

**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI**  
**“FEDERICO II”**

Dottorato di Ricerca in  
“Fisiopatologia Clinica e Medicina Sperimentale”

-XXVII ciclo-

Coordinatore: Prof. Gianni Marone



**REMISSIONE DEL DIABETE MELLITO DI TIPO 2**  
**DOPO CHIRURGIA BARIATRICA: MECCANISMI**  
**FISIOPATOLOGICI E SIGNIFICATO CLINICO**

**RELATRICE**

*Ch.ma Prof.ssa*

*Angela Albarosa Rivellese*

**CANDIDATA**

*Dott.ssa*

*Gabriella Nosso*

<b>RIASSUNTO</b>	<b>pag. 5</b>
<b>1.Introduzione</b>	<b>pag. 12</b>
<b>1.1. Diabete mellito di tipo 2 ed obesità</b>	<b>pag. 14</b>
<i>1.1.a. Dati epidemiologici</i>	<i>pag. 15</i>
<i>1.1.b. Meccanismi patogenetici</i>	<i>pag. 16</i>
<b>1.2. Sistema incretinico ed omeostasi glicemica</b>	<b>pag. 20</b>
<i>1.2.a. Ormoni gastro-entero-insulari:</i>	<i>pag. 21</i>
<i>GIP, GLP-1 e grelina</i>	
<i>1.2.b. Metabolismo glucidico</i>	<i>pag. 26</i>
<i>1.2.c. Metabolismo lipidico</i>	<i>pag. 28</i>
<i>1.2.d. Alterazioni dell'asse entero-insulare</i>	<i>pag. 30</i>
<i>nel diabete mellito di tipo 2 e nell'obesità</i>	
<i>1.2.e. Nuove prospettive terapeutiche basate</i>	<i>pag. 32</i>
<i>sulle incretine nel trattamento del diabete</i>	
<i>mellito di tipo 2 associato ad obesità</i>	
<b>1.3. Terapia chirurgica del diabete mellito di</b>	<b>pag. 33</b>
<b>tipo 2 associato ad obesità</b>	
<i>1.3.a. Tecniche di chirurgia bariatrica</i>	<i>pag. 34</i>
<i>1.3.b. Decremento ponderale</i>	<i>pag. 38</i>
<i>1.3.c. Ruolo della chirurgia bariatrica</i>	<i>pag. 39</i>
<i>nell'algoritmo terapeutico del paziente</i>	
<i>obeso con diabete mellito di tipo 2</i>	

<i>1.3.d. Remissione del diabete mellito di tipo 2 dopo chirurgia bariatrica: definizione, meccanismi fisiopatologici ed implicazioni cliniche</i>	<i>pag. 41</i>
<b>2. Scopi</b>	<b>pag. 50</b>
<b>3. Metodologie</b>	<b>pag. 52</b>
<b>4. Studi</b>	<b>pag. 54</b>
<i>4.1. Valutazione degli ormoni gastrointestinali e dell'omeostasi glicemica un anno dopo chirurgia bariatrica in pazienti obesi con diabete mellito di tipo 2: confronto tra Roux-en-Y bypass gastrico e Sleeve gastrectomy</i>	
<i>4.2. Effetti a lungo termine della chirurgia bariatrica sulla lipemia postprandiale e sugli ormoni gastrointestinali in pazienti obesi con diabete mellito di tipo 2</i>	
<i>4.3 Efficacia clinica della chirurgia bariatrica vs terapia medica con liraglutide in pazienti con diabete mellito di tipo 2 e obesità severa: valutazione retrospettiva a 12 mesi</i>	

*4.4 La remissione del diabete mellito di tipo 2  
dopo chirurgia bariatrica si associa ad elevata  
variabilità glicemica*

<b>5. Bibliografia</b>	<b>pag. 104</b>
<b>6. Appendice</b>	<b>pag. 119</b>

## **RIASSUNTO**

La chirurgia bariatrica rappresenta una valida opzione terapeutica nel trattamento dell'obesità, essendo in grado di indurre una significativa e stabile perdita di peso con miglioramento o scomparsa delle co-morbidità associate all'obesità. In particolare, numerose evidenze scientifiche documentano un drammatico miglioramento dell'omeostasi glicemica dopo interventi di chirurgia bariatrica, sebbene sia difficile stabilire se si tratti di risoluzione o remissione del diabete. Inoltre restano ancora da chiarire i precisi meccanismi fisiopatologici alla base del miglioramento del diabete. Durante il triennio del Corso di Dottorato in "Fisiopatologia Clinica e Medicina Sperimentale" la mia attività di ricerca ha riguardato gli effetti di differenti interventi di chirurgia bariatrica sui meccanismi fisiopatologici alla base del miglioramento dell'omeostasi glico-lipidica, con particolare riguardo allo studio degli ormoni entero-insulari e dell'andamento glicemico in condizioni di vita reale in soggetti in risoluzione clinica del diabete dopo chirurgia bariatrica allo scopo di definire criteri più appropriati di remissione. A tal fine sono stati condotti quattro studi:

**Studio 1. Obiettivo.** Valutare la sensibilità insulinica, la secrezione insulinica e la risposta postprandiale degli ormoni entero-insulari in pazienti con diabete mellito di tipo 2 (DM2) ed obesità sottoposti a bypass gastrico (BPG) o gastrectomia verticale (SG). **Materiali e**

**Metodi.** In 33 pazienti obesi con DM2 [14 sottoposti a BPG; 6M, età: 49±7 anni, BMI: 42±6 Kg/m<sup>2</sup> ed HbA<sub>1C</sub>: 8.1±2.2 %, (M±DS) e 19 sottoposti a SG; 8M, età: 44±10 anni, BMI: 46±9 Kg/m<sup>2</sup> ed HbA<sub>1C</sub>: 7.6±2 %] sono state valutate sensibilità e secrezione insulinica e la risposta degli ormoni gastrointestinali (GIP, GLP-1 e grelina) ad un pasto misto liquido (305 kcal) prima ed 1 anno dopo chirurgia bariatrica. **Risultati.** Ad 1 anno dall'intervento chirurgico si è osservato un decremento ponderale di circa 40 kg dopo entrambe le procedure. La remissione del DM2, valutata come glicemia a digiuno < 126 mg/dl ed HbA<sub>1C</sub> < 6.5%, si verificava nel 86% dei pazienti dopo BPG e nel 74% dei soggetti dopo SG. La sensibilità insulinica, espressa come indice OGIS (*Oral Glucose Insulin Sensitivity*), aumentava significativamente a 12 mesi, senza differenze tra le due procedure chirurgiche. La secrezione insulinica, sia precoce ed espressa come IGI<sub>30</sub> (*Indice insulinogenico*), che totale (IGI<sub>180</sub>) aumentava significativamente in entrambi i gruppi (p<0.05). Il picco di GLP-1 dopo pasto misto, pressoché assente nel preoperatorio, raddoppiava ad 1 anno dopo SG (p<0.05) mentre incrementava di 7 volte 1 anno dopo BPG (p<0.001); la secrezione del GIP (valutata come AUC) e il picco a 60 minuti si riducevano ad 1 anno con una soppressione di circa il 50% rispetto ai valori pre-intervento dopo entrambe le procedure (p<0.05). La secrezione di grelina si riduceva significativamente solo dopo SG (p<0.05), mentre rimaneva invariata dopo BPG.

**Conclusioni.** Lo studio mostra che secrezione e sensibilità insulinica migliorano della stessa entità con le due procedure chirurgiche (BPG e SG) mentre il profilo degli ormoni gastrointestinali presenta significative differenze. La perdita di peso, piuttosto che le modifiche entero-ormonali, sembra costituire il determinante chiave del miglioramento dello stato metabolico un anno dopo chirurgia bariatrica.

**Studio 2. Obiettivo.** Valutare gli effetti a lungo termine della chirurgia bariatrica sul metabolismo lipidico a digiuno e postprandiale in soggetti con DM2 ed obesità e le possibili relazioni con le modifiche degli entero-ormoni. **Materiali e Metodi.** Sono stati studiati 19 pazienti con DM2 ed obesità in assenza di terapia ipolipidemizzante (età:46±8 anni, BMI:42±6 kg/m<sup>2</sup>) di cui 10 sottoposti a BPG e 15 sottoposti ad SG. Prima e 24 mesi dopo l'intervento sono stati valutati i parametri clinici e la risposta lipidica ed entero-ormonale ad un pasto misto liquido (305 kcal).

**Risultati.** I due gruppi avevano simili caratteristiche pre-operatorie. Due anni dopo l'intervento si osservava una riduzione significativa del peso corporeo, della glicemia e dell'insulinemia a digiuno rispetto al pre-operatorio ( $p<0.05$  per tutti) e senza differenze tra le due procedure. Durante il *follow-up* post-operatorio i trigliceridi a digiuno si riducevano significativamente ( $p<0.05$ ) e il colesterolo HDL aumentava similmente in entrambi i gruppi. Di contro, il colesterolo LDL a digiuno si riduceva solo dopo BPG ( $p<0.05$ ). La risposta dei trigliceridi plasmatici al pasto

misto, si riduceva marcatamente dopo entrambe le procedure ( $p < 0.001$ ) mentre i livelli postprandiali del colesterolo LDL si riducevano significativamente solo dopo BPG ( $p < 0.05$ ). La risposta del GLP-1 al pasto misto era significativamente aumentata dopo entrambe le procedure rispetto al pre-operatorio ma in misura maggiore dopo BPG ( $p < 0.001$ ). La riduzione della trigliceridemia a digiuno osservata 2 anni dopo chirurgia bariatrica si associava positivamente con la perdita di peso ( $R = 0.470$ ,  $p = 0.049$ ) e con la riduzione dell' HOMA-IR ( $R = 0.679$ ,  $p = 0.001$ ), mentre il colesterolo LDL post-intervento correlava con la risposta del GLP-1 al pasto misto solo dopo BPG ( $R = -0.733$ ,  $p = 0.007$ ).

**Conclusioni:** Lo studio dimostra che entrambe le procedure bariatriche inducono un marcato miglioramento della trigliceridemia, sia a digiuno che post-prandiale, ed un significativo incremento dei livelli di HDL-colesterolo. Il colesterolo LDL si riduce solo dopo BPG attraverso un meccanismo probabilmente mediato dal recupero del GLP-1.

**Studio 3. Obiettivo.** Valutare l'efficacia clinica della chirurgia bariatrica vs terapia medica con liraglutide sul decremento ponderale, controllo glicemico e profilo di rischio cardiovascolare in pazienti con DM2 ed obesità severa. **Materiali e Metodi.** Sono stati studiati retrospettivamente 31 pazienti con DM2 ed obesità severa sottoposti ad intervento di chirurgia bariatrica e 31 soggetti con DM2 e comparabile peso corporeo in terapia con liraglutide in aggiunta alla terapia medica.

In tutti i partecipanti sono stati valutati prima e 12 mesi dopo il trattamento i principali parametri antropometrici, controllo glicemico, trattamento ipoglicemizzante e delle altre comorbidità, sicurezza ed effetti collaterali. **Risultati.** L'età media era rispettivamente di  $47 \pm 8$  e  $56 \pm 9$  anni nel gruppo bariatrico e nei soggetti in terapia medica ( $p < 0.001$ ); il BMI prima del trattamento era  $44 \pm 7$  e  $40 \pm 4$   $\text{kg/m}^2$  nel gruppo chirurgico e nel gruppo in terapia medica, rispettivamente ( $p = 0.03$ ). Un anno dopo il trattamento, la perdita di peso media era di  $38 \pm 15$  kg nel gruppo bariatrico e di  $5 \pm 8$  kg nel gruppo in terapia con liraglutide ( $p < 0.001$ ). Il controllo glicemico migliorava in entrambi i gruppi ma con un migliore risultato dopo chirurgia bariatrica. L'UKPDS risk score si riduceva in entrambi i gruppi, sebbene in misura maggiore nel gruppo chirurgico ( $p < 0.001$ ). In aggiunta, circa il 60 % dei pazienti in terapia con liraglutide raggiungeva il target di  $\text{HbA}_{1c} < 7\%$  perdendo almeno il 5 % del peso corporeo. **Conclusioni.** In pazienti con DM2 ed obesità severa, la chirurgia bariatrica induce una riduzione ponderale ed un miglioramento metabolico complessivo significativamente maggiori rispetto alla terapia medica. Da notare tuttavia che l'aggiunta di liraglutide alla terapia medica è in grado di indurre una perdita di peso clinicamente rilevante e di ottimizzare il controllo glicemico in più della metà dei pazienti. Questo dato sottolinea la necessità di implementare interventi intensivi sullo stile di vita in associazione alla terapia con

incretino-mimetici come possibile strategia terapeutica in pazienti con DM2 ed obesità severa che hanno accesso limitato, o rifiutano, l'approccio chirurgico.

**Studio 4. Obiettivo.** La remissione del diabete (RD) dopo chirurgia bariatrica viene definita sulla base del raggiungimento di specifici targets di glicemia a digiuno ed HbA<sub>1c</sub> in assenza di terapia ipoglicemizzante. Pochi studi hanno valutato l'andamento giornaliero della glicemia in condizioni di vita reale. **Scopo.** Valutare il profilo glicemico mediante monitoraggio in continuo (CGM) in pazienti obesi in RD. **Materiali e metodi.** I gruppi di studio includono 19 pazienti obesi (10M, età: 48±8 anni, IMC: 32 ± 6 kg/m<sup>2</sup>) in RD da almeno 2 anni dopo chirurgia bariatrica di cui 9 sottoposti a BPG e 10 sottoposti a SG, ed un gruppo di controllo di 9 soggetti non operati con simili caratteristiche antropometriche (M: 4; età: 49 ± 10 anni, IMC: 35 ± 8 kg/m<sup>2</sup>). Tutti i partecipanti sono stati sottoposti a 2-h OGTT e CGM (IG; Dexcom G4 PLATINUM). Al momento dello studio, i pazienti bariatrici avevano ottenuto una riduzione ponderale di ~28% (IMC<sub>pre</sub>: 42±8, IMC<sub>post</sub>: 32±6 Kg/m<sup>2</sup>, p<0.0001) e dell'HbA<sub>1c</sub> di 1.9% (da 7.6±2 a 5.7±0.6 %, p=0.0001). **Risultati.** All'OGTT, nessun soggetto mostrava una glicemia > 200 mg/dl a 120'. Al CGM, la glicemia media era simile in entrambi i gruppi (117 e 106 mg/dl, rispettivamente nel gruppo bariatrico e di controllo, p=0.07); tuttavia entrambi i gruppi chirurgici avevano valori di

IG massimo significativamente maggiori rispetto al gruppo di controllo ( $p < 0.05$ ); i soggetti del gruppo BPG presentavano un picco medio statisticamente più elevato rispetto ai pazienti SG e trascorrevano un maggior tempo

in ipoglicemia. La variabilità glicemica era significativamente più alta nei bariatrici vs controlli, con valori significativamente maggiori in BPG rispetto a SG ( $p < 0.05$ ). Nessuna differenza era riscontrata in termini di età, durata del DM2 e BMI post-operatorio tra i soggetti con e senza evidenza di ipoglicemia al CGM. I soggetti con ipoglicemia mostravano un più cospicuo decremento ponderale, un maggiore miglioramento della sensibilità insulinica, un più elevato picco post-operatorio di GLP-1 e livelli al picco di GIP più bassi dopo l'intervento ( $p < 0.05$ , per tutti).

**Conclusioni.** I pazienti in RD dopo chirurgia bariatrica presentano, a fronte di normali valori di HbA<sub>1c</sub>, glicemia a digiuno e glicemia<sub>OGTT-2h</sub>, un'elevata variabilità glicemica con picchi iperglicemici e un'alta percentuale di ipoglicemie, soprattutto dopo BPG. Studi a più lungo termine chiariranno gli effetti cardiovascolari della elevata variabilità glicemica.

## **1. Introduzione**

Il rapido incremento dell'obesità osservato negli ultimi decenni, ha raggiunto proporzioni notevoli tanto da rappresentare una vera e propria emergenza sanitaria. Tale fenomeno assume dimensioni ancora più allarmanti se si considera la scarsa efficacia della terapia dietetico-comportamentale e farmacologica nel mantenere nel tempo uno stabile decremento ponderale. La maggior parte dei pazienti con diabete mellito di tipo 2 (DM2) è in sovrappeso o obesa; le più recenti Linee Guida diabetologiche nazionali ed internazionali includono pertanto la chirurgia bariatrica tra le opzioni terapeutiche del paziente con DM2 ed obesità grave. La chirurgia bariatrica migliora l'omeostasi glicemica attraverso molteplici meccanismi, primo tra tutti la perdita di peso, favorita dall'importante riduzione dell'introito calorico. È noto, infatti, che la riduzione del grasso viscerale, migliora il quadro metabolico riducendo l'insulino-resistenza e aumentando la secrezione insulinica. Si ipotizza altresì che anche le modifiche del pattern entero-ormonale dopo chirurgia bariatrica giochino un ruolo determinante nel diminuire la glicemia postprandiale e nell'aumentare la secrezione insulinica. Pertanto, scopo del primo e del secondo studio sono stati valutare gli effetti a medio-lungo termine di due tra le procedure bariatriche più diffuse, il bypass gastrico (BPG) e la sleeve gastrectomy (SG), sul metabolismo gluco-

lipidico a digiuno e postprandiale e il relativo ruolo svolto dalle modifiche degli ormoni gastrointestinali.

Recenti studi hanno riportato la superiorità della chirurgia bariatrica rispetto al trattamento medico sul profilo glico-metabolico in pazienti con DM2 ed obesità; tuttavia, non erano stati condotti in precedenza studi di confronto diretto tra il trattamento chirurgico e la terapia con gli analoghi del GLP-1, una nuova classe di farmaci ipoglicemizzanti in grado di influenzare favorevolmente il peso corporeo. Pertanto scopo del terzo studio è stato quello di confrontare l'efficacia a 12 mesi della terapia medica con liraglutide e della chirurgia bariatrica sul decremento ponderale, compenso glicemico e profilo di rischio cardiovascolare in pazienti con DM2 ed obesità.

La remissione del DM2 dopo chirurgia bariatrica è riportata in circa il 75% dei casi e viene attualmente definita sulla base del raggiungimento di specifici targets di glicemia a digiuno ed HbA<sub>1c</sub> in assenza di terapia ipoglicemizzante. Pochi studi hanno valutato l'andamento glicemico in condizioni di vita reale. L'obiettivo del quarto studio è stato dunque quello di valutare il profilo glicemico mediante monitoraggio in continuo in pazienti obesi in remissione del DM2 al fine di definire criteri più appropriati di remissione, valutare la variabilità glicemica e l'incidenza di ipoglicemie.

## **1.1. Diabete mellito di tipo 2 ed obesità**

Il diabete mellito e l'obesità sono tra le malattie metaboliche quelle di maggiore interesse per la Sanità pubblica, in rapporto alla frequenza, al carico di malattia, alle complicanze e alla disabilità (1). Con il termine “*diabesity*” Zimmet et al (2) hanno efficacemente espresso la stretta relazione esistente tra i due disordini. La presenza di obesità contribuisce ad incrementare in modo drammatico la morbilità, l'inabilità e la mortalità dei pazienti diabetici (3,4). Essa induce infatti insulino-resistenza e innesca alterazioni in una pleora di molecole che predispongono ad uno stato cronico di infiammazione e a molteplici patologie metaboliche ed extra-metaboliche. Sia il DM2 che l'obesità sono infatti responsabili di un aumentata morbilità e mortalità sia per cause cardiovascolari che per patologie degenerative e neoplastiche ed è stato documentato che, allorquando le due condizioni sono entrambe presenti, il rischio risulta notevolmente incrementato (5). Visto il nesso epidemiologico e fisiopatologico si potrebbe affermare che l'obesità e il DM2 siano, se messi in una scala temporale o di successione logica, aspetti diversi di una stessa malattia. I meccanismi che collegano le due condizioni o che determinano la progressione dall'obesità al diabete rimangono ancora poco chiari ma la resistenza all'insulina è senza dubbio una stigmata fisiopatologica per larga parte comune sia all'obesità che al DM2.

### ***1.1.a. Dati epidemiologici***

La diffusione epidemica dell'obesità e del DM2 rappresenta una formidabile sfida per i sistemi sanitari dei Paesi occidentali. La prevalenza del DM2 è in continuo aumento in tutto il mondo, parallelamente all'aumento dell'obesità; nel 2011 è stato calcolato che le persone affette da DM2 erano circa 300 milioni, numero destinato ad aumentare a circa 400 milioni nel 2030 (6). Secondo le stime riportate nell'annuario dell'Istituto Nazionale di Statistica (ISTAT, 2011) in Italia vi sono circa 16 milioni di soggetti in sovrappeso, 5 milioni di soggetti obesi, 3 milioni di soggetti con DM2, ai quali si aggiunge un altro milione di persone con diabete non diagnosticato (7). La maggiore prevalenza di DM2 viene registrata al Sud (~900 mila casi) rispetto al Nord-ovest (~650 mila), al Centro (~600 mila), al Nord-est (450 mila) o alle Isole (350 mila). La fascia d'età più colpita è 40-59 anni e la maggiore diffusione della malattia si osserva tra le classi sociali più svantaggiate dove sono più comuni fattori di rischio come l'obesità e la sedentarietà. Negli ultimi decenni la prevalenza dell'obesità di primo grado è raddoppiata mentre quella dell'obesità grave è quadruplicata (6). La *diabesità* colpisce attualmente circa 4 milioni di soggetti nel nostro Paese e la previsione per il 2025 è di circa 7 milioni di persone (7). È stato stimato che per ogni aumento di 1 kg di peso corporeo, il rischio di diabete cresce dal 4.5 al 9% (8). Inoltre dati statistici mostrano che il 60-

90% dei pazienti con DM2 è o è stato obeso ed il rischio relativo, per un soggetto obeso, di sviluppare il diabete è aumentato di 10 volte nelle donne e di circa 11 volte negli uomini (9).

### ***1.1.b. Meccanismi patogenetici***

Lo sviluppo del DM2 deriva dall'interazione tra predisposizione genetica e fattori ambientali. Molte evidenze scientifiche hanno infatti dimostrato che, in soggetti geneticamente predisposti, uno stile di vita poco salutare, caratterizzato da un eccessivo introito calorico e da una ridotta spesa energetica giornaliera, porta all'accumulo di grasso viscerale e conseguentemente all'attivazione della cascata stress ossidativo/infiammazione, che segna lo sviluppo dell'insulino-resistenza (10), comune fattore patogenetico di obesità e DM2. Vi è infatti una forte relazione tra l'adiposità e l'insulino-resistenza (11). La resistenza all'azione insulinica comporta una parziale incapacità dell'ormone a svolgere le sue azioni a livello epatico, muscolare e del tessuto adiposo: in particolare si osservano a livello del tessuto adiposo e muscolare una riduzione dell'*uptake* di glucosio mentre a livello epatico si ha una riduzione della soppressione della glicogenolisi ed un'aumentata gluconeogenesi. Questi meccanismi contribuiscono alla genesi dell'iperglicemia a digiuno e postprandiale.

Sebbene l'insulino-resistenza sia una componente chiave di molte malattie croniche associate all'obesità, compreso il DM2 e la sindrome metabolica, i fattori coinvolti e i meccanismi responsabili che legano l'eccessiva adiposità all'insulino-resistenza non sono stati ancora ben compresi. Evidenze suggeriscono che gli acidi grassi liberi (FFA), i cui livelli circolanti sono marcatamente aumentati nell'obesità e nelle patologie associate, potrebbero giocare un ruolo determinante nello sviluppo dell'insulino-resistenza nel muscolo scheletrico (12,13). L'insulina esercita un forte effetto inibitorio sulla lipasi ormone-sensibile riducendo la lipolisi. Il grasso intra-addominale ha un'alta attività lipolitica che comporta un'elevata immissione in circolo di FFA; il soggetto diabetico insulino-resistente sopprime meno efficacemente la lipolisi rispetto ai soggetti normali con conseguente immissione in circolo di grandi quantità di FFA, glicerolo e lattato. Il lattato e il glicerolo costituiscono un substrato diretto per la sintesi di glucosio attraverso la via neoglucogenetica, mentre gli FFA non sono un precursore diretto del glucosio ma stimolano l'attività di alcuni enzimi della gluconeogenesi epatica con l'utilizzazione del glucosio a livello muscolare nell'ambito di quello che è noto come Ciclo di Randle. L'aumentata concentrazione intramitocondriale di acetil-coenzima A, che fa seguito all'esagerata ossidazione lipidica, inibisce l'attività della piruvato deidrogenasi con conseguente riduzione dell'ossidazione del

glucosio. Pertanto l'esposizione prolungata del muscolo scheletrico e dei miociti ad alti livelli di FFA porta ad una severa insulino-resistenza (14,15). Sono stati suggeriti diversi meccanismi per spiegare come gli acidi grassi saturi riducano l'azione insulinica, come l'accumulo intracellulare di derivati lipidici (diacilglicerolo e ceramidi), lo stress ossidativo, la modulazione della trascrizione genica, l'infiammazione e la disfunzione mitocondriale (16). Il complesso meccanismo di azione dell'aumentato flusso di FFA dal tessuto adiposo viscerale ha, dunque, vari risvolti negativi sulla funzione degli organi chiave del metabolismo glucidico, cioè fegato, muscolo e beta-cellula che va sotto il nome di lipotossicità metabolica.

