se OXM è in possesso di attività incretiniche, questo stimola il rilascio di insulina con una potenza molto inferiore a quella del GLP-1.

OXM sembra funzionare come un ormone della sazietà. In accordo con ciò, è rilasciato in circolo dopo ingestione di cibo, con livelli plasmatici proporzionali al potere calorico del pasto. OXM è anche un potente inibitore della secrezione acida gastrica pentagastrina-indotta e dello svuotamento gastrico, che entrambi ritardano il transito delle sostanze nutritive attraverso l'intestino.

I livelli circolanti di OXM aumentano dopo l'intervento chirurgico di bypass gastrico. Tale procedura devia artificialmente i nutrienti lontano dallo stomaco e dall'intestino tenue prossimale, verso regioni di espressione di OXM più elevata, come l'intestino tenue e il colon distale, che solleva chiaramente la possibilità che OXM giochi un ruolo nella perdita di peso secondaria alla chirurgia di bypass gastrico. I livelli plasmatici di OXM sono aumentati anche nelle patologie dell'intestino tenue come la sprue tropicale, che si caratterizzano per la perdita di peso.

Iniezioni di OXM comportano soppressione del senso di appetito e perdita di peso (30). OXM può, in parte, ridurre il peso corporeo mediante un maggiore consumo energetico. Una delle funzioni principali di OXM come ormone che sopprime l'appetito può essere quello di sopprimere il rilascio endogeno di ormone stimolante dell'appetito, la grelina. Questo reperto potrebbe in qualche modo spiegare la caduta della grelina plasmatica, che si verifica dopo i pasti.

Grelina

Gli ormoni secretagoghi della crescita (GHS) come l'ormone della crescita (GH) - *releasing peptide-6* e esarelina, sono una famiglia di peptidi sintetici e molecole non peptidiche che, per un numero di anni, sono state distinte per le loro proprietà GH-rilascianti in varie specie. Il lavoro

successivo identificò il recettore GHS (GHR-R) come recettore endogeno accoppiato a proteina G a sette domini transmembrana in grado di legare tali secretagoghi e mediarne gli effetti di. La scoperta di GHS-R è stata significativa perché logicamente implicava l'esistenza di un ligando endogeno, che è stato successivamente identificato da Kojima e colleghi come grelina. E' stata chiamata "grelina" in conformità con la sua azione stimolante del GH; infatti "ghre" è la proto-radice indoeuropea della parola "crescita".

La grelina è costituita da una catena di 28 aminoacidi, con esterificazione del gruppo ossidrilico del terzo residuo di serina da un acido ottanoico. Questa catena laterale è essenziale per il legame al GHS-R e per la bioattività della grelina. La grelina, originariamente identificata da un estratto di stomaco di ratto, è principalmente secreta dalle cellule X/A nelle ghiandole gastriche ossintiche. In linea con questo, la gastrectomia riduce i livelli plasmatici di grelina per l'80%, mentre il resto è secreto dall'intestino, pancreas, ghiandola pituitaria e colon. La grelina ha un ulteriore ruolo come neurotrasmettitore, essendo espressa all'interno del ARC e della zona periventricolare dell'ipotalamo. Il GHR-R ha un'ampia distribuzione all'interno del corpo, compreso il tratto gastrointestinale, ipotalamo, ipofisi, miocardio, pancreas, tessuto adiposo, fegato, rene e placenta.

Le azioni di grelina non sono limitate alla secrezione di GH; una forte evidenza implica la grelina come un ormone della fame. I livelli plasmatici di grelina sono inversamente correlati con il peso corporeo, i livelli sono significativamente più elevati nei magri rispetto ai soggetti obesi. Inoltre, la dieta, perdita di peso indotta aumenta i livelli circolanti di grelina nei soggetti obesi. Il considerare la grelina come un ormone della fame è rafforzato dal suo aumento pre-prandiale e dalla sua caduta post-prandiale negli esseri umani magri e nelle pecore. Inoltre, l'osservazione che l'assunzione di cibo riesce a sopprimere la grelina plasmatica in soggetti obesi suggerisce che la disregolazione della secrezione di grelina può giocare un ruolo nella patogenesi dell'obesità. Oltre a stimolare l'appetito, la grelina promuove la motilità gastrica, up-regola l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene e ha effetti cardiovascolari come la vasodilatazione e l'aumento della contrattilità cardiaca.

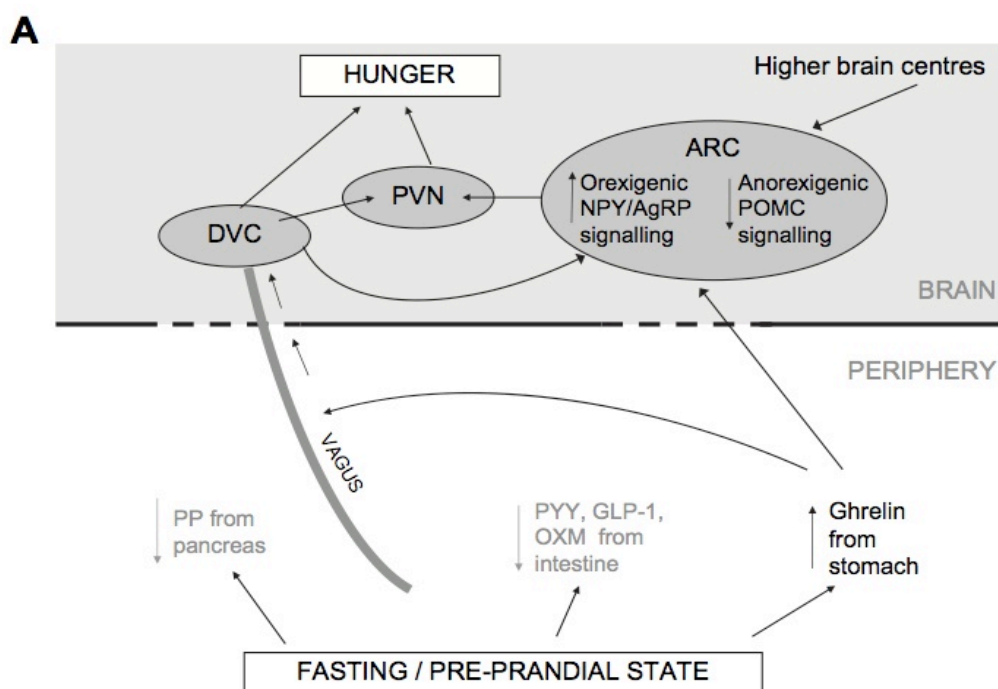
La grelina è unico perché è l'unico ormone gastrointestinale circolante identificato come stimolante l'assunzione di cibo. L'iniezione periferica o centrale di grelina nel ratto stimolano l'assunzione alimentare acuta. Inoltre, l'iniezione ripetuta periferica o centrale per 7 giorni induce aumento di peso.

Livelli circolanti di grelina sono ridotti nei soggetti obesi che hanno subito un intervento chirurgico di bypass gastrico, forse come conseguenza della deviazione permanente di cibo che passa oltre un piccolo sacchetto dello stomaco. Si può quindi ipotizzare che l'anoressia, che è stato a lungo osservata da queste stabilite procedure operative, è parzialmente spiegata dall'attenuazione del rilascio di grelina.

Colecistochinina

La CCK è nota per essere il primo ormone intestinale ad essere implicato nella regolazione dell'appetito, scoperta da Gibbs e colleghi nel 1973. Tuttavia, il suo ruolo fisiologico nella regolazione dell'appetito rimane ancora poco chiaro. È un ormone peptidico espresso nell'intestino tenue e viene rilasciato rapidamente in risposta all'alimentazione. La CCK stimola le secrezioni esocrine del pancreas e della cistifellea, inibisce lo svuotamento gastrico ed aumenta la motilità intestinale. La CCK è espressa come un neurotrasmettitore nel sistema nervoso centrale ed è stata implicata nel comportamento come premio, nell'ansia e nella memoria. Agisce mediante due recettori accoppiati a proteine G: CCK-1 e CCK-2. Nonostante che ripetute iniezioni di CCK in animali diminuiscano la quantità del pasto e la durata, questa aumenta la frequenza dei pasti, senza alcuna conseguente variazione del peso corporeo. Inoltre, l'infusione continua di CCK non ha alcun effetto sul consumo di cibo oltre le 24 ore.

L'intestino ormai riconosciuto come apparato per alimentarsi e come regolatore della nutrizione. L'intestino utilizza una serie di fattori umorali, insieme al nervo vago, per segnalare la disponibilità di sostanze nutritive al cervello, influenzando così l'appetito (Fig. 1).



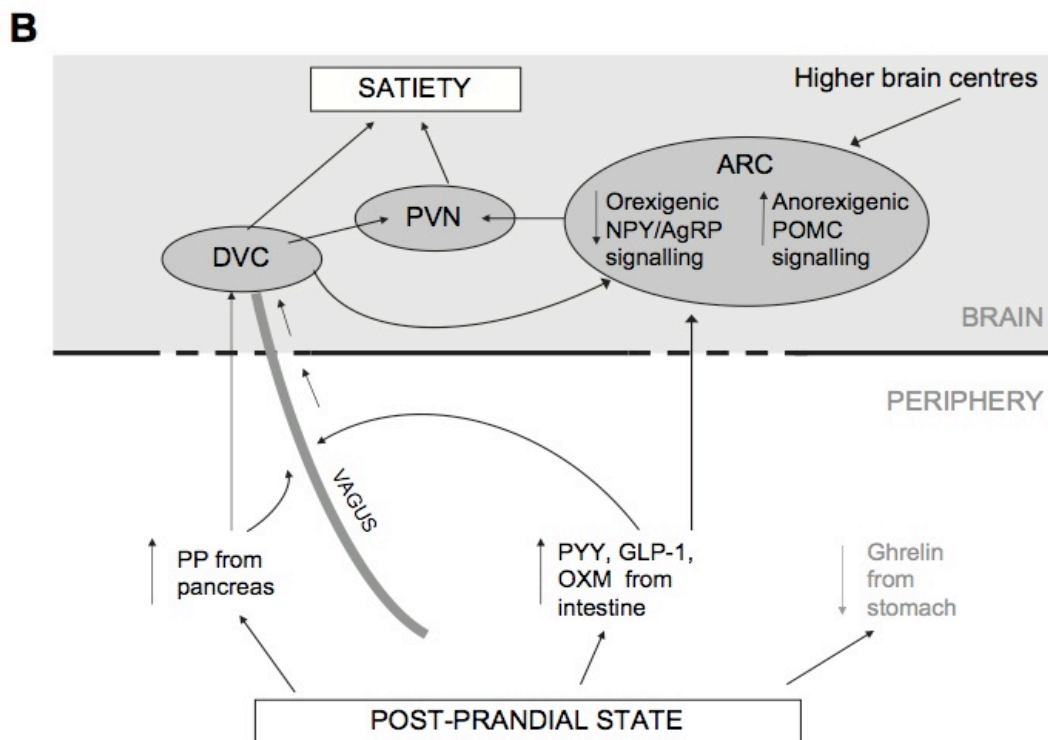


Fig. 1. Segnalazione degli ormoni gastrointestinali al cervello nello stato di digiuno e di nutrizione.

(A) Durante la condizione di digiuno/pre-prandiale, il rilascio grelina dallo stomaco agisce sul ARC ed il vago per stimolare la fame.

(B) Nello stato post-prandiale, il rilascio di ormoni intestinali anoressizzanti PYY, GLP-1, OXM e PP agiscono su ARC, tronco encefalico ed il vago come segnali di sazietà. (DVC, complesso dorsale vagale)

Negli ultimi anni, la chirurgia bariatrica è diventata un'opzione terapeutica sempre più preferita nei soggetti con obesità patologica per indurre un'importante calo ponderale e per il trattamento delle complicanze metaboliche correlate all'obesità. Nel 2007, sono stati eseguiti negli Stati Uniti 170.000 interventi di chirurgia bariatrica, un numero 9 volte più grande rispetto al 1999. Nella comparsa dell'epidemia-diabesità, la chirurgia bariatrica non solo permette una perdita di peso significativa e duratura, ma anche il miglioramento del controllo glicemico ed in una percentuale variabile dal 50 al 90% la remissione dal diabete di tipo 2. Rispetto ai trattamenti per la riduzione del peso corporeo, come la dieta convenzionale ed i trattamenti farmacologici, che inducono una modesta perdita di peso del 10% e di breve durata spesso seguite da riacquisto del peso, la chirurgia bariatrica comporta la perdita di peso in eccesso in un 50% dei pazienti, con controllo del diabete di tipo 2 nel 76% dei pazienti. Utilizzare la chirurgia bariatrica come trattamento per diabete di tipo 2,

indipendentemente dalla presenza di obesità patologica, come suggerito da alcuni studi clinici, è un concetto emergente; tuttavia, c'è necessità di ancora altri *trials* volti a stabilire chiaramente i meccanismi attraverso i quali la chirurgia bariatrica induca remissione del diabete di tipo 2.

La chirurgia bariatrica

La terapia chirurgica dell'obesità è sicuramente l'unica terapia che al giorno d'oggi può vantare sicure dimostrazioni di efficacia a lungo termine nel controllo del peso corporeo nel paziente con obesità grave (31), secondo dati di metanalisi e di grandi banche dati. Questi interventi di solito portano ad una perdita media del peso corporeo in eccesso del 50-80%, che viene mantenuta in circa il 70% dei pazienti dopo 5 anni. La perdita di peso si ottiene, in base all'intervento, attraverso la riduzione dell'apporto calorico ed il ridotto assorbimento dei macronutrienti. Generalmente la perdita di peso media è maggiore dopo gli interventi restrittivo-malassorbiti rispetto a quella ottenuta con gli interventi restrittivi. Una grande quantità di dati sostiene l'impatto positivo della chirurgia bariatrica sulle patologie associate all'obesità, compresi il diabete tipo 2 (32), l'ipertensione arteriosa, la sindrome da apnea ostruttiva durante il sonno e la dislipidemia. Tuttavia, la terapia chirurgica è anche associata alla possibile insorgenza di complicanze specifiche anche gravi, sia a breve che a lungo termine. La scelta di sottoporsi ad un intervento chirurgico per obesità va quindi attentamente meditata e pesata contro i possibili effetti collaterali e le complicanze che ogni tipo di intervento può portare. La chirurgia bariatrica può essere presa in considerazione per i pazienti con obesità grave ($BMI \geq 40 \text{ kg/m}^2$) o per quelli con obesità moderata ($BMI \geq 35 \text{ kg/m}^2$) con comorbilità associate.

Criteria di selezione per la chirurgia bariatrica

Le indicazioni generali alla terapia chirurgica dell'obesità sono state codificate già nel 1991 da un gruppo internazionale di esperti (*American Society for Bariatric Surgery*) e possono essere così schematizzate:

- peso corporeo eccedente l'ideale di almeno il 100% oppure BMI superiore a 36
- obesità presente da almeno 5 anni
- età compresa tra 18 e 60 anni
- assenza di cause endocrine di obesità
- fallimento di altre metodiche di controllo del peso e/o di mantenere la perdita di peso con tecniche non chirurgiche

- presenza di complicanze (sindrome dell'apnea ostruttiva; ipertensione arteriosa; scompenso cardiaco congestizio; diabete mellito; iperlipidemia; artrosi delle articolazioni degli arti inferiori)
- assenza di stati patologici non correlati all'obesità
- cooperazione del paziente a un programma di follow-up a lungo termine
- assenza di patologie psichiatriche che facciano prevedere una scarsa compliance del paziente nel postoperatorio

Le controindicazioni all'approccio chirurgico sono viceversa le seguenti [14]:

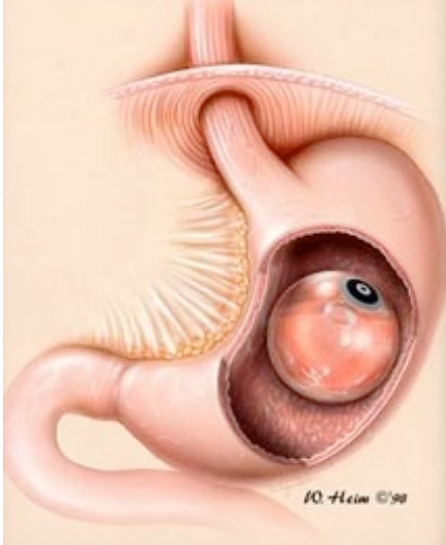
- Obesità secondaria a causa endocrinologia suscettibile di trattamento specifico;
- Rischio operatorio troppo alto;
- Presenza di patologie gravi non legate all'obesità;
- Malattie psichiatriche severe;
- Abuso di alcol o di droghe;
- Bulimia Nervosa.

Le tipologie di intervento

Esistono tre tecniche di chirurgia bariatrica:

1. tecniche restrittive, che limitano la quantità di cibo che lo stomaco può contenere e rallentano la velocità di svuotamento gastrico. Viene quindi indotto un precoce senso di sazietà, con conseguente ridotta assunzione calorica. Si basano sulla separazione di una piccola porzione gastrica (*tasca*) che si svuota nel rimanente stomaco attraverso un neo-orifizio stretto e non dilatabile (*neo-piloro*), bendaggio gastrico.
2. interventi di restrizione gastrica con associato by-pass duodeno-digiunale, by-passando chirurgicamente il primo tratto dell'intestino tenue, provoca una maggior riduzione del senso di fame, almeno nel primo anno dopo l'intervento, Roux en-Y gastric bypass.
3. Interventi di restrizione gastrica modesta con associato malassorbimento, dove l'elemento più importante dell'intervento è il by-pass di gran parte dell'intestino, diversione biliopancreatica. Il meccanismo che provoca il calo di peso è quindi la riduzione dell'assorbimento di quello che il paziente mangia. Il cibo ingerito ma non assorbito viene eliminato per via fecale. Creano malassorbimento poiché il transito intestinale del bolo alimentare è ridotto a circa il 10% dell'intera lunghezza dell'intestino tenue.

- **Palloncino endogastrico** (*bioenteric intragastric balloon, BIB*):



un palloncino morbido ed espandibile, posizionato e rimosso per via endoscopica, viene riempito con 500 cc di soluzione fisiologica e galleggia liberamente nel lume gastrico. Occupando il lume gastrico, i pazienti operati provano precocemente senso di sazietà

Riempie parzialmente lo stomaco e pertanto i pazienti provano precocemente senso di sazietà

Consente di seguire con più facilità una dieta controllata affiancata ad un programma di rieducazione alimentare

Utile nei pazienti in sovrappeso, ma assolutamente inefficace nelle obesità patologiche per il fatto stesso che è temporaneo.

Controindicazioni

Esofagite di grado severo

Varici esofagee

Ernia iatale

Ulcera gastrica

Pazienti in terapia con anticoagulanti o altri farmaci gastrolesivi

Dipendenza da alcool o droghe

Complicanze

Desufflazione del BIB (8%)

Meteorismo (8%)

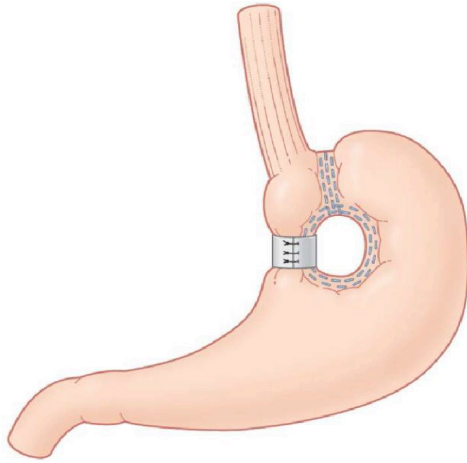
Nausea, vomito e dolore epigastrico (3%)

Ulcera da decubito (1%)

Perforazione gastro-esofagea (1%)

Reflusso gastro-esofageo (15%)

-**Gastroplastica con bendaggio verticale (VBG):**



reversibile, è il prototipo degli interventi restrittivi, ma attualmente è realizzata molto meno frequentemente per la perdita di efficacia osservata negli studi clinici a lungo termine. Nel postoperatorio, sono frequenti i sintomi da reflusso gastroesofageo e il vomito. Si confeziona una piccola tasca gastrica che limita la possibilità di introdurre quantità eccessive di cibo e stimola precocemente il senso di sazietà.

Viene creata una tasca gastrica con suturatrice meccanica circolare a 3 cm dal margine della piccola curva ed a 9 cm dall'angolo di His. Ne residua una tasca gastrica del volume di 25-30 cc. Viene quindi confezionato un neo-piloro con una benderella in polipropilene.

Vantaggi

Semplice tecnicamente

Possibile approccio laparoscopico

Svantaggi

Richiesta di elevata compliance del paziente

Controindicata in alcuni disturbi del comportamento (sweet eaters)

Riduzione del 50-60% del EW

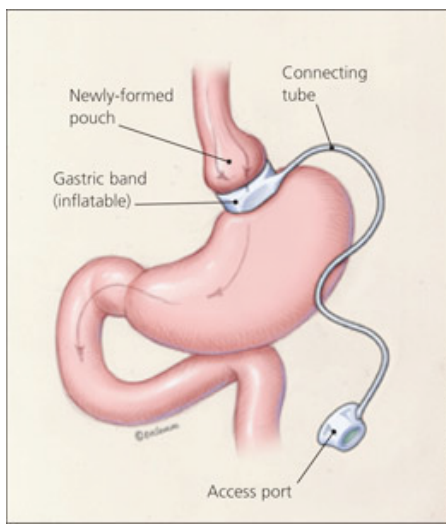
Scadenti risultati a lungo termine

Stenosi della benderella del neo-piloro

Migrazione nel lume gastrico

Fistola gastro-gastrica

Reflusso gastro-esofageo



- **Bendaggio gastrico regolabile, impiantato per via laparoscopica (LASGB):**

approvato negli Stati Uniti nel 2001, la tasca gastrica è ottenuta circondando l'intera parete gastrica con un nastro al silicone collegato ad un serbatoio posto nello spessore della parete addominale. L'aggiunta o la rimozione di soluzione idrosalina nel serbatoio riduce o aumenta il diametro interno

del bendaggio, cambiando così l'ampiezza dell'apertura gastrica, con riduzione meccanica delle dimensioni e dello svuotamento dello stomaco. La tasca gastrica ottenuta ha un volume di circa 25 cc ed il diametro del neo-piloro è calibrato esattamente per mezzo di un'apparecchiatura elettronica chiamata *Gastrostenometer*. I pazienti operati non hanno alterazioni dell'assorbimento intestinale ed è totalmente reversibile.

Vantaggi

Semplice esecuzione tecnica anche in laparoscopia (LASGB)

Reversibilità al 100%

Ridotta morbilità

Svantaggi

Richiesta di elevata compliance da parte del paziente

Elevata incidenza di complicanze specifiche (slippage, migrazione endoluminale, dislocazione intraepatica)

Risultati a distanza insoddisfacenti

Raccomandazioni ai pazienti

A tavola mangiare con calma, mangiare bene, riappropriarsi dei sapori

Gustare il cibo, mangiare lentamente con parsimonia

Preferire cibi solidi

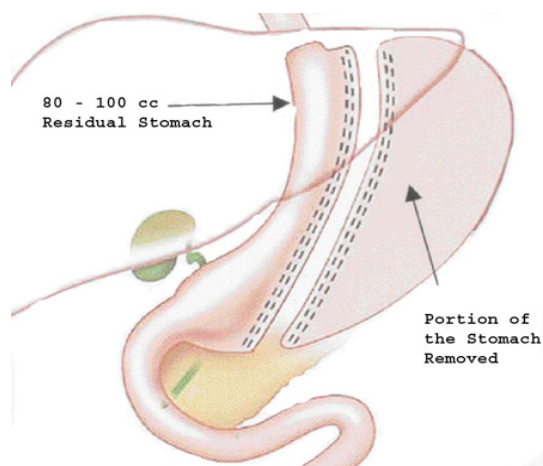
Interrompere il pasto al comparire del senso di sazietà

Evitare bevande energetiche, gassate ed i dolci

Aumentare l'attività fisica

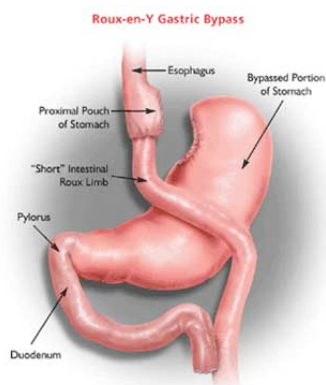
I pazienti con il tempo imparano ad ingannare il banding, mangiando cibi di consistenza morbida e cremosa, che passano meglio oltre alla restrizione, ma altamente calorici. Serve pertanto un'alta compliance all'intervento ed alla dieta proposta.

- Sleeve gastrectomy (*Laparoscopic Sleeve Gastrectomy, LSG*):



è una gastrectomia verticale, praticata lungo la grande curvatura, con cui si asporta completamente il fondo gastrico e si ottiene uno stomaco residuo di 60-150 ml. L'integrità della regione antropilorica e dell'innervazione vagale viene preservata. E' una metodica chirurgica che può essere associata ad un secondo intervento di chirurgia bariatrica. Consiste nel rimuovere l'80% dello stomaco, lasciando in sede solo uno stomaco tubulizzato. Il meccanismo che determina la perdita di peso è legato alla drammatica riduzione della capacità dello stomaco, con precoce senso di sazietà dopo ingestione di piccole quantità di cibo, e dalla riduzione dei livelli di ghrelina. Determina un'elevata risoluzione del diabete mellito di tipo 2 (80.3%) questo effetto è molto precoce, che risulta pertanto indipendente dalla perdita di peso.

- Bypass gastrico alla Roux-en-Y eseguito per via laparoscopica (LRYGB):



è l'intervento di bypass più praticato e più accettato, può essere effettuato con un'incisione "a cielo aperto" o per via laparoscopica. Può interferire con l'assorbimento di alcuni elementi (ferro, calcio) che vanno quindi introdotti come supplementi. Consiste nella creazione di una tasca gastrica del volume di 25-30 cc, ottenuta sezionando il fondo gastrico e separata dal restante stomaco, collegata ad un segmento distale dell'intestino tenue (*tratto alimentare*). Il rimanente stomaco viene lasciato in situ ma non viene

attraversato dal bolo alimentare. E' riconnesso con il tratto alimentare con una digiuno-digiunostomia. Viene sezionato il digiuno a 15-30 cm dal Treitz, si confeziona una gastro-entero anastomosi su ansa alla Roux ed un'anastomosi a piede d'ansa realizzata a 75-150 cm dalla

gastroenteroanastomosi. La componente restrittiva è basata sulle ridotte dimensioni della tasca gastrica e sulla ristretta apertura che connette la tasca gastrica al digiuno. La componente malassorbitiva ha un ruolo al più marginale, perché vengono bypassati solo 20-50 cm di intestino tenue. L'alterata configurazione anatomica comporta dei cambiamenti negli ormoni intestinali che possono essere associati a sazietà, riempimento gastrico e perdita di peso. Il tasso di mortalità associato a bypass gastrico è riportato tra 0,3% ed il 2%. Le complicanze a breve termine includono deiscenza dell'anastomosi (0,14%), emorragia (0,05%), embolia polmonare, stenosi gastrodigiunale, e morte. Le complicanze a lungo termine includono ernie interne, emorragia, ulcere, carenze vitaminiche, ed anemia. Per prevenire i deficit nutrizionali, i pazienti operati devono assumere quotidianamente complessi multivitaminici (con ferro), vitamina B₁₂, folati e calcio.

Consiste nella creazione di una tasca gastrica del volume di 25-30 cc ottenuta sezionando il fondo gastrico con GIA 55, separata pertanto dal restante stomaco.

Sezione del digiuno a 15-30 cm dal Treitz

Gastro-entero anastomosi su ansa alla Roux

Anastomosi a piede d'ansa realizzata a 75-150 cm dalla G-E anastomosi

Complicanze a distanza

Lesioni ulcerose dello stomaco escluso

Ulcere anastomotiche

Dumping Syndrome

Stenosi della G-E anastomosi

Anemie da carenza di ferro, folati e vitamina B12

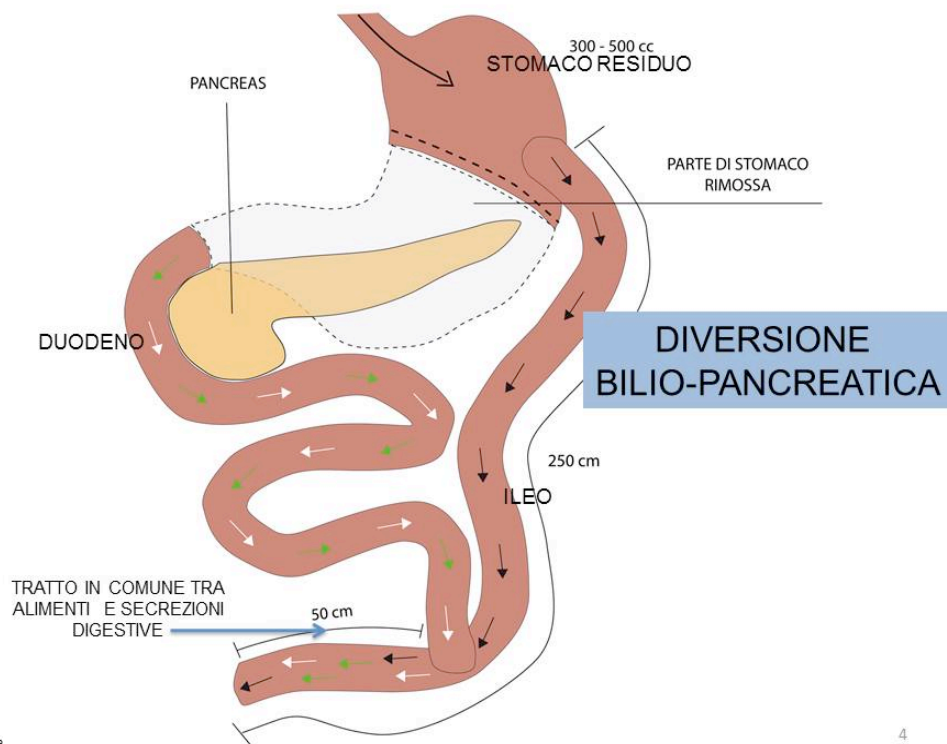
Complicanze neurologiche (parestesie, debolezza agli arti inferiori, alterazioni dell'umore, Sindrome di Wernicke-Korsakoff)

Risultati

Più o meno sovrapponibili a quelli della gastroplastica verticale, ma nei superobesi non sembra garantito un calo ponderale sufficiente.

2. Creano malassorbimento poiché il transito intestinale del bolo alimentare è ridotto a circa il 10% dell'intera lunghezza dell'intestino tenue. Vi sono deficit di assorbimento anche di nutrienti importanti per il benessere fisico (proteine, vitamine, ferro, calcio). Il paziente deve assumere supplementi di tali nutrienti per tutta la vita.

- **Diversione biliopancreatica (BPD):**



intervento restrittivo e malassorbitivo; provoca diarrea postoperatoria, deficit di vitamine liposolubili, osteoporosi. Non del tutto reversibile (gastrectomia parziale). Una gastrectomia subtotale viene eseguita sezionando il duodeno 1 cm

sotto il piloro e rimuovendo parte del corpo e dell'antro gastrico in modo da ottenere un volume gastrico residuo di 300 ml. La ricostruzione intestinale si esegue sezionando l'ansa bilio-pancreatica a 250 cm dal legamento di Treitz e modellando l'anastomosi ileo-ileo a 50 cm dalla valvola ileocecale. L'anastomosi gastro-intestinale viene applicata a livello della grande curvatura usando una suturatrice meccanica lineare.