In condizioni fisiologiche l'insulina attiva l'*uptake* del glucosio da parte dei tessuti (principalmente fegato, tessuto adiposo e muscolo scheletrico) stimolando la via IRS-PI3K-Akt e fosforilando e inattivando l'Akt substrate 160 (AS160), una proteina che, quando attivata, previene la traslocazione del trasportatore del glucosio GLUT4 sulla membrana citoplasmatica. Per cui, inibendo AS160, l'insulina promuove la traslocazione di GLUT4 dalle vescicole intracellulari favorendone la fusione con la membrana citoplasmatica e conseguentemente l'*uptake* del glucosio (17,18). L'aumentata riserva lipidica nel tessuto non adiposo, come il muscolo, è legata alla lipotossicità responsabile dell'insulino-resistenza e dell'alterata secrezione insulinica (14). A tal proposito si

sospetta il coinvolgimento degli acidi grassi acyl-CoA o diacilglicerolo nel determinare la lipotossicità, attraverso una forma di proteinkinasi C (19).

Dallo stato di insulino-resistenza si giunge ad una franca iperglicemia quando insorge anche un difetto della secrezione insulinica. Infatti nelle fasi iniziali della malattia diabetica, in risposta all' insulino-resistenza, si verifica un aumento compensatorio dell'attività delle beta-cellule pancreatiche che consente di mantenere nella norma i livelli circolanti di glucosio. Con il progredire della patologia, la secrezione di insulina si riduce progressivamente, causando iperglicemia. Nella fasi iniziali della malattia, l'aumento dei livelli circolanti di glucosio si verifica soprattutto nel periodo post-prandiale, per incapacità del muscolo scheletrico di aumentare l'utilizzazione del glucosio assunto con il pasto; nelle fasi più avanzate, si verifica l'aumento della glicemia anche a digiuno, allorquando la produzione epatica di glucosio non è più efficacemente soppressa. È noto che al momento della diagnosi la funzione beta cellulare è ridotta di circa il 50 % e che tale riduzione è determinata da una sostanziale perdita della massa beta cellulare per accelerata apoptosi indotta dagli FFA mediante un meccanismo non ancora completamente noto, ma che sembra coinvolgere la sintesi e l'accumulo di ceramide e l'attivazione del fattore nucleare NF-kB, con aumento dell'enzima NOS-inducibile, interazione tra ossido nitrico e specie reattive dell'ossigeno

con formazione di radicali liberi che danneggiano il DNA, favorendo l'apoptosi (20).

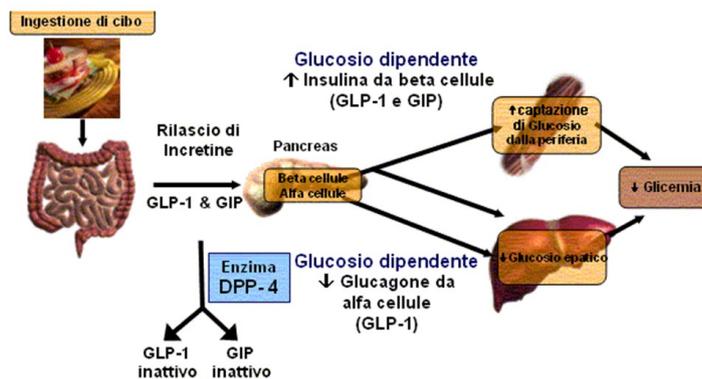
## **1.2. Sistema incretinico ed omeostasi glicemica**

Accanto alla fisiologia «classica» della regolazione glicemica, sono stati successivamente elucidati nuovi meccanismi che vedono protagonista, insieme ad organi come il pancreas, il fegato, il muscolo ed il tessuto adiposo, anche l'intestino.

Risale al 1969, ad opera di Unger e Eisentraut, la prima descrizione dell' "asse enteroinsulare" ovvero del *link* tra il tratto gastrointestinale, fondamentale nei processi di digestione, assorbimento e assimilazione dei nutrienti e le isole pancreatiche (21). Solo dieci anni più tardi, Creutzfeldt, identificò nel tratto gastroenterico una popolazione cellulare in grado di produrre sostanze ad azione ormonale capaci di intervenire nel controllo dell'omeostasi energetica, modulare la sazietà, la motilità intestinale e la funzionalità delle isole pancreatiche (21,22). I principali ormoni gastrointestinali coinvolti nell'asse enteroinsulare sono il GLP-1 (*glucagon-like peptide-1*) e il GIP (*Gastric Inhibitory Polypeptide* o, più modernamente, *Glucose-mediated insulinotropic polipeptide*), denominati anche "incretine" dall'acronimo "*intestinal secretion of insulin hormones*" per via dell'effetto che essi determinano a livello delle isole pancreatiche. Tale fenomeno denominato "effetto incretinico"

comporta che l'assunzione per via orale di un carico di glucosio sia in grado di elicitare una risposta insulinica maggiore rispetto ad un carico di glucosio somministrato per via endovenosa, anche quando è infusa la stessa quantità di glucosio o è causato un equivalente aumento della glicemia per via parenterale. Oltre che intervenire direttamente sulla secrezione post-prandiale delle  $\beta$ -cellule, in condizioni fisiologiche, le incretine regolano finemente i meccanismi omeostatici glicemici essendo in grado di agire anche sulle cellule  $\alpha$  e sulla secrezione di glucagone.

**Figura 1. Incretine ed omeostasi glucidica**



### ***1.2.a. Ormoni gastro-entero-insulari: GIP, GLP-1 e grelina***

Il GLP-1 e il GIP rappresentano le principali incretine ad oggi note; sono ormoni peptidici responsabili del 50-60% della secrezione insulinica indotta dopo un pasto (23, 24).

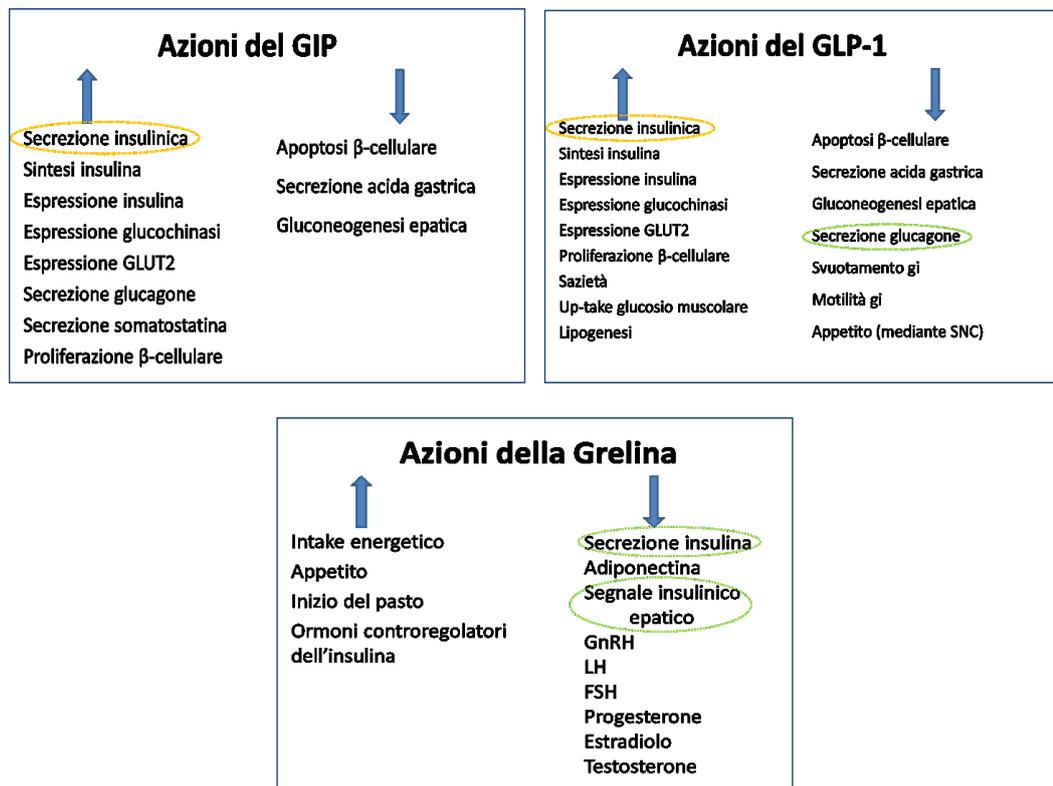
Il GIP è costituito da 42 amminoacidi, è sintetizzato e secreto dalle cellule K prevalentemente localizzate a livello del duodeno e del digiuno prossimale (25). Tale ormone viene rilasciato in risposta all'ingestione di nutrienti (26, 27); in particolare, gli acidi grassi ne rappresentano il più potente stimolatore nell'uomo (28). La risposta postprandiale di GIP è direttamente proporzionale alle calorie del pasto e alla velocità con cui i nutrienti arrivano all'intestino. Il diverso tipo di nutrienti è in grado di influenzare in maniera differente la cinetica di secrezione dell'ormone. Infatti, la somministrazione di glucosio determina un rapido rilascio di GIP che raggiunge il picco massimo dopo 15-30 minuti per poi ritornare ai valori basali, dopo circa 3 ore; al contrario la risposta ormonale che si realizza a seguito di un pasto grasso, risulta più lenta e più prolungata a causa del ritardato svuotamento gastrico. Il GIP ha un'emivita piuttosto breve (circa 7 minuti) perché rapidamente inattivato dall'enzima dipeptidil-peptidasi-4 (DPP-IV), un'ammino-peptidasi prodotta dalle cellule intestinali e dalle cellule endoteliali che rimuove dal polipeptide i due amminoacidi all'estremità N-terminale, generando la forma inattiva del GIP 3-42. Il GIP esplica la sua azione biologica attraverso i recettori accoppiati alle proteine G con conseguente aumento della concentrazione citosolica di cAMP. I recettori del GIP sono espressi in diversi tessuti come stomaco, pancreas, tessuto adiposo, osso e cervello dove esplica la sua azione biologica: 1) provoca un aumento postprandiale di glucagone;

2) previene l'apoptosi e stimola la proliferazione delle beta cellule; 3) promuove l'assorbimento del glucosio nel piccolo intestino aumentando il numero di recettori GLUT1; 4) stimola la conversione del glucosio in acidi grassi e la deposizione di grasso nel tessuto adiposo; 5) promuove l'attività della lipoprotein-lipasi (LPL); 6) previene il riassorbimento e aumenta la formazione dell'osso; 7) aumenta l'introito calorico e riduce la spesa energetica; 8) riduce la secrezione acida gastrica (29-31).

Il GLP-1 viene secreto dalle cellule L entero-endocrine del tratto distale del piccolo intestino e del colon. Tali cellule, di tipo-aperto, entrano direttamente in contatto con i nutrienti del lume intestinale attraverso la propria superficie apicale mentre e con i tessuti vascolari e neurali attraverso la propria superficie basolaterale. Il principale stimolo alla secrezione del GLP-1 è rappresentato dal pasto. Nell'uomo, il GLP-1 è rilasciato rapidamente in circolo dopo l'ingestione di un pasto misto ricco in grassi o in carboidrati (32) o di singoli nutrienti, quali glucosio o altri zuccheri, acidi grassi, aminoacidi essenziali e fibre (33). La sua secrezione segue un pattern bifasico, con una fase più precoce (entro 10-20 minuti) seguita da una seconda fase più tardiva (dopo 60-120 minuti). Poiché la gran parte delle cellule L sono localizzate nel tratto distale del piccolo intestino è improbabile che la fase precoce di secrezione del GLP-1 possa essere mediata dal contatto diretto dei nutrienti con le cellule L. Infatti, diversi studi hanno dimostrato che il passaggio del

chimo nel duodeno stimola le cellule K, GIP-secretrici, a produrre GIP, con la successiva liberazione di neurotrasmettitori, GRP ed acetilcolina, e quindi di GLP-1 (34). I neuroni del nucleo del tratto solitario, sito nel tronco encefalico, sintetizzano anch'essi GLP-1: questi inviano le proprie afferenze al nucleo arcuato e ai nuclei paraventricolare e dorso-mediale, tutti siti nell'ipotalamo, e coinvolti nel controllo della fame (35). Anche il GLP-1, come il GIP, ha una emivita estremamente breve (da 2 a 5 minuti) in quanto anch'esso è substrato dell'enzima DPP-IV che lo degrada nelle forme inattive: GLP-1 9-37 e GLP-1 9-36 amide. Le isoforme attive, in grado di interagire coi recettori a 7 segmenti transmembrana associati alle proteine G, sono il GLP-1 7-36 amide e il GLP-1 7-37 presenti in circolo rispettivamente per il 75% e 25%. Il GLP-1, interagendo con i recettori, è responsabile delle seguenti azioni biologiche: stimolazione della secrezione insulinica in maniera glucosio-dipendente e soppressione della secrezione del glucagone attraverso un effetto diretto sulle cellule  $\alpha$  ed in parte attraverso la stimolazione della secrezione di somatostatina; azione a livello ipotalamico, aumentando il senso di sazietà; a livello gastrico, riducendo la secrezione acida e determinando un rallentamento dello svuotamento gastrico; a livello del muscolo, fegato e tessuto adiposo, aumentando la captazione di glucosio e la glicogenosintesi (24).

**Figura 2. Azioni biologiche di GIP, GLP-1 e grelina**



La grelina è un peptide ossigeno di 28 aminoacidi prodotto prevalentemente dalle cellule epiteliali X/A-like del fondo gastrico e in misura minore dall'ipofisi, dall'ipotalamo e dal rene. La grelina circolante si trova in forma acilata per il 10%, e in forma desacilata per il 90%, tuttavia solo la forma acilata è in grado di interagire con i recettori ed attivare la via dell'inositolo trifosfato. I recettori per la grelina, scoperti già prima dell'ormone stesso, sono prevalentemente espressi sulle cellule ipofisarie GH-secernenti, sulle cellule ipotalamiche e nel tessuto adiposo. La principale azione di tale ormone consiste nella

stimolazione ipofisaria della secrezione di GH, tuttavia svolge anche un'importante regolazione del bilancio energetico poiché è in grado di aumentare il senso di fame e l'assunzione di cibo attraverso un'azione diretta sui centri ipotalamici. A livello del tessuto adiposo svolge un'azione opposta a quella del GH, sopprimendo l'utilizzazione dei grassi. A livello gastrico ne stimola la motilità e la secrezione, a livello pancreatico inibisce la secrezione insulinica, peggiorando l'insulino-sensibilità. I livelli di grelina in circolo aumentano in condizioni di digiuno e diminuiscono in seguito all'ingestione di nutrienti (36).

### ***1.2.b. Metabolismo glucidico***

La capacità degli ormoni entero-insulari di regolare l'omeostasi glicemica è ben nota.

Numerosi studi hanno documentato la potente azione insulintropica del GLP-1: la somministrazione esogena di GLP-1 o del suo agonista è in grado di normalizzare l'iperglicemia a digiuno e ridurre le escursioni glicemiche postprandiali sia in soggetti che in ratti diabetici. Al contrario l'uso dell'antagonista del recettore del GLP-1, exendina<sub>(9-39)</sub> aumenta la glicemia a digiuno e postprandiale e riduce i livelli di insulina in circolo sia nel modello animale che nell'uomo (37,38) ed è inoltre in grado di aumentare i livelli plasmatici di glucagone: tale evidenza indirettamente supporta la capacità del GLP-1 endogeno di inibire la

secrezione di glucagone (39). L'azione del GLP-1 sull'omeostasi glicemica non è dovuta soltanto alla sua capacità di stimolare la secrezione dell'insulina ma, come dimostrato da numerosi studi nell'uomo, anche alla sua capacità di modulare la motilità gastrica, lo svuotamento gastrico, la produzione epatica di glucosio e la sazietà. Sebbene i meccanismi attraverso i quali il GLP-1 regola in vivo questi processi sono ancora da chiarire, sembra che alcuni, come lo svuotamento gastrico e sazietà, siano mediati da un complesso percorso neurale-viscerale.

L'importanza del GIP nell'omeostasi del glucosio è stata analizzata utilizzando peptidi antagonisti di GIP o sieri immunizzanti diretti contro il recettore del GIP in topi e conigli. Questi esperimenti hanno prodotto sufficienti evidenze che anche il GIP partecipa in maniera predominante alla regolazione della clearance postprandiale del glucosio. Contrariamente a quanto affermato da studi condotti sul GLP-1, il GIP endogeno non sembra essere importante nel controllo dell'omeostasi glicemica a digiuno (38, 40, 41).

Numerosi studi supportano un ruolo della grelina nell'omeostasi del glucosio (42, 43). È stata descritta una relazione inversa tra i livelli di grelina nel sangue e livelli di insulina suggerendo l'esistenza di un meccanismo di feedback negativo tra grelina e insulina (44, 45). I meccanismi coinvolti nell'effetto inibitorio della grelina sulla secrezione

insulinica indotta da glucosio includono un aumento dell'espressione dell'IA-2 $\beta$  (insulinoma-associated protein) e l'attivazione della proteina disaccoppiante UCP2 attraverso la via dell'AMPK (46). La somministrazione esogena di grelina stimola inoltre la glicogenolisi epatica e la neoglucogenesi e aumenta le escursioni glicemiche (42).

Tuttavia effetti positivi sia sull'aumento della sensibilità insulinica sia sul trofismo  $\beta$ -cellulare, sono stati documentati per la grelina desacilata (DAG). Per molti anni si è creduto che la DAG fosse un prodotto di degradazione della grelina priva di attività biologica, poiché non capace di legare ed agire sul recettore della grelina GHSR1a. Recenti report tuttavia identificano nella DAG un ormone dotato di propria attività biologica in grado di agire per alcune funzioni quale agonista e per altre come antagonista della forma acilata (36).

### ***1.2.c. Metabolismo lipidico***

Recentemente, oltre ai ben noti effetti degli ormoni entero-insulari sull'omeostasi glicemica, una grande attenzione viene rivolta ai loro effetti pleiotropici ed in particolare alla loro capacità di influenzare positivamente il metabolismo lipidico. Numerose sono le evidenze che hanno dimostrato l'azione degli entero-ormoni sulla regolazione della lipogenesi, della lipolisi e sul rilascio in circolo degli acidi grassi liberi. Qin e colleghi hanno mostrato come l'infusione di GLP-1 ricombinante

nella vena giugulare di ratti riduca l'assorbimento intestinale dei trigliceridi (47). Gli stessi Autori hanno inoltre osservato una ridotta produzione di apo B-48 e apo A-IV, due importanti elementi strutturali dei chilomicroni. Meier et al (48) hanno confermato nell'uomo, una riduzione della risposta postprandiale dei trigliceridi dopo infusione per via endovenosa di GLP-1. Allo stesso modo, in soggetti con DM2, il trattamento con un inibitore del DPP-IV per quattro settimane, si associava ad una marcata riduzione dei trigliceridi postprandiali e della concentrazione di apo B-48 (49). Gli studi di Hsieh su modello animale hanno dimostrato come in topi trattati con un agonista del recettore del GLP-1 (exendin-4), si osservava una riduzione dei trigliceridi e dell'apo B-48; tale effetto non si verificava quando i topi venivano trattati con l'antagonista del recettore del GLP-1 (exendin 9-39) o quando erano studiati topi knockout per il recettore del GLP-1. Anche in enterociti isolati da criceti la secrezione di apo B-48 era inibita dopo trattamento con exendin-4 (50). Questi studi, nel complesso, evidenziano come la somministrazione di GLP-1 o l'inibizione della sua degradazione ad opera di un DPP-IVi, determinano una marcata riduzione dell'assorbimento lipidico, verosimilmente, attraverso la ridotta sintesi di chilomicroni. Anche il GIP sembra esercitare degli effetti importanti sul metabolismo lipidico postprandiale. Diversi studi hanno dimostrato una modesta risposta dei chilomicroni postprandiali dopo somministrazione

di GIP nei cani (51) e un'attenuazione della risposta dei trigliceridi plasmatici nei ratti dopo somministrazione di grasso per via intraduodenale (52). Rimane ancora da chiarire se queste azioni siano determinate dall'effetto insulinotropo GIP-mediato.

#### ***1.2.d. Alterazioni dell'asse entero-insulare nel diabete mellito di tipo 2 e nell'obesità***

Numerosi dati sperimentali suggeriscono che, oltre ai ben noti difetti della funzione beta-cellulare e della sensibilità insulinica, anche la riduzione dell'effetto incretinico, per difetto della secrezione o dell'azione degli ormoni gastrointestinali, potrebbe risultare rilevante nella patogenesi del DM2 (53).

E' ben noto che una delle prime alterazioni che si determinano nel diabete è la perdita del picco precoce di secrezione insulinica in risposta allo stimolo del pasto, con la conseguenza dell'aumento della glicemia post-prandiale. In pazienti con DM2 l'effetto incretinico risulta diminuito e la secrezione di GLP-1 dopo l'assunzione di un pasto è ridotta rispetto ai soggetti di controllo (54). Il ridotto effetto incretinico osservato nei soggetti con DM2 sembrerebbe dovuto soprattutto alla marcata riduzione della secrezione del GLP-1 mentre la capacità insulinotropica dell'ormone non risulta alterata. Al contrario, i livelli del GIP (sia a digiuno che post-prandiali) sono normali o addirittura aumentati rispetto

ai soggetti sani suggerendo la presenza di una condizione di GIP-resistenza che potrebbe coinvolgere una down regulation dell'espressione dei recettori per il GIP o una desensibilizzazione del recettore all'azione del GIP. Una riduzione dei livelli di GLP-1, ma non di GIP, in risposta al carico di glucosio è stata osservata anche in soggetti con alterata tolleranza al glucosio (*impaired glucose tolerance, IGT*) (55) ed in soggetti obesi non diabetici (56). Le alterazioni dell'asse entero-insulare documentate nel DM2 sembrerebbero non essere primitive bensì secondarie all'effetto tossico dell'iperglicemia a livello delle cellule intestinali, in linea con il noto fenomeno della "glucotossicità". Infatti sia familiari di 1° grado di soggetti diabetici di tipo 2 (57), sia donne con precedente diabete gestazionale (58) hanno livelli plasmatici di GLP-1 simili a soggetti di controllo; tuttavia un importante studio di popolazione eseguito su un ampio numero di soggetti (oltre 1460) ha recentemente dimostrato che la compromissione della produzione di GLP-1 precede la comparsa dell'obesità e del diabete, in particolar modo nelle donne, e che interventi sull'asse entero-insulare potrebbero prevenirne l'insorgenza (59) Mentre l'infusione di GIP esogeno, anche ad alte dosi, non modifica la secrezione insulinica (60), la somministrazione di GLP-1 esogeno è in grado di ridurre la glicemia (61). In ultimo, interessante è l'osservazione che la trascrizione del gene che codifica per il GLP-1 è regolata da un fattore di trascrizione (TCF7L2) le cui varianti geniche sono risultate

associate a DM2 (62): è stato quindi ipotizzato che il GLP-1 possa essere il mediatore funzionale dell'azione del TCF7L2 sulla patogenesi del DM2 ed è stata documentata una riduzione del 20% dell'effetto incretinico nei portatori delle varianti associate ad un elevato rischio di IGT o DM2 (63). Ulteriori studi saranno necessari per confermare tali correlazioni tra le diverse varianti geniche e i livelli di espressione o l'efficacia dell'incrina.

***1.2.e. Nuove prospettive terapeutiche basate sulle incretine nel trattamento del diabete mellito di tipo 2 associato ad obesità***

Alla luce delle importanti osservazioni emerse circa il ruolo degli ormoni gastrointestinali nella patogenesi del DM2 è stato ipotizzato un razionale terapeutico del ripristino dei livelli di incretine con l'obiettivo di favorire il calo ponderale e migliorare la funzione pancreatica attraverso l'aumento della secrezione insulinica e la riduzione dei livelli di glucagone. Negli ultimi anni infatti è stata introdotta nella pratica clinica una nuova classe di agenti ipoglicemizzanti detti incretino-mimetici (analoghi del GLP-1 ed inibitori del DPP-4) che si pongono pertanto come una vera e propria "terapia ormonale sostitutiva" con il fine di ripristinare i fisiologici livelli ormonali presenti nei soggetti normali.

In particolare, gli agonisti recettoriali del GLP-1 (GLP1-RA), rappresentano una delle più innovative classi di farmaci da impiegare

nella cura del DM2. I peculiari meccanismi d'azione e i dati clinici a oggi disponibili documentano che i GLP1-RA oltre a determinare un miglioramento del controllo metabolico, presentano una serie di importanti benefici aggiuntivi, tra i quali: riduzione del rischio di ipoglicemie, in virtù della loro capacità di stimolare il rilascio di insulina in quantità glucosio-dipendente; preservazione della funzione beta-cellulare, in quanto stimolano la proliferazione e la differenziazione della beta cellula inibendone l'apoptosi; riduzione del peso corporeo sia mediante il rallentamento della velocità di svuotamento gastrico sia attraverso un aumento del senso di sazietà legato ad un'azione a livello del sistema nervoso centrale (64). Nello studio GetGoal-X si evidenziano riduzioni di peso corporeo di circa 2 Kg già dopo soli 28 giorni di trattamento (65). Quest'ultimo vantaggio in termini di calo ponderale, contrariamente alla maggior parte degli altri farmaci ipoglicemizzanti attualmente in uso quali tiazolidinedioni, sulfaniluree e insulina, rende i GLP1-RA farmaci particolarmente indicati nel trattamento del DM2 associato ad obesità.

### **1.3. Terapia chirurgica del diabete mellito di tipo 2 associato ad obesità**

Negli ultimi anni, la chirurgia bariatrica si è affermata come valido strumento per indurre una significativa e stabile perdita di peso con

miglioramento o scomparsa delle co-morbidità associate all'obesità. Particolarmente interessanti sono gli effetti indotti dagli interventi bariatrici sul drammatico miglioramento del controllo glicemico in pazienti con DM2.

### ***1.3.a. Tecniche di chirurgia bariatrica***

Gli interventi di chirurgia bariatrica si classificano in base al principio fisiopatologico in:

- metodiche restrittive: bendaggio gastrico regolabile, sleeve gastrectomy;
- metodiche malassorbitive: diversione bilio-pancreatica e sue varianti;
- metodiche miste (restrittivo-malassorbitive): bypass gastrico (Figura 3).

Le procedure restrittive si caratterizzano per una riduzione della capacità gastrica mediante creazione di una piccola *pouch* gastrica i cui meccanoettori di parete vengono stimolati dagli alimenti attivando i centri ipotalamici deputati alla riduzione dell'appetito (66). Il mantenimento del senso di sazietà dipende dal grado di *stretching* della parete gastrica che avviene più precocemente quanto più piccola è la *pouch*. E' quindi comprensibile come le norme dietetico-comportamentali fornite ai pazienti che hanno subito restrizione gastrica siano fondamentali non solo per il raggiungimento del senso di sazietà, ma anche per il mantenimento del volume di restrizione e pertanto della perdita di peso. Da ciò si evince come la *compliance* del paziente

“responsabile” e l'accettazione di restrizioni dietetiche, svolgano un ruolo fondamentale per la riuscita di questa tipologia di intervento. Tra le più diffuse procedure restrittive vi è il bendaggio gastrico regolabile (BGR).

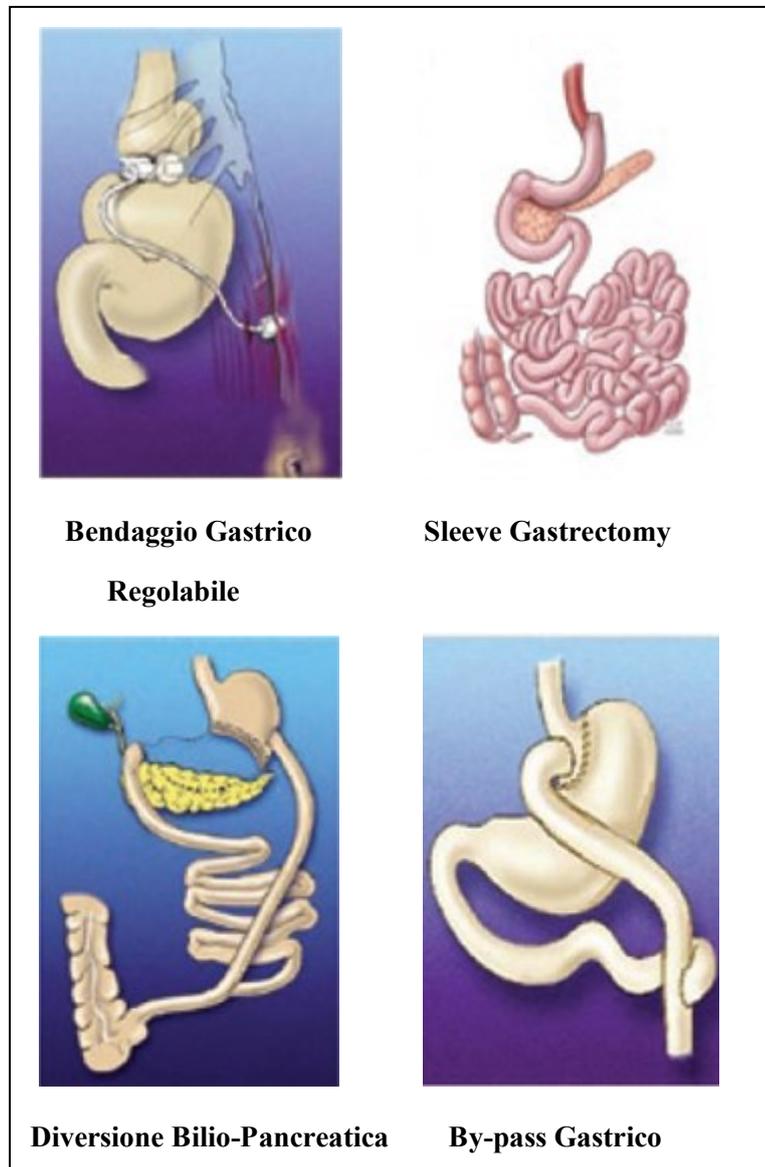
Esso si realizza attraverso il posizionamento di una protesi in silicone attorno allo stomaco con creazione di una tasca gastrica prossimale di circa 20-30 ml. La protesi è regolabile, si ha cioè la possibilità di stringere o allargare il passaggio tra lo stomaco al di sopra e quello al di sotto del bendaggio attraverso l'insufflazione di una camera collegata ad una valvola, posizionata nel sottocute, attraverso un catetere. Tale procedura è mini-invasiva, in quanto porta alla costituzione di una partitura gastrica orizzontale non definitiva, e può essere eseguita attraverso via laparoscopica.

Un intervento che sta acquisendo una crescente importanza è la gastrectomia verticale o *sleeve gastrectomy* (SG), tecnica originariamente sviluppata da Johnston in Inghilterra e successivamente adottata negli Stati Uniti e in Europa. Essa consiste in una gastrectomia verticale, praticata lungo la grande curvatura, con cui si asporta completamente il fondo gastrico lasciando uno stomaco

residuo di 60-150 ml. L'integrità della regione antro-pilorica e dell'innervazione vagale viene preservata. Tale procedura non è

reversibile. Il meccanismo d'azione non è solamente di restrizione del volume ma più complesso e articolato.

### **Figura 3. Principali procedure di chirurgia bariatrica**



E' stato, infatti, evidenziato che il transito alimentare nel neo-stomaco è molto veloce, con ingesti che arrivano precocemente all'intestino, stimolando risposte ormonali di sazietà. Poiché il piloro è conservato, la SG minimizza il rischio di *Dumping Sindrome* ma risulta gravata dal

rischio di inadeguata perdita di peso o recupero successivo di peso. Nell'ambito delle procedure malassorbitive, il primo intervento praticato è stato il *by-pass* digiuno-ileale, considerato ormai obsoleto e fortemente criticato per l'elevata morbilità e mortalità. Questa tipologia di pratica chirurgica è stata soppiantata dalla diversione bilio-pancreatica (DBP). Tale tecnica è rappresentata da una gastrectomia distale con una lunga ricostruzione ad Y secondo Roux dove la gastro-entero anastomosi viene confezionata utilizzando l'ileo distale e completata in genere con una colecistectomia per la prevenzione della frequente litiasi post-operatoria. La DBP determina una ritardata commistione del cibo con le secrezioni bilio-pancreatiche con permanente riduzione della digestione e, pertanto, dell'assorbimento dei cibi ad alto contenuto calorico (grassi ed amidi), assicurando così un mantenimento della perdita di peso a lungo termine (67). La DBP ha un ampio *range* di applicazione attraverso la variazione della lunghezza dei vari segmenti intestinali e, pertanto, può creare vari gradi di malassorbimento intestinale di amidi, grassi e proteine. In tal modo la procedura può essere adattata alle caratteristiche di ciascun paziente allo scopo di ottenere il miglior risultato possibile in termini di calo ponderale riducendo al minimo le complicanze (68). I cosiddetti interventi misti associano alla riduzione del volume gastrico, la derivazione intestinale ottenendo vari gradi di malassorbimento. Tra questi il *by-pass* gastrico (BPG) sulla scia dell'esperienza maturata negli

USA, è senza dubbio l'intervento che ha avuto maggiore diffusione in Europa visti gli ottimi risultati sul calo ponderale nel lungo termine. Tale procedura consiste nella separazione definitiva dello stomaco con creazione di una piccola tasca gastrica di 25-30 ml. La *pouch* viene anastomizzata con un'ansa digiunale sezionata tra 60-120 cm dal legamento di Treitz, mentre il tratto bilio-pancreatico viene anastomizzato tra 100-150 cm a valle dell'anastomosi gastro-digiunale. La perdita di peso si ottiene grazie alla restrizione gastrica ed alla riduzione dell'assorbimento che è tanto maggiore quanto più a valle è lo sbocco delle secrezioni bilio-pancreatiche. Il BPG induce un minor disagio alimentare per il paziente rispetto alle riduzioni gastriche pure e una minor incidenza di effetti collaterali e complicanze rispetto alla DBP (69).

### ***1.3.b. Decremento ponderale***

L'efficacia sulla riduzione del peso della chirurgia bariatrica è direttamente proporzionale all'invasività dell'intervento chirurgico. Un'importante metanalisi pubblicata da Buchwald et al nel 2009 (70) ha riportato che a meno di 2 anni dall'intervento chirurgico la perdita di peso complessivamente indotta chirurgicamente, senza distinzione tra le varie procedure, era di 36.6 kg corrispondenti ad un Excess Body Weight Loss (EBWL) di 53.8% mentre a distanza di oltre 2 anni era di 41.6 kg

ovvero 59% EBWL. In particolare, la tecnica associata al più alto e duraturo calo ponderale era la diversione bilio-pancreatica; l'effetto sul peso diminuisce gradualmente nel bypass gastrico fino a raggiungere il minimo nel bendaggio gastrico. E' stato rilevato, inoltre, che la perdita di peso ottenuta con BGR avviene in maniera graduale, passando dal 35% di perdita dell'eccesso di peso a 6 mesi, al 40% a 12 mesi e 50% a 24 mesi (71). Il BPG invece, induce una sostanziale perdita dell'eccesso ponderale (60-70%); infine la DBP ha un impatto drammatico sulla perdita di peso nei primi 12 mesi post-operatori e più graduale nei mesi successivi.

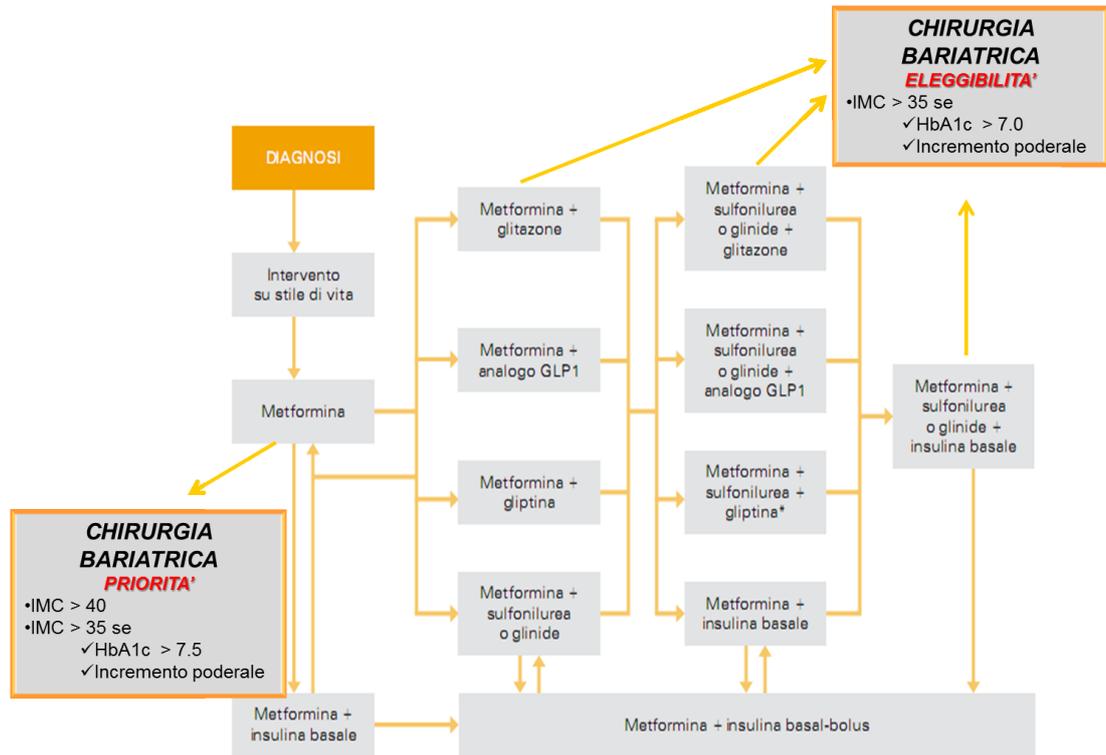
### ***1.3.c. Ruolo della chirurgia bariatrica nell'algoritmo terapeutico del paziente obeso con diabete mellito di tipo 2***

Sono state finora redatte diverse linee guida per l'utilizzo appropriato della chirurgia bariatrica nel trattamento dell'obesità in generale e del DM2 associato ad obesità. Secondo le più recenti linee guida americane (72), è candidato alla chirurgia bariatrica il paziente obeso ( $IMC \geq 40$   $kg/m^2$  o  $>35$   $kg/m^2$  in presenza di co-morbidità) che ha fallito ripetuti tentativi dietetico-comportamentali e/o farmacologici per la terapia dell'obesità.

Le numerose evidenze scientifiche che la chirurgia bariatrica è in grado di indurre la remissione del DM2 in una vastissima percentuale di casi,

hanno successivamente spinto l' International Diabetes Federation (IDF) a redigere un "position statement" per stabilire l'appropriato ruolo che la chirurgia gastrointestinale riveste specificamente nel trattamento del DM2 (73). Secondo tale documento la chirurgia bariatrica deve essere considerata un trattamento appropriato per la cura del DM2 associato ad obesità e complementare alle terapie mediche nel ridurre il rischio microvascolare e cardiovascolare. Secondo tali linee guida vi è: "eleggibilità" alla chirurgia bariatrica allorché il paziente diabetico con IMC >35 kg/m<sup>2</sup> non raggiunge una significativa perdita di peso e non risulta adeguatamente compensato (HbA<sub>1c</sub> <7%) con intervento sullo stile di vita (+/- utilizzo di metformina); "priorità" alla chirurgia bariatrica quando il paziente diabetico presenta un'obesità di terzo grado oppure di secondo grado associata ad uno scadente compenso glicemico (HbA<sub>1c</sub> > 7.5%) nonostante l'ottimizzazione della terapia convenzionale, un progressivo incremento ponderale o quando sono presenti altre comorbidità quali l'ipertensione arteriosa, la dislipidemia o le apnee notturne (Figura 4). Diversi studi sperimentali sono in corso per valutare l'opportunità di ampliare le indicazioni di tale terapia anche a pazienti diabetici con minore grado di obesità.

**Figura 4. La chirurgia bariatrica nell’algoritmo terapeutico del DM2 associato ad obesità**



### ***1.3.d. Remissione del diabete mellito di tipo 2 dopo chirurgia***

#### ***bariatrica: definizione, meccanismi fisiopatologici ed implicazioni cliniche***

Il notevole miglioramento dell’omeostasi glicemica che si verifica a seguito degli interventi di chirurgia bariatrica, ha spinto ad identificare tale stato come risoluzione o remissione del diabete; tuttavia ancora controversa è la corretta definizione dei due termini, ed eterogenei gli strumenti di valutazione di tali fenomeni. Per risoluzione si intende la scomparsa di sintomi e segni di malattia mentre per remissione si intende,

invece, il miglioramento, ma non la scomparsa, dei sintomi e dei segni di malattia, e quindi, nel caso specifico, una riduzione della glicemia a digiuno, dell'HbA<sub>1c</sub> e del dosaggio dei farmaci, oppure la presenza di un intervallo libero dai sintomi di malattia. E' stato documentato che l'effetto della chirurgia bariatrica sul miglioramento/risoluzione del diabete è molto diverso a seconda della tecnica chirurgica adoperata, passando dal 94% in pazienti sottoposti a DBP allo 81.6% dopo BPG, al 81.4% con la GPV e al 55% con BGR (70). Tuttavia il limite di questi dati è che sono ricavati da metanalisi e i diversi studi considerati applicano criteri eterogenei per la definizione di remissione (glicemia a digiuno <100 mg/dl o HbA<sub>1c</sub> <6% o assenza di terapia ipoglicemizzante). Nel 2009, un gruppo di esperti dell'American Diabetes Association (ADA) ha proposto dei criteri più rigorosi definendo pertanto la "remissione parziale" del DM2 come glicemia a digiuno < 125 mg/dl e HbA<sub>1c</sub> < 6.5% in assenza di terapia ipoglicemizzante per almeno 1 anno e la "remissione completa" come glicemia a digiuno < 100 mg/dl e HbA<sub>1c</sub> <6% in assenza di terapia ipoglicemizzante per almeno 1 anno (74). Dal confronto di tali criteri con quelli precedentemente utilizzati la percentuale di remissione completa del DM2 a 2 anni da SG o BPG si riduceva da ~93% a ~44% (75).

Ancora più di recente, l'International Diabetes Federation (IDF) ha introdotto ulteriori criteri per definire il miglioramento dello stato

metabolico dopo chirurgia bariatrica (76), tra i quali il mantenimento della perdita di peso, il controllo dei livelli dei lipidi plasmatici e della pressione arteriosa, l'uso di farmaci e l'incidenza di ipoglicemia. La percentuale di remissione del diabete, comunque, indipendentemente dalla definizione applicata, aumenta passando dalla chirurgia restrittiva a quella malassorbitiva pura, in parallelo con la riduzione dell'eccesso ponderale.

I meccanismi responsabili della remissione del diabete dopo chirurgia bariatrica sono oggetto di un'intensa attività di ricerca. E' noto che la glicemia è la risultante di un perfetto equilibrio tra la sensibilità insulinica a livello dei tessuti periferici e la secrezione insulinica, intesa come *quantità* e *timing* dell'attività  $\beta$ -cellulare. E' verosimile, quindi, che la chirurgia bariatrica possa influenzare uno o entrambi gli eventi fisiopatologici.

Ferrannini et al, in una revisione sistematica della letteratura (77) che ha esaminato un totale di 450 pazienti per un periodo di osservazione di circa 25 anni, hanno evidenziato che le procedure bariatriche sono capaci di determinare un notevole aumento dell'insulino-sensibilità apprezzabile già poche settimane dopo l'intervento, quando la riduzione del peso corporeo è ancora modesta (circa 10%). Per quanto riguarda la secrezione insulinica, dopo chirurgia bariatrica si osservano due fenomeni apparentemente opposti (77, 78). Da un lato, si ha una riduzione del *set-*

*point* della capacità secretoria della  $\beta$ -cellula, che si traduce in una riduzione del tasso di secrezione e dell'insulinemia a digiuno così come dell'*output* totale di insulina in risposta ad uno stimolo per effetto di un miglioramento della sensibilità insulinica. Dall'altro lato, si osserva un aumento del comportamento dinamico della  $\beta$ -cellula, che si traduce in un aumento degli indici secretori quali l'HOMA- $\beta$ , la risposta insulinica acuta (AIR) e l'indice insulinogenico, ad indicare un recupero della responsività della  $\beta$ -cellula al glucosio. Un altro meccanismo alla base del miglioramento sia della secrezione insulinica che della sensibilità insulinica è la riduzione delle gluco- e lipotossicità che consegue al rapido miglioramento del quadro metabolico (77). Numerosi studi hanno rilevato come la remissione del DM2 dopo interventi di chirurgia bariatrica, soprattutto malassorbitiva o mista, sia un evento estremamente precoce che si realizza ancor prima che si determini un significativo calo ponderale. E' verosimile, dunque, che il rapido miglioramento dell'insulino-sensibilità e/o della secrezione insulinica e lo stato euglicemico che consegue all'intervento bariatrico non siano del tutto spiegati dal calo ponderale ma siano frutto, piuttosto, di altri meccanismi "intervento-specifici" ed indipendenti dal decremento ponderale. Uno dei meccanismi ipotizzati risiederebbe nel riarrangiamento della normale anatomia dell'intestino che comporta un transito accelerato dei nutrienti, e l'esposizione dell'intestino distale a materiale alimentare parzialmente

digerito con conseguente ripristino di una più fisiologica risposta incretinica che nel DM2 e nell'obesità risulta fortemente ridotta (*hindgut hypoteses*) (79-81). Più recentemente molti altri meccanismi sono stati chiamati in causa: la riduzione del tessuto adiposo pro-infiammatorio; modifiche nell'attività delle afferenze vagali digestive; la *down-regulation* di fattori anti-incretinici non ancora identificati dovuta all'esclusione dell'intestino prossimale dal transito di nutrienti (*foregut hypotheses*); la riduzione della secrezione di grelina (82); la riduzione dei livelli plasmatici a digiuno e postprandiali di glucagone (83). Inoltre è sempre più evidente come l'intestino, in particolare il tratto duodeno-digiunale, sia molto più che un organo deputato alla digestione e all'assorbimento ma prenda parte in maniera preponderante alla regolazione dell'equilibrio metabolico. In numerosi studi è stato osservato che dopo gli interventi malassorbitivi, BPG e DBP, si verifica un marcato aumento degli acidi biliari che agiscono a livello epatico attraverso la stimolazione del fattore FXR. Questo recettore ha un ruolo chiave in numerosi processi metabolici, inclusa l'omeostasi glicemica. Inoltre, studi sperimentali hanno dimostrato come gli acidi biliari aumentano l'espressione del fattore di crescita FGF-19, i cui livelli sono risultati aumentati sia dopo interventi di BPG che SG, suggerendo un possibile ruolo di questo fattore nel miglioramento metabolico osservato dopo chirurgia bariatrica. Infine, ma non meno importante, gli acidi

biliari riconoscono anche i recettori TGR5, presenti a livello delle cellule L, a livello del tessuto adiposo bruno e del muscolo scheletrico dove stimolano rispettivamente il rilascio di GLP-1, la termogenesi e il metabolismo basale attraverso la conversione dell'ormone T4 in T3 (84). Rajas e colleghi (85) hanno dimostrato la presenza di glucosio-6-fosfatasi e fosfoenolpiruvato carbossikinasi, enzimi chiave della gluconeogenesi epatica, anche nel piccolo intestino dell'uomo, soprattutto nel duodeno. Più recentemente è stata documentata un'aumentata gluconeogenesi intestinale in topi sottoposti ad entero-gastro-anastomosi, una tecnica bariatrica più facilmente realizzabile in modelli animali ma molto simile ad un mini-bypass gastrico (86). Si potrebbe postulare che anche nell'uomo il bypass del *foregut* induca un'aumentata gluconeogenesi intestinale e che questo meccanismo possa ridurre l'*intake* di nutrienti (87) e la produzione epatica di glucosio, aumentare la sensibilità insulinica e migliorare così l'omeostasi glicemica. Sempre in modelli animali è stata dimostrata, dopo BPG, una soppressione dell'assorbimento intestinale di glucosio con una riduzione dell'*uptake* di glucosio del 63% unitamente ad una *down-regulation* del co-trasportatore Na<sup>+</sup>/glucosio che risulta responsabile della maggior parte dell'*uptake* di glucosio ed iper-espresso in pazienti con DM2 (88). Infine, dopo bypass del *foregut*, per effetto delle modifiche dell'acidità gastrica e di un accorciamento dell'intestino tenue, si verificano sostanziali cambiamenti

del microbiota intestinale che conducono ad un aumento delle specie dei Gamma-proteobatteri anaerobi, in particolare di Enterobatteri generalmente più rappresentati nel grosso intestino, con una riduzione nella quota di metanogeni (89). Questo può associarsi ad una maggiore produzione di acidi grassi a corta catena (SCFAs) che sono noti ridurre la gluconeogenesi epatica e, in modelli animali, stimolare la secrezione degli enterormoni (90). Infine, recentemente è stato documentato che accanto agli adattamenti del microbiota intestinale, indotti dalla condizione *starvation-like* determinata dalla chirurgia bariatrica, si verificano, indipendentemente dall'*intake* calorico, una serie di ulteriori variazioni della flora batterica intestinale direttamente correlate alla riduzione dello stato infiammatorio e della resistenza insulinica (91).

Sebbene la remissione precoce del DM2 sia descritta in un'ampia percentuale di casi dopo chirurgia bariatrica, un fenomeno non trascurabile, seppur non ancora ben definito in termini di entità e meccanismi causali, è rappresentato dalla ripresa di malattia. Diversi studi hanno identificato come fattori predittivi di remissione del DM2, soprattutto a breve termine, la durata di malattia, i livelli pre-chirurgici di HbA<sub>1c</sub>, la circonferenza vita e l'assenza di trattamento insulinico (92).

**Tabella 1. Meccanismi potenzialmente coinvolti nella remissione del diabete dopo diversi interventi di chirurgia bariatrica.**

	<b>BGR</b>	<b>SG</b>	<b>BPG</b>
<b>GLP-1</b>	⇒↑	↑	↑
<b>PYY</b>	⇒	↑	↑
<b>Oxintomodulina</b>	ND	ND	↑
<b>GIP</b>	⇒	⇒↑	⇒↑↓
<b>CCK</b>	ND	↑	↑
<b>Grelina</b>	⇒↑↓	⇒↑↓	⇒↑↓
<b>Leptina</b>	↓	ND	↓
<b>Spesa energetica</b>	↓	↓	↓
<b>Introito energetico</b>	↓	↓	↓
<b>Acidi biliari</b>	⇒	⇒	↑
<b>Microbiota intestinale</b>	M	M	M
<b>Insulino secrezione</b>	↑	↑	↑
<b>Insulino sensibilità epatica</b>	↑	↑	↑
<b>Insulino sensibilità muscolare</b>	↑	↑	↑
<b>Svuotamento gastrico</b>	⇒	↑	↑

(adattata da Madsbad et al. - Lancet Diabetes Endocrinol 2014)

ND: nessun dato disponibile; M: modificato; ⇒nessuna modifica; ↑: aumentato; ↓: ridotto

Nannipieri e colleghi hanno dimostrato come, piuttosto che il tipo di procedura chirurgica utilizzata (BPG/SG), i valori al basale della sensibilità insulinica e il ristoro della risposta del GLP-1 rappresentino i principali determinanti della remissione del DM2 (93). Poche evidenze sono tuttavia disponibili a lungo termine e individuerebbero nel minore decremento ponderale e/o nel recupero del peso perso, i fattori più importanti responsabili della ripresa di malattia. Christou e coll hanno

riportato che 10 anni dopo BPG, la percentuale di pazienti che recupera il peso pre-intervento è del 20,4% per i pazienti con BMI pre-intervento  $<50 \text{ kg/m}^2$  e del 34,9% per i pazienti con BMI  $>50 \text{ kg/m}^2$  (94) mentre Di Giorgi et al hanno invece documentato che ben il 26% dei pazienti in iniziale remissione ed il 20% di quelli in sostanziale miglioramento del DM2 dopo BPG manifesta entro 3 anni un recupero della malattia (95). In questo studio la ripresa/peggioramento del DM2 si associava ad un più basso BMI preoperatorio: tale dato rinforza l'ipotesi che pazienti con BMI più basso si giovano meno degli effetti positivi della chirurgia bariatrica sull'omeostasi glicemica.