L'intento è quello di creare un *malassorbimento selettivo* per i grassi e gli amidi

Vantaggi

Calo ponderale significativo in breve tempo e costante nel tempo

Non necessita di collaborazione da parte del paziente, che si ritiene possa "dimagrire mangiando"

Complicanze

Legate alla tecnica chirurgica

Malnutrizione proteica severa

Anemia da carenza di ferro e/o vit. B12 e/o folati

Osteoporosi da carenza di calcio

Carenza di vitamine liposolubili

Ulcera anastomotica

Diarrea, feci e flatulenze maleodoranti

Alitosi

Malattie della regione anale (emorroidi, ragadi, ascessi)

Risultati

Riduzione del 65-75% dell'EW

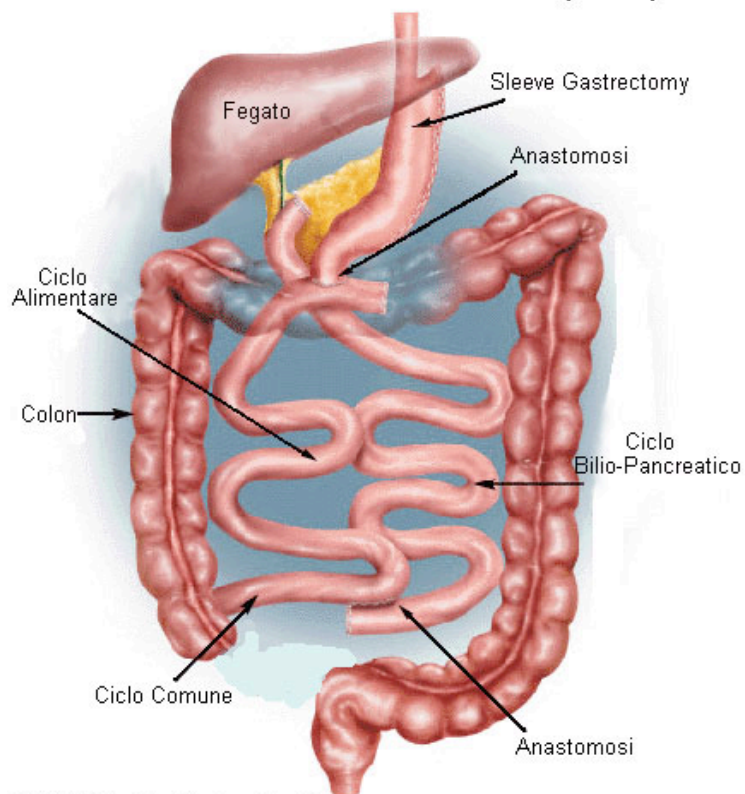
Buono il mantenimento della % di peso perduto in condizioni di dieta libera

Riduzione della ipercolesterolemia

Normalizzazione della glicemia

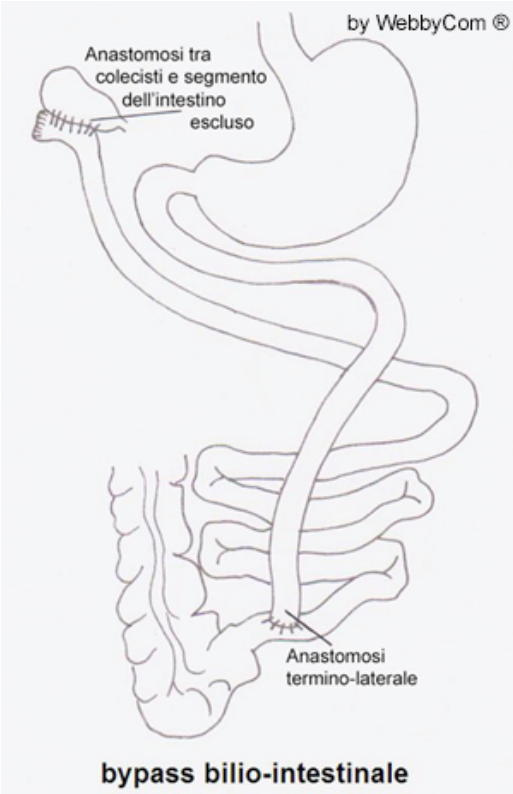
- **Diversione biliopancreatica con switch duodenale (BPDDS)**

Gastric Reduction - Duodenal Switch (GRDS)

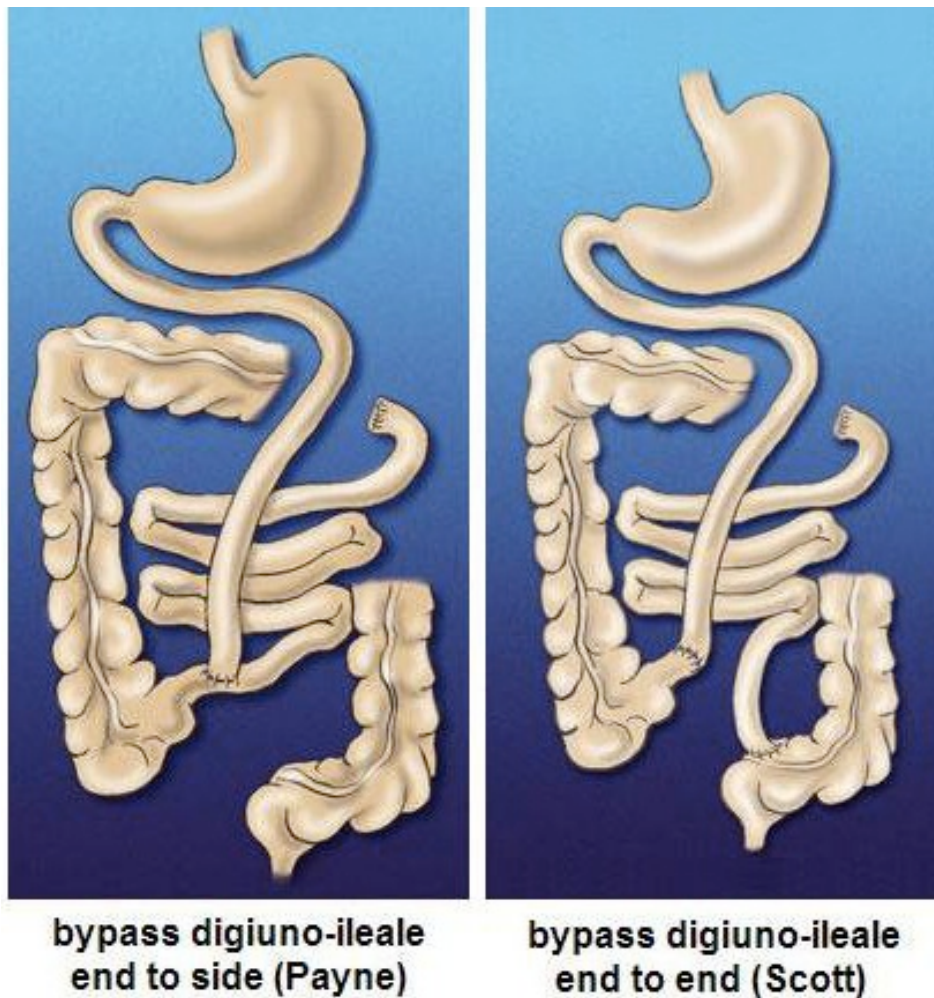


(C) 2002 Central Valley Bariatrics

- By-pass bilio-intestinale



- **By-pass digiunoileale:** intervento malassorbitivo, provocando gravi squilibri idroelettrolitici e malnutrizione, è stato abbandonato nella pratica clinica



Complicanze della chirurgia bariatrica

La mortalità in seguito a chirurgia bariatrica è generalmente inferiore all'1% ma varia a seconda dell'intervento, dell'età e delle comorbidità del paziente e dell'esperienza del chirurgo.

Tra le complicanze chirurgiche più frequenti vi sono:

- la stenosi anastomotica, trattata con dilatazione endoscopica con palloncino
- l'ulcera marginale (nel 5-15% dei pazienti), che si presenta con nausea protratta e vomito dopo i pasti o impossibilità ad introdurre nella dieta i cibi solidi, trattata con antiacidi.

Gli effetti della chirurgia bariatrica sugli ormoni gastrointestinali

È generalmente ritenuto che la funzione delle cellule beta sia *irreversibilmente* persa già nel momento in cui si manifesta la malattia e continui in seguito a diminuire linearmente con il tempo. Molti studi, tuttavia, hanno documentato la possibilità che la funzionalità delle cellule-beta può essere ripristinata, almeno in parte, nel diabete di tipo 2. Di grande rilevanza per la questione del recupero delle cellule-beta nel diabete sono i seguenti risultati:

(a) la chirurgia bariatrica in pazienti obesi con diabete di tipo 2 è in grado di ripristinare normoglicemia, la risposta insulinica acuta al glucosio (33) e la sensibilità all'insulina (34);
(b) recenti studi hanno riportato che soggetti diabetici tornano all'euglicemia ed ai livelli normali di insulina *entro pochi giorni dall'intervento*, molto prima che abbia luogo una significativa perdita di peso; (c) mentre RYGB migliora la sensibilità all'insulina in proporzione alla perdita di peso, BPD migliora l'azione dell'insulina in modo sproporzionato rispetto alla perdita di peso, ossia la normalizza in un periodo in cui i pazienti sono ancora notevolmente obesi (35). Poiché RYGB è una procedura prevalentemente restrittiva dell'intestino prossimale, mentre il BPD è una procedura prevalentemente malassorbitiva, che coinvolge il tratto gastro-intestinale distale, questi risultati suggeriscono che il controllo *sia* dell'azione insulinica *sia* della funzionalità delle cellule-beta è influenzato dai segnali provenienti dal tratto gastro-intestinale.

Alcuni studi hanno indagato i cambiamenti ormonali che seguono alla chirurgia bariatrica. Nella maggior parte dei casi, tuttavia, la sperimentazione clinica è stata eseguita dopo la riduzione di peso, rendendo così difficile stabilire se un effetto ormonale osservato fosse la causa o la conseguenza della perdita di peso e della risoluzione del diabete. Recentemente, è stato riportato che RYGB induce rapida normalizzazione dei livelli di glucosio nel sangue e dei livelli di insulina in concomitanza con cambiamenti significativi dei livelli di ormoni coinvolti nella regolazione del metabolismo del glucosio (ACTH, leptina e GIP) nell'immediato periodo post-operatorio (36). È stato proposto che le incretine potrebbero essere uno dei principali mediatori degli effetti anti-diabetici di alcuni tipi di chirurgia bariatrica. Dati precedenti hanno dimostrato che la perdita di peso significativa osservata dopo varie procedure bariatriche è stata accompagnata da un miglioramento del controllo del diabete ed un aumento dei livelli di GLP-1. La maggior parte degli studi erano trasversali (37), riportavano livelli di GLP-1 a digiuno confrontavano i vari tipi di intervento chirurgico, come bypass digiuno-ileale (JIB) (38, 39) o derivazione bilio-pancreatica (BPD) (40), che spesso conducevano a risultati inconcludenti. I dati sui livelli di GIP a digiuno dopo la chirurgia bariatrica non sono coerenti, riportando o una diminuzione o un aumento. Maggiore coerenza si ritrova relativamente all'incremento nella risposta del GLP-1 indotta un pasto in pazienti sottoposti a RY-GBP o dopo carico orale di glucosio in soggetti sottoposti a BPD. Al contrario, i livelli di GIP pasto-stimolati sono stati segnalati come aumentati dopo JIB, o diminuiti

dopo intervento GBP o JIB. In nessuno di questi studi, tuttavia, sono stati misurati i livelli di GLP-1 e GIP simultaneamente, o riportati l'effetto diretto delle incretine sulla secrezione di insulina.

Alcuni autori hanno suggerito che un aumento del rilascio di GLP-1, innescato dalla presentazione precoce di cibo non digerito ai tratti più caudali dell'intestino, potrebbe essere coinvolto nel miglioramento glicemico conseguente agli interventi di by-pass gastrico per la chirurgia dell'obesità.

Nell'insieme, queste osservazioni indicano chiaramente che esiste un ampio margine per il recupero della funzionalità delle cellule-beta nel diabete di tipo 2 e che diversi segmenti dell'intestino partecipano in modi diversi a tale recupero.

Introduzione

La disfunzione beta-cellulare e l'insulinoresistenza (41) sono i principali meccanismi fisiopatologici responsabili dello sviluppo di iperglicemia ed entrambi questi elementi patogenetici sono importanti predittori di incidenza di diabete in soggetti ad alto rischio (42).

Esistono fortissime evidenze che la chirurgia bariatrica possa ripristinare un quadro euglicemico (43, 44), la risposta insulinica al glucosio, la funzione beta-cellulare, e la sensibilità insulinica già pochi giorni dopo l'intervento nella maggior parte dei pazienti obesi affetti da diabete mellito di tipo 2 (45).

Il bypass gastrico alla Roux-en-Y è la procedura di chirurgia bariatrica più utilizzata nel mondo. Questa procedura produce una perdita dell'80% di peso in eccesso ed un impatto sul controllo glicometabolico significativamente superiore rispetto alle tecniche restrittive, senza sintomi rilevanti dovuti a malassorbimento.

In una recente meta-analisi, il RYGB ha dimostrato un'efficacia nel migliorare il controllo glicemico nel 80% dei pazienti DMT2; inoltre Schauer et al. (46) hanno documentato che circa il 30% dei pazienti con diabete di tipo 2, in seguito a RYGB, interrompeva l'utilizzo di farmaci antidiabetici già al momento della dimissione ospedaliera.

La gastrectomia verticale (SLG) è una tecnica chirurgica totalmente restrittiva. Recentemente vi sono evidenze crescenti che la SLG produca un precoce miglioramento dell'omeostasi glucidica in maniera analoga al RYGB (49, 50). Tuttavia, i meccanismi ai quali imputare i primi miglioramenti riportati dopo RYGB e SLG restano ancora incerti.

Sono stati proposti almeno quattro possibili meccanismi che possono sinergicamente intervenire nel miglioramento glicometabolico, quali: l'induzione di sazietà seguita da perdita di peso, l'ipotesi

dell'intestino distale, l'ipotesi dell'intestino prossimale e l'ipotesi relativa all'azione della ghrelina (47, 48).

La restrizione calorica è considerata esser un elemento che contribuisce al miglioramento glicemico. Nel periodo di degenza post-operatorio dopo chirurgia bariatrica puramente restrittivo o mista, i pazienti hanno apporto minimo di calorie e tale apporto rimane costante durante il primo mese.

Diversi studi hanno dimostrato che una drastica riduzione dell'apporto calorico per 4-7 giorni, aumenta la resistenza all'insulina, con rapida ripresa dell'assunzione di cibo. Considerando che l'apporto energetico nullo e la fame che ne consegue induce insulino-resistenza, minori gradi di restrizione energetica hanno dimostrato di migliorare la sensibilità all'insulina

Nonostante nell'iniziale periodo post-operatorio, l'introito calorico e, quindi, il grado di restrizione energetica siano simili per le procedure bariatriche puramente o prevalentemente restrittive, precoci miglioramenti nella resistenza all'insulina sono stati documentati da alcuni autori, e tali miglioramenti sembrano essere più importanti nel RYGB rispetto alle procedure restrittive quali il bendaggio gastrico.

Questo ci suggerisce che il RYGB potrebbe innescare un effetto addizionale alla sola restrizione energetica. Alcuni studi sugli esseri umani suggeriscono che, piuttosto che la riduzione dell'apporto energetico, siano in realtà il bypass della prima porzione intestinale (ipotesi foregut) (69-72) o l'esposizione rapida di sostanze nutritive alla porzione intestinale distale (ipotesi hindgut), i principali meccanismi responsabili del miglioramento della sensibilità all'insulina. Pertanto, sembra che i benefici del bypass gastrico siano in parte dovuti alla limitazione energetica, in parte ad un cambiamento della normale fisiologia dell'intestino che è indipendente dalla riduzione di introito calorico.

In definitiva, la restrizione calorica, la perdita di peso, e le alterazioni funzionali dell'asse entero-insulare sembrano essere tutti possibili meccanismi. Per esempio, Pories et al. hanno proposto che l'eccessiva stimolazione di alcune fattori intestinali (fattori diabetogeni) in individui vulnerabili potesse essere la causa del diabete mellito di tipo 2, e che la "cura" attraverso l'intervento chirurgico fosse legata alla riduzione di questa sovrastimolazione.

D'altronde, Rubino e Gagner hanno suggerito l'esistenza di un'eccessiva produzione di fattori intestinali, derivanti da una eccessiva stimolazione del tratto digestivo prossimale, come causa di una carente azione incretinica.

Tuttavia, un numero limitato di studi ha confrontato direttamente il contributo della chirurgia metabolica rispetto alla sola restrizione dietetica, sulle risposte degli enteropeptidi sul metabolismo del glucosio. Di questi, solamente uno studio ha esaminato gli effetti di una equivalente perdita di

peso a breve termine, indotta rispettivamente da una dieta ipocalorica e dal RYGB, sugli enteropeptidi e lo stato diabetico, evidenziando un significativo e simile decremento sia della glicemia che dell'insulinemia a digiuno. Il recupero della prima fase di secrezione insulinica in risposta al glucosio orale e il miglioramento dei livelli di incretine erano tuttavia osservati solo dopo GBP e non dopo dieta. E' stato osservato che il bypass della prima porzione intestinale (foregut) modifica il rilascio di ormoni intestinali suggerendo che alcuni di questi potrebbero indurre i primi miglioramenti sull'omeostasi del glucosio osservata nel RYGB.

Molti studi hanno dimostrato un elevato incremento del GLP-1 e del PYY post-prandiale immediatamente e nel lungo termine dopo RYGB, mentre gli effetti del RYGB sul GIP sono meno consistenti (51-53). Al contrario, ci sono poche testimonianze sugli effetti della SLG sugli ormoni intestinali, ed i cambiamenti osservati inerentemente al GLP-1 ed il PYY sono stati messi in relazione alla riduzione del tempo di transito che si verifica in seguito alla SLG. In ogni caso, non vi sono evidenze di un meccanismo diretto causa-effetto che potrebbe legare i cambiamenti degli entero-ormoni ai benefici osservati sul metabolismo glucidico.

E' stato ipotizzato che i cambiamenti indotti dalla SLG (54) sulle concentrazioni plasmatiche di grelina potrebbero aiutare a comprendere il miglioramento del metabolismo glucidico, ma esistono comunque dati controversi sul pattern post-prandiale di grelina dopo RYGB e SLG.

La maggior parte della fisiologia della grelina si basa sulla valutazione della grelina totale. Comunque, recenti metodi per la misurazione della grelina hanno dimostrato che la grelina desacilata è regolata diversamente rispetto alla forma acilata.

Così, evidenze emergenti suggeriscono che le due forme partecipano diversamente alla modulazione della sensibilità insulinica e all'omeostasi glucidica. Queste evidenze potrebbero spiegare i dati contrastanti riportati in letteratura.

Complessivamente, queste osservazioni indicano chiaramente che diversi meccanismi possono partecipare al miglioramento / remissione del diabete dopo la chirurgia metabolica.

Materiali e metodi

Soggetti: lo studio include 35 pazienti affetti da DM tipo 2 (24 donne e 11 uomini), che erano in lista d'attesa per l'intervento di chirurgia bariatrica quale RYGB (23 soggetti) oppure SLG (12 soggetti). La diagnosi di diabete veniva posta in accordo con i criteri ADA (55)

Nello studio sono stati inclusi anche i pazienti in terapia insulinica con esordio della malattia ad un'età superiore ai 40 anni, con un BMI > 30 kg/m² e che risultavano negativi per la presenza di autoanticorpi contro le isole pancreatiche. Dei pazienti inclusi nello studio, 8 erano in terapia insulinica (90 UI/die), 23 in terapia ipoglicemizzante orale (sulfonilurea + metformina) e solo 4 in

trattamento dietetico. Sono stati esclusi dallo studio i soggetti con a) patologia acuta tale da richiedere ospedalizzazione, b) cecità; c) severe condizioni cliniche (cirrosi epatica, insufficienza renale in fase terminale, neoplasie, malattie del tessuto connettivo, malattie endocrinologiche quali ipo/ipertiroismo) o patologie quali scompenso cardiaco cronico congestizio, recente infarto del miocardio o stroke, angina instabile.

Il protocollo è stato approvato dal Comitato Etico locale e tutti i pazienti sono stati informati ed hanno firmato il modulo di consenso prima di intraprendere lo studio.

Disegno dello studio

I pazienti selezionati, venivano ricoverati presso il nostro reparto, con una degenza di circa 8 giorni durante i quali abbiamo rilevato quotidianamente peso e parametri vitali (PA, FC, FR) ed eseguito esami ematochimici di routine ed esami volti a studiare il profilo glico-metabolico. Durante la degenza i pazienti venivano sottoposti, per un periodo di 7 giorni, ad una dieta semiliquida ipocalorica (18% proteine, 29% lipidi e 53% di carboidrati) per un totale di 1200 Kcal per gli uomini e di 1000 Kcal per le donne, mimando lo stesso regime dietetico che i pazienti avrebbero affrontato a partire dal 5° giorno post-operatorio per la durata di un mese.

A partire dall'inizio del periodo di dieta veniva chiesto ai pazienti diabetici, che assumevano ipoglicemizzante orale, di sospendere tale terapia; se i livelli plasmatici di glucosio risultavano tra 6 e 10 mmol/l durante il periodo d'osservazione, i pazienti venivano mantenuti ad un solo regime dietetico altrimenti, per valori > 10 mmol/l veniva intrapresa terapia insulinica s.c. al fine di mantenere la glicemia al di sotto di 10 mmol/l. Il trattamento insulinico veniva mantenuto fino a 16 ore prima dello studio metabolico (pertanto la glargina, nei pazienti che l'assumevano prima di andare a letto, veniva sostituita con NPH due giorni prima dello studio).

Al termine del periodo preposto per la dieta, veniva eseguito un pasto misto (MTT) al fine di valutare la funzione beta-cellulare, la sensibilità periferica all'insulina ed il livello degli ormoni gastro-intestinali.

Entro un mese i pazienti venivano nuovamente riammessi nel nostro reparto per un periodo di 6 giorni (un giorno prima e 5 giorni dopo l'intervento chirurgico). I pazienti venivano selezionati per l'intervento di RYGB e per quello di SLG sulla base della presenza della patologia da reflusso esofageo, della metaplasia intestinale o dell'infezione da H. Pylori al prelievo biotico eseguito nel corso dell'EGDS routinaria.

Il giorno dell'intervento per valori di glicemia a digiuno > 8 mmol/l veniva intrapresa terapia insulinica in infusione per mantenere i livelli plasmatici di glucosio tra 6 e 10 mmol/l; l'infusione veniva mantenuta anche nei giorni a seguire fino alla rialimentazione per os.

Lo studio metabolico veniva ripetuto, presso la nostra Unità di Ricerca Clinica, dopo 15 giorni e nuovamente dopo 12 mesi dall'intervento chirurgico.

Nel post-operatorio, veniva definita come parziale remissione del diabete un valore di HbA1c <6.5%, una glicemia a digiuno <7 mmol/l e glicemia <11 mmol/l due ore dopo l'inizio del pasto misto (MTT) in assenza di terapia antidiabetica.

Metodi:

Dopo un digiuno notturno di almeno 12 ore, i pazienti assumevano un pasto semiliquido per un introito calorico totale di 350 Kcal (=1457 kJ) (26% proteine, 28% lipidi e 45% carboidrati).

Venivano eseguiti prelievi del sangue mediante una cannula inserita in una vena dell'avambraccio al tempo -30, 0 (tempo del pasto), +10, +20, +30, +45, +60, +90, +120, +150, +180, +240 e +300 minuti per la misurazione della glicemia, insulina, C-peptide, glucagone, amilina, grelina, polipeptide pancreatico (PP), PYY.

RYGB laparoscopico: dopo l'identificazione del legamento del Treiz, il digiuno viene sezionato a 120 cm dal legamento del Treiz e viene eseguita una stomia entero-enterica usando una suturatrice lineare da 45 mm a 150 cm dal canale alimentare. Viene confezionata una tasca gastrica sottocardiale della capacità di 20-30 ml, usando come guida un palloncino oro-gastrico, attraverso la sezione dello stomaco con suturatrice lineare da 45 mm ed eseguendo un'anastomosi gastro-digiunale di 2.5-3 cm di lunghezza con tecnica manuale (56).

SLG laparoscopica: SLG laparoscopica: una gastrectomia 4/5 verticale è stata confezionata utilizzando un tutore da 34 F sulla cui guida il chirurgo ha sezionato il viscere mediante cariche multiple di suturatrice lineare da 45 mm. La sezione parte 4-6 cm a monte del piloro e raggiunge, seguendo la grande curvatura, la giunzione esofago-gastrica. In tal modo si ottiene un neo-stomaco di 800-1000 cc di volume.

Metodo:

La concentrazione plasmatica del glucosio veniva misurata con *Beckman Glucose Analyzer 2* (Beckman, Fullerton, CA, USA). La concentrazione a digiuno del colesterolo totale, colesterolo-LDL e colesterolo-HDL venivano misurate con tecnica standard (Synchron CX4, Beckman Instruments, Inc., Brea, CA, USA). L'insulinemia ed il C-peptide venivano misurati con Cobas e411 (Roche Diagnostics S.p.A., Milan, Italy).

La concentrazione plasmatica dell'insulina, glucagone e C-peptide venivano dosati con specifici dosaggi radioimmunoenzimatici.

Il polipeptide pancreatico, l'amilina e la grelina venivano misurati con Multiplex (Linco Research, St. Charles, MO, USA). La concentrazione plasmatica del GIP e totale del GLP-1 venivano misurate con un specifico metodo radioimmunoenzimatico (c/o laboratorio in Danimarca).

Modello

L'insulino sensibilità e la funzione β -cellulare sono parametri derivati attraverso un modello matematico dalle concentrazioni plasmatiche del glucosio, insulina e C-peptide ottenuti dai prelievi eseguiti nel corso dell'MTT, come precedentemente descritto (57). La sensibilità insulinica veniva valutata con il metodo Matsuda, che stima la clearance del glucosio per unità di variazione dell'insulina, che corrisponde al rapporto tra la clearance del glucosio (in $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$) e il livello di iperinsulinemia nel range che è stato ottenuto durante un clamp euglicemico iperinsulinemico standard ($240\text{ pmol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$), in confronto del quale questo indice è stato validato in soggetti con una normale tolleranza glucidica, IGT e diabete conclamato (58, 59).

Il modello di funzione della β -cellula consiste di tre blocchi:

- (a) un modello matematico volto ad interpolare il profilo delle variazioni delle concentrazioni di glucosio con quelle della secrezione insulinica;
- (b) un modello per descrivere la dipendenza della secrezione insulinica (o del C-peptide), dalle concentrazioni di glucosio;
- c) un modello bi-esponenziale della cinetica del C-peptide, ossia il modello proposto da Van Cauter *et al.* (60), nel quale i parametri del modello sono corretti individualmente sui dati antropometrici del soggetto.

In particolare, nel blocco (b) della secrezione insulinica, il rapporto tra secrezione insulinica e concentrazioni di glucosio plasmatico viene modellato come somma di due componenti: 1) la prima componente è il rapporto tra secrezione insulinica e concentrazioni di glucosio (61), ossia una funzione dose-risposta. La funzione dose-risposta viene modulata da un fattore tempo-dipendente ed esprime il potenziamento della secrezione insulinica. La funzione dose-risposta è una funzione parametrizzata delle concentrazioni di glucosio che può essere quasi-lineare o convessa, a seconda dei parametri (62). La pendenza media della funzione dose-risposta viene considerata rappresentativa della *sensibilità al glucosio della β cellula*. 2) La seconda componente della secrezione insulinica rappresenta la dipendenza dinamica della secrezione insulinica dalla velocità di variazione della concentrazione di glucosio, cioè la *rate sensitivity*. La secrezione totale di insulina è la somma delle due componenti precedentemente descritte.

Analisi statistica:

I risultati sono espressi come una media \pm SD o mediana [range interquantile] rispettivamente per le variabili a distribuzione normale o non normale. I gruppi di differenza vengono comparati con il test χ^2 per variabili categoriali, usando il test Mann Whitney U per le variabili continue e il Wilcoxon signed rank test per i dati appaiati. L'analisi dei cambiamenti nel tempo (prima, nell'immediato e nel post-intervento chirurgico) nei due gruppi di soggetti (NGT e DMT2) è stata eseguita da ripetute misurazioni con ANOVA; per questo test, i parametri con distribuzione anomala vengono trasformati nei loro logaritmi naturali.

Il modello di regressione multivariabile viene usato per analizzare la correlazione tra le variabili. L'output di questo modello ANOVA è un valore p per il fattore tempo (ossia, tutti i cambiamenti durante il periodo), un valore p per il gruppo (ossia le differenze tra i gruppi) ed un valore p per le interazioni di gruppo tempo x (ossia i diversi cambiamenti tra i gruppi durante il periodo).

Un valore di $p < 0.05$ viene considerato significativo.

Risultati

Parametri antropometrici e metabolici basali dei soggetti diabetici nei due diversi interventi chirurgici.

Il grado di obesità, l'età (56 ± 7 vs 50 ± 9 anni, $p = 0.06$) ed i valori di PAS ($p = 0.03$) e PAD ($p = 0.03$) risultavano maggiori nei soggetti candidati per la SLG rispetto ai pazienti candidati per il RYGB. Invece risultavano simili in entrambi i gruppi i valori di HbA1c, la glicemia a digiuno e quella media (tabella 1). Così come simili nei due gruppi erano, basalmente, la sensibilità al glucosio della β cellula,; mentre la secrezione insulinica a digiuno e totale e la clearance insulinica risultava piu' alta nella SLG piuttosto che nel RYGB (tabella 2).

Effetti del RYGB e della SLG sui parametri metabolici:

Con l'intervento chirurgico, il BMI si riduceva in misura simile in entrambi i gruppi. A 15 giorni dall'intervento, il BMI si riduceva in media di 1.8 kg/m^2 nel RYGB e di 2.8 kg/m^2 nella SLG; ad un anno, la riduzione del BMI risultava significativamente piu' bassa nella SLG piuttosto che nel RYGB. Il controllo glicemico – come rappresentato dall'HbA1c e dai livelli plasmatici della glicemia a digiuno e della glucemia media – migliorava in ugual maniera ad un anno dall'intervento nei due gruppi, mentre non venivano osservate differenze significative precocemente dopo l'intervento. La concentrazione dell'insulina a digiuno si riduceva in tutti i soggetti ad un anno dall'intervento, mentre la media dei valori plasmatici di insulina risultava già significativamente ridotta a 15 giorni in entrambi i gruppi. (tabella 1) (Fig. 1).

La sensibilità all'insulina migliorava tardivamente dopo la chirurgia in entrambi ($p < 0.006$ o meno) (tabella 2), e risultava strettamente correlata con il BMI (fig. 2).

La sensibilità della β -cellula al glucosio mostrava un marcato miglioramento in entrambi i gruppi, ma i valori ad un anno non erano diversi da quelli osservati a 15 giorni ($p < 0.005$ o meno). La sensibilità al glucosio della β cellula risultava negativamente associata con il valore di HbA1c (coeff -0.023, $r=0.19$, $p < 0.0001$) e con la durata del diabete (coeff -0.055, $r=0.13$, $p=0.0003$). La secrezione insulinica a digiuno e totale aumentava precocemente e si riduceva ad un anno dall'intervento in entrambi i gruppi, tuttavia a lungo termine si osservava una maggiore riduzione nei pazienti sottoposti a SLG piuttosto che nel RYGB ($p < 0.05$) (Fig. 1). La clearance dell'insulina aumentava immediatamente dopo la chirurgia ma non a lungo termine (tabella 2).

Effetti dell'RYGB e della SLG sugli ormoni gastrointestinali

Dopo la chirurgia, la concentrazione plasmatica a digiuno dell'amilina si riduceva significativamente nel tempo nel RYGB ($p=0.004$) ma non nella SLG, invece la concentrazione plasmatica a digiuno della grelina si riduceva in misura più imarcata dopo la SLG ($p < 0.0001$). La concentrazione plasmatica a digiuno del PP non cambiava significativamente nel RYGB ma incrementava dopo la SLG ($p < 0.0001$), mentre la concentrazione plasmatica a digiuno del PYY aumentava nel tempo in entrambi i tipi di chirurgia. La concentrazione plasmatica a digiuno del glucagone aumentava precocemente nel post-intervento, mentre ritornava ai valori prechirurgici dopo un anno (tabella 3) (Fig. 4).

Variazioni simili a quelle del glucagone venivano osservate per il GLP-1 a digiuno, con incremento a breve termine e ritorno ai valori prechirurgia ad un anno in entrambi i tipi di intervento (tabella 3 e figura 4).

Durante l'MMT, l'area incrementale sotto la curva dell'amilina si riduceva dopo RYGB, ma aumentava dopo SLG ($p=0.014$) così come l'area sotto la curva incrementale del PP ($p < 0.0001$), che si riduceva dopo RYGB ed aumentava dopo SLG. L'area incrementale della grelina presentava un andamento diverso nel tempo tra i due tipi di chirurgia, riducendosi maggiormente ad un anno di distanza dopo RYGB (tabella 3). Il PYY incrementava progressivamente dopo la chirurgia ($p=0.0003$), (tabella 3) (Fig. 4). In risposta al pasto il glucagone aumentava a breve termine, ma ritornava ad un anno ai valori rilevati prechirurgia (tabella 3, figura 4). Le variazioni indotte dal pasto sul GLP-1, mostravano un incremento a breve termine dopo entrambe le chirurgie, che rimaneva stabile nel tempo ($p=0.05$)(tabella 3, figura 4).

Correlazione tra le variabili metaboliche e gli ormoni gastrointestinali

Usando un modello multivariato, nel quale l'area sotto la curva di risposta al pasto di ciascun ormone, veniva correlata a ciascun parametro metabolico o ad altri ormoni intestinali, correggendo per questi fattori e per il tipo d'intervento, si osservava che la grelina correlava negativamente con l'insulino sensibilità ($p < 0.03$), ma questa correlazione era meno evidente quando veniva corretta per il BMI. PYY e PP erano direttamente correlati con il glucagone ($p < 0.01$ e $p < 0.03$, rispettivamente) e il glucagone tendeva ad essere positivamente correlato con l'area sotto la curva dell'insulina ($p = 0.07$). Inoltre l'area sotto la curva insulinica, come ci si aspettava, era inversamente correlata con l'insulino sensibilità ($p < 0.004$) e direttamente con la secrezione insulinica ($p < 0.001$). Infine, il controllo glicemico (stimato con il valore dell'HbA1c) era predetto solo dall'insulino sensibilità e dalla sensibilità al glucosio della β cellula, in maniera indipendente.