Oltre alla mancata remissione del DM2 e alla ripresa di malattia in soggetti precedentemente in remissione, un'altra rilevante problematica associata alla chirurgia bariatrica è l'ipoglicemia postprandiale, riportata in una significativa proporzione di soggetti, soprattutto dopo BPG (96), che suggerisce che l'omeostasi glicemica, non può essere considerata pienamente e fisiologicamente ripristinata nonostante siano stati raggiunti i targets di glicemia a digiuno e  $\text{HbA}_{1c}$ . Pertanto, lo studio del profilo glicemico, non solo a digiuno ma anche post-prandiale, nonché l'identificazione di criteri più accurati di definizione di remissione si rendono necessari per valutare la reale efficacia della chirurgia bariatrica sul DM2.

## **2. Scopi**

Nonostante sia ben chiaro l'impatto delle incretine sulla secrezione insulinica e, quindi, nella regolazione dell'omeostasi glicemica, limitate informazioni sono disponibili sugli effetti delle modifiche entero-ormonali ed i precisi meccanismi fisiopatologici che sottendono la remissione del DM2 dopo BPG o SG, due tra le procedure bariatriche più frequentemente eseguite. Pertanto, al fine di chiarire il possibile coinvolgimento degli entero-ormoni nella risoluzione del DM2 dopo chirurgia bariatrica, il primo obiettivo delle mie ricerche è stato quello di:

- valutare il ruolo degli ormoni gastrointestinali nella regolazione dell'omeostasi glicemica in pazienti obesi con DM2 dopo BPG o SG.

È noto che gli interventi di chirurgia bariatrica, attuati per la terapia dell'obesità morbigena, sono in grado di influenzare positivamente il metabolismo lipidico a digiuno in soggetti con DM2. Gli studi sul metabolismo lipidico postprandiale sono piuttosto scarsi e non vi sono dati sulle relazioni esistenti tra le modifiche degli entero-ormoni e il metabolismo lipidico. Pertanto, al fine di chiarire queste relazioni e valutare l'impatto della chirurgia bariatrica sui lipidi postprandiali, lo scopo della seconda linea di ricerca che ho seguito durante il Corso di Dottorato è stato quello di:

- valutare gli effetti della chirurgia bariatrica sulla lipemia postprandiale e sugli ormoni gastrointestinali in pazienti obesi con DM2.

Sebbene la chirurgia bariatrica si sia dimostrata superiore alla terapia medica sia in termini di decremento ponderale che di miglioramento del profilo glico-metabolico e le principali linee guida nazionali ed internazionali includano l'opzione chirurgica quale possibile e valido trattamento, non è ancora ben definito il posizionamento del trattamento chirurgico nell'algoritmo terapeutico del DM2 associato ad obesità. Inoltre, mancano studi di confronto diretto tra la chirurgia bariatrica e la terapia medica con gli analoghi del GLP-1, una nuova classe di farmaci ipoglicemizzanti che, in virtù del loro effetto benefico sul peso corporeo, si configurano come terapia di scelta nel trattamento del DM2 associato ad obesità. Pertanto scopo del terzo lavoro è stato quello di:

- Valutare l'efficacia clinica della chirurgia bariatrica vs terapia medica con liraglutide sul decremento ponderale, controllo glicemico e profilo di rischio cardiovascolare in pazienti con DM2 ed obesità severa.

Infine, il complesso fenomeno della remissione del DM2 dopo chirurgia bariatrica, ad oggi esclusivamente definito sulla base del raggiungimento di specifici targets di glicemia a digiuno ed HbA<sub>1c</sub> in assenza di terapia ipoglicemizzante, per le importanti implicazioni ad esso associate,

necessita di essere meglio identificato attraverso ulteriori parametri che valutino l'andamento glicemico in condizioni di vita reale. Pertanto scopo dell'ultimo progetto è stato quello di:

- Valutare il profilo glicemico mediante monitoraggio in continuo in pazienti obesi in remissione del DM2 in condizioni di vita reale.

Per raggiungere questi obiettivi, sono stati effettuati 4 studi di cui riporterò i risultati nei capitoli seguenti e che sono stati oggetto di pubblicazioni (riportate in Appendice) o sono in fase di pubblicazione. Le metodologie comuni agli studi vengono descritte nell'apposita sezione, prima della descrizione degli studi stessi.

### **3. Metodologie**

#### ***Dosaggio degli entero-ormoni***

Il GLP-1 attivo è stato dosato con il metodo ELISA (Merck-Millipore) avente il 100% di reattività crociata con le 2 isoforme attive (7-36 amide e 7-37 glicina-estesa) ma nessuna reattività con le isoforme inattive (9-36 amide e 9-37 glicina-estesa), né con il GLP-2 o glucagone. Il GIP totale è stato dosato con metodo ELISA avente il 100% di reattività crociata con il GIP (1-42) e il GIP (3-42). La grelina totale è stata dosata con metodo ELISA avente il 100% di reattività crociata con la grelina desacilata, 80% con la grelina attiva (acilata) e il 70% di reattività con la grelina canina (97).

### ***Interventi chirurgici***

Tutti gli interventi sono stati effettuati in laparoscopia. La SG consisteva in una sutura delle pareti gastriche in continuazione con una linea ideale che proseguiva lungo il margine sinistro dell'esofago creando, così, un sottile canale in continuità con il duodeno allo scopo di limitare l'assunzione di cibo. Il fondo gastrico veniva asportato lasciando uno stomaco residuo di 60-150 ml. L'integrità della regione antro-pilorica e dell'innervazione vagale veniva preservata.

Il BPG consisteva nel creare una piccola tasca gastrica, orientata verticalmente, con un volume generalmente inferiore a 30 ml. Questo reservoir veniva isolato dalla restante parte dello stomaco ed era anastomizzato, mediante un'anastomosi del tipo Roux-en-Y, col digiuno, sezionato ad una distanza di 30-75 cm dal Treitz.

## **4. Studi**

### ***4.1. Valutazione degli ormoni gastrointestinali e dell'omeostasi glicemica un anno dopo chirurgia bariatrica in pazienti obesi con diabete mellito di tipo 2: confronto tra Roux-en-Y bypass gastrico e Sleeve gastrectomy***

#### **Introduzione**

Negli ultimi anni, la chirurgia bariatrica si è affermata come valido strumento per indurre una significativa e stabile perdita di peso con miglioramento o scomparsa delle co-morbidità associate all'obesità. Il miglioramento/risoluzione del DM2 è associato con l'entità della perdita di peso e il tipo di procedura bariatrica e va dal 55% dopo tecniche restrittive al 95% dopo interventi malassorbitivi. Gli effetti benefici sul metabolismo glucidico sono evidenti precocemente dopo l'intervento, prima che si realizzi una sostanziale perdita di peso, suggerendo il ruolo di meccanismi indipendenti dal decremento ponderale, probabilmente correlati alle modifiche entero-ormonali. Ci sono numerose evidenze che sia l'obesità che il DM2 siano associati ad un'alterata secrezione/azione degli ormoni gastrointestinali, GLP-1 e GIP, e che il ripristino di un più fisiologico profilo ormonale indotto dalla chirurgia bariatrica possa contribuire al miglioramento dell'omeostasi glicemica. Le conseguenze del riarrangiamento anatomico dopo interventi malassorbitivi o restrittivi-

malassorbitivi (DBP e BPG) sono state ampiamente esplorate, mentre minori informazioni sono disponibili riguardo alle tecniche restrittive di più recente ideazione come la SG. Scopo del presente studio prospettico è quello di fornire una descrizione complessiva delle variazioni di sensibilità e secrezione insulinica e delle modifiche degli entero-ormoni in pazienti con DM2 ed obesità di alto grado dopo BPG o SG per fare luce sui meccanismi fisiopatologici coinvolti nel decremento ponderale e nella remissione del DM2.

## **Materiali e metodi**

### *Selezione e descrizione dei partecipanti*

Lo studio è stato condotto su 33 pazienti obesi con diagnosi di DM2 secondo i criteri WHO, età compresa tra 30-65 anni e BMI > 40 o  $\geq 35$  kg/m<sup>2</sup> con DM2 scompensato in terapia medica, senza controindicazioni a SG o BPG. La scelta del tipo di intervento era fatta dal paziente insieme con il chirurgo dopo una piena spiegazione dei rischi e dei benefici connessi a ciascuna tecnica. In totale 14 soggetti sono stati sottoposti a BPG e 19 soggetti a SG. Tutti i partecipanti sono stati esaminati da un team multidisciplinare costituito da un diabetologo, un chirurgo, uno psichiatra ed un dietista. Le valutazioni clinico-metaboliche dei partecipanti sono state effettuate presso il Dipartimento

di Medicina Clinica e Chirurgia dell'Università Federico II mentre le procedure chirurgiche sono state effettuate dalla stessa equipe presso l'Unità Operativa di Chirurgia Generale ed Endoscopica, Ospedale "San Giovanni Bosco".

Il trattamento diabetologico preoperatorio era con: ipoglicemizzanti orali in 24 pazienti, ipoglicemizzanti orali ed insulina in 5 pazienti e dieta in 4 pazienti. Quattordici soggetti (74%) nel gruppo SG e 9 (64%) nel gruppo BPG erano in trattamento antipertensivo; cinque (36%) nel gruppo BPG e 3 (16%) nel gruppo SG erano in terapia ipolipidemizzante.

Il protocollo è stato approvato dal Comitato Etico locale; tutti i pazienti erano informati dei rischi e dei benefici di ogni procedura e fornivano un consenso informato scritto prima dello studio.

#### *Disegno dello studio*

I partecipanti erano studiati prima ed 1 anno dopo l'intervento bariatrico. In entrambe le occasioni, venivano raccolti i parametri antropometrici, clinici e laboratoristici insieme ai dati relativi all'uso dei farmaci. In aggiunta, tutti i pazienti erano sottoposti ad un pasto misto liquido (contenente 41 gr glucosio, 13 gr proteine e 9 gr grassi, 304-Kcal) della durata di tre ore per la valutazione di glicemia, insulinemia, C-peptide, GIP, GLP-1 e grelina.

### *Procedure analitiche*

Le concentrazioni plasmatiche di glucosio, colesterolo, trigliceridi e HDL-colesterolo sono state determinate mediante metodo enzimatico. L'emoglobina glicosilata è stata misurata mediante HPLC.

### *Misure*

Le risposte della glicemia e degli ormoni al pasto misto sono state valutate come aree sotto la curva (AUC) per tre ore, calcolate con la regola dei trapezi. La risposta degli ormoni gastrointestinali è stata valutata sia come picco massimo che come AUC durante il pasto misto. La secrezione e la sensibilità insulinica sono state calcolate sulla base delle concentrazioni plasmatiche di glucosio, insulina e C-peptide durante il pasto test.

La *sensibilità insulinica* è stata calcolata mediante indice OGIS (*Oral Glucose Insulin Sensitivity*) che, oltre ai valori di insulina e glicemia a diversi tempi dopo il carico, tiene conto anche dei parametri di peso, altezza e superficie corporea (98). Sono stati calcolati due indici di *secrezione insulinica*: l'Indice insulinogenico precoce ( $IGI_{30} = [C_{peptide30} - C_{peptide0}] / [Glicemia_{30} - Glicemia_0]$ ) e "totale" ( $IGI_{totale} = AUC_{C_{peptide}} / AUC_{Glicemia}$ ). La relazione tra insulino-sensibilità e insulino-secrezione, che descrive la risposta adattativa della beta cellula in risposta alle modifiche dell'insulino-sensibilità, è stata determinata dal

prodotto  $OGIS \times AUC_{C_{peptide}}$  (*adaptation index*, AI) (99). La remissione parziale del DM2 è stata definita come  $HbA_{1C} < 6.5\%$  e glicemia a digiuno  $< 126$  mg/dl in assenza di farmaci ipoglicemizzanti. La remissione completa è stata definita come  $HbA_{1C} < 6\%$  e glicemia a digiuno  $< 100$  mg/dl in assenza di farmaci ipoglicemizzanti.

### ***Analisi statistica***

Tutte le analisi statistiche sono state eseguite utilizzando il software statistico SPSS versione 13.0 (SPSS Inc., Chicago, IL). Le variabili continue sono state espresse come media  $\pm$  deviazione standard (M $\pm$ DS). Le variabili non normalmente distribuite sono state trasformate in logaritmo o sono stati utilizzati test non parametrici. I confronti tra pre- e post-operatorio all'interno di ciascun gruppo sono stati eseguiti utilizzando *t-test* per dati appaiati, mentre ANOVA è stato utilizzato per i confronti tra i gruppi. Il test del chi-quadrato è stato utilizzato per il confronto tra proporzioni. L'analisi della correlazione di Spearman è stata effettuata per valutare l'associazione tra le variabili. Un valore di  $p < 0.05$  è stato considerato statisticamente significativo.

## **Risultati**

### *Decremento ponderale e controllo metabolico*

Nella Tabella 2 sono riportate le principali caratteristiche cliniche e metaboliche dei pazienti studiati. Età, BMI, durata del DM2, controllo glicemico e profilo lipidico erano simili prima dell'intervento tra BPG e SG. Ad 1 anno, il decremento ponderale era simile con le due procedure (38-40 Kg); tuttavia, il BMI risultava significativamente più basso dopo BPG ( $p=0.005$ ).

Il compenso glicemico migliorava analogamente nei due gruppi con una riduzione media dell' HbA<sub>1c</sub> a 12 mesi di 2-2.5% rispetto ai valori basali. La remissione del DM2 dopo 12 mesi era raggiunta in 14 soggetti dopo SG (74%) e in 12 pazienti dopo BPG (86%) ( $p=0.28$ ).

Il trattamento antipertensivo dopo un anno dall'intervento era sospeso in tutti i soggetti tranne 3 nel gruppo BPG e 2 nel gruppo SG; quattro pazienti dopo BPG ed uno dopo SG sospendevano la terapia ipolipidemizzante.

#### *Risposta metabolica ed entero-ormonale al pasto misto*

Sia l'indice OGIS, parametro di insulino-sensibilità, che l'indice insulinogenico, parametro di secrezione insulinica, erano simili nei due gruppi prima dell'intervento e miglioravano nel postoperatorio senza significative differenze tra le due procedure (Tabella 3). In Figura 5 è riportata la risposta di glicemia, insulinemia e C-peptide al pasto misto dopo le due procedure.

**Tabella 2. Caratteristiche cliniche e metaboliche dei partecipanti prima e un anno dopo chirurgia bariatrica**

	BPG (n=14)			SG (n=19)			p <sup>2</sup>
	basale	1 anno	p <sup>1</sup>	Basale	1 anno	p <sup>1</sup>	
<b>Peso corporeo (kg)</b>	116±20	78±8	.001	130±29	90±17	.001	.02
<b>BMI (Kg/m<sup>2</sup>)</b>	42±6	28±2	.001	46±9	32±5	.001	.005
<b>Durata DM2 (anni)</b>	5±5	---	---	4±4	---	---	---
<b>Glicemia a digiuno (mg/dl)</b>	173±50	96±16	.001	151±46	104±18	.001	ns
<b>Insulinemia digiuno (μU/ml)</b>	30±18	11±4	.001	28±16	17±5	<.05	.01
<b>C-peptide digiuno (nmol/L)</b>	1.6±0.7	0.7±0.1	.001	1.3±0.5	0.9±0.2	<.05	.01
<b>HbA1c (%)</b>	8.1±2.2	5.7±0.6	<.05	7.6±2	5.6±0.6	<.05	ns
<b>Colesterolo totale (mg/dl)</b>	202±26	167±38	<.05	207±57	211±49	ns	.010
<b>HDL-colesterolo (mg/dl)</b>	44±8	51±10	<.05	44±10	59±16	<.05	ns
<b>LDL-colesterolo (mg/dl)</b>	120±25	91±32	<.05	127±48	136±44	ns	.013
<b>Trigliceridemia (mg/dl)</b>	195±76	114±78	.001	220±120	101±27	.001	ns
<b>Terapia I.O. (%)</b>	9 (64)	1 (7)	.001	15 (79)	2 (10)	.001	ns
<b>Terapia I.O.+insulina (%)</b>	3 (21)	0 (0)	.001	2 (10)	0 (0)	.001	ns
<b>Farmaci anti-ipertensivi (%)</b>	9 (64)	3 (21)	<.05	14 (74)	2 (10)	.001	ns
<b>Farmaci ipolipidemizzanti (%)</b>	5 (36)	1 (7)	ns	3 (16)	2 (10)	ns	ns

M ± SD ; I.O.= farmaci ipoglicemizzanti orali.

p<sup>1</sup>: differenze in ogni gruppo; p<sup>2</sup>: differenze tra interventi

**Tabella 3. Sensibilità insulinica e funzione beta-cellulare prima e 1 anno dopo chirurgia bariatrica**

	BPG (n=14)		SG (n=19)		p <sup>1</sup>
	basale	1 anno	Basale	1 anno	
<b>OGIS (ml min<sup>-1</sup> m<sup>-2</sup>)</b>	185±38	247±50 <sup>a</sup>	192±33	242±61 <sup>a</sup>	ns
<b>IGI 30 min (nmol/l/mg/dl)</b>	0.2±0.1	0.7±0.5 <sup>a</sup>	0.3±0.2	0.7±0.6 <sup>a</sup>	ns
<b>IGI 180 min (nmol/l/mg/dl)</b>	1757 ±4086	4458 ±8220 <sup>a</sup>	860 ±1565	3577± 6429 <sup>a</sup>	ns
<b>Adaptation Index</b>	2397 ±1230	4558±1747 <sup>a</sup>	2468±1056	4144±1395 <sup>a</sup>	ns

M ± SD; OGIS= oral glucose insulin sensitivity; IGI= indice insulinogenico.

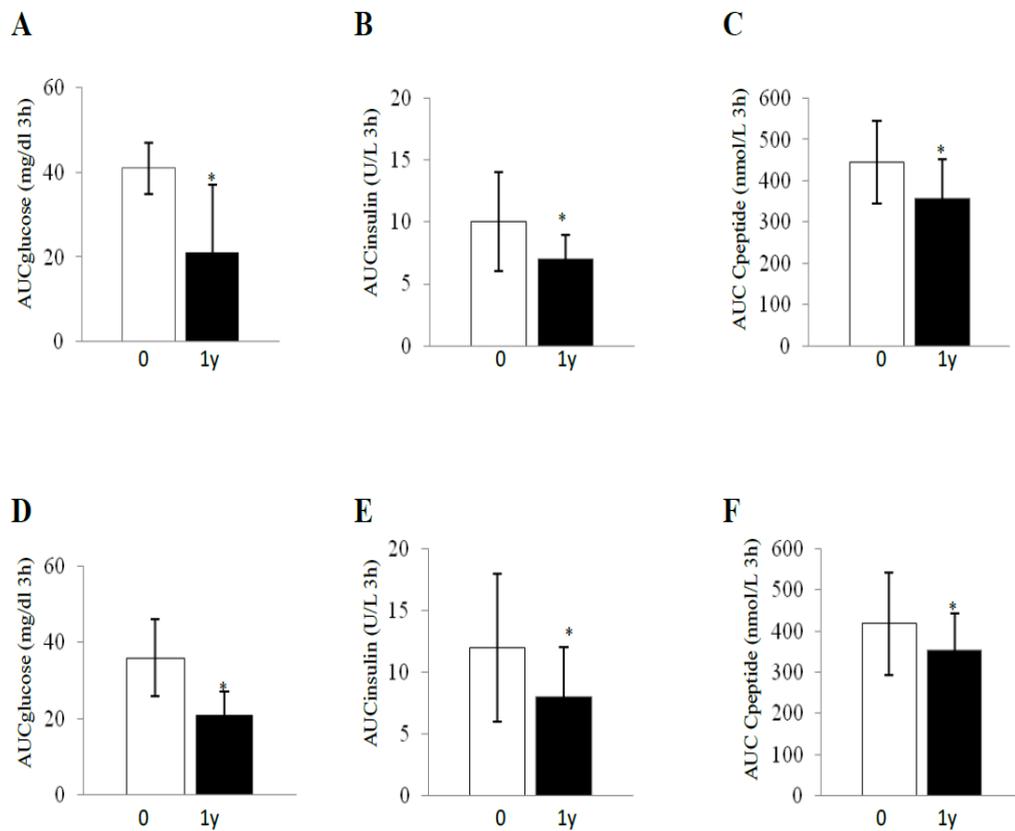
<sup>a</sup>= p<0.05 per differenze in ogni gruppo; p<sup>1</sup>: differenze tra gli interventi

La risposta del GLP-1 al pasto misto era sostanzialmente piatta in fase pre-operatoria in entrambi i gruppi. Dodici mesi dopo BPG, la risposta del GLP-1 sia espressa come picco di secrezione che come AUC risultava significativamente aumentata (p=0.001); lo stesso pattern si verificava dopo SG sebbene il rilascio di GLP-1 fosse significativamente più basso (p<0.05).

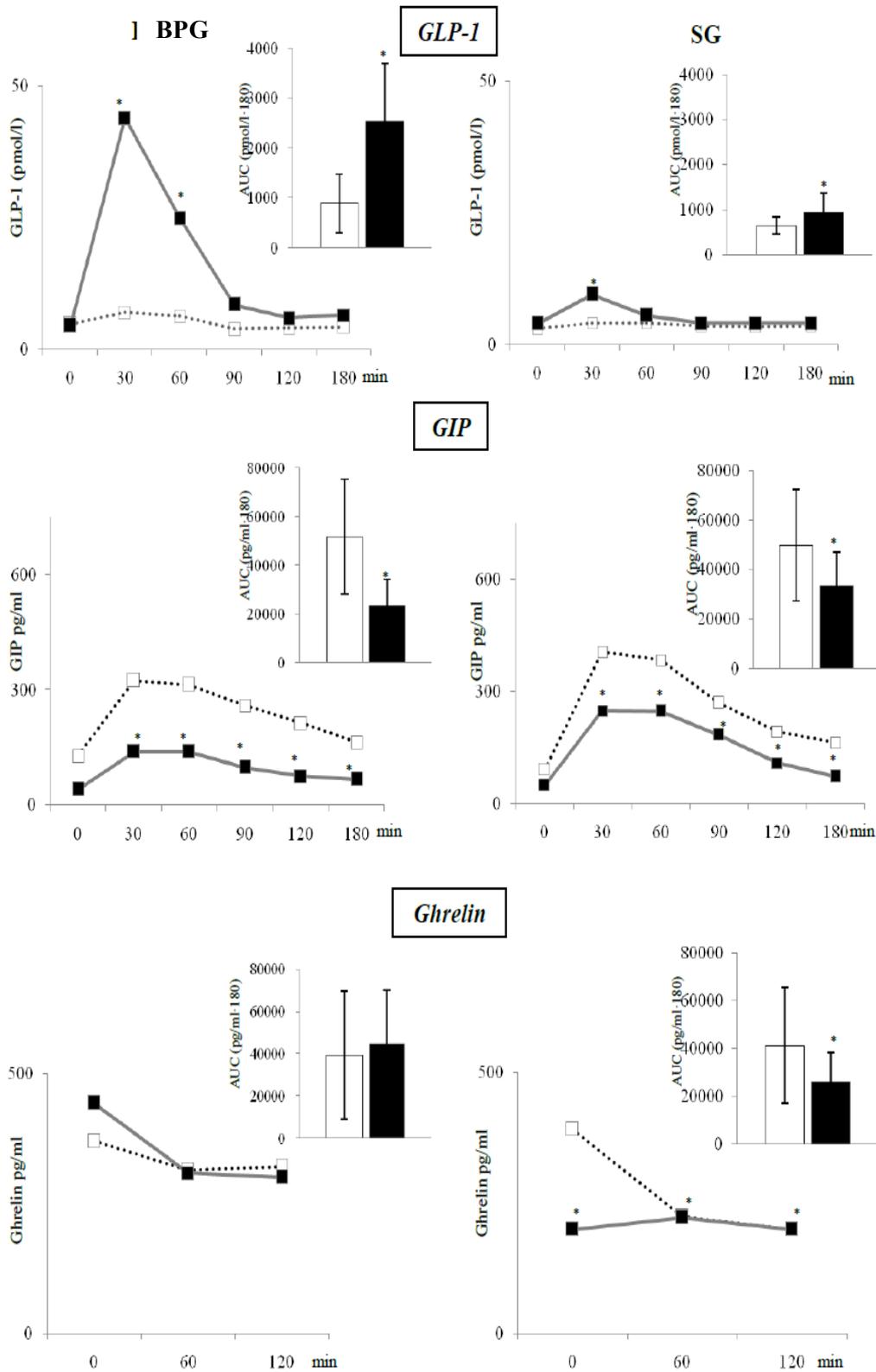
Le AUC basali del GIP erano simili nei due gruppi prima dell'intervento. A dodici mesi il GIP si riduceva in entrambi i gruppi ma maggiormente dopo BPG (p=0.001 tra le due procedure). I livelli di grelina rimanevano sostanzialmente invariati dopo BPG mentre risultavano marcatamente soppressi sia a digiuno che durante pasto misto dopo SG (Figura 6).