Discussione: ci sono diverse evidenze in corso di sviluppo che identificano la chirurgia bariatrica come un forma di trattamento per il diabete tipo 2. Recerti studi suggeriscono la SLG, oltre che RYGB e BPD, sia in grado di migliorare e mantenere un normale valore di glicemia plasmatica e di HbA1c nell'80% dei pazienti (85, 86). L'obiettivo di questo studio è stato quello di mettere a confronti gli effetti metabolici secondari alla SLG e RYGB, dopo aver escluso gli effetti della restrizione calorica, e l'impatto degli ormoni intestinali sui cambiamenti del metabolismo glucidico a breve e a lungo termine. I dati di maggiore interesse che emergono da questo studio sono: a) il controllo glicemico – indagato con HbA1c e i valori di glicemia a digiuno e medi – migliora in egual misura nei due gruppi ad un anno dall'intervento ed era predetto solo dall'insulino sensibilità e dalla sensibilità al glucosio della β cellula; b) in entrambi i gruppi sottoposti rispettivamente a RYGB e SLG, la sensibilità all'insulina migliora in proporzione alla riduzione del BMI indotta dall'intervento; c) in entrambi i gruppi la sensibilità al glucosio della β cellula migliora relativamente in fase precoce dopo la chirurgia e si mantiene; entrambe le chirurgie mostrano un simile effetto sulla grelina (si riduce in entrambi gli interventi, in misura più importante dopo SLG) e sul PYY (aumenta precocemente e a lungo termine), così come simili sono gli effetti sul glucagone e sul GLP-1; invece si osserva invece un diverso pattern ormonale per l'amilina e il PP a seconda del diverso intervento chirurgico; e) gli ormoni intestinali studiati non influenzano la secrezione insulinica e la funzione β cellulare ma il PYY e il PP influenzano la secrezione di glucagone e la grelina ha mostrato avere una correlazione inversa con la sensibilità all'insulina.

Come riportato da Ramon et al., abbiamo confermato che si osserva un simile miglioramento del controllo glico-metabolico nel RYGB e nella SLG rispettivamente a 15 giorni e ad un anno dall'intervento. A differenza dello studio precedente, ma in accordo con altri, non abbiamo trovato evidenza che RYGB o SLG incidano sulla sensibilità all'insulina attraverso un meccanismo indipendente dal peso dimostrando che il miglioramento della sensibilità all'insulina sia da mettere in relazione con la perdita di peso (Fig.1) (89-90). Infatti la correlazione trovata tra la grelina e l'insulina sensibilità in risposta al pasto diventava meno evidente quando veniva corretta per il BMI.

La perdita del peso determinata dai meccanismi indotti dall'esclusione del duodeno o dalla restrizione/resezione gastrica potrebbe contribuire alla sensibilità all'insulina in contrasto con quanto era stato osservato nei pazienti affetti da obesità grave sottoposti all'intervento di diversione biliopancreatica nei quali si osservava un miglioramento significativo prima della perdita di peso. Una possibile spiegazione per questi risultati potrebbe essere conseguenza di un ridotto introito calorico per la ridotta quantità di cibo che i soggetti riescono a mangiare nell'immediato post-operatorio. Abbiamo inoltre osservato che un miglioramento del controllo glicemico sia strettamente dipendente dall'insulina resistenza e dallo stato della β cellula, indipendentemente dagli ormoni intestinali studiati. Per quanto riguarda la funzione beta-cellulare non ci sono dati in letteratura che dimostrino quanto la sensibilità al glucosio della β cellula dopo un pasto misto cambi precocemente dopo RYGB e SLG e tali dati non sono sovrapponibili con quanto era stato osservato in studi precedenti per le diverse tecniche chirurgiche utilizzate e i test di stimolazione usati (infusione e.v. di arginina e glucosio) (93-94)

Abbiamo escluso che la restrizione calorica possa spiegare il rapido miglioramento osservato nei nostri soggetti diabetici. È noto il ruolo della restrizione calorica nel determinare una riduzione rapida della glicemia plasmatica e della secrezione insulinica (97). Tuttavia in questo studio abbiamo escluso gli effetti dipendenti dalla differenza nell'intake calorico, infatti i pazienti nello studio pre-operatorio venivano sottoposti a dieta semiliquida ipocalorica la stessa che avrebbero eseguito nei primi 15 giorni dall'intervento. Studi recenti hanno attribuito agli ormoni intestinali un possibile ruolo nel migliorare e nella remissione del diabete tipo 2 dopo RYGB e SLG. Sono state al riguardo avanzate diverse possibili spiegazioni tra cui "ghrelin hypothesis" e "hindgut e foregut hypothesis".

Questo studio, in accordo con Lee et al, ha mostrato un'importante riduzione della produzione della des-acygrelina in risposta al pasto misto dopo RYGB e SLG, tuttavia le fisiologiche oscillazioni della des-acygrelina si mantengono dopo RYGB ma non dopo SLG nel quale molte cellule deputate

alla produzione della grelina vengono resecate. Tuttavia questi cambiamenti non sono in grado di influenzare la funzione e la secrezione insulinica.

Entrambi gli interventi hanno importanti effetti sull'intestino distale con un aumento a breve e lungo termine della produzione di GLP1 e PYY dopo la stimolazione con il pasto. Un recente lavoro ha dimostrato che bassi livelli di PYY sono connessi con l'insulino resistenza e l'ipersecrezione insulinica e che la mancanza di PYY alteri le proprietà intrinseche delle isole di Langherans.

Non ci sono invece dati sugli effetti delle modifiche ormonali dopo RYGB e SLG sull'insulino sensibilità o sulla funzione della beta cellula. Nel nostro studio non abbiamo osservato una correlazione di causa-effetto tra l'aumento del PYY dopo l'intervento e l'insulino sensibilità o la funzione della beta cellula. Al contrario abbiamo osservato un'associazione tra PYY e glucagone in risposta all'MTT. Inoltre abbiamo valutato la risposta delle isole di Langherans all'MTT dopo entrambe le chirurgie e abbiamo osservato un aumento post-prandiale del glucagone in risposta all'MTT sia nella RYGB che nella SLG, tuttavia a lungo termine l'area sotto la curva del glucagone si mantiene tale solo dopo SLG. La spiegazione di questo incremento non è chiaro, ma simili osservazioni sono state riportate in altri studi. Non si sono viste sostanziali variazioni post prandiali nella produzione del PP dopo RYGB. Al contrario si è osservata un'importante incremento del PP dopo SLG probabilmente come risposta ad un'attivazione vagale indotta dalla distensione gastrica. Il PP e il PYY sono direttamente correlate con la risposta del glucagone all'MTT suggerendo una cross reazione tra intestino- α cell-Fcell delle isole di Langherans.

Entrambi gli interventi apportano importanti modifiche metaboliche, alcune correlate alla perdita di peso (insulino sensibilità) altre secondarie a complesse e ancora non chiare influenze degli ormoni intestinali sulla funzione della beta-cellula.

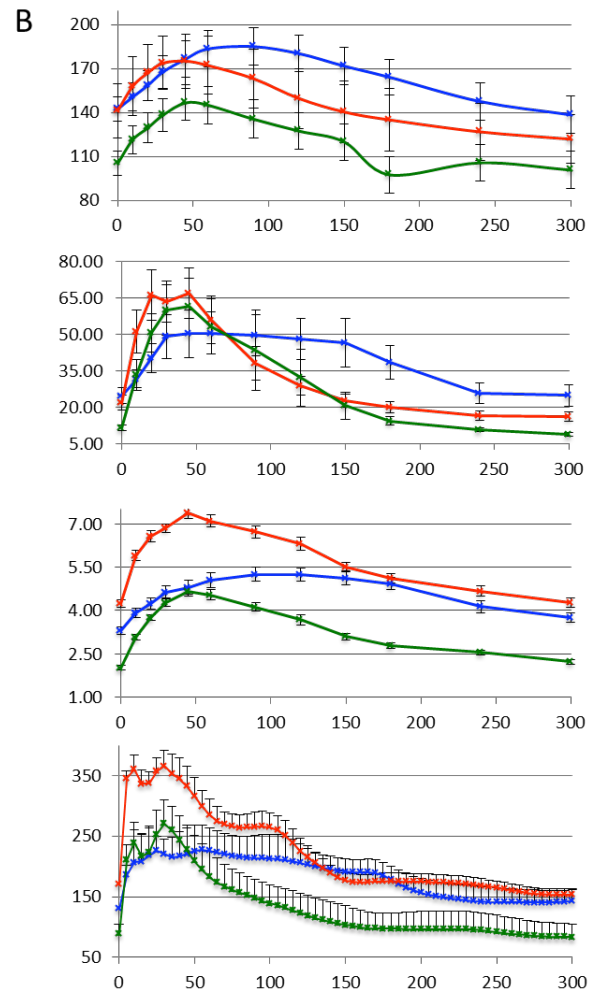
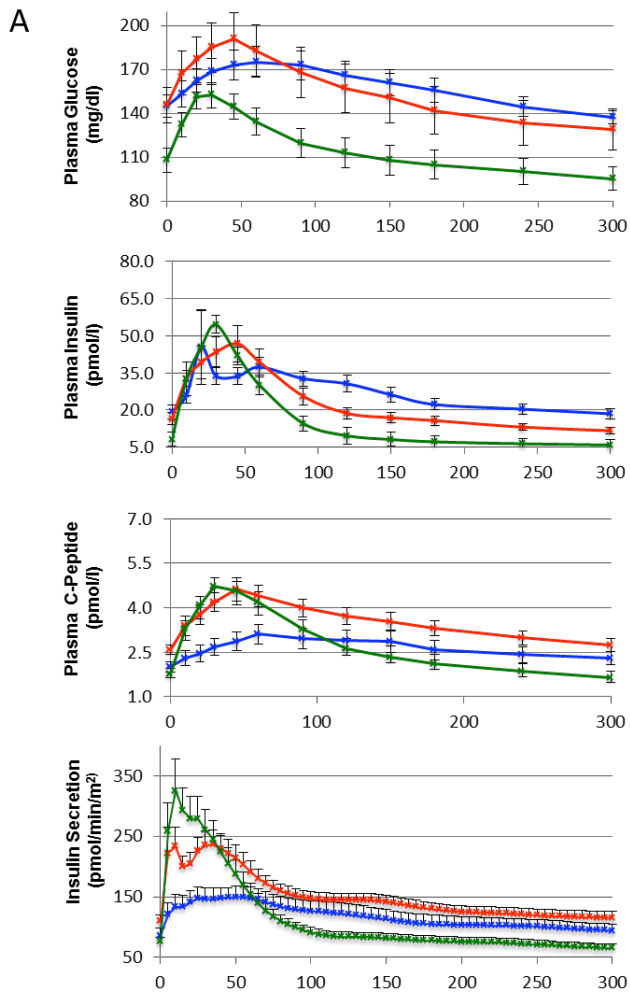


Figure 1

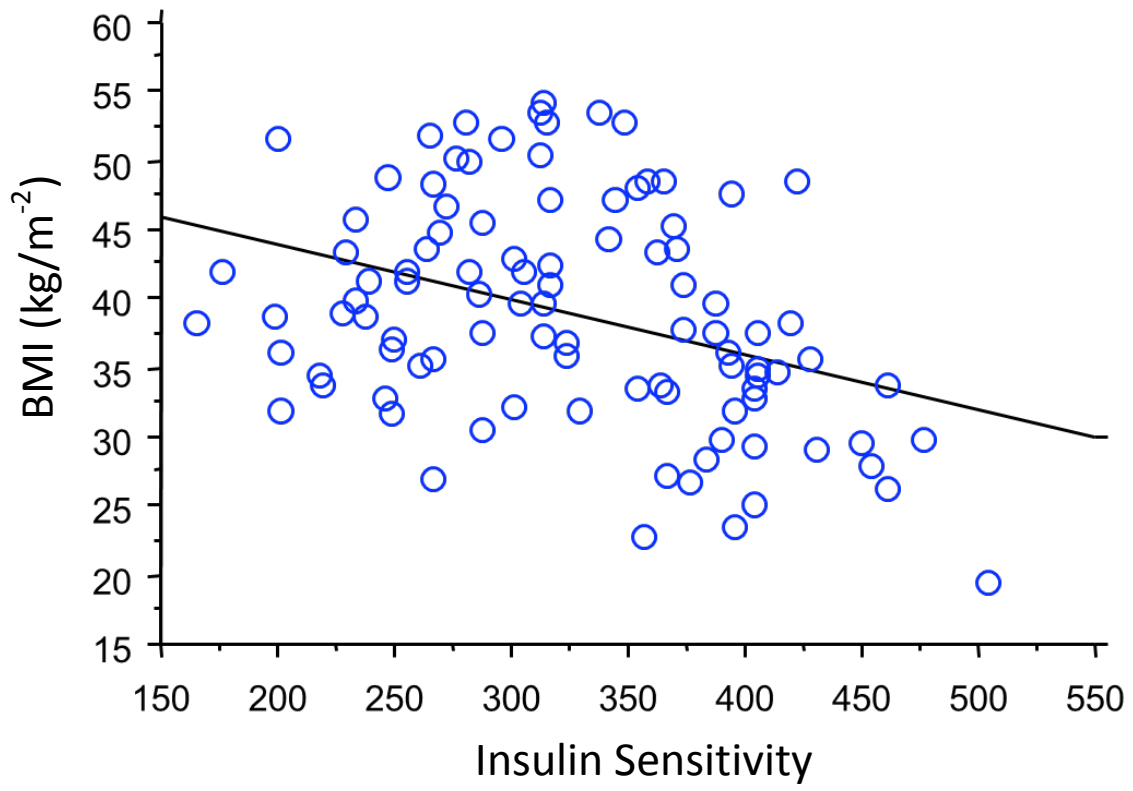


Figura 2

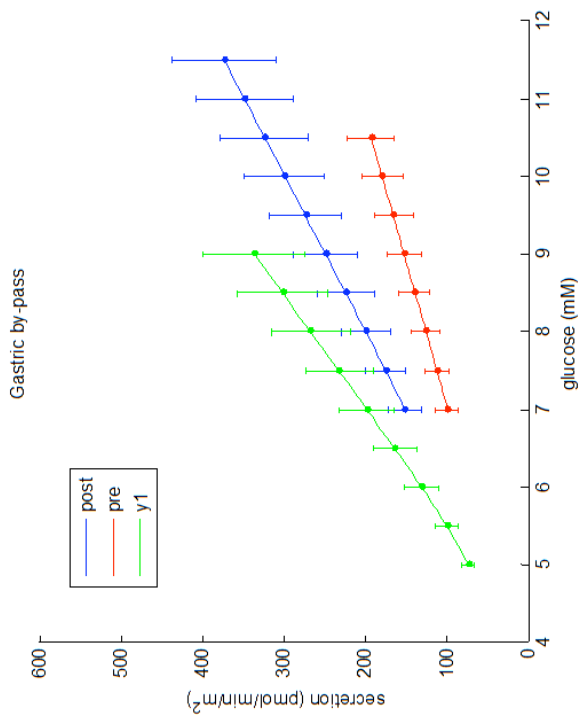
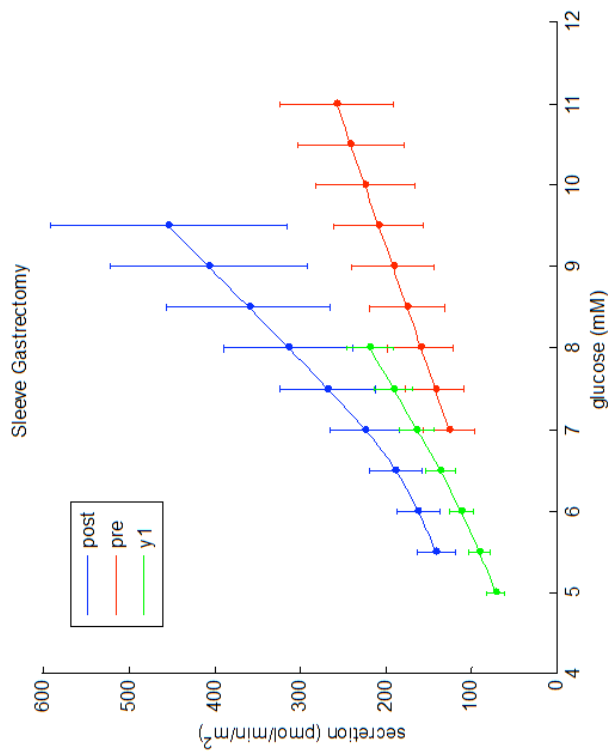
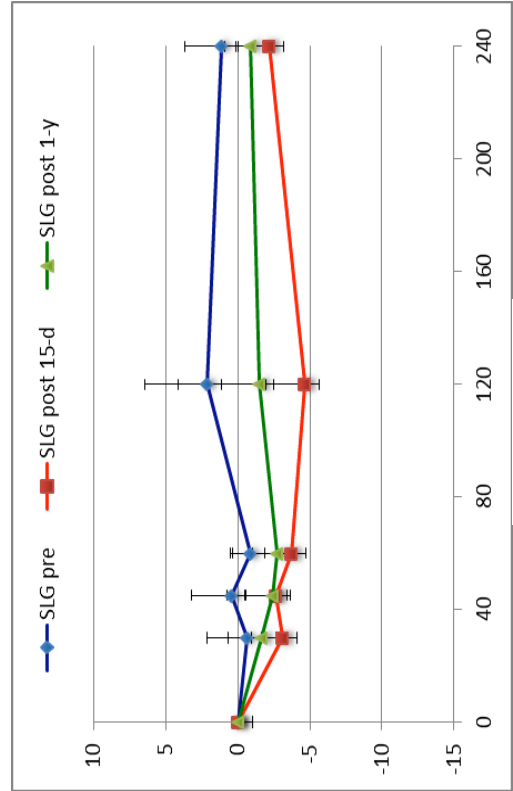
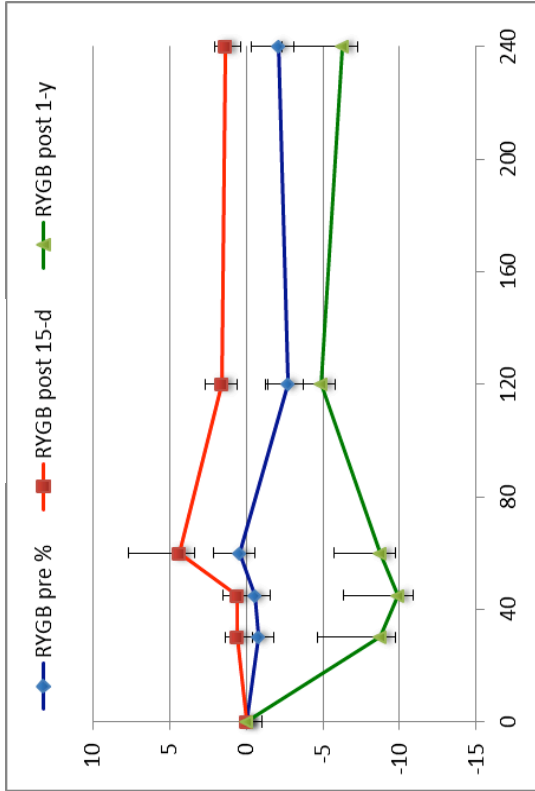


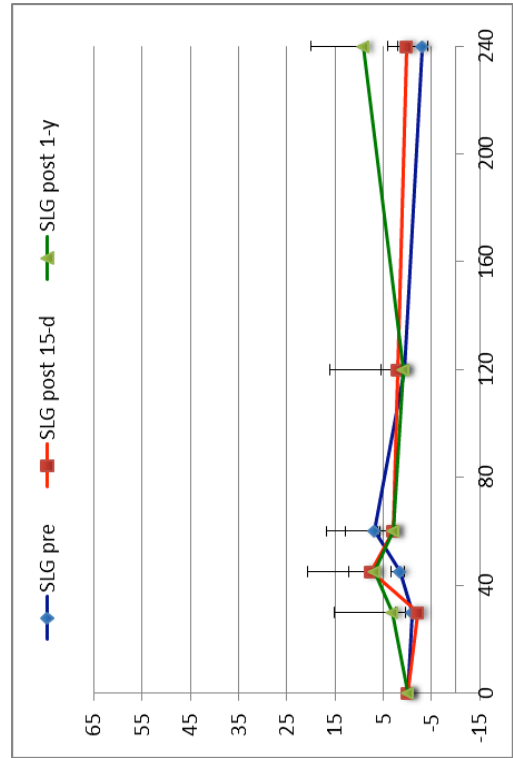
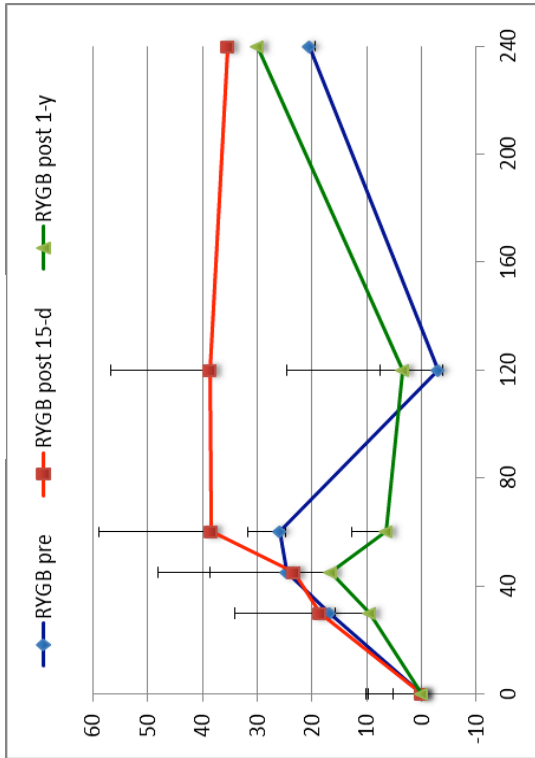
Figura 3 – β -Cel Glucose sensitivity

Ghrelin



Time [min]

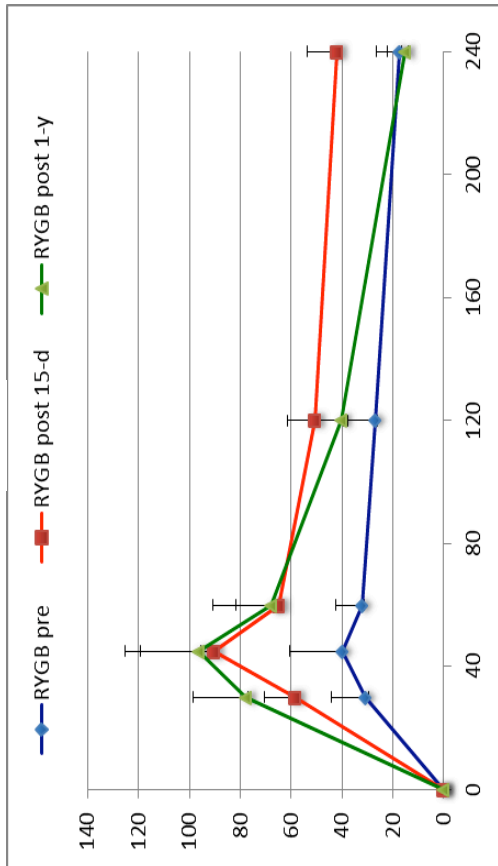
Amylin



Time [min]

Figura 4 – Panel A

PYY



PP

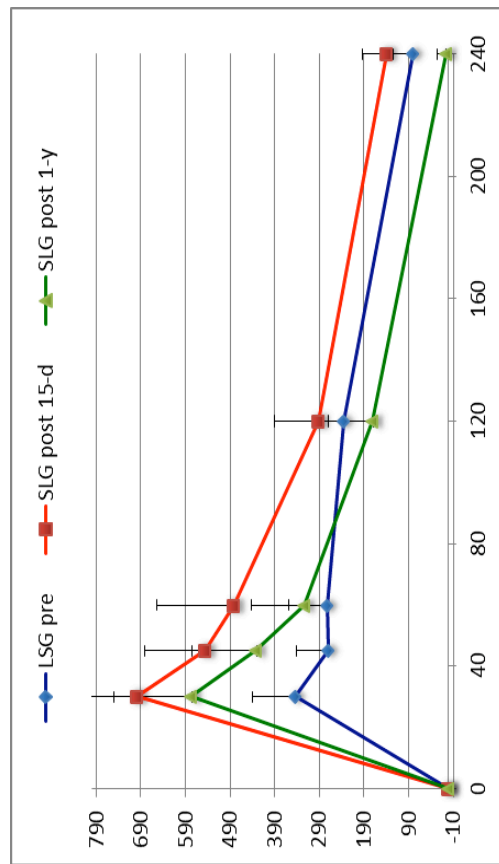
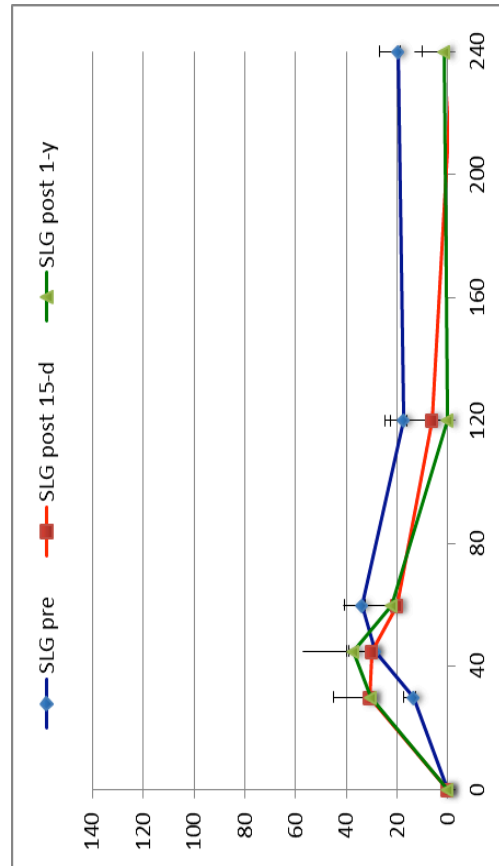
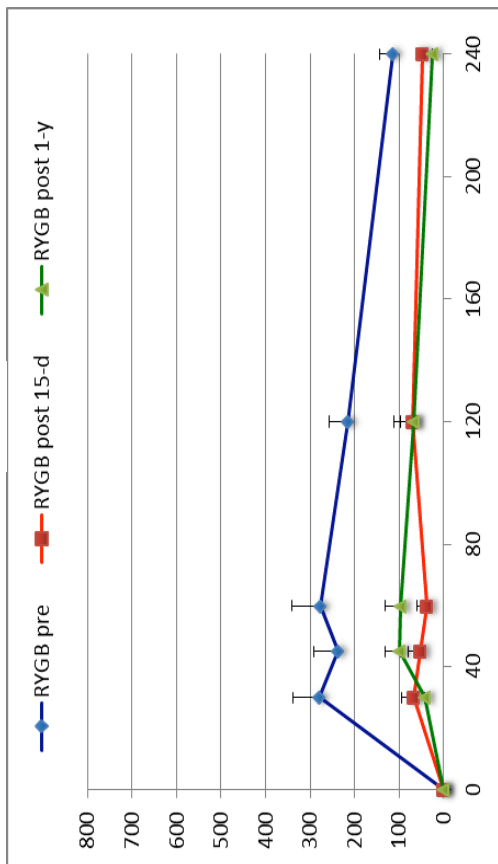
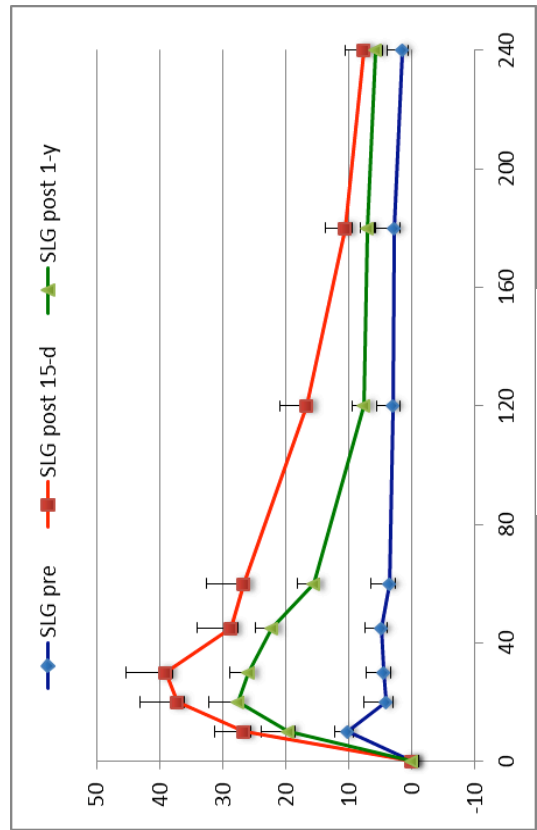
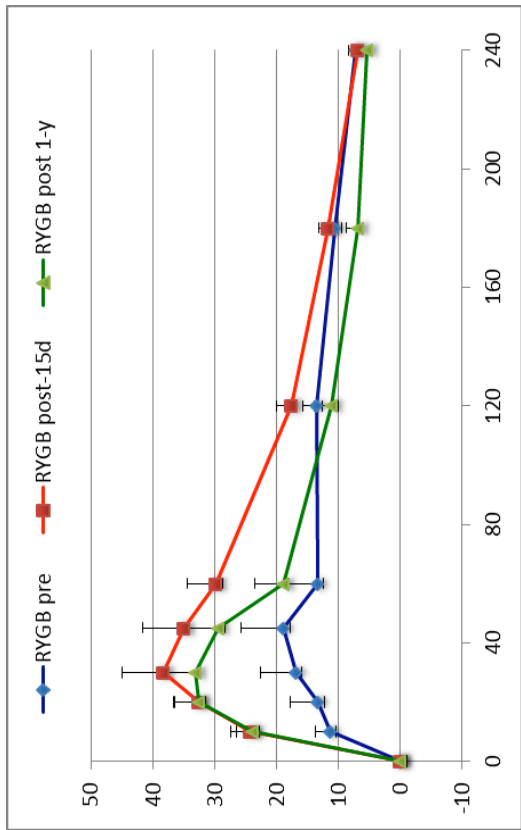


Figura 4 – Panel B

GLP - 1



Glucagon

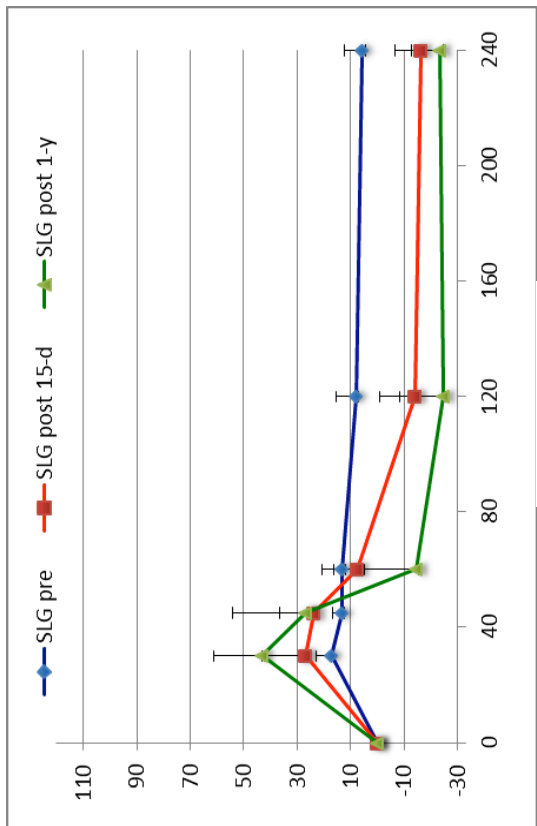
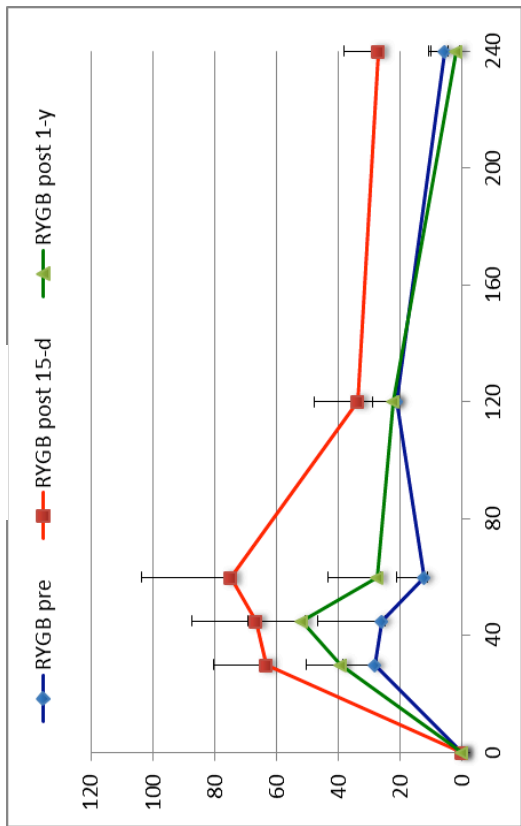


Figura 4 – Panel C

Table 1 – Clinical and metabolic characteristics of the study subjects before (Pre), 15 days (15 d), and 1 year after surgery.