La perdita di peso a 12 mesi era l'unico fattore positivamente associato al miglioramento postoperatorio della secrezione e della sensibilità insulinica ( $r=0.359$ ,  $p<0.047$ ). Non vi era nessuna correlazione tra i parametri metabolici e le concentrazioni degli entero-ormoni.

**Figura 5. Risposta di glicemia, insulinemia e C-peptide (AUC) al pasto misto prima ed un anno dopo BPG (A-C) e SG (D-F).**



**Figura 6. Risposta gastro-entero-ormonale al pasto misto prima e dopo BPG o SG.**



## **Conclusioni**

I nostri dati indicano che, in pazienti obesi con DM2, sia BPG che SG sono in grado di indurre una significativa e sostenuta perdita di peso con una simile percentuale di remissione del diabete (76% dopo SG e 86% dopo BPG).

I due maggiori determinanti dell'omeostasi glicemica, la secrezione e la sensibilità insulinica, miglioravano della stessa entità dopo entrambe le procedure. Questi risultati sono in linea con quelli di Keidar A et al (100) e Nannipieri et al. (93) ma differiscono da quelli di Kashyap et al. (101), Lee et al. (102) e Schauer et al (103) che dimostrano la superiorità di BPG rispetto a SG in termini di miglioramento metabolico. Tuttavia, differenze nel decremento ponderale raggiunto con le due tecniche, le popolazioni studiate, la lunghezza del follow-up e i metodi sperimentali per valutare le funzioni metaboliche possono aver contribuito a tali discrepanze.

A fronte di un simile impatto clinico, le due procedure chirurgiche inducono differenti modifiche del profilo di secrezione degli ormoni gastrointestinali con un maggiore recupero della secrezione di GLP-1 ed una maggiore soppressione di GIP dopo BPG ed una marcata soppressione della grelinemia dopo SG.

Il riscontro di livelli di GLP-1 aumentati dopo BPG è ben documentato (80, 104), mentre dati riguardanti i livelli di GIP sono poco numerosi ed

in parte contraddittori; alcuni ricercatori hanno riportato un aumento delle concentrazioni plasmatiche di GIP (105), non confermato da altri (106). La ragione di questa discrepanza non è chiara e potrebbe essere attribuita alle differenze nei metodi analitici (dosaggio del GIP totale vs isoforma attiva), alle caratteristiche della popolazione studiata (diabetici vs non diabetici), alla lunghezza dell'ansa anastomotica e alla durata del follow-up.

Dopo SG invece la modifica ormonale prevalente è rappresentata dalla marcata soppressione della grelinemia, conseguenza della rimozione del fondo gastrico.

Il riscontro che BPG e SG sono ugualmente efficaci sulla perdita di peso e sul miglioramento del metabolismo, a fronte di un differente pattern nel profilo ormonale, induce ad ipotizzare che le variazioni gastro-entero-ormonali non sono il principale meccanismo responsabile del miglioramento metabolico, almeno dopo diversi mesi dall'intervento chirurgico. Questa ipotesi è supportata dall'analisi di correlazione che mostra che il miglioramento dei parametri metabolici è principalmente associato con la perdita di peso, mentre nessuna relazione è evidente con la concentrazione degli ormoni gastrointestinali.

In linea con questa ipotesi, recenti studi hanno dimostrato che l'aumento del GLP-1 dopo chirurgia bariatrica non correla con il ripristino della funzione beta-cellulare e che il blocco del recettore del GLP-1 con

exendin (9-39) compromette solo molto limitatamente la tolleranza al glucosio in soggetti in remissione del diabete dopo bypass gastrico (107). E' stato recentemente sottolineato che l'importanza relativa dei diversi meccanismi sottostanti la remissione del diabete dopo SG o BPG può variare in relazione al tempo in cui vengono studiati. Precocemente dopo l'intervento chirurgico, il miglioramento del controllo glicemico è dovuto ad un aumento della sensibilità epatica all'insulina e al miglioramento della la funzione beta-cellulare conseguente all'incrementata secrezione postprandiale di GLP-1. Successivamente, con la progressiva perdita di peso il miglioramento dell'insulino-sensibilità periferica diviene il meccanismo prevalente (108).

D'altra parte, un certo numero di nuovi meccanismi può contribuire al miglioramento della tolleranza al glucosio dopo chirurgia bariatrica, compresa l'attivazione neuronale (109), modificazioni del microbiota intestinale (91), e cambiamenti nell'espressione dei geni che regolano il metabolismo del glucosio e degli acidi grassi indotti dalla ridotta disponibilità di nutrienti (110).

Nella nostra casistica abbiamo osservato una riduzione significativa della trigliceridemia a digiuno dopo entrambe le procedure, come riportato in studi precedenti (111, 112), mentre il colesterolo totale ed LDL si riducevano solo dopo BPG. Questo risultato è in linea con recenti studi che dimostrano che le procedure bariatriche influiscono diversamente sul

metabolismo del colesterolo con maggiori riduzioni dopo procedure malassorbitive (bypass bilio-intestinale) rispetto agli interventi restrittivi ed indipendentemente dalla perdita di peso e dall'insulino-resistenza (113).

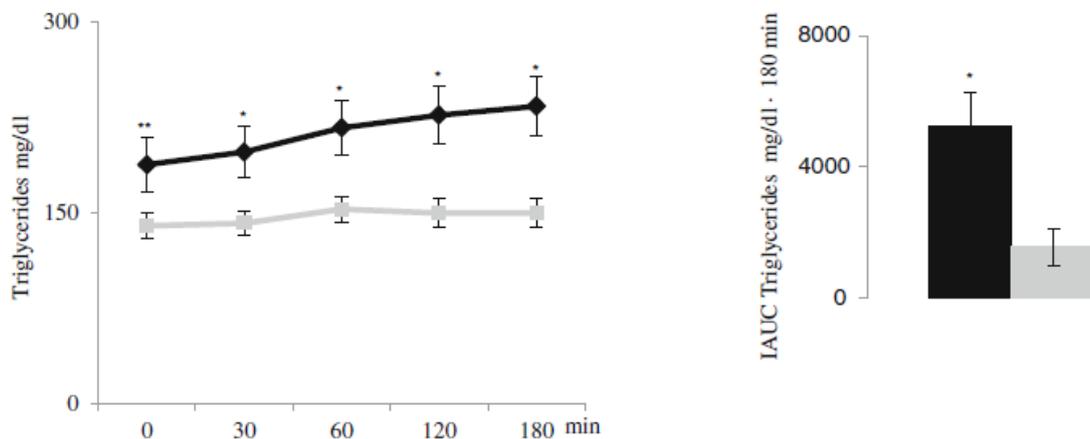
In conclusione, BPG ed SG esercitano simili effetti benefici in termini di perdita di peso e di remissione del DM2 a fronte di notevoli differenze nel profilo entero-ormonale. Questi dati mettono in discussione il ruolo primario delle incretine nel mediare il miglioramento metabolico del DM2 associato ad obesità dopo SG o BPG.

#### ***4.2. Effetti a lungo termine della chirurgia bariatrica sulla lipemia postprandiale e sugli ormoni gastrointestinali in pazienti obesi con diabete mellito di tipo 2***

##### **Introduzione**

Gli interventi di chirurgia bariatrica, attuati per la terapia dell'obesità morbigena, sono in grado di influenzare positivamente il metabolismo glucidico e lipidico a digiuno in soggetti con DM2, con effetti più pronunciati dopo procedure malassorbitive e miste (BPG) rispetto a tecniche esclusivamente restrittive (BGR) (113). Riguardo al colesterolo, si ipotizza che la riduzione nei livelli totali e di LDL-colesterolo dopo procedure malassorbitive e miste sia conseguente sia ad una riduzione della sintesi che dell'assorbimento, mentre le procedure restrittive non sembrano modificarne in maniera sostanziale i livelli (113, 114). Pochi dati sono disponibili sull'impatto della chirurgia bariatrica sul metabolismo lipidico postprandiale: tali informazioni potrebbero avere un'importante ricaduta clinica dal momento che le alterazioni del metabolismo lipidico postprandiale rappresentano un fattore indipendente di rischio cardiovascolare (115, 116). Abbiamo precedentemente dimostrato una riduzione del 70% della trigliceridemia postprandiale in pazienti obesi con DM2 due settimane dopo SG o BPG (Figura 7; 111).

**Figura 7. Risposta dei trigliceridi al pasto misto prima e 2 settimane dopo chirurgia bariatrica.**



da Griffo E, Nosso G, Lupoli R et al (111).

IAUC<sub>Trigliceridi</sub> prima (nero) e 2 settimane dopo (grigio) chirurgia bariatrica. M±SE. \* p <0.001 vs. 2 weeks; \*\*p<0.05 vs. 2 weeks

Un simile miglioramento nelle lipoproteine ricche in trigliceridi è stato osservato tre mesi dopo SG o BPG sia in pazienti diabetici che non diabetici ed indipendentemente dalla perdita di peso (117, 118). Poche informazioni sono disponibili sulle modifiche dei lipidi postprandiali a lungo termine, quando viene raggiunto un più stabile equilibrio metabolico-ormonale. Ci sono evidenze cliniche che l'attivazione farmacologica del recettore del GLP-1 sia in grado di migliorare il profilo lipidico in pazienti con DM2, indicando che il GLP-1 ha il potenziale di influenzare favorevolmente il metabolismo lipidico. Non è chiaro se le modifiche del GLP-1 conseguenti alla chirurgia bariatrica condizionino il metabolismo lipidico, anche perchè la maggior parte degli studi valutano la lipidemia solo nello stato di digiuno. Lo scopo del presente studio è

stato quello di valutare gli effetti a due anni di SG e BPG sul profilo lipidico a digiuno e postprandiale in soggetti obesi con DM2 e la relazione delle modifiche dei lipidi con le variazioni del GLP-1.

## **Soggetti e metodi**

### *Partecipanti*

Sono stati studiati 19 pazienti obesi con DM2. I criteri di inclusione erano: età 30-65 anni, BMI  $\geq 40$  o  $\geq 35$  Kg/m<sup>2</sup> in scarso controllo glicemico in terapia medica, assenza di terapia ipolipidemizzante ed eleggibilità ad SG o BPG. Le valutazioni clinico-metaboliche dei partecipanti sono state effettuate presso il Dipartimento di Medicina Clinica e Chirurgia dell'Università Federico II mentre le procedure chirurgiche sono state effettuate dalla stessa équipe presso l'Unità Operativa di Chirurgia Generale ed Endoscopica, Ospedale "San Giovanni Bosco".

Il protocollo è stato approvato dal Comitato Etico locale; tutti i pazienti erano informati dei rischi e dei benefici di ogni procedura e fornivano un consenso informato scritto prima dello studio.

### *Disegno dello studio*

I partecipanti erano studiati prima e 2 anni dopo l'intervento bariatrico. In entrambe le occasioni, venivano raccolti i parametri antropometrici,

clinici e laboratoristici insieme ai dati relativi all'uso dei farmaci. In aggiunta, tutti i pazienti erano sottoposti ad un pasto misto liquido (contenente 41 gr glucosio, 13 gr proteine e 9 gr grassi, 304-Kcal) della durata di tre ore per la valutazione di glicemia, insulinemia, C-peptide, colesterolo totale, HDL-colesterolo, trigliceridi e GLP-1. A due anni era altresì valutato l'introito calorico giornaliero mediante diario alimentare di 7 giorni.

### *Calcoli*

L'indice HOMA-IR è stato calcolato con la seguente formula: glicemia a digiuno (mg/dl) x insulina a digiuno ( $\mu\text{U/l}$ )/405. Le risposte dei lipidi e del GLP-1 al pasto misto sono state valutate come aree incrementali, escludendo i valori al basale (IAUC) e calcolate con il metodo trapezoidale.

### *Analisi statistica*

Tutte le analisi statistiche sono state eseguite utilizzando il software statistico SPSS versione 13.0 (SPSS Inc., Chicago, IL). Le variabili continue sono state espresse come media  $\pm$  deviazione standard. Le variabili non normalmente distribuite sono state trasformate in logaritmo o sono stati utilizzati test non parametrici. Le differenze all'interno di ogni gruppo sono state valutate mediante *t-test* per dati appaiati mentre per i confronti tra i due gruppi è stato effettuato il *t-test* per dati non appaiati. Le associazioni bivariate sono state valutate mediante

correlazione di Pearson. Un valore di  $p < 0.05$  è stato considerato statisticamente significativo.

## Risultati

I parametri antropometrici e metabolici dei partecipanti prima e 2 anni dopo chirurgia sono presentati nella Tabella 4. I soggetti avevano simili caratteristiche preoperatorie. La dieta seguita dai pazienti dopo l'intervento era simile nei due gruppi (Kcal:  $1390 \pm 503$  vs  $1386 \pm 572$ ; L %:  $31 \pm 3$  vs  $35 \pm 7$ ; CHO %:  $53 \pm 7$  vs  $49 \pm 9$ ; P %:  $17 \pm 5$  vs  $19 \pm 5$ ).

**Tabella 4. Caratteristiche cliniche e metaboliche dei partecipanti prima e due anni dopo chirurgia bariatrica**

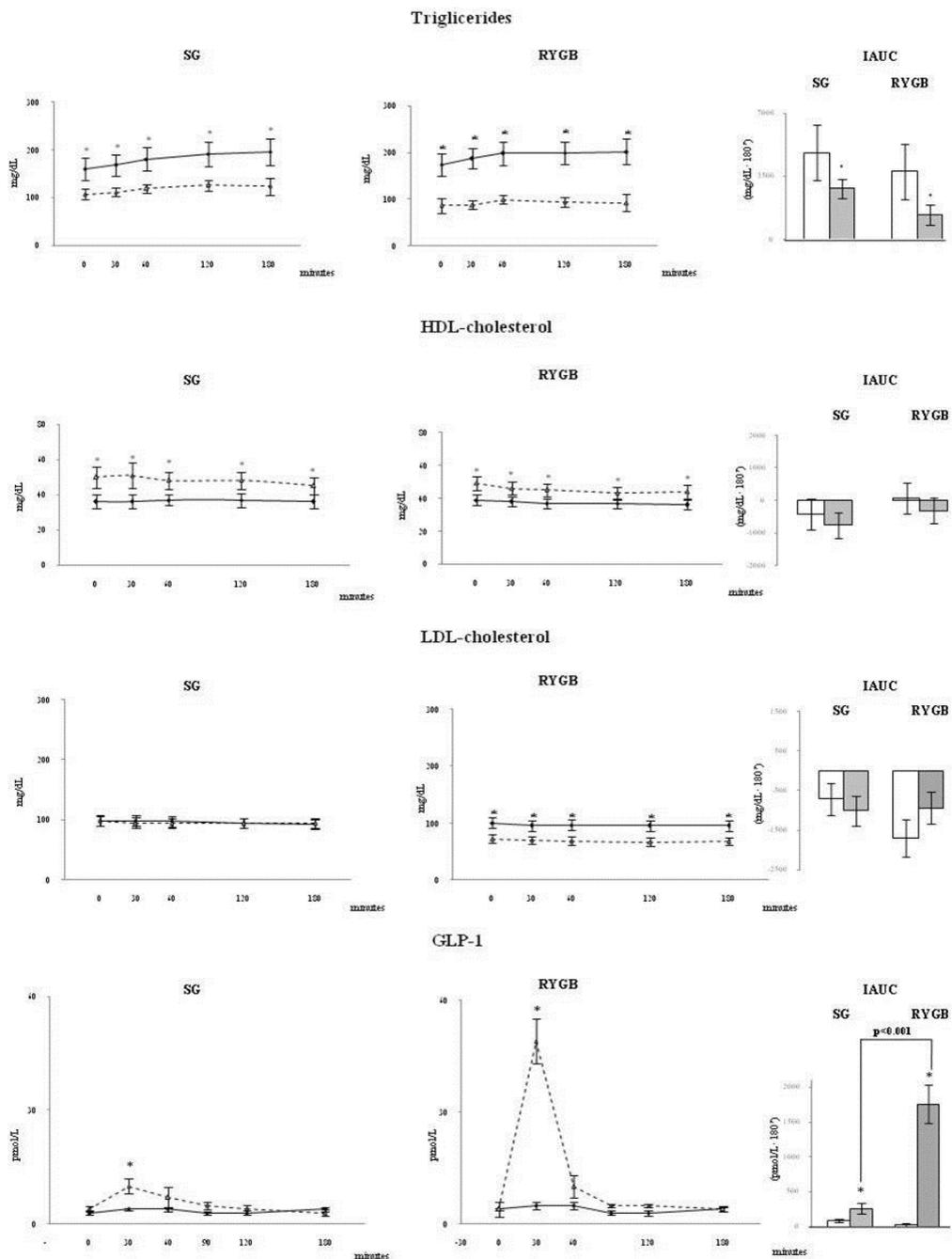
	Sleeve Gastrectomy (n=10)			Gastric Bypass (n=9)			SG vs RYGB		
	pre-surgery	2 yr	<i>p value</i> (2 yr vs pre-surgery)	pre-surgery	2 yr	<i>p value</i> (2 yr vs pre-surgery)	<i>p value</i> pre-surgery	<i>p value</i> 2 yr	<i>p value</i> 2 yr - presurgery
Male/female	4/6	-	-	5/5	-	-	-	-	-
Age (years)	47±9	-	-	46±7	-	-	0.804	-	-
Diabetes duration (years)	5±4	-	-	4±5	-	-	0.521	-	-
Body weight (kg)	119±16	89±23	0.008	116±15	81±11	0.010	0.789	0.474	0.561
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	42±6	32±7	0.007	42±6	28±5	0.008	0.989	0.318	0.471
HbA1c (%)	7.6±1	5.7±0.2	0.021	8.0±2	5.7±0.8	0.010	0.596	0.882	0.512
Fasting plasma glucose (mg/dl)	157±52	105±21	0.010	166±52	102±20	0.012	0.727	0.766	0.444
Fasting plasma insulin (mU/ml)	25±10	13±7	0.037	23±11	12±8	0.019	0.760	0.601	0.794
HOMA-IR	9±4	3±2	0.012	12±7	3±1	0.011	0.299	0.432	0.571
Total Cholesterol (mg/dl)	171±34	173±38	0.916	188±40	139±21	0.006	0.357	0.019	0.004
LDL-Cholesterol (mg/dl)	99±32	98±31	0.940	101±28	73±23	0.042	0.821	0.040	0.032
HDL-Cholesterol (mg/dl)	36±11	50±14	0.002	39±8	49±11	0.010	0.604	0.730	0.300
Triglycerides (mg/dl)	160±67	107±19	0.026	174±73	86±14	0.005	0.752	0.752	0.557
<b>Therapy n (%)</b>									
Diet alone	1 (10)	9 (100)	-	2 (22)	9 (100)	-	-	-	-
Oral antidiabetic drugs	9 (90)	1 (10)	-	6 (67)	0 (0)	-	-	-	-
Insulin	0 (0)	0 (0)	-	1 (11)	0 (0)	-	-	-	-
Anti-hypertensive drugs	9 (90)	2 (20)	-	4 (44)	1 (11)	-	-	-	-

Dopo l'intervento, il BMI si riduceva della stessa entità nei due gruppi. Il controllo glicemico migliorava significativamente con entrambe le procedure con una riduzione media dell' HbA<sub>1c</sub> di 1.9 % dopo SG e di 2.3 % dopo BPG. L'insulinemia a digiuno e l' HOMA-IR erano ridotti di 2-4 volte con entrambi gli interventi. I trigliceridi a digiuno si riducevano marcatamente mentre il colesterolo HDL aumentava sia dopo SG che BPG. Al contrario, sia il colesterolo totale che LDL si riducevano significativamente di ~ 25% dopo BPG mentre rimanevano sostanzialmente invariati dopo SG, con una differenza significativa tra le due procedure ( $p < 0.05$ ). I trigliceridi postprandiali si riducevano marcatamente mentre il colesterolo HDL aumentava dopo SG e BPG (Figura 8).

I livelli postprandiali di LDL-colesterolo erano significativamente più bassi dopo BPG rispetto a SG ( $p < 0.05$ ). La risposta del GLP-1 al pasto, molto piatta nel pre-operatorio, aumentava dopo chirurgia, con un maggiore incremento dopo BPG (IAUC:  $1753 \pm 271$  vs  $256 \pm 78$  pmol/L·180 min,  $p < 0.001$ ). Il picco di secrezione del GLP-1 era  $10 \pm 2$  pmol/L dopo SG e  $49 \pm 6$  pmol/L dopo BPG ( $p = 0.001$ ) (Figura 8). La riduzione della trigliceridemia a digiuno era positivamente correlata con la perdita di peso ( $R = 0.470$ ,  $p = 0.049$ ) e la riduzione dell' HOMA-IR ( $R = 0.679$ ,  $p = 0.001$ ). Nel gruppo BPG, il colesterolo LDL era

inversamente correlato al picco di secrezione del GLP-1, aggiustato per valori pre-intervento ( $R=-0.733$ ,  $p=0.007$ ).

**Figura 8. Risposta al pasto misto di trigliceridi, HDL-colesterolo, LDL-colesterolo e GLP-1 prima e dopo chirurgia bariatrica**



Pre-intervento: linea continua ed istogramma bianco; due anni post-intervento: linea tratteggiata ed istogramma grigio;  $M \pm SEM$ ;  $*P < 0.05$ , pre- vs post-intervento

## **Conclusioni**

Il presente studio mostra che SG e BPG esercitano simili effetti su peso corporeo, controllo glicemico, trigliceridemia a digiuno e post-prandiale ed HDL-colesterolo, mentre BPG si mostra più efficace nella riduzione del colesterolo, sia totale che LDL (- ~30% rispetto a SG). Questa differenza è probabilmente legata al tipo di intervento, dal momento che l'introito dietetico era sia quantitativamente che qualitativamente simile nei due gruppi.

Tale dato è in linea con precedenti studi che hanno mostrato una riduzione del colesterolo dopo procedure malassorbitive o miste ma non dopo interventi restrittivi (113, 114). Un recente studio ha dimostrato che le tecniche malassorbitive, ma non quelle restrittive, riducono l'assorbimento degli steroli e incrementano sia la sintesi che il catabolismo del colesterolo con una riduzione netta del colesterolo totale e LDL (113). E' da sottolineare che tale effetto è indipendente dalla perdita di peso e dal miglioramento del metabolismo glucidico e della sensibilità insulinica (113, 114), suggerendo la possibilità che fattori attivati dal riarrangiamento intestinale possano contribuire alla riduzione del colesterolo. La significativa correlazione inversa tra il colesterolo LDL e la risposta del GLP-1 al pasto emersa nel presente studio, supporta l'ipotesi che il ripristino della secrezione del GLP-1 dopo BPG possa contribuire alla riduzione dei livelli plasmatici del colesterolo. Ulteriore

conferma deriva da studi nel modello animale che mostrano che il GLP-1 è capace di sopprimere la lipogenesi epatica attraverso l'attivazione di AMPK (119) ed i geni coinvolti nella  $\beta$ -ossidazione degli acidi grassi (120). Inoltre, diverse evidenze documentano che il BPG modifica il circolo entero-epatico degli acidi biliari, con incremento della sintesi degli acidi biliari dal colesterolo e conseguente riduzione del colesterolo circolante (121, 122).

BPG e SG, a fronte di un diverso impatto sui livelli di colesterolemia, causano una simile riduzione della trigliceridemia sia a digiuno che postprandiale. La riduzione della trigliceridemia a digiuno è attribuibile alla perdita di peso e al miglioramento della resistenza insulinica mentre il decremento dei livelli postprandiali è probabilmente conseguenza del ridotto assorbimento dei trigliceridi e/o sintesi dei chilomicroni. Questa ipotesi è supportata da un recente studio che mostra una ridotta produzione di VLDL e chilomicroni dopo BPG e SG (123).

In conclusione, sia BPG che SG riducono stabilmente sia la trigliceridemia a digiuno che postprandiale ed aumentano il colesterolo HDL. Il colesterolo LDL si riduce solo dopo BPG; questo effetto – probabilmente mediato dal ripristino chirurgia-indotto del GLP-1 – sottolinea il ruolo cruciale dell'intestino nella regolazione del metabolismo lipidico.

***4.3 Efficacia clinica della chirurgia bariatrica vs terapia medica con liraglutide in pazienti con diabete mellito di tipo 2 e obesità severa: valutazione retrospettiva a 12 mesi***

**Introduzione**

La chirurgia bariatrica induce un considerevole miglioramento dell'omeostasi glicemica e delle altre comorbidità associate all'obesità e, soprattutto, riduce in maniera significativa la mortalità generale e cardiovascolare (CV), così come l'incidenza di cancro (124, 125).

Le terapie basate su incretine rappresentano una nuova classe di farmaci ipoglicemizzanti che mimano gli effetti del GLP-1. L'attivazione farmacologica del recettore del GLP-1 è nota incrementare la secrezione insulinica, inibire la secrezione di glucagone e l'output epatico di glucosio e ritardare lo svuotamento gastrico, migliorando il controllo glicemico (126). Diversi trials clinici hanno dimostrato che gli agonisti del recettore del GLP-1 (exenatide, lixisenatide e liraglutide), aggiunti alla terapia con metformina e/o ad altri ipoglicemizzanti orali, producono un significativo miglioramento nel controllo glicemico in assenza di significativi episodi ipoglicemici o incremento di peso (127). Inoltre, studi comparativi di confronto tra exenatide e liraglutide, hanno documentato migliori risultati con quest'ultima molecola sia in termini di controllo glicemico che di effetti potenzialmente favorevoli sui fattori di rischio CV (128, 129). Grazie a queste caratteristiche, i farmaci incretino-

mimetici sono raccomandati in *add-on* alla terapia con metformina, in pazienti non ben controllati (130). Ad oggi, non sono disponibili studi di confronto sull'efficacia clinica della chirurgia bariatrica vs terapia medica con agonisti recettoriali del GLP-1.

Lo scopo del presente studio è stato quello di confrontare retrospettivamente l'effetto a 12 mesi della chirurgia bariatrica (BPG o SG) vs terapia medica con liraglutide sul peso corporeo, controllo glicemico e profilo di rischio CV in pazienti con DM2 e obesità severa.

### **Materiali e metodi**

Dal database dei pazienti diabetici afferenti all'UOC di Diabetologia del Dipartimento di Medicina Clinica e Chirurgia dell'AOU Federico II di Napoli, sono stati estratti i dati relativi a 31 pazienti con DM2 ed obesità severa sottoposti a chirurgia bariatrica (BS) e di 31 pazienti diabetici con comparabile grado di obesità posti in trattamento medico con liraglutide (MTL) nel periodo 2009-2013. Sono stati raccolti i dati all'inizio e dopo 12 mesi di trattamento (medico o chirurgico) relativi a: parametri antropometrici, compenso glicemico, profilo lipidico, pressione arteriosa, terapia del diabete e delle altre comorbidità ed effetti collaterali.

Nel gruppo MTL, liraglutide era aggiunta alla terapia ipoglicemizzante in corso (metformina: 21 pazienti; metformina + sulfonilurea e/o acarbiosio:

10 soggetti); il dosaggio utilizzato è stato di 1.2 mg/die in 20 soggetti e di 1,8 mg/die nei restanti partecipanti. Nel gruppo BS, 15 pazienti erano stati sottoposti a BPG e 16 a SG; venivano effettuati controlli postoperatori periodici e tutti i soggetti assumevano multivitaminici e sali minerali, che includevano calcio, ferro, folati, vitamina D, A e B12 in accordo con le più recenti Linee Guida Internazionali (131).

#### *Metodi di laboratorio*

Le concentrazioni plasmatiche di glucosio, colesterolo, trigliceridi ed HDL-colesterolo sono state determinate mediante metodo enzimatico. Il valore del colesterolo LDL è stato calcolato mediante la formula di Friedwald. L'HbA<sub>1c</sub> è stata misurata mediante metodo HPLC. Tutte le analisi biochimiche sono state eseguite in laboratorio centralizzato.

#### **Analisi statistica**

I risultati sono stati analizzati ed espressi come  $M \pm DS$ . Le differenze all'interno dei gruppi e tra i gruppi sono state valutate mediante t-test di Student per dati appaiati, per confronto tra medie o chi-quadro, quando appropriato. L'analisi dei confronti a 12 mesi sono state aggiustate per età, sesso, BMI e durata del diabete. È stato considerato significativo un valore di  $p < 0.05$ . I *goals* terapeutici per glicemia, pressione arteriosa e controllo lipidico erano rispettivamente definiti come  $HbA_{1c} \leq 7\%$ ,

pressione arteriosa  $\leq 140/90$  mmHg e colesterolo non HDL  $\leq 130$  mg/dl. Il rischio assoluto di coronaropatia è stato calcolato mediante UKPDS risk score (132).

## **Risultati**

Nella Tabella 5 sono riportate le principali caratteristiche cliniche e metaboliche dei partecipanti allo studio. I pazienti BS erano più giovani ( $47 \pm 8$  anni) ed avevano un BMI medio pre-intervento maggiore ( $44 \pm 7$  kg/m<sup>2</sup>) rispetto ai soggetti MTL (età:  $56 \pm 9$  anni,  $p < 0.001$ ; BMI:  $40 \pm 4$  kg/m<sup>2</sup>,  $p < 0.03$ ). Il compenso glicemico era insoddisfacente in entrambi i gruppi con una HbA<sub>1c</sub> media di circa 7.5 %. I pazienti del gruppo chirurgico presentavano livelli pre-operatori di colesterolo non-HDL e di trigliceridi più elevati e HDL-colesterolo più basso rispetto ai pazienti MTL ( $p < 0.05$  per tutti).

**Tabella 5. Caratteristiche basali dei partecipanti e variazioni a 12 mesi**

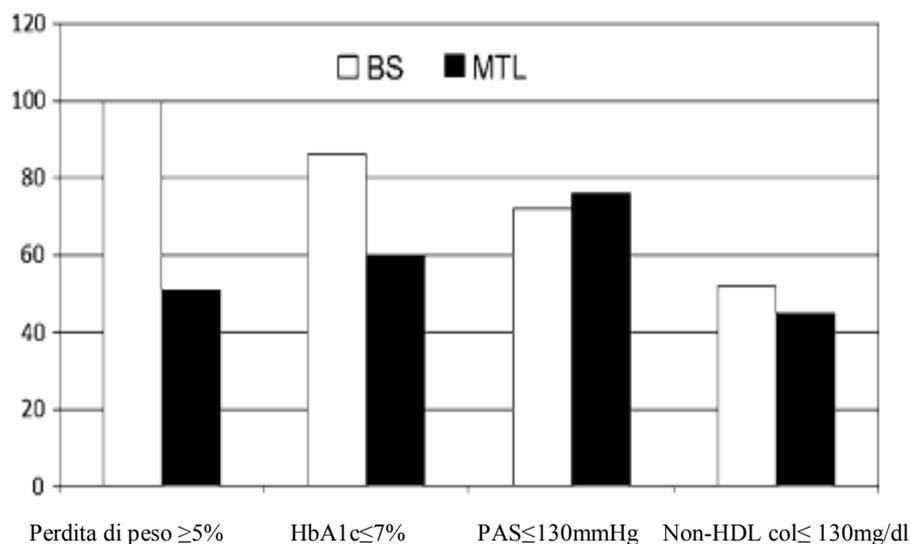
	BS (n = 31)		MTL (n = 31)		p value between basal	p value between 12 m	p value between $\Delta$
	Basal	12 m	Basal	12 m			
	$\Delta$	$\Delta$	$\Delta$	$\Delta$			
Weight (Kg)	122 ± 24	83 ± 14**	107 ± 15	102 ± 15**	-5 ± 8	<0.001	<0.001
BMI (Kg/m <sup>2</sup> )	44 ± 7	30 ± 4**	40 ± 4	39 ± 5*	-1.4 ± 3	<0.001	<0.001
FPG (mg/dl)	163 ± 65	79 ± 16**	171 ± 56	138 ± 44*	-32 ± 57	<0.001	<0.005
HbA1c (%) (mmol/mol)	7.9 ± 2.1	5.7 ± 0.7**	8.4 ± 1.6	7.0 ± 1.3**	-1.3 ± 1.3	<0.005	ns
	63 ± 21	39 ± 7	68 ± 16	53 ± 15	15 ± 14		
Total Chol (mg/dl)	211 ± 43	194 ± 50	196 ± 32	180 ± 30*	-16 ± 27	ns	ns
HDL Chol(mg/dl)	44 ± 9	58 ± 15**	51 ± 14	49 ± 11	-1.6 ± 10	<0.05	<0.001
Non-HDL Chol. (mg/dl)	166 ± 42	135 ± 47**	145 ± 27	131 ± 27*	-14 ± 28	<0.05	ns
Triglyceride(mg/dl)	190 ± 79	99 ± 54**	145 ± 38	152 ± 64	6.4 ± 59	<0.05	<0.001
SBP (mmHg)	128 ± 13	128 ± 17	134 ± 20	128 ± 9	-6 ± 21	ns	ns
DBP (mmHg)	76 ± 6	76 ± 9	84 ± 12	81 ± 5	-3 ± 14	ns	ns
UKPDS risk score	8.5 ± 4.5	3.9 ± 2.4**	13.6 ± 8.7	8.9 ± 5.2	-4.7 ± 5.8	<0.001	ns

FPG= glicemia a digiuno, SBP= pressione arteriosa sistolica, DBP= pressione arteriosa diastolica; D variazione assoluta (12 mesi-basale) \* p<0.05, \*\*p<0.001 basale vs 12 mesi in ogni gruppo

Sia la pressione arteriosa sistolica che diastolica era simile nei due gruppi al baseline. Ventitré pazienti (75%) nel gruppo BS e 17 (55%) nel gruppo MTL erano ipertesi, mentre la percentuale di dislipidemia in entrambi i gruppi era approssimativamente del 30–40 % (Tabella 5). L' UKPDS risk score era lievemente, ma non significativamente, più alto in MTL ( $13.6 \pm 8.7$  e  $8.5 \pm 4.5$ ;  $p = ns$ ).

Dopo 12 mesi (Tabella 5), nei pazienti sottoposti a chirurgia bariatrica si è osservato un importante decremento ponderale (in media: -38 Kg,  $p < 0.001$ ) mentre nei pazienti MTL il decremento ponderale medio era di circa 5 Kg ( $p = 0.001$ ) con il 51 % dei soggetti che perdevano  $\geq 5$  % del peso corporeo (Figura 9).

**Figura 9** Proporzione di pazienti che raggiungono gli obiettivi terapeutici nei due gruppi di trattamento



Il compenso glicemico migliorava in entrambi i gruppi, come evidenziato dalla riduzione dell' HbA<sub>1c</sub> (-1.3 % nel gruppo MTL, p<0,001 e -2.2 % dopo chirurgia bariatrica, p<0.001). Nel gruppo BS, il colesterolo non-HDL ed i trigliceridi si riducevano marcatamente (p<0.001), mentre il colesterolo HDL aumentava di circa il 30 % (p<0.001) a 12 mesi. Dopo MTL, vi era una significativa riduzione del colesterolo totale e non-HDL, mentre i trigliceridi e il colesterolo HDL rimanevano invariati. L' UKPDS risk score si riduceva significativamente in entrambi i gruppi, sebbene rimaneva più elevato in MTL rispetto a BS (8.9 ± 5.2 vs 3.9 ± 2.4; p<0.001). La Figura 9 illustra la proporzione di pazienti che incontrava gli obiettivi terapeutici per glicemia, pressione arteriosa e controllo lipidico a 12 mesi. Il target di HbA<sub>1c</sub> ≤7 % era raggiunto in 86 e 60 % dei soggetti BS e MTL, rispettivamente (p<0.03). La proporzione di pazienti che raggiungeva l'obiettivo pressorio e i *goals* dei lipidi non differiva tra i due gruppi. Tuttavia, la maggior parte dei pazienti trattati chirurgicamente sospendeva la terapia farmacologica, al contrario nessuno del gruppo MTL sospendeva il trattamento farmacologico delle comorbilità (Tabella 6).

**Tabella 6. Variazioni nell'utilizzo di farmaci dopo i diversi trattamenti.**

	BS (n = 31)		MTL (n = 31)	
	Basal	12 months	Basal	12 months
Only diet	4 (13 %)	28 (90 %)	0	0
1 Medication for T2DM	22 (71 %)	3 (10 %)	21 (68 %)	20 (64 %)
2 Medications for T2DM	5 (16 %)	0	7 (22 %)	8 (26 %)
≥3 Medications for T2DM	0	0	3 (10 %)	3 (10 %)
Hypertension,	23 (74 %)	2 (6 %)	17 (55 %)	19 (61 %)
Dyslipidemia	10 (32 %)	2 (6 %)	13 (42 %)	14 (45 %)

### *Effetti collaterali*

Sono stati registrati complessivamente 34 e 7 eventi avversi, rispettivamente nel gruppo chirurgico e in MTL. Tra i pazienti trattati chirurgicamente, si è verificato un caso di insufficienza renale acuta dopo l'intervento, attribuibile alla severa disidratazione e risolto dopo una settimana. Il principale effetto collaterale dopo chirurgia bariatrica è stato l'ipoglicemia reattiva sintomatica, diagnosticata in 8 pazienti (5 dopo BPG e 3 dopo SG). Tale condizione è stata controllata con dieta a basso indice glicemico associata, in 2 pazienti, ad assunzione pre-prandiale di acarbosio. Meno frequenti sono risultati gli effetti collaterali legati al malassorbimento e al ridotto *intake* di nutrienti quali l'ipoferritinemia (7 pazienti), l'anemia (3 soggetti), gli squilibri elettrolitici (8 pazienti) e i deficit vitaminici (6 pazienti). Tra i pazienti in terapia medica, la nausea è

stato il principale effetto collaterale. Un solo paziente ha riferito vomito ripetuto e dolore addominale regrediti spontaneamente dopo 1 mese. Non è stato registrato nessun caso di sospensione liraglutide per effetti collaterali.

## **Conclusioni**

Nel presente studio retrospettivo sono stati confrontati gli effetti clinici a dodici mesi di due procedure bariatriche (BPG ed SG) *vs* la terapia medica con liraglutide in pazienti con DM2 e obesità di alto grado; questi dati documentano che la chirurgia bariatrica è più efficace nel ridurre il peso corporeo ed il profilo di rischio CV rispetto a MTL; infatti, oltre l'85 % dei pazienti chirurgici raggiungeva a 12 mesi un buon risultato definito, secondo la classificazione di Maclean, da un IMC < 35 Kg/m<sup>2</sup> (133).

In aggiunta la chirurgia bariatrica risulta maggiormente efficace nel raggiungimento di un compenso glicemico ottimale rispetto alla terapia medica con una piccolissima percentuale di pazienti in cui resta necessaria la terapia ipoglicemizzante. Ben l'85 e il 60% dei soggetti nel gruppo BS e MTL, rispettivamente, raggiungevano l'obiettivo di HbA1c ≤7%, un dato di enorme rilevanza clinica per la riduzione/prevenzione delle complicanze CV (134). I dati del presente studio sono in linea con

recenti osservazioni di confronto tra la terapia medica e la chirurgia bariatrica in pazienti con DM2 e obesità grave (135-138).

Questi studi, insieme con una recente metanalisi basata su trials randomizzati controllati con un follow-up di almeno 6 mesi, hanno dimostrato la superiorità della chirurgia rispetto alla terapia medica, in termini di perdita di peso, remissione del DM2 e della sindrome metabolica e riduzione dell'utilizzo di farmaci (139, 140). Tuttavia, la maggior parte degli studi esaminati riguardavano casistiche poco ampie e la terapia utilizzata nel braccio medico era rappresentata da ipoglicemizzanti orali e/o insulina. Il nostro studio è il primo a confrontare le procedure bariatriche con la terapia con analoghi del GLP-1, che costituiscono l'opzione terapeutica ottimale per il trattamento dei pazienti affetti da DM2 associato ad obesità non adeguatamente controllati dalla metformina. Nonostante la superiorità della chirurgia bariatrica in termini di decremento ponderale e miglioramento complessivo del controllo metabolico, la terapia con incretino-mimetici in *add-on* alla metformina merita delle considerazioni. Nella presente casistica, oltre la metà dei pazienti trattati con liraglutide otteneva una perdita di peso di almeno il 5% ed il 60% di essi raggiungeva il target di  $HbA_{1c} \leq 7\%$  a 12 mesi. Questo dato è clinicamente rilevante considerato che una perdita di peso di 5-10% del peso iniziale è sufficiente a produrre un miglioramento clinicamente significativo del rischio CV in soggetti

con DM2 ed obesità severa (141). In linea con tali osservazioni, abbiamo riscontrato una significativa riduzione del punteggio di rischio CV nei soggetti trattati con liraglutide; tale riduzione potrebbe dipendere dalla perdita di peso unitamente ad un possibile effetto cardioprotettivo diretto di liraglutide (142).

Nei pazienti chirurgici abbiamo documentato un miglioramento complessivo del profilo di rischio CV e tutti i pazienti sospendevano/riducevano l'uso di farmaci antipertensivi ed ipolipidemizzanti. Abbiamo inoltre documentato una riduzione significativa dei trigliceridi e del colesterolo non-HDL ed un aumento del colesterolo HDL di circa il 30%, confermando il dato che la chirurgia bariatrica migliora notevolmente il metabolismo lipidico attraverso multipli meccanismi, incluso il ridotto assorbimento dei lipidi (111).

Un miglioramento significativo del colesterolo totale e non-HDL è stato dimostrato anche dopo liraglutide; è ipotizzabile comunque che benefici maggiori possano essere ottenuti associando liraglutide ad un intervento intensivo sullo stile di vita come dimostrato dallo studio Look AHEAD (143).

Un effetto collaterale particolarmente rilevante dopo chirurgia bariatrica è stato l'ipoglicemia reattiva che ha interessato circa il 25% dei pazienti operati; tale condizione è largamente documentata in letteratura, soprattutto dopo bypass gastrico, e alcuni autori la identificano come una

forma “estrema” di miglioramento del sistema metabolico probabilmente conseguenza del rapido arrivo di nutrienti nell’intestino con ipersecrezione del GLP-1 (144).

In conclusione, la chirurgia bariatrica è molto più efficace nell’indurre la perdita di peso e nel migliorare il controllo glicemico in pazienti con DM2 ed obesità severa rispetto alla terapia con liraglutide. E’ tuttavia da sottolineare che liraglutide, in aggiunta alla terapia, è in grado di determinare una modesta, ma clinicamente rilevante, riduzione del peso permettendo di raggiungere un buon compenso glicemico in oltre la metà dei pazienti. Questo risultato sottende la necessità di implementare interventi intensivi sullo stile di vita in associazione alla terapia con incretino-mimetici come possibile strategia terapeutica in pazienti con DM2 ed obesità di alto grado che hanno accesso limitato o rifiutano l’approccio chirurgico.

Dal momento che il DM2 e l’obesità sono disordini cronici, il profilo di efficacia e sicurezza di tali interventi nonché la durevolezza dei benefici osservati dovranno essere confermati nel lungo termine attraverso studi di follow-up più prolungato.

#### ***4.4 La remissione del diabete mellito di tipo 2 dopo chirurgia***

##### ***bariatrica si associa ad elevata variabilità glicemica***

##### **Introduzione**

Nell'ultima decade la remissione del DM2 dopo chirurgia bariatrica è stata oggetto di un'intensa attività di ricerca. La frequenza di tale fenomeno riportata nei diversi studi è però ampiamente variabile, con una percentuale compresa tra ~ il 44 e il 93% (70). La ragione di un *range* tanto ampio dipende essenzialmente, oltre che dal tipo di procedura chirurgica utilizzata, anche dalla durata del *follow-up* e, soprattutto, dall'eterogeneità dei criteri di definizione di remissione applicati nei diversi studi. Infatti, alcuni autori considerano solo la sospensione della terapia ipoglicemizzante mentre altri suggeriscono differenti *cutoffs* di glicemia a digiuno e di HbA<sub>1c</sub> o una combinazione di entrambi. Nel 2009, un panel di esperti dell'A.D.A. (American Diabetes Association), ha proposto nuovi e più univoci criteri di definizione della remissione del DM2 distinguendo la remissione "completa" (glicemia a digiuno <100 mg/dl, HbA<sub>1c</sub> <6% in assenza di terapia ipoglicemizzante per almeno un anno), la remissione "parziale" (glicemia a digiuno 100-125 mg/dl, HbA<sub>1c</sub> 6-6.5% in assenza di terapia ipoglicemizzante per almeno un anno) e la remissione "prolungata" (corrispondente alla remissione completa per almeno 5 anni) (74). Ancora più recentemente, l'I.D.F. (International Diabetes Federation) ha introdotto ulteriori criteri per

distinguere l' "ottimizzazione" dal "sostanziale miglioramento" dello stato metabolico dopo chirurgia bariatrica (73) includendo, per la prima volta, non solo parametri glicemici, ma anche specifici obiettivi di decremento ponderale, controllo lipidico e pressorio, l'utilizzo di farmaci e la presenza di episodi di ipoglicemia. Quest'ultimo parametro acquisisce un considerevole interesse dal momento che l'ipoglicemia postprandiale è spesso osservata in pazienti sottoposti a gastrectomia e rappresenta una complicanza non rara della chirurgia bariatrica. L'osservazione della ricomparsa del DM2 da un lato (145) e dei frequenti *reports* di ipoglicemia postprandiale dall'altro, suggerisce che l'omeostasi glicemica non è fisiologicamente e pienamente ripristinata dopo chirurgia bariatrica; inoltre, numerosi studi documentano che l'ottimizzazione del compenso glicemico non può prescindere dal controllo della variabilità glicemica ovvero della glicemia circadiana e delle sue oscillazioni.

Il presente studio è stato condotto allo scopo di valutare il profilo glicemico in condizioni di vita reale in pazienti obesi in remissione del DM2 da almeno 2 anni dopo chirurgia bariatrica. Gli scopi generali sono stati: 1) valutare la relazione tra il profilo glicemico giornaliero e le variazioni di sensibilità insulinica, secrezione insulinica ed enterorormoni, 2) valutare la variabilità glicemica e l'incidenza di ipoglicemia,

3) individuare criteri più appropriati di definizione della remissione del DM2

## **Metodi**

### *Selezione e Descrizione dei Partecipanti*

I gruppi in studio includevano 19 pazienti obesi (M/F: 10/9; età media:  $48 \pm 8$  anni, BMI:  $32 \pm 6$  kg/m<sup>2</sup>) in remissione del DM2 dopo chirurgia bariatrica da almeno 2 anni e 9 soggetti di controllo non diabetici, non operati, con comparabile grado di eccesso ponderale (M/F: 4/5; età media:  $49 \pm 10$  anni, BMI:  $35 \pm 8$  kg/m<sup>2</sup>). Nel gruppo chirurgico, nove soggetti erano stati sottoposti a BPG e 10 soggetti a SG; tutti i pazienti venivano periodicamente esaminati da un team multidisciplinare costituito da un diabetologo, un chirurgo ed un dietista. Le valutazioni cliniche e metaboliche dei partecipanti erano condotte presso il Dipartimento di Medicina Clinica e Chirurgia dell'Università Federico II mentre le procedure chirurgiche furono eseguite presso il Dipartimento di Chirurgia dell'Ospedale San Giovanni Bosco di Napoli. I soggetti di controllo furono reclutati tra i dipendenti dell'AOU Federico II. Nessuno di essi aveva segni di patologia epatica, renale o cardiaca; tre soggetti erano in cura con farmaci antipertensivi. Tutti i partecipanti erano informati dei rischi e dei benefici di ciascuna procedura e fornivano il

loro consenso informato scritto, approvato dall'Istituto, prima di partecipare allo studio.

### *OGTT*

Dopo 12 ore di digiuno, tutti i partecipanti venivano sottoposti ad un OGTT standard (75 gr glucosio) con prelievi ai tempi 0', 30', 60' e 120' per la determinazione di glicemia ed insulinemia. La sensibilità insulinica è stata valutata mediante indice OGIS (98) mentre l'insulino-secrezione è stata misurata mediante indice insulinogenico ( $IGI_{30} = \frac{Insulina_{30} - Insulina_0}{Glicemia_{30} - Glicemia_0}$ ). Nel gruppo chirurgico, l'OGTT è stato effettuato sia prima che dopo l'intervento bariatrico, durante il periodo di remissione.

### *Monitoraggio glicemico in continuo (CGM)*

In tutti i partecipanti è stato effettuato il CGM per 7 giorni con registrazione dei livelli di glucosio nel fluido interstiziale ogni 5 minuti, 270 volte al giorno (Dexcom G4 PLATINUM). Il sensore veniva inserito nel tessuto sottocutaneo addominale; tale procedura era eseguita presso la UOC di Diabetologia. Dopo due ore si provvedeva alla prima calibrazione. Ogni soggetto era poi istruito a calibrare il *device* due volte al giorno o in caso di allarme. La glicemia media interstiziale, la percentuale di tempo speso in specifici *cutoff*, la deviazione standard (SDBG) e il coefficiente di variazione (CV) medi durante i sette giorni di

monitoraggio erano direttamente estrapolati dal sistema CGM. La variabilità glicemica è stata espressa mediante SDBG, CV e ampiezza media delle escursioni glicemiche (MAGE) (146). MAGE rappresenta la media delle escursioni glicemiche giornaliere che superano la SD misurate nell'arco di 24 ore. L'ipoglicemia era definita come glicemia < 70 mg/dl durante i 7 giorni di CGM.

A tutti i partecipanti veniva inoltre richiesto di compilare un diario alimentare durante la settimana di CGM allo scopo di valutare l'introito calorico.

#### *Pasto misto (MMT)*

Tutti i pazienti del gruppo chirurgico, prima e dopo l'intervento, erano sottoposti ad un pasto misto liquido (contenente 41 gr glucosio, 13 gr proteine e 9 gr grassi, 304-Kcal) con prelievi ogni 30 min per tre ore per la valutazione di substrati e ormoni (GIP e GLP-1). La risposta ormonale al MMT era valutata come AUC durante le 3 ore, calcolata con il metodo dei trapezi e come picco di secrezione.

#### *Procedure analitiche*

Le concentrazioni plasmatiche di glucosio erano misurate mediante metodo della glucosio ossidasi; l'insulinemia plasmatica era determinata con metodica ELISA; l' HbA<sub>1c</sub> era misurata mediante metodica HPLC.

## **Analisi statistica**

Tutte le analisi statistiche sono state eseguite utilizzando il software statistico SPSS versione 13.0 (SPSS Inc., Chicago, IL). Le variabili continue sono state espresse come media  $\pm$  deviazione standard (M $\pm$ DS). Le variabili non normalmente distribuite sono state trasformate in logaritmo o sono stati utilizzati test non parametrici. I confronti tra i gruppi sono stati eseguiti utilizzando *ANOVA*. Il test del chi-quadrato è stato utilizzato per il confronto tra proporzioni. Un valore di  $p < 0.05$  è stato considerato statisticamente significativo.