	RYGB			SLG		
	Pre	15 d	1 year	Pre	15 d	1 year
Subjects	23	23	23	12	12	12
Age (years)	51 ± 9	-	-	57 ± 7	-	-
BMI (kg/m ²)* ^o	41.8 ± 5.4	40.4 ± 5.6	28.9 ± 3.7	46.4 ± 5.8	45.3 ± 5.9	35.8 ± 5.2
Diabetes Duration (years)	8.1 ± 5.1	-	-	8.8 ± 5.9	-	-
HbA _{1c} (%)*	8.2 ± 2.3	7.9 ± 2.1	6.3 ± 0.9	8.2 ± 1.5	7.8 ± 1.5	6.7 ± 0.9
Fasting glucose (mmol/L)*	8.6 ± 2.8	8.4 ± 3.3	6.1 ± 1.9	7.8 ± 1.4	7.4 ± 3.0	5.8 ± 0.9
Fasting insulin (pmol/L)*	72 [60]	90 [48]	42 [30]	102 [78]	108 [42]	66 [30]
Mean glucose (mmol/L)*	8.9 ± 2.3	9.1 ± 5.1	6.4 ± 1.9	8.9 ± 1.9	7.7 ± 3.1	6.5 ± 1.3
Mean insulin (pmol/L)* ^{o#}	660 [360]	690 [360]	570 [276]	1014 [984]	1026 [282]	762 [426]

*p<0.05 or less for the time factor; ^op<0.05 or less for the group factor (RYGB vs SLG), and [§]p<0.05 or less for the time x group interaction. #p<0.05 or less between Pre vs 15 d.

Table 2 – Metabolic parameters of the study subjects before (Pre), 15 days (Post-1) and 1 year (Post-2) after surgery.

	RYGB			SLG		
	Pre	15 d	1 year	Pre	15 d	1 year
Glucose Peak (min)*	79 ± 42	40 ± 15	34 ± 12	86 v 22	43 ± 12	51 ± 15
Matsuda Index (ml·min ⁻¹ ·m ⁻²)* ^{§o}	3.3 [2.0]	4.3 [3.5]	6.7 [5.9]	1.9 [1.1]	2.0 [1.0]	5.0 [2.3]
FI secretion (pmol·min ⁻¹ ·m ⁻²)* ^{o§#}	88 [48]	103 [31]	65 [31]	110 [102]	182 [100]	84 [31]
TI output (nmol·m ⁻²) * ^{o§#}	35 [25]	45 [20]	34 [23]	49 [42]	77 [34]	37 [245]
β-cell GS (pmol·min ⁻¹ ·m ⁻² ·mM ⁻¹)* ^o	24 [43]	26 [40]	40 [73]	34 [41]	38 [58]	52 [41]
Insulin Clearance (L·min ⁻¹ ·m ⁻²)* ^o	1.13 [0.65]	1.28 [0.35]	1.25 [0.60]	1.03 [0.72]	1.15 [0.53]	1.06 [0.59]

*p<0.05 or less for the time factor; ^op<0.05 or less for the group factor (RYGB vs SLG), and [§]p<0.05 or less for the time x group interaction. #p<0.05 or less between Pre vs Post-1.

Table 3 – GI hormones before (Pre), 15 days (15 d), and 1 year after surgery.

	RYGB			SLG		
	Pre	15 d	1 year	Pre	15 d	1 year
Fasting Amylin (pg/ml) * [§]	83.3 [42.0]	79.6 [39.5]	38.0 [18.4]	37.5 [38.3]	35.8 [27.5]	38.2 [11.2]
Fasting Ghrelin (pg/ml) * [§]	31.5 [14.3]	28.1 [25.0]	24.0 [15.7]	26.4 [4.8]	25.1 [3.2]	12.0 [11.9]
Fasting PP (pg/ml) * ^{°§#}	66.0 [44.2]	72.0 [68.5]	85.5 [80.0]	64.0 [141.0]	102.0 [161.5]	154.0 [241.5]
Fasting PYY (pg/ml) *	75.0 [60.5]	71.0 [59.2]	119.0 [72.0]	58.0 [43.0]	62.9 [38.0]	68.6 [82.3]
Fasting Glucagon (pg/ml) *	60.0 [22.0]	72.0 [29.0]	52.0 [45.7]	48.0 [34.7]	72.0 [51.0]	58.0 [36.8]
Fasting GLP-1 (pg/ml) *	26.1 [15.9]	30.7 [17.3]	18.6 [13.5]	21.9 [19.8]	34.1 [17.2]	23.3 [11.2]
Amylin AUC (ng·ml ⁻¹) [§]	20.3 [13.2]	21.1 [10.5]	9.5 [6.0]	9.1 [5.7]	10.3 [5.9]	12.5 [11.8]
Amylin Incr AUC (ng·ml ⁻¹) * [§]	1.5 [3.3]	2.9 [11.2]	0.5 [3.6]	0.1 [3.2]	0.8 [2.2]	1.4 [15.8]
Ghrelin AUC (ng·ml ⁻¹) *	7.1 [6.0]	6.8 [8.9]	4.7 [1.9]	6.2 [0.9]	6.1 [0.7]	2.9 [1.9]
Ghrelin Incr AUC (ng·ml ⁻¹) [§]	-0.3 [1.3]	0.2 [0.5]	-0.8 [1.8]	-0.1 [1.3]	-0.1 [1.1]	0.1 [1.0]
PP AUC (ng·ml ⁻¹) * ^{§#}	60.7 [65.8]	19.9 [27.6]	27.6 [41.5]	91.7 [5.5]	112.0 [6.3]	95.2 [21.5]
PP Incr AUC (ng·ml ⁻¹) ^{§#}	46.0 [57.2]	5.6 [12.4]	9.2 [25.6]	49.4 [63.1]	90.6 [19.3]	73.4 [155.6]
PYY AUC (ng·ml ⁻¹) * [°]	18.0 [6.7]	24.0 [10.6]	34.0 [33.3]	13.9 [3.4]	13.9 [3.5]	21.0 [18.8]
PYY Incr AUC (ng·ml ⁻¹) [°]	0.9 [11.8]	0.3 [14.5]	5.2 [17.2]	1.0 [5.4]	-1.0 [8.4]	4.3 [13.1]
Glucagon AUC (ng·ml ⁻¹) *	16.5 [8.9]	22.5 [15.1]	14.5 [6.1]	20.1 [8.9]	23.6 [18.8]	14.2 [5.8]
Glucagon Incr AUC (ng·ml ⁻¹)	3.1 [4.9]	7.1 [10.3]	2.7 [7.5]	5.2 [10.2]	6.3 [18.3]	0.8 [5.1]
GLP-1 AUC (ng·ml ⁻¹) *	9.3 [3.9]	12.3 [3.5]	7.6 [4.5]	7.3 [7.6]	11.1 [7.5]	8.3 [2.1]
GLP-1 Incr AUC (%) *	2.3 [2.0]	4.2 [2.3]	3.1 [3.1]	2.1 [3.3]	3.8 [3.4]	3.5 [3.4]

*p<0.05 or less for the time factor; °p<0.05 or less for the group factor (RYGB vs SLG), and §p<0.05 or less for the time x group interaction. #p<0.05 or less between Pre vs Post-1.

Table 4 – Correlation matrix for hormonal responses to surgery.*

Variable	Ghrelin	PYY	PP	Amilyn	Glucagon	Insulin
β-GS	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Insulin sensitivity	neg (p<0.03)	ns	ns	ns	ns	neg (p<0.004)
Insulin output	ns	ns	ns	ns	ns	pos (p<0.001)
HbA_{1c}	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Ghrelin	-	ns	ns	ns	ns	ns
PYY	-	-	ns	ns	pos (p<0.01)	ns
PP	-	-	-	ns	pos (p<0.03)	ns
Amilyn	-	-	-	-	ns	ns
Glucagon	-	-	-	-	-	pos (0.07)

* For each hormone, the area-under-curve of the meal response was regressed against each variable adjusting for its own fasting concentration and type of surgery.

Bibliografia

1 **Knell WB, McGee DL.** 1979 Diabetes and cardiovascular disease. The Framingham Study. JAMA; 241 (19):2035-2038

2 **Stamler J, Vaccaro O, Neaton JD, et al.** 1993 Diabetes, other risk factor, and 12-yr cardiovascular mortality for men screened in the Multiple risk Factor Intervention Trial. Diabetes Care; 16(2):434-444

3 **Isabelle Lemieux and Jean-Pierre Desres.** 2008 Do incretins play a role in the remission of Type 2 Diabetes after gastric by-pass surgery: what are the evidence?, Informa

4 **Harrison,** p 2202 II vol, Principles of Internal Medicine

5 **Zimmet P, Alberti KGMM, Shaw j.** 2001 Global and social implications of the diabetes epidemic. Ature; 414:782-787

6 **Colditz GA, Willet WC, Stampfer MJ, et al.** 1990 Weight as a risk factor for clinical diabetes in women. Am J Epidemiol; 132:501-513

7. **Colditz GA, Willet WC, Rotnitzky A, et al.** 1995 Weight gain as a risk factor for clinical diabetes mellitus in women. Ann Intern Med; 122(7):481-486

8 **West KM, Kalbfleisch JM.** . 1971 Influence of nutritional factors on prevalence of diabetes. Diabetes 1971; 20:99-108

9 **American Diabetes Association,** Medical management of type 2 diabetes, Clinical Education Series

10 **Haffner SM, Miettinen H:** 1997 Insulin resistance implications for type 2 diabetes mellitus and coronary heart disease; Am J Med 103:152-62

11 **Kahn CR.** 1994 Insulin action, diabetogenesis, and the cause of type II diabetes. Diabetes 43:1066-84.

12 **Polonsky KS, Sturis J, Bell GI.** 1996 Non insulin dependent diabetes mellitus- a genetic programmed failure of the beta cell to compensate for insulin resistance. N Engl J Med; 334:777-83

- 13 **Reaven GM.** 1997 Pathophysiology of insulin resistance in human disease. *Physiol Rev*; 75:473-86
- 14 **Taylor SI, Accili D, Imai Y.** 1994 Insulin resistance or insulin deficiency: which is the primary cause of NIDDM? *Diabetes* 43: 735-40.
- 15 **A R, Saltiel.** 2007 The molecular and physiological basis of insulin resistance: emerging implications for metabolic and cardiovascular disease, *The Journal of Clinical Investigation*, vol 106, num 2.
- 16 **Häring HU, Mehnert H.** 1993 Pathogenesis of type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: candidates for a signal transmitter defect causing insulin resistance of the skeletal muscle. *Diabetologia*, 36(3):176-82.
- 17 **McClain DA.** 1990 Insulin action in cells expressing truncated or kinase-defective insulin receptors. Dissection of multiple hormone-signaling pathways. *Diabetes Care*;13(3):302-16.
- 18 **Ebina Y, Araki E, Taira M, Shimada F, Mori M, Craik CS, Siddle K, Pierce SB, Roth RA, Rutter WJ.** 1987 Replacement of lysine residue 1030 in the putative ATP-binding region of the insulin receptor abolishes insulin- and antibody-stimulated glucose uptake and receptor kinase activity. *Proc Natl Acad Sci U S A.*;84(3):704-8.
- 19 **Thorens B, Wu YJ, Leahy JL, Weir GC.** 1992 The loss of GLUT2 expression by glucose-unresponsive beta cells of db/db mice is reversible and is induced by the diabetic environment. *J Clin Invest.*;90(1):77-85
- 20 **Waldhäusl W, Bratusch-Marrain P, Gasić S, Korn A, Nowotny P.** 1982 Insulin production rate, hepatic insulin retention and splanchnic carbohydrate metabolism after oral glucose ingestion in hyperinsulinaemic Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia*. 23(1):6-15.
- 21 **Cerasi E.** 1995 Insulin deficiency and insulin resistance in the pathogenesis of NIDDM: is a divorce possible? *Diabetologia.*;38(8):992-7.
- 22 **Ratheiser K, Reitgruber W, Komjati M, Bratusch-Marrain P, Vierhapper H, Waldhäusl WK.** 1990 Quantitative and qualitative differences in basal and glucose- and arginine-stimulated insulin secretion in healthy subjects and different stages of NIDDM. *Acta Diabetol Latina*;27(3):197-213.

- 23 **Westermarck P, Johnson KH, O'Brien TD, Betsholtz C.** 1992 Islet amyloid polypeptide--a novel controversy in diabetes research. *Diabetologia.* 35(4):297-303.
- 24 **Holst JJ, Orskov C.** 2004 The incretin approach for diabetes treatment: modulation of islet hormone release by GLP-1 agonism. *Diabetes.*;53 Suppl 3:S197-204.
- 25 **Orskov C, Holst JJ, Nielsen OV.** 1988 Effect of truncated glucagon-like peptide-1 [proglucagon-(78-107) amide] on endocrine secretion from pig pancreas, antrum, and nonantral stomach. *Endocrinology.*;123(4):2009-13.
- 26 **Farilla L, Bulotta A, Hirshberg B, Li Calzi S, Khoury N, Noushmehr H, Bertolotto C, Di Mario U, Harlan DM, Perfetti R.** 2003 Glucagon-like peptide 1 inhibits cell apoptosis and improves glucose responsiveness of freshly isolated human islets. *Endocrinology.*;144(12):5149-58.
- 27 **Adrian TE, Ferri GL, Bacarese-Hamilton AJ, Fuessl HS, Polak JM, Bloom SR.** 1985 Human distribution and release of a putative new gut hormone, peptide YY. *Gastroenterology*;89(5):1070-7.
- 28 **Kimmel JR, Pollock HG, Hazelwood RL.** 1968 Isolation and characterization of chicken insulin. *Endocrinology*;83(6):1323-30.
- 29 **Asakawa A, Inui A, Yuzuriha H, Ueno N, Katsuura G, Fujimiya M, Fujino MA, Niijima A, Meguid MM, Kasuga M.** 2003 Characterization of the effects of pancreatic polypeptide in the regulation of energy balance. *Gastroenterology*;124(5):1325-36.
- 30 **Dakin CL, Small CJ, Batterham RL, Neary NM, Cohen MA, Patterson M, Ghatei MA, Bloom SR.** 2004 Peripheral oxyntomodulin reduces food intake and body weight gain in rats. *Endocrinology*;145(6):2687-95.
- 31 **Bose M, Oliván B, Teixeira J, Pi-Sunyer FX, Laferrère B.** 2009 Do Incretins play a role in the remission of type 2 diabetes after gastric bypass surgery: What are the evidence? *Obes Surg*;19(2):217-29. doi: 10.1007/s11695-008-9696-3.
- 32 **DePaula AL, Macedo AL, Rassi N, Vencio S, Machado CA, Mota BR, Silva LQ, Halpern A, Schraibman V.** 2008 Laparoscopic treatment of metabolic syndrome in patients with type 2 diabetes mellitus. *Surg Endosc*;22(12):2670-8. doi: 10.1007/s00464-008-9808-0.