## **Risultati**

In tabella 7 sono riportate le caratteristiche cliniche, biochimiche e metaboliche dei partecipanti. Il follow-up medio dei pazienti bariatrici era di  $4 \pm 1$  anni (range: 2-7 anni).

Età, controllo glicemico, profilo pressorio e BMI medio erano simili dopo BPG e SG, tuttavia la percentuale di soggetti con BMI  $> 30$  Kg/m<sup>2</sup> era significativamente più bassa dopo BPG rispetto a SG ( $p < 0.001$ ).

Anche i livelli di colesterolemia totale ed LDL erano significativamente inferiori nel gruppo BPG ( $p < 0.05$ ). La percentuale di pazienti in remissione del DM2, sia parziale che completa, era simile con le due procedure. Nessun paziente dopo BPG assumeva farmaci antipertensivi o

ipolipidemizzanti, mentre 2 (20%) pazienti dopo SG e 3 (33%) soggetti di controllo erano in trattamento antipertensivo.

L'introito calorico giornaliero era simile nei tre gruppi (~1600 Kcal/die, CHO 52%) e la dieta era a basso indice glicemico (~64%).

Durante OGTT, nessun soggetto raggiungeva alla seconda ora un valore glicemico > 200 mg/dl, mentre il 40% dei pazienti nel gruppo SG mostrava una ridotta tolleranza al glucosio (Glicemia<sub>2-h</sub> compresa tra 140 e 199 mg/dl).

### **Risultati CGM**

Il glucosio interstiziale (IG) medio durante il periodo di CGM era simile nei tre gruppi (Tabella 8); tuttavia, entrambi i gruppi chirurgici avevano valori di IG massimo significativamente maggiori rispetto al gruppo di controllo ( $p < 0.05$ ) e i soggetti del gruppo BPG presentavano un picco medio statisticamente più elevato rispetto ai pazienti SG ( $286 \pm 73$  vs  $251 \pm 46$  mg/dl,  $p < 0.05$ ).

Il tempo medio trascorso in iperglicemia (>191 mg/dl) era significativamente maggiore dopo BPG sia rispetto a SG che ai controlli (Tabella 8); anche il tempo medio trascorso in ipoglicemia (<70 mg/dl) tendeva ad essere più alto dopo BPG.

**Tabella 7. Caratteristiche cliniche, biochimiche e metaboliche dei partecipanti**

	Bariatrici		Controlli (n=9)
	BPG (n=9)	SG (n=10)	
<b>Sesso (M/F)</b>	4/5	6/4	4/5
<b>Età (anni)</b>	47±10	49±7	49±10
<b>BMI (Kg/m<sup>2</sup>)</b>	30±4	33±7	34±8
<b>Remissione del DM2:</b>			
· parziale (%)	55	50	---
· completa (%)	45	50	---
<b>Glicemia a digiuno (mg/dl)</b>	91±15	94±22	91±8
<b>Insulinemia a digiuno (µU/ml)</b>	7±3	8±8	10±6
<b>HbA<sub>1c</sub> (%)</b>	5.8± 0.7	5.7±0.6	5.4±0.2
<b>AUC<sub>0-120'</sub> glucosio (mg/dl x min)</b>	18277±3641	18781±4067	14944±2772
<b>N.ro di soggetti con:</b>			
<b>Glicemia a digiuno 100-125 mg/dl</b>	1	5	0
<b>Glicemia<sub>2-hOGTT</sub> 140-200 mg/dl</b>	0	4	0
<b>Glicemia<sub>2-hOGTT</sub> &gt;200 mg/dl</b>	0	0	0
<b>Colesterolo totale (mg/dl)</b>	158±30	202±37 <sup>a</sup>	184±103
<b>HDL-colesterolo (mg/dl)</b>	62±13	62±20	52±12
<b>LDL-colesterolo (mg/dl)</b>	80±23	117±31 <sup>a</sup>	96±55
<b>Trigliceridi (mg/dl)</b>	78±33	112±48	108±54
<b>PAS (mmHg)</b>	124±7	129±8	128±4
<b>PAD (mmHg)</b>	74±5	76±7	73±5

M ± SD, <sup>a</sup> p<0.05 differenza tra BPG ed SG

**Tabella 8. Parametri glicemici e variabilità glicemica derivati dal CGM in soggetti in remissione del DM2 post-chirurgica e nei soggetti di controllo**

	Bariatrici		Controlli (n=9)
	BPG (n=9)	SG (n=10)	
<b>IG medio (mg/dl)</b>	111	123	106
<b>Picco IG (mg/dl)</b>	286±73	251±46 <sup>a</sup>	175±20 <sup>b,c</sup>
<b>Nadir IG (mg/dl)</b>	49±13	64±16	51±12
<b>Tempo speso in IG &lt;70 mg/dl (min/die)</b>	209±278	29±38 <sup>a</sup>	48±43
<b>Tempo speso in IG 70-190 mg/dl (min/die)</b>	1094±235	1336±85 <sup>a</sup>	1391±37 <sup>b</sup>
<b>Tempo speso in IG &gt;191 mg/dl (min/die)</b>	124±171	76±64 <sup>a</sup>	0 <sup>b,c</sup>
<b>Variabilità glicemica</b>			
<b>SDBG (mg/dl)</b>	39±13	32±6 <sup>a</sup>	20±5 <sup>b,c</sup>
<b>CV (%)</b>	35±5	26±4 <sup>a</sup>	19±5 <sup>b,c</sup>
<b>MAGE (mg/dl)</b>	100±46	95±30 <sup>a</sup>	56±18 <sup>b,c</sup>

M ± SD; IG= glucosio interstiziale; SDBG= deviazione standard del glucosio; CV= coefficiente di variazione; MAGE= ampiezza media delle escursioni glicemiche. <sup>a</sup> p<0.05 differenze tra BPG ed SG; <sup>b</sup> p<0.05 differenze tra Controlli e BPG; <sup>c</sup> p<0.05 differenze tra Controlli ed SG

La variabilità glicemica, stimata mediante SDBG, CV e MAGE, era significativamente più alta nei pazienti bariatrici vs controlli, con valori significativamente maggiori in BPG rispetto a SG (p<0.05). Allo scopo di valutare eventuali fattori associati all'ipoglicemia, i pazienti bariatrici sono stati suddivisi in base alla presenza o meno di ipoglicemia, indipendentemente dal tipo di procedura chirurgica (Tabella 9).

**Tabella 9. Variabili associate ad ipoglicemia post-chirurgica**

	<b>IPOGLICEMIA</b>		<b>p</b>
	<b>SI (n=14)</b>	<b>NO (n=5)</b>	
<b>Procedura bariatrica (BPG/SG)</b>	8/6	1/4	ns
<b>Età (anni)</b>	49±7	45±10	ns
<b>Durata DM2 (anni)</b>	3±5	7±3	ns
<b>BMI post-operatorio (Kg/m<sup>2</sup>)</b>	32±6	31±6	ns
<b>Δ BMI (Kg/m<sup>2</sup>)</b>	13±6	7±4	<b>0.042</b>
<b>Δ OGIS (ml min<sup>-1</sup> m<sup>-2</sup>)</b>	158±54	29±22	<b>0.001</b>
<b>Δ IGI<sub>30</sub> (μU/ml/mg/dl)</b>	0.3±0.1	0.1±0.1	ns
<b>GLP-1 Picco (pmol/l)</b>	32±31	7±2	<b>0.031</b>
<b>GIP Picco (pg/ml)</b>	209±120	371±27	<b>0.009</b>

M ± SD

Nessuna differenza era riscontrata in termini di età, durata del DM2 e BMI post-operatorio tra i due gruppi. I soggetti con ipoglicemia mostravano un più cospicuo decremento ponderale, un miglioramento più marcato della sensibilità insulinica, un più elevato picco post-operatorio di GLP-1 e livelli al picco di GIP più bassi dopo l'intervento (p<0.05, per tutti).

## Conclusioni

Il presente studio documenta che nei soggetti in remissione clinica del DM2 dopo BPG ed SG, il profilo glicemico giornaliero presenta profonde differenze rispetto a quello di soggetti non diabetici non operati aventi comparabili caratteristiche antropometriche. Infatti, i soggetti operati presentano ampie escursioni glicemiche e picchi iperglicemici più alti rispetto ai soggetti di controllo. E' interessante sottolineare che tali caratteristiche si verificano a fronte di livelli glicemici a digiuno e 2h dopo OGTT e valori di HbA<sub>1c</sub>, nel *range* di normalità. Questi dati indicano che la chirurgia bariatrica induce complesse modifiche dell'omeostasi glicemica, particolarmente della fase post-prandiale, che non sono evidenziabili attraverso misurazioni saltuarie della glicemia o dell'emoglobina glicata ma che possono essere individuate solo attraverso il monitoraggio in continuo della glicemia.

Le informazioni emerse dal monitoraggio della glicemia in condizioni di vita reale, infatti, documentano che la chirurgia bariatrica migliora lo *status* glicemico ma non induce una reale normalizzazione del metabolismo glicidico, come sostenuto da alcuni ricercatori; su questa base, pertanto, risulta improprio parlare di guarigione del diabete.

I nostri dati mostrano la presenza di un'elevata variabilità glicemica nei pazienti bariatrici, come dimostrato dall'aumento dei diversi indici. Questo dato ha profonde implicazioni cliniche in quanto esiste una stretta

associazione tra variabilità glicemica e rischio di complicanze vascolari (147). Nello studio DCCT è stato evidenziato un maggior rischio di insorgenza di retinopatia in pazienti con più alta variabilità glicemica (148). Uno studio recente ha inoltre evidenziato un aumento della crescita cellulare, della sintesi di collagene e della secrezione di citochine nelle cellule dei tubuli prossimali (PTCs) e nei fibroblasti corticali (CFs) renali esposti ad iperglicemia alternante, rispetto all'iperglicemia costante (149). La variabilità glicemica è risultata associata alla malattia coronarica, ma non alle altre complicanze macro-vascolari (147). In aggiunta, è ampiamente riconosciuto che la variabilità glicemica può determinare danno endoteliale attraverso la generazione di radicali attivi dell'ossigeno (ROS) (150).

Dal confronto delle due tecniche chirurgiche, emerge che i soggetti sottoposti a BPG, presentano picchi iperglicemici più elevati e trascorrono periodi di tempo più lunghi in iperglicemia rispetto ai pazienti operati di SG. Tale dato è in linea con uno studio molto recente in cui la percentuale media del tempo trascorso in iperglicemia al CGM era di circa 4 volte maggiore dopo BPG rispetto ad SG (151).

Ulteriori studi di maggiore numerosità e con *follow-up* più prolungato sono necessari per valutare l'esatta entità dell'elevata variabilità glicemica nei pazienti bariatrici e le conseguenze che questa ha sul rischio cardiovascolare e sullo stato di salute in generale.

Sulla base dei nostri risultati, anche l'OGTT risulta uno strumento di scarsa affidabilità per la valutazione della tolleranza glucidica dopo chirurgia bariatrica; infatti, nessuno dei soggetti dopo l'intervento aveva una glicemia a due ore diagnostica di diabete. Tale limite è probabilmente legato al fatto che, a seguito delle modifiche anatomiche, lo svuotamento gastrico e il transito intestinale sono notevolmente accelerati (152).

Un effetto collaterale non infrequente della chirurgia bariatrica è rappresentato dall'ipoglicemia. La prevalenza di tale condizione è estremamente variabile e dipende dalla definizione applicata (dallo 0.2% per l'ipoglicemia severa richiedente ospedalizzazione al 72% per l'ipoglicemia reattiva diagnosticata durante OGTT) (96, 153) e dalla procedura chirurgica (72 % dopo BPG e 3% dopo SG) (154, 155). Nella nostra casistica, la frequenza di ipoglicemia era maggiore dopo BPG rispetto a SG, in accordo con i dati della letteratura; inoltre, un'ampia percentuale di soggetti sottoposti a BPG (circa il 30%) presenta episodi ipoglicemici asintomatici 30% (154). La maggior parte delle ipoglicemie post-chirurgia bariatrica riconosce come causa specifiche abitudini dietetiche suscettibili di correzione e quindi di risoluzione, mentre solo una piccola percentuale di casi, in genere dopo BPG, sviluppa ipoglicemia iperinsulinemica refrattaria e ricorrente dovuta a nesidioblastosi (156, 157). In modelli animali è stato documentato che il

GLP-1 è in grado di stimolare la proliferazione beta-cellulare (158); questa osservazione, insieme con il riscontro dell'aumentata secrezione postprandiale di GLP-1 dopo chirurgia bariatrica (104) nonché la prevenzione dell'ipoglicemia mediante blocco del recettore del GLP-1 (144) supportano un ruolo importante di questo ormone nella genesi delle ipoglicemie. A sostegno di tale ipotesi, nel nostro studio abbiamo documentato livelli di GLP-1 post-operatori significativamente maggiori in pazienti con ipoglicemia rispetto a soggetti senza evidenza di ipoglicemia. In aggiunta i pazienti che manifestavano ipoglicemia durante CGM mostravano un più cospicuo decremento ponderale, un maggiore incremento della sensibilità insulinica e livelli di GIP in risposta al pasto misto significativamente più bassi. Questi dati, nel loro insieme, rinforzano l'ipotesi che l'ipoglicemia dopo chirurgia bariatrica sia da considerarsi una forma "estrema" di miglioramento dell'assetto metabolico.

In conclusione, i dati del presente studio sottolineano la necessità di riconsiderare la definizione di remissione del diabete attualmente basata sulla glicemia a digiuno e sull'emoglobina glicata, in quanto un valore normale di HbA<sub>1c</sub> non esclude che vi siano ampie oscillazioni glicemiche intorno alla media e, quindi, un'alta variabilità con le relative conseguenze in termini di rischio cardiovascolare. Pertanto, nei pazienti sottoposti a chirurgia bariatrica gli obiettivi di cura dovrebbero includere

non solo la normalizzazione della glicemia a digiuno e della emoglobina glicata, ma anche il controllo della variabilità glicemica attraverso opportune misure nutrizionali e/o farmacologiche. Sulla base di queste osservazioni, riteniamo che il termine guarigione/remissione del diabete non sia appropriato anche perché esso potrebbe generare nei pazienti l'idea che, essendo guariti dal diabete, non abbiano più bisogno di cure e/o di monitorare il loro stato di salute.

## 5. Bibliografia

1. <http://www.salute.gov.it/rssp/paginaParagrafoRssp.jsp?sezione=situazione&capitolo=malattie&id=2650>
2. Amos AF, McCarty DJ, Zimmet P. The rising global burden of diabetes and its complications: estimates and projections to the year 2010. *Diabet Med.* 1997; 14 Suppl 5: S1-85.
3. Eeg-Olofsson K, Cederholm J, Nilsson P. M., Zethelius B., Nunez L , Gudbjörnsdóttir S. Eliasson B Risk of cardiovascular disease and mortality in overweight and obese patients with type 2 diabetes: an observational study in 13,087 patients. *Diabetologia* 2009;52:65-73
4. McTigue K, Larson JC, Valoski A, Burke G, Kotchen J, Lewis CE, Stefanick ML, Van Horn L, Kuller L: Mortality and cardiac and vascular outcomes in extremely obese women. *JAMA* 2006;296:79–86
5. Riobó Serván P. Obesity and diabetes. *Nutr Hosp.* 2013 Sep;28 Suppl 5:138-43
6. Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Res ClinPract*; 87:4-14.
7. <http://www.istat.it/it/archivio/71090>
8. Golay A, Ybarra J. Link between obesity and type 2 diabetes. *Best Pract Res ClinEndocrinolMetab* 2005;19:649-63.
9. Must A, Spadano J, Coakley EH, et al. The disease burden associated with overweight and obesity. *JAMA.* 1999;282:1523–9.
10. De Lemos ET, Oliveira J, Pinheiro JP, Reis F. Regular Physical Exercise as a Strategy to Improve Antioxidant and Anti-Inflammatory Status: Benefits in Type 2 Diabetes Mellitus. *Oxid Med Cell Longev.* 2012; 2012: 741545.
11. Park JS, Cho MH, Ahn CW, Kim KR, Huh KB. The association of insulin resistance and carotid atherosclerosis with thigh and calf circumference in patients with type 2 diabetes. *CardiovascDiabetol.* 2012; 11: 62.
12. Shulman GI. Cellular mechanisms of insulin resistance. *J Clin Invest.* 2000;106:171–176.
13. Roden M. How free fatty acids inhibit glucose utilization in human skeletal muscle. *News Physiol Sci.* 2004;19:92–96.

14. Griffin ME, Marcucci MJ, Cline GW, Bell K, Barucci N, Lee D, Goodyear LJ, Kraegen EW, White MF, Shulman GI. Free fatty acid-induced insulin resistance is associated with activation of protein kinase C theta and alterations in the insulin signaling cascade. *Diabetes*. 1999 Jun; 48(6):1270-4.
15. Yu C, Chen Y, Cline GW, Zhang D, Zong H, Wang Y, Bergeron R, Kim JK, Cushman SW, Cooney GJ, Atcheson B, White MF, Kraegen EW, Shulman GI. Mechanism by which fatty acids inhibit insulin activation of insulin receptor substrate-1 (IRS-1)-associated phosphatidylinositol 3-kinase activity in muscle. *J Biol Chem*. 2002 Dec 27; 277(52):50230-6.
16. Martins AR, Nachbar RT, Gorjao R, Vinolo MA, Festuccia WT, Lambertucci RH, Cury-Boaventura MF, Silveira LR, Curi R, Hirabara SM. Mechanisms underlying skeletal muscle insulin resistance induced by fatty acids: importance of the mitochondrial function. *Lipids Health Dis*. 2012; 11: 30.
17. Sakamoto K, Holman GD. Review Emerging role for AS160/TBC1D4 and TBC1D1 in the regulation of GLUT4 traffic. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2008 Jul; 295(1):E29-37.
18. Savage DB, Petersen KF, Shulman GI. Disordered lipid metabolism and the pathogenesis of insulin resistance. *Physiol Rev*. 2007;87:507–20.
19. Kahn BB, Flier JS. Obesity and insulin resistance. *J Clin Invest*. 2000;106:473–81.
20. Marlon E. Cerf. Beta Cell Dysfunction and Insulin Resistance. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2013; 4: 37.
21. Unger RH, Eisentraut AM. Entero-insular axis. *Arch Intern Med* 1969; 123: 261-6.
22. Creutzfeldt W. The incretin concept today. *Diabetologia* 1979;16: 75-85.
23. Vetter ML, Cardillo S, Rickels MR, Iqbal N. Narrative review: effect of bariatric surgery on type 2 diabetes mellitus. *Ann Intern Med* 2009; 150 (2): 94-103.
24. Baggio LL, Drucker DJ Biology of incretins: GLP-1 and GIP. *Gastroenterology* 2007; 132 (6): 2131-57.
25. Holst JJ. The physiology of glucagon-like peptide 1. *Physiol Rev* 2007;87: 1409-39.

26. Cataland, S, Crockett, SE, Brown, JC, Mazzaferri, EL: Gastric inhibitory polypeptide (GIP) stimulation by oral glucose in man. *J Clin Endocrinol Metab* 39:223-228, 1974
27. Falko, JM, Crockett, SE, Cataland, S, Mazzaferri, EL: Gastric inhibitory polypeptide (GIP) stimulated by fat ingestion in man. *J Clin Endocrinol Metab* 41:260-265, 1975
28. Krarup, T, Holst, JJ, Larsen, KL: Responses and molecular heterogeneity of IR-GIP after intraduodenal glucose and fat. *Am J Physiol* 249:E195-E200, 1985
29. Besterman, HS, Cook, GC, Sarson, DL, Christofides, ND, Bryant, MG, Gregor, M, Bloom, SR: Gut hormones in tropical malabsorption. *Br Med J* 2:1252-1255, 1979
30. Fushiki, T, Kojima, A, Imoto, T, Inoue, K, Sugimoto, E: An extract of *Gymnema sylvestre* leaves and purified gymnemic acid inhibits glucose-stimulated gastric inhibitory peptide secretion in rats. *J Nutr* 122:2367-2373, 1992
31. Lavin, JH, Wittert, GA, Andrews, J, Yeap, B, Wishart, JM, Morris, HA, Morley, JE, Horowitz, M, Read, NW: Interaction of insulin, glucagon-like peptide 1, gastric inhibitory polypeptide, and appetite in response to intraduodenal carbohydrate. *Am J Clin Nutr* 68:591-598, 1998
32. Brubaker PL. The glucagon-like peptides: pleiotropic regulators of nutrient homeostasis. *Ann N Y Acad Sci.* 2006 Jul;1070:10-26.
33. Herrmann C, Göke R, Richter G, Fehmann HC, Arnold R, Göke B. Glucagon-like peptide-1 and glucose-dependent insulin-releasing polypeptide plasma levels in response to nutrients. *Digestion.* 1995;56(2):117-26
34. Lim GE, Brubaker PL. Glucagon-Like Peptide 1 Secretion by the L-Cell. *Diabetes*, Vol. 55, Supplement 2, December 2006
35. Cendrine Cabou, Remy Burcelin GLP-1, the Gut-Brain, and Brain-Periphery Axes *Rev Diabet Stud.* 2011; 8(3): 418–431.
36. Delporte C. Structure and Physiological Actions of Ghrelin. *Scientifica (Cairo).* 2013;2013:518909
37. Schirra J, Nicolaus M, Roggel R, Katschinski M, Storr M, Woerle HJ, Göke B. Endogenous glucagon-like peptide 1 controls endocrine pancreatic secretion and antro-pyloro-duodenal motility in humans. *Gut.* 2006;55(2):243-51.
38. Baggio L, Kieffer TJ, Drucker DJ. Glucagon-like peptide-1, but not glucose-dependent insulinotropic peptide, regulates fasting glycemia and nonenteral glucose clearance in mice. *Endocrinology* 2000;141(10):3703-9.
39. Schirra J, Sturm K, Leicht P, Arnold R, Göke B, Katschinski M. Exendin(9-39)amide is an antagonist of glucagon-like

- peptide-1(7-36)amide in humans. *J Clin Invest.* 1998;101(7):1421-30.
40. Lewis JT, Dayanandan B, Habener JF, Kieffer TJ. Glucose-dependent insulinotropic polypeptide confers early phase insulin release to oral glucose in rats: demonstration by a receptor antagonist. *Endocrinology* 2000;141(10):3710-6.
  41. Tseng CC, Kieffer TJ, Jarboe LA, Usdin TB, Wolfe MM. Postprandial stimulation of insulin release by glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP). Effect of a specific glucose-dependent insulinotropic polypeptide receptor antagonist in the rat. *J Clin Invest.* 1996;98(11):2440-5.
  42. Zhang W, Chai B, Li JY, Wang H & Mulholland MW. Effect of desacyl ghrelin on adiposity and glucose metabolism. *Endocrinology* 2008;149:4710–4716
  43. Gauna C, Delhanty PJ, Hofland LJ, Janssen JA, Broglio F, Ross RJ, Ghigo E & van der Lely AJ. Ghrelin stimulates, whereas desoctanoyl ghrelin inhibits, glucose output by primary hepatocytes. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2005;90:1055–1060.
  44. Longo KA, Charoenthongtrakul S, Giuliana DJ, Govek EK, McDonagh T, Qi Y, DiStefano PS & Geddes BJ. Improved insulin sensitivity and metabolic flexibility in ghrelin receptor knockout mice. *Regulatory Peptides* 2008;150:55–61
  45. Barazzoni R, Zanetti M, Ferreira C, Vinci P, Pirulli A, Mucci M, Dore F, Fonda M, Ciocchi B, Cattin L & Guarnieri G. Relationships between desacylated and acylated ghrelin and insulin sensitivity in the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92(10):3935-40.
  46. Granata R, Settanni F, Biancone L, Trovato L, Nano R, Bertuzzi F, Destefanis S, Annunziata M, Martinetti M, Catapano F, Ghe C, Isgaard J, Papotti M, Ghigo E & Muccioli G. Acylated and unacylated ghrelin promote proliferation and inhibit apoptosis of pancreatic b-cells and human islets: involvement of 3',5'-cyclic adenosine monophosphate/protein kinase A, extracellular signal-regulated kinase 1/2, and phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling. *Endocrinology* 2007;148:512–529.
  47. Qin X, Shen H, Liu M, Yang Q, Zheng S, Sabo M, D'Alessio DA, Tso P. GLP-1 reduces intestinal lymph flow, triglyceride absorption, and apolipoprotein production in rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2005;288(5):G943-9.
  48. Meier JJ, Gethmann A, Götze O, Gallwitz B, Holst JJ, Schmidt WE, Nauck MA. Glucagon-like peptide 1 abolishes the postprandial rise in triglyceride concentrations and lowers

- levels of non-esterified fatty acids in humans. *Diabetologia*. 2006;49(3):452-8.
49. Eliasson B, Möller-Goede D, Eeg-Olofsson K, Wilson C, Cederholm J, Fleck P, Diamant M, Taskinen MR, Smith U. Lowering of postprandial lipids in individuals with type 2 diabetes treated with alogliptin and/or pioglitazone: a randomised double-blind placebo-controlled study. *Diabetologia*. 2012;55(4):915-25.
  50. Hsieh J, Longuet C, Baker CL, Qin B, Federico LM, Drucker DJ, Adeli K. The glucagon-like peptide 1 receptor is essential for postprandial lipoprotein synthesis and secretion in hamsters and mice. *Diabetologia*. 2010;53(3):552-61.
  51. Wasada T, McCorkle K, Harris V, Kawai K, Howard B, Unger RH. Effect of gastric inhibitory polypeptide on plasma levels of chylomicron triglycerides in dogs. *J Clin Invest*. 1981;68(4):1106-7.
  52. Ebert R, Nauck M, Creutzfeldt W. Effect of exogenous or endogenous gastric inhibitory polypeptide (GIP) on plasma triglyceride responses in rats. *Horm Metab Res*. 1991;23(11):517-21
  53. Nauck M, Stöckmann F, Ebert R, Creutzfeldt W. Reduced incretin effect in type 2 (non-insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia* 1986;29:46–52.
  54. Vollmer K, Holst JJ, Baller B, et al. Predictors of incretin concentrations in subjects with normal, impaired, and diabetic glucose tolerance. *Diabetes* 2008; 57:678–87.
  55. Laakso M, Zilinskaite J, Hansen T, Welov Boesgaard T, Vanttinen M, Stancakova A et al; for the EUGENE2 Consortium. Insulin sensitivity, insulin release and GLP-1 levels in subjects with IFG and/or IGT in the EUGENE2 study. *Diabetologia* 2008;51:502-11.
  56. Vilsboll T, Krarup T, Sonne J et al. Incretin secretion in relation to meal size and body weight in healthy subjects and people with type 1 and type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 2003 ; 88:2706-2713.
  57. Nyholm B, Walker M, Grauholt CH, Alberti KGMM, Holst JJ, Schmitz O. Twenty-four hour profiles of insulin, substrates and gut incretin hormones: early defects in glucose tolerant offspring of type II diabetic patients. *Diabetologia* 1999;42:1314-23.
  58. Meier JJ, Gallwitz B, Askenas M, Vollmer K, Deacon CF, Holst JJ et al. Secretion of incretin hormones and the insulinotropic effect of gastric inhibitory polipeptide in women with a history of gestazional diabetes. *Diabetologia* 2005;48:1872-81.