- 33 **Polyzogopoulou EV, Kalfarentzos F, Vagenakis AG, Alexandrides TK.** 2003 Restoration of euglycemia and normal acute insulin response to glucose in obese subjects with type 2 diabetes following bariatric surgery. *Diabetes*;52(5):1098-103.
- 34 **Greco AV, Mingrone G, Giancaterini A, Manco M, Morroni M, Cinti S, Granzotto M, Vettor R, Camastra S, Ferrannini E.** 2002 Insulin resistance in morbid obesity: reversal with intramyocellular fat depletion. *Diabetes*;51(1):144-51.
- 35 **Muscelli E, Mingrone G, Camastra S, Manco M, Pereira JA, Pareja JC, Ferrannini E.** 2005 Differential effect of weight loss on insulin resistance in surgically treated obese patients. *Am J Med*;118(1):51-7.
- 36 **Rubino F, Gagner M, Gentileschi P, Kini S, Fukuyama S, Feng J, Diamond E.** 2004 The early effect of the Roux-en-Y gastric bypass on hormones involved in body weight regulation and glucose metabolism. *Ann Surg*;240(2):236-42.
- 37 **le Roux CW, Aylwin SJ, Batterham RL, Borg CM, Coyle F, Prasad V, Shurey S, Ghatei MA, Patel AG, Bloom SR.** 2006 Gut hormone profiles following bariatric surgery favor an anorectic state, facilitate weight loss, and improve metabolic parameters. *Ann Surg*;243(1):108-14.
- 38 **Kühl C, Hornnes PJ, Jensen SL, Lauritsen KB.** 1980 Gastric inhibitory polypeptide and insulin: response to intraduodenal and intravenous glucose infusions in fetal and neonatal pigs. *Endocrinology*;107(5):1446-50.
- 39 **Sarson DL, Scopinaro N, Bloom SR.** 1981 Gut hormone changes after jejunoileal (JIB) or biliopancreatic (BPB) bypass surgery for morbid obesity. *Int J Obes*.;5(5):471-80.
- 40 **Rubino F, Marescaux J.** 2004 Effect of duodenal-jejunal exclusion in a non-obese animal model of type 2 diabetes: a new perspective for an old disease. *Ann Surg*;239(1):1-11.
- 41 **Ferrannini E** 1998 Insulin resistance versus insulin deficiency in non-insulin-dependent diabetes mellitus: problems and prospects. *Endocr Rev* 19:477-90
- 42 **Weyer C, Tataranni PA, Bogardus C, Pratley RE** 2001 Insulin resistance and insulin secretory dysfunction are independent predictors of worsening of glucose tolerance during each stage of type 2 diabetes development. *Diabetes Care* 24:89-94

43 **Polyzogopoulou EV, Kalfarentzos F, Vagenakis AG, Alexandrides TK** 2003 Restoration of euglycemia and normal acute insulin response to glucose in obese subjects with type 2 diabetes following bariatric surgery. *Diabetes* 52:1098-1103.

44 **Smith S, Cowan GS, Buffington CK** 1998 Significant changes in blood pressure, glucose, and lipids with gastric bypass surgery. *World J Surg* 22:987-92

45 **Mari A, Manco M, Guidone C, Nanni G, Castagneto M, Mingrone G, Ferrannini E** 2006 Restoration of normal glucose tolerance in severely obese patients after bilio-pancreatic diversion: role of insulin sensitivity and beta cell function. *Diabetologia* 49:2136-43

46 **Scopinaro N, Adami GF, Marinari GM, Giannetta E, Traverso E, Friedman D, Camerini G, Baschieri G, Simonelli A** 1998 Biliopancreatic diversion. *World J Surg* 22:936-46

47 **Nannipieri M, Mari A, Anselmino M, Baldi S, Barsotti E, Guarino D, Camastra S, Bellini R, Berta RD, Ferrannini E** 2011 The Role β -Cell Function and Insulin Sensitivity in the Remission of Type 2 Diabetes after Gastric Bypass Surgery. *J Clin Endocrinol Metab.* 96(9):E1372–E1379

48 **Buchwald H, Avidor Y, Braunwald E, Jensen MD, Pories W, Fahrback K, Schoelles K** 2004 Bariatric surgery: a systematic review and meta-analysis. *JAMA* 292:1724-37

49 **Schauer PR, Kashyap SR, Wolski K, Brethauer SA, Kirwan JP, Pothier CE, Thomas S, Abood B, Nissen SE, Bhatt DL** 2012 Bariatric surgery versus intensive medical therapy in obese patients with diabetes. *N Engl J Med.* 366: 1567-76

50 **Romero F, Nicoau J, Flores L, Casamitjama R, Ibarzabal A, Lacy A, Vidal J** 2012 Comparable early changes in gastrointestinal hormones after sleeve gastrectomy and Roux-En-Y gastric bypass surgery for morbid obese type 2 diabetic subjects. *Surg Endosc* 26: 2231-2239

51 **Thaler JP, Cummings DE** 2009 Minireview: Hormonal and Metabolic Mechanisms of Diabetes Remission after Gastrointestinal Surgery. *Endocrinology* 150:2518–2525

- 52 **Hickey MS, Pories WJ, MacDonald KG, Cory KA, Dohm GL, Swanson MS, Israel RG, Barakat HA, Considine RV, Caro JF, Houmard JA** 1998 A new paradigm for type 2 diabetes mellitus: could it be a disease of the foregut? *Ann Surg* 227:637-43
- 53 **Gumbs AA, Modlin IM, Ballantyne GH** 2005 Changes in insulin resistance following bariatric surgery: role of caloric restriction and weight loss. *Obes Surg* 15: 462-73
- 54 **Fery F, Melot C, Bosson D, Balasse EO** 1990 Effect of short term fasting on glucose tolerance and insulin secretion: influence of the initial glucose level. *Diabete Metab* 16:77-85.
- 55 **Verrillo A, de Teresa A, Martino C, di Chiara G, Verrillo L** 1988 Somatostatin response to glucose before and after prolonged fasting in lean and obese nondiabetic subjects. *Regul Pept* 21:185-95.
- 56 **Greenfield M, Kolterman O, Olefsky JM, Reaven GM** 1978 The effect of ten days of fasting on various aspects of carbohydrate metabolism in obese diabetic subjects with significant fasting hyperglycemia. *Metabolism* 27:1839-52.
- 57 **Henry RR, Wiest-Kent TA, Scheaffer L, Kolterman OG, Olefsky JM** 1986 Metabolic consequences of very-low-calorie diet therapy in obese noninsulin- dependent diabetic and nondiabetic subjects. *Diabetes* 35:155-64.
- 58 **Henry RR, Gumbiner B** 1991 Benefits and limitations of very-low-calorie diet therapy in obese NIDDM. *Diabetes Care* 14:802-23.
- 59 **Rubino F, Forgione A, Cummings DE, Vix M, Gnuli D, Mingrone G, Castagneto M, Marescaux J** 2006 The mechanism of diabetes control after gastrointestinal bypass surgery reveals a role of the proximal small intestine in the pathophysiology of type 2 diabetes. *Ann Surg* 244:741-9.
- 60 **le Roux CW, Aylwin SJ, Batterham RL, Borg CM, Coyle F, Prasad V, Shurey S, Ghatgei MA, Patel AG, Bloom SR** 2006 Gut hormone profiles following bariatric surgery favor an anorectic state, facilitate weight loss, and improve metabolic parameters. *Ann Surg* 243:108-14.

- 61 **Morínigo R, Lacy AM, Casamitjana R, Delgado S, Gomis R, Vidal J** 2006 GLP-1 and changes in glucose tolerance following gastric bypass surgery in morbidly obese subjects. *Obes Surg* 16:1594–601.
- 62 **Rubino F, Gagner M** 2002 Potential of surgery for curing type 2 diabetes mellitus. *Ann Surg* 236: 554-9
- 63 **Pories WP, Swanson MS, MacDonald KG, Long SB, Morris PG, Brown BM, Barakat HA, deRamon RA, Israel G, Dolezal JM, Dohm L** 1995 Who Would Have Thought It? An Operation Proves to Be the Most Effective Therapy for Adult-Onset. Diabetes Mellitus. *Ann Surg* 222: 339-352
- 64 **Campos GM, Rabl C, Peeva S, Ciovica R, Rao M, Schwarz JM, Havel P, Schambelan M, Mulligan K** 2010 Improvement in peripheral glucose uptake after gastric bypass surgery is observed only after substantial weight loss has occurred and correlates with the magnitude of weight lost. *J Gastrointest Surg.* 14: 15-23
- 65 **Laferrère B, Teixeira J, McGinty J, Tran H, Egger JR, Colarusso A, Kovack B, Bawa B, Koshy N, Lee H, Yapp K, Oliván B** 2008 Effect of weight loss by gastric bypass surgery versus hypocaloric diet on glucose and incretin levels in patients with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 93: 2479-85
- 66 **Oliván B, Teixeira J, Bose M, Bawa B, Chang T, Summe H, Lee H, Laferrère B** 2009 Effect of weight loss by diet or gastric bypass surgery on peptide YY3-36 levels. *Ann Surg.* 249: 948-53
- 67 **Isbell JM, Tamboli RA, Hansen EN, Saliba J, Dunn JP, Phillips SE, Marks-Shulman PA, Abumrad NN** 2010 The importance of caloric restriction in the early improvements in insulin sensitivity after Roux-en-Y gastric bypass surgery. *Diabetes Care* 33: 1438-42
- 68 **Rubino F, Gagner M, Gentileschi P, Kini S, Fukuyama S, Feng J, Diamond E** 2004 The early effect of the Roux-en-Y gastric bypass on hormones involved in body weight regulation glucose metabolism. *Ann Surg* 240:236-42
- 69 **Bose M, Oliván B, Teixeira J, Pi-Sunyer FX, Laferrère B** 2009 Do Incretins play a role in the

remission of type 2 diabetes after gastric bypass surgery: What are the evidence?. *Obes Surg.* 19: 217-29

70 **Hansen EN, Tamboli RA, Isbell JM, Saliba J, Dunn JP, Marks-Shulman PA, Abumrad NN** 2011 Role of the foregut in the early improvement in glucose tolerance and insulin sensitivity following Roux-en-Y gastric bypass surgery. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 300: G795-802

71 **Kashyap SR, Daud S, Kelly KR, Gastaldelli A, Win H, Brethauer S, Kirwan JP, Schauer PR** 2010 Acute effects of gastric bypass versus gastric restrictive surgery on beta-cell function and insulinotropic hormones in severely obese patients with type 2 diabetes. *Int J Obes* 34: 462-71

72 **Laferrère B, Heshka S, Wang K, Khan Y, McGinty J, Teixeira J, Hart AB, Olivan B** 2007 Incretin levels and effect are markedly enhanced 1 month after Roux-en-Y gastric bypass surgery in obese patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 30: 1709-16

73 **le Roux CW, Welbourn R, Werling M, Osborne A, Kokkinos A, Laurenus A, Lönroth H, Fändriks L, Ghatei MA, Bloom SR, Olbers T** 2007 Gut hormones as mediators of appetite and weight loss after Roux-en-Y gastric bypass. *Ann Surg.* 246: 780-5.

74 **Bose M, Teixeira J, Olivan B, Bawa B, Arias S, Machineni S, Pi-Sunyer FX, Scherer PE, Laferrère B** 2010 Weight loss and incretin responsiveness improve glucose control independently after gastric bypass surgery. *J Diabetes* 2: 47-55

75 **Morínigo R, Vidal J, Lacy AM, Delgado S, Casamitjana R, Gomis R** 2008 Circulating peptide YY, weight loss, and glucose homeostasis after gastric bypass surgery in morbidly obese subjects. *Ann Surg.* 247: 270-5

76 **Vidal J, Nicolau J, Romero F, Casamitjana R, Momblan D, Conget I, Morínigo R, Lacy AM** 2009 Long-term effects of Roux-en-Y gastric bypass surgery on plasma glucagon-like peptide-1 and islet function in morbidly obese subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* 94: 884-91

77 **Lee WJ, Chen CY, Chong K, Lee YC, Chen SC, Lee SD** 2011 Changes in postprandial gut hormones after metabolic surgery: a comparison of gastric bypass and sleeve gastrectomy. *Surg*

Obes Relat Dis. 7: 683-90

78 **Chen CY, Fujimiya M, Laviano A, Chang FY, Lin HC, Lee SD** 2010 Modulation of ingestive behaviour and gastrointestinal motility by ghrelin in diabetic animals and humans. *J Chim Med Assoc* 73: 225-9

79 **American Diabetes Association** 2002 Tests of glycemia in diabetes (position Statement). *Diabetes Care* 25(S1):97-99

80 **Rosenthal RJ** for the International Sleeve Gastrectomy Expert Panel. 2012 International Sleeve Gastrectomy Expert panel consensus statement: best practice guidelines based on experience of > 12.000 cases. *SOARD*, 8: 8-19

81 **Mari A, Schmitz O, Gastaldelli A, Oestergaard T, Nyholm B, Ferrannini E** 2002 Meal and oral glucose tests for assessment of beta -cell function: modeling analysis in normal subjects. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 283:E1159-66

82 **Mari A, Pacini G, Murphy E, Ludvik B, Nolan JJ** 2001 A model-based method for assessing insulin sensitivity from the oral glucose tolerance test. *Diabetes Care* 24:539-48

83 **Van Cauter E, Mestrez F, Sturis J, Polonsky KS** 1992 Estimation of insulin secretion rates from C-peptide levels. Comparison of unidividual and standard kinetic parameters for C-peptide clearance. *Diabetes* 41:368-377

84 **Mari A** 2002 Mathematical modeling in glucose metabolism and insulin secretion. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 5:495-501

85 **Vidal J, Ibarzabal A, Romero F, Delgado S, Momblàn D, Flores L, Lacy A** 2008. Type 2 diabetes mellitus and the metabolic syndrome following sleeve gastrectomy in severely obese subjects. *Obes Surg* 18: 1077-1082

86 **Abbatini F, Rizzello M, Casella G, Alessandri G, Capoccia D, Leonetti F, Basso N** 2010 Long-term effects of laparoscopic sleeve gastrectomy, gastric bypass and adjustable gastric banding on type 2 diabetes. *Surg Endosc* 24: 1005-1010

- 87 **Ramon JM, Salvans S, Crous X, Puig S, Goday A, Benaiges D, Trillo L, Pera M, Grande L** 2012 Effect of Roux-en-Y gastric bypass vs sleeve gastrectomy on glucose and gut hormones: a prospective randomised trial. *J Gastrointest Surg* 16: 1116-1122
- 88 **Rizzelli M, Abbatini F, Casella G, Alessandri G, Fantini A, Leonetti F, Basso N** 2010 Early postoperative insulin-resistance changes after sleeve gastrectomy. *Obes Surg* 20: 50-55
- 89 **Garrido-Sanchez L, Mutti M, Rivas-Becerra J, Ocana-Wilhelmi L, Cohen RV, Garcia-Fuentes E, Tinahones FJ** 2012 Bypass of duodenum improves insulin resistance much more rapidly than sleeve gastrectomy. *Surg Obes Relat Dis* 8: 145-50
- 90 **Lee WJ, Ser KH, Chong K, Lee YC, Chen SC, Tsou JJ, Chen JC, Chen CM** 2010 Laparoscopic sleeve gastrectomy for diabetes treatment in nonmorbidly obese patients: efficacy and change of insulin secretion. *Surgery* 147: 664-9
- 91 **Vestergaard ET, Gormsen LC, Jessen N, Lund S, Hansen TK, Moller N, Jorgensen JOL** 2008 Ghrelin Infusion in Humans Induces Acute Insulin Resistance and Lipolysis Independent of Growth Hormone Signaling. *Diabetes* 57: 3205-3210
- 92 **Muscelli E, Mingrone G, Camastra S, Manco M, Pereira JA, Pareja JC, Ferrannini E** 2005 Differential effect of weight loss on insulin resistance in surgically treated obese patients. *Am J Med* 118:51-7
- 93 **Letiexhe MR, Desaive C, Lefebvre PJ, Scheen AJ** 2004 Intact cross-talk between insulin secretion and insulin action after postgastroplasty recovery of ideal body weight in severely obese patients. *Int J obes Relat Metab Disord* 28:821-823
- 94 **Basso N, Capoccia D, Rizzello M, Abbatini F, Mariani P, Maglio C, Coccia F, Borgonuovo G, De Luca ML, Asprino R, Alessandri G, Casella G, Leonetti F** 2011 First-phase insulin secretion, insulin sensitivity, ghrelin, GLP-1, and PYY changes 72 h after sleeve gastrectomy in obese diabetic patients: the gastric hypothesis. *Surg Endosc*. 25: 3540-50
- 95 **Muscelli E, Mari A, Casolaro A, Camastra S, Seghieri G, Gastaldelli A, Holst JJ, Ferrannini E** 2008 Separate impact of obesity and glucose tolerance on the incretin effect in

normal subjects and type 2 diabetic patients. *Diabetes* 57:1340-8

96 **Williams KV, Mullen ML, Kelley DE, Wing RR** 1998 The effect of short periods of caloric restriction on weight loss and glycemic control in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 21:2-8

97 **Ferrannini E** 2010 The stunned beta cell: a brief history. *Cell Metab* 11:349-52

98 **Boey D, Heilbronn L, Sainsbury A, Laybutt R, Kriketos A, Herzog H, Campbell LV**. 2006 Low serum PYY is linked to insulin resistance in first-degree relatives of subjects with type 2 diabetes. *Neuropeptides* 40: 317-24