59. Færch K, Torekov Ss, Vistisen D et al. Glucagon-Like Peptide-1 (Glp-1) Response to oral glucose is reduced in pre-diabetes, screen-detected type 2 diabetes and obesity, and influenced by sex: the addition-pro study. *Diabetes*. 2015 Feb 12. Pii: Db141751. [Epub Ahead Of Print]
60. Nauck MA, Heimesaat MM, Orskov C, et al. Preserved incretin activity of glucagon-like peptide 1 [7-36 amide] but not of synthetic human gastric inhibitory polypeptide in patients with type-2 diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1993;91:301–7.
61. Toft-Nielson M, Madsbad S, Holst JJ. The effect of glucagonlike peptide I (GLP-I) on glucose elimination in healthy subjects depends on the pancreatic glucoregulatory hormones. *Diabetes* 1996;45:552–6.
62. Cauchi S, El Achhab Y, Choquet H, Dina C, Krempler F, Weitgasser R, et al. TCF7L2 is reproducibly associated with type 2 diabetes in various ethnic groups: a global meta-analysis. *J Mol Med* 2007; 85: 777–82.
63. Lyssenko V, Lupi R, Del Guerra S, Orho-Melander M, Almgren P, Sjogren M, et al. Mechanisms by which common variants in the TCF7L2 gene increase risk of type 2 diabetes. *J Clin Invest* 2007; 117: 2155–63.
64. Sadry SA, Drucker DJ. Emerging combinatorial hormone therapies for the treatment of obesity and T2DM. *Nat Rev Endocrinol*. 2013 Jul;9(7):425–33
65. Rosenstock J, Raccach D, Koranyi L et al. Efficacy and safety of lixisenatide once daily versus exenatide twice daily in type 2 diabetes inadequately controlled on metformin: a 24-week, randomized, open-label, active-controlled study (GetGoal-X). *Diabetes Care* 2013;36:2945–51
66. Barber W, Burke TF. Brain-stem response to phasic gastric distension. *Am J Physiol* 1983;245:G242
67. Scopinaro N, Gianetta E, Civalleri D, Bonalumi U, Bachi V. Bilio-pancreatic by-pass for obesity. An experimental study in dogs. *Br J Surg* 1979; 66:613.
68. Scopinaro N, Giannetta E, Friedmann D. bilio-pancreatic diversion for obesity. *Prob Gen Surg* 1992;9:362.
69. Schauer PR. Open and laparoscopic surgical modalities for the management of obesity. *J Gastrointest Surg* 2003;7:468.
70. Buchwald H, Estok R, Fahrenbach K, Banel D, Jensen MD, Pories WJ, Bantle JP, Sledge I. Weight and type 2 diabetes after bariatric surgery: systematic review and meta-analysis. *Am J Med* 2009; 122:248–256

71. Farrell TM, Haggerty SP, Overby DW, Kohn GP, Richardson WS, Fanelli RD Clinical application of laparoscopic bariatric surgery: an evidence-based review. *Surg Endosc.* 2009;23:930-49.
72. Mechanick JI, Youdim A, Jones DB et al. Clinical practice guidelines for the perioperative nutritional, metabolic, and nonsurgical support of the bariatric surgery patient--2013 update: cosponsored by American Association of Clinical Endocrinologists, The Obesity Society, and American Society for Metabolic & Bariatric Surgery. *Obesity (Silver Spring)*. 2013 Mar;21 Suppl 1:S1-27
73. Dixon JB, Zimmet P, Alberti KG, Rubino F; International Diabetes Federation Taskforce on Epidemiology and Prevention. Bariatric surgery: an IDF statement for obese Type 2 diabetes. *Surg Obes Relat Dis.* 2011;7(4):433-47.
74. Buse, Caprio S, Cefalu WT, Ceriello A How do we define cure of diabetes? *Diabetes Care.* 2009; 32(11):2133-5.
75. A. Mas-Lorenzo D. Benaiges J. A. Flores-Le-Roux Impact of Different Criteria on Type 2 Diabetes Remission Rate *OBES SURG* 2014 Issue 11, pp 1881-1887.
76. Dixon JB, Zimmet P, Alberti KG, Rubino Bariatric surgery: an IDF statement for obese Type 2 diabetes. *Diabet Med.* 2011; 28(6):628-42.
77. Ferrannini E, Mingrone G. Impact of different bariatric surgical procedures on insulin action and beta-cell function in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2009; 32:514-520.
78. Polyzogopoulou EV, Kalfarentzos F, Vagenakis AG, Alexandrides TK. Restoration of euglycemia and normal acute insulin response to glucose in obese subjects with type 2 diabetes following bariatric surgery. *Diabetes* 2003;52:1098-1103.
79. Rubino F. Bariatric surgery: effects on glucose homeostasis. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2006;9:497-507.
80. Mingrone G. Role of the incretin system in the remission of type 2 diabetes following bariatric surgery. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2008; 18:574-579.
81. W J Pories, M S Swanson, K G MacDonald, S B Long, P G Morris, B M Brown, H A Barakat, R A deRamon, G Israel, J M Dolezal. Who would have thought it? An operation proves to be the most effective therapy for adult-onset diabetes mellitus. *Ann Surg.* 1995; 222(3): 339-352.

82. Cummings DE, Weigle DS, Frayo RS, et al. Human plasma ghrelin levels after diet-induced weight loss and gastric bypass surgery. *New Engl J Med* 2002;346:1623–30.
83. Swarbrick MM, Stanhope KL, Austrheim-Smith IT et al. Longitudinal changes in pancreatic and adipocyte hormones following Roux-en-Y gastric bypass surgery. *Diabetologia* 2008; 51: 1901–1911.
84. Thomas C, Gioiello A, Noriega L, et al. TGR5-mediated bile acid sensing controls glucose homeostasis. *Cell Metab* 2009;10:167-177.
85. Rajas F, Bruni N, Montano S, Zitoun C, Mithieux G. The glucose-6 phosphatase gene is expressed in human and rat small intestine: regulation of expression in fasted and diabetic rats. *Gastroenterology*. 1999;117(1):132-9.
86. Troy S, Soty M, Ribeiro L, Laval L, Migrenne S, Fioramonti X, Pillot B, Fauveau V, Aubert R, Viollet B, Foretz M, Leclerc J, Duchamp A, Zitoun C, Thorens B, Magnan C, Mithieux G, Andreelli F. Intestinal gluconeogenesis is a key factor for early metabolic changes after gastric bypass but not after gastric lap-band in mice. *Cell Metab*. 2008 ;8(3):201-11.
87. Mithieux G, Misery P, Magnan C, Pillot B, Gautier-Stein A, Bernard C, Rajas F, Zitoun C. Portal sensing of intestinal gluconeogenesis is a mechanistic link in the diminution of food intake induced by diet protein. *Cell Metab*. 2005;2(5):321-9.
88. Stearns AT, Balakrishnan A, Tavakkolizadeh A. Impact of Roux-en-Y gastric bypass surgery on rat intestinal glucose transport. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2009;297(5):G950-7.
89. Zhang H, DiBaise JK, Zuccolo A, Kudrna D, Braidotti M, Yu Y, Parameswaran P, Crowell MD, Wing R, Rittmann BE, Krajmalnik-Brown R. Human gut microbiota in obesity and after gastric bypass. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106(7):2365-70.
90. Cuche G, Cuber JC, Malbert CH Ileal short-chain fatty acids inhibit gastric motility by a humoral pathway. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2000;279(5):G925-30.
91. Sweeney TE, Morton JM. The human gut microbiome: a review of the effect of obesity and surgically induced weight loss. *JAMA Surg*. 2013;148(6):563-9.
92. Torquati A, Lutfi R, Abumrad N, Richards WO. Is Roux-en-Y Gastric Bypass Surgery the Most Effective Treatment for Type 2 Diabetes Mellitus in Morbidly Obese Patients? *J Gastrointest Surg* 2005;9:1112–1118.

93. Nannipieri M, Baldi S, Mari A, Colligiani D, Guarino D, Camastra S, Barsotti E, Berta R, Moriconi D, Bellini R, Anselmino M, Ferrannini E. Roux-en-Y gastric bypass and sleeve gastrectomy: mechanisms of diabetes remission and role of gut hormones. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013 Nov;98(11):4391-9.
94. Christou NV1, Look D, Maclean LD. Weight gain after short- and long-limb gastric bypass in patients followed for longer than 10 years. *Ann Surg.* 2006; 244(5):734-40.
95. DiGiorgi M1, Rosen DJ, Choi JJ, Milone L. Re-emergence of diabetes after gastric bypass in patients with mid- to long-term follow-up. *Surg Obes Relat Dis.* 2010;6(3):249-53.
96. Marsk R, Jonas E, Rasmussen F et al. Nationwide cohort study of post-gastric bypass hypoglycaemia including 5040 patients undergoing surgery for obesity in 1986-2006 in Sweden. *Diabetologia.* 2010;53:2307-11
97. Di Marino L, Griffo E, Maione S, Mirabella M. Active glucagon-like peptide-1 (GLP-1): storage of human plasma and stability over time. *Clin Chim Acta.* 2011 Aug 17;412(17-18):1693-4.
98. Mari A, Pacini G, Murphy E, Ludvik B, Nolan JJ. A model-based method for assessing insulin sensitivity from the oral glucose tolerance test. *Diabetes Care.* 2001 Mar;24(3):539-48.
99. Ahrén B, Pacini G. Impaired adaptation of first-phase insulin secretion in postmenopausal women with glucose intolerance. *Am J Physiol.* 1997 Oct;273(4 Pt 1):E701-7.
100. Keidar A, Hershkop KJ, Marko L, Schweiger C, Hecht L, Bartov N et al. Roux-en-Y gastric bypass vs sleeve gastrectomy for obese patients with type 2 diabetes: a randomised trial. *Diabetologia.* 2013;56(9):1914-8
101. Kashyap SR, Bhatt DL, Wolski K, Watanabe RM, Abdul-Ghani M, Abood B et al. Metabolic effects of bariatric surgery in patients with moderate obesity and type 2 diabetes: analysis of a randomized control trial comparing surgery with intensive medical treatment. *Diabetes Care* 2013;36(8):2175-82
102. Lee WJ, Chong K, Lin YH, Wei JH, Chen SC. Laparoscopic Sleeve Gastrectomy Versus Single Anastomosis (Mini-) Gastric Bypass for the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus: 5-Year

Results of a Randomized Trial and Study of Incretin Effect. *Obes Surg*. 2014 Jun 26. [Epub ahead of print]

- 103.** Schauer PR, Bhatt DL, Kirwan JP, Wolski K, Brethauer SA, Navaneethan SD et al. Bariatric Surgery versus Intensive Medical Therapy for Diabetes — 3-Year Outcomes. *N Engl J Med*. 2014;370(21):2002-13
- 104.** Rubino F, Forgione A, Cummings DE, Vix M, Gnuli D, Mingrone G et al. 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* 2006; 244:741–9.
- 105.** Laferrere B, Teixeira J, McGinty J, Tran H, Egger JR, Colarusso A et al 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* 2008;93:2479–85.
- 106.** Whitson BA, Leslie DB, Kellogg TA, Maddaus MA, Buchwald H, Billington CJ et al Entero-endocrine changes after gastric bypass in diabetic and nondiabetic patients: a preliminary study. *J Surg Res* 2007;141:31–9.
- 107.** Jimenez A, Casamitjana R, Viaplana-Masclans J, Lacy A, Vidal J. GLP-1 action and glucose tolerance in subjects with remission of type 2 diabetes mellitus after gastric bypass surgery. *Diabetes Care*. 2013;36(7):2062-9
- 108.** Madsbad S, Holst JJ. GLP-1 as a mediator in the remission of type 2 diabetes after gastric bypass and sleeve gastrectomy surgery. *Diabetes*. 2014; 63:3172-4
- 109.** Lind L, Zethelius B, Sundbom M, Eden Engstrom B, Karlsson FA. Vasoreactivity is rapidly improved in obese subjects after gastric bypass surgery. *International Journal of Obesity*. 2009;33:1390-5
- 110.** Mingrone G, Rosa G, Greco AV, Manco M, Vega N, Nanni G et al Intramyocytic lipid accumulation and SREBP-1c expression are related to insulin resistance and cardiovascular risk in morbid obesity *Atherosclerosis* 2003;170:155-61.
- 111.** Griffo E, Nosso G, Lupoli R, Cotugno M, Saldalamacchia G, Vitolo G et al. Early Improvement of Postprandial Lipemia

After Bariatric Surgery in Obese Type 2 Diabetic Patients. *ObesSurg* 2014 May;24(5):765-70.

- 112.** Benaiges D, Flores-Le-Roux JA, Pedro-Botet J, Ramon JM, Parri A, Villatoro M et al. Impact of restrictive (sleeve gastrectomy) vs hybrid bariatric surgery (Roux-en-Y gastric bypass) on lipid profile. *ObesSurg*. 2012;22(8):1268–75
- 113.** Benetti A, Del Puppo M, Crosignani A, Veronelli A, Masci E, Frigè F et al. Cholesterol metabolism after bariatric surgery in grade 3 obesity: differences between malabsorptive and restrictive procedures. *Diabetes Care*. 2013;36:1443-7
- 114.** Pihlajamäki J, Grönlund S, Simonen M, et al. Cholesterol absorption decreases after Roux-en-Y gastric bypass but not after gastric banding. *Metabolism* 2010; 59(6):866-72.
- 115.** Moustarah F, Gilbert A, Després JP, Tchernof A. Impact of gastrointestinal surgery on cardiometabolic risk. *Curr Atheroscler Rep* 2012;14(6):588-96.
- 116.** Pirillo A, Norata GD, Catapano AL. Postprandial lipemia as a cardiometabolic risk factor. *Curr Med Res Opin* 2014;30(8):1489-503.
- 117.** Waldmann E, Hüttl TP, Göke B, Lang R, Parhofer KG. Effect of sleeve gastrectomy on postprandial lipoprotein metabolism in morbidly obese patients. *Lipids Health Dis* 2013;12:82.
- 118.** Umeda LM, Pereira AZ, Carneiro G, Arasaki CH, Zanella MT. Postprandial adiponectin levels are associated with improvements in postprandial triglycerides after Roux-en-Y gastric bypass in type 2 diabetic patients. *Metab Syndr Relat Disord* 2013;11(5):343
- 119.** Ben-Shlomo S, Zvibel I, Shnell M, Shlomain A, Chepurko E, Halpern Z et al. Glucagon-like peptide-1 reduces hepatic lipogenesis via activation of AMP-activated protein kinase. *J Hepatol* 2011; 54(6):1214-23.
- 120.** Svegliati-Baroni G, Saccomanno S, Rychlicki C, Agostinelli L, De Minicis S, Candelaresi C et al. Glucagon-like peptide-1 receptor activation stimulates hepatic lipid oxidation and restores hepatic signalling alteration induced by a high-fat diet in nonalcoholic steatohepatitis. *Liver Int* 2011;31(9):1285-97.

- 121.** Kohli R, Bradley D, Setchell KD et al. Weight loss induced by Roux-en-Y gastric bypass but not laparoscopic adjustable gastric banding increases circulating bile acids. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; 98(4):E708-12.
- 122.** Steinert RE, Peterli R, Keller S et al. Bile acids and gut peptide secretion after bariatric surgery: a 1-year prospective randomized pilot trial. *Obesity (Silver Spring)* 2013;21(12):E660-8.
- 123.** Padilla N, Maraninchi M, Béliard S, et al. Effects of bariatric surgery on hepatic and intestinal lipoprotein particle metabolism in obese, nondiabetic humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2014;34(10):2330-7.
- 124.** Sjoström L, Narbro K, Sjoström CD et al. Effects of bariatric surgery on mortality in Swedish obese subjects. *N Engl J Med* 2007;357:741–752
- 125.** Sjoström L. Review of the key results from the Swedish Obese Subjects (SOS) trial: a prospective controlled intervention study of bariatric surgery. *J Intern Med* 2013;273:219–234
- 126.** Drucker DJ, Nauck MA. The incretin system: glucagonlike peptide-1 receptor agonists and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in type 2 diabetes. *Lancet* 2006;368:1696–1705
- 127.** Meier JJ. GLP-1 receptor agonists for individualized treatment of type 2 diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol.* 2012;8:728–742
- 128.** Buse JB, Rosenstock J, Sesti G et al. LEAD-6 study group. Liraglutide once a day versus exenatide twice a day for type 2 diabetes: a 26-week randomised, parallel-group, multinational, open-label trial (LEAD-6). *Lancet* 2009; 374:39–47
- 129.** Fadini GP, Rigato M. Comparative effectiveness of liraglutide in the treatment of type 2 diabetes. *Diabetes Metab Syndr Obes.* 2014;7:107–120
- 130.** Inzucchi SE, Bergenstal RM, Buse JB et al. Management of hyperglycaemia in type 2 diabetes: a patient-centered approach. Position statement of the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Diabetologia* 2012;55:1577–1596

- 131.** Mechanick JI, Youdim A, Jones DB et al. American Association of Clinical Endocrinologists; Obesity Society; American Society for Metabolic and Bariatric Surgery. Clinical practice guidelines for the perioperative nutritional, metabolic, and nonsurgical support of the bariatric surgery patient–2013 update Obesity (Silver Spring) 2013;21:S1–S27
- 132.** Stevens RJ, Kothari V, Adler AI et al. On behalf of the United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. The UKPDS risk engine: a model for the risk of coronary heart disease in Type II diabetes (UKPDS 56). Clin Sci 2001;101:671–679
- 133.** MacLean LD, Rhode BM, Sampalis J, Forse RA. Results of the surgical treatment of obesity. Am J Surg 1993;65(1):155–160
- 134.** Qaseem A, Vijan S, Snow V et al. Clinical efficacy assessment subcommittee of the American college of physicians. Glycemic control and type 2 diabetes mellitus: the optimal hemoglobin a1c targets. A guidance statement from the American College of Physicians. Ann Intern Med 2007;147:417–422
- 135.** Schauer PR, Bhatt DL, Kirwan JP et al. Bariatric surgery versus intensive medical therapy for diabetes–3-year outcomes. N Engl J Med 2014;370(21):2002–2013
- 136.** Mingrone G, Panunzi S, De Gaetano A et al. Bariatric surgery versus conventional medical therapy for Type 2 diabetes. New Engl J Med 2012;66:1577–1585
- 137.** Ikramuddin S, Korner J, Lee WJ et al. Roux-en-Y gastric bypass vs intensive medical management for the control of type 2 diabetes, hypertension, and hyperlipidemia. JAMA 2013;309:2240–2249
- 138.** Schauer PR, Bhatt DL, Kirwan JP et al. The STAMPEDE Investigators. Bariatric surgery versus intensive medical therapy for diabetes: 3-year outcomes. New Engl J Med 2014;70:2002–2013
- 139.** Gloy VL, Briel M, Bhatt DL et al. Bariatric surgery versus non-surgical treatment for obesity: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. BMJ 2013;347:f5934

- 140.** Ribaric GL, Buchwald JN, McGlennon TW. Diabetes and weight in comparative studies of bariatric surgery vs conventional medical therapy: a systematic review and meta-analysis. *Obes Surg* 2014; 24:437–455
- 141.** Wing RR, Lang W, Wadden TA et al. Benefits of modest weight loss in improving cardiovascular risk factors in overweight and obese individuals with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2011;34:1481–1486
- 142.** Lorber D. GLP-1 Receptor Agonists: Effects on Cardiovascular Risk Reduction. *Cardiovasc Ther* 2013;31:238–249
- 143.** Unick JL, Beavers D, Bond DS et al. Look AHEAD research group. The long-term effectiveness of a lifestyle intervention in severely obese individuals. *Am J Med* 2013; 126:236–242
- 144.** Salehi M, Gastaldelli A, D’Alessio DA. Blockade of glucagon-like peptide 1 receptor corrects postprandial hypoglycemia after gastric bypass. *Gastroenterology* 2014;146:669
- 145.** Sjöström, L. Diabetes remission and prevention after usual care and bariatric surgery. Results over 15 years in the Swedish Obese Subjects trial; the 49th European Association for the Study of Diabetes (EASD); Barcelona, Spain. 2013.
- 146.** Service FJ, Molnar GD, Rosevear JW et al. Mean amplitude of glycemic excursions, a measure of diabetic instability. *Diabetes* 1970;19:644–655
- 147.** Smith-Palmer J, Brändle M, Trevisan R et al. Assessment of the association between glycemic variability and diabetes-related complications in type 1 and type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 2014;105(3):273-284.
- 148.** Diabetes Control and Complications Trial (DCCT)/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (EDIC) Research Group, Lachin JM, White NH, Hainsworth DP et al. Effect of Intensive Diabetes Therapy on the Progression of Diabetic Retinopathy in Patients with Type 1 Diabetes: 18 Years of Follow-up in the DCCT/EDIC. *Diabetes.* 2015 Feb;64(2):631-42.
- 149.** Quagliaro L, Piconi L, Assaloni R et al. Intermittent high glucose enhances apoptosis related to oxidative stress in human

umbilical vein endothelial cells: the role of protein kinase C and NAD(P)H-oxidase activation. *Diabetes* 2003;52(11):2.

- 150.** Hirsch IB, Brownlee M. Should minimal blood glucose variability become the gold standard of glycemic control? *J Diabetes Complications* 2005;19(3):178-81.
- 151.** Jimenez A, Ceriello A, Casamitjana R et al. Remission of type 2 diabetes after Roux-en-Y gastric bypass or sleeve gastrectomy is associated with a distinct glycemic profile. *Ann Surg* 2015;261:316-322
- 152.** S. Camastra, A. Gastaldelli, A. Mari et al. Early and longer term effects of gastric bypass surgery on tissue-specific insulin sensitivity and beta cell function in morbidly obese patients with and without type 2 diabetes. *Diabetologia* 2011.
- 153.** Roslin M, Damani T, Oren J et al. Abnormal glucose tolerance testing following gastric bypass demonstrates reactive hypoglycemia. *Surg Endosc.* 2011 Jun;25(6):1926-32.
- 154.** Goldfine AB, Mun EC, Devine E, et al. Patients with neuroglycopenia after gastric bypass surgery have exaggerated incretin and insulin secretory responses to a mixed meal. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007; 92:4678–85
- 155.** Tzovaras G, Papamargaritis D, Sioka E, et al. Symptoms suggestive of dumping syndrome after provocation in patients after laparoscopic sleeve gastrectomy. *Obes Surg* 2012;22: 23–8.
- 156.** Ceppa EP, Ceppa DP, Omotosho PA et al. Algorithm to diagnose etiology of hypoglycemia after Roux-en-Y gastric bypass for morbid obesity: case series and review of the literature. *Surg Obes Relat Dis.* 2012 Sep-Oct;8(5):641-7
- 157.** Service GJ, Thompson GB, Service FJ, et al. Hyperinsulinemic hypoglycemia with nesidioblastosis after gastric-bypass surgery. *N Engl J Med.* 2005; 353:249–54.
- 158.** Brubaker PL, Drucker DJ. Minireview: Glucagon-like peptides regulate cell proliferation and apoptosis in the pancreas, gut, and central nervous system. *Endocrinology.* 2004; 145:2653–9.

## 6. Appendice

Si riporta di seguito l'elenco dei lavori pubblicati (o in corso di pubblicazione) durante il triennio del Corso di Dottorato di Ricerca.

1. Cutolo PP, **Nosso G**, Vitolo G, Brancato V, Capaldo B, Angrisani L. Clinical efficacy of laparoscopic sleeve gastrectomy vs laparoscopic gastric bypass in obese type 2 diabetic patients: a retrospective comparison. *Obes Surg.* 2012 Oct;22(10):1535-9.
2. **G. Nosso**, R. Lupoli, M. Cotugno, E. Griffo, G. Saldalamacchia, P.P. Cutolo, L. Angrisani, B. Capaldo. Modifiche a breve e a medio termine degli ormoni gastrointestinali dopo bypass gastrico o gastrectomia verticale in pazienti con diabete mellito tipo 2 ed obesità severa. *Il Giornale AMD* 2013;17:308-312
3. Angrisani L, Cutolo PP, Formisano G, **Nosso G**, Vitolo G. Laparoscopic adjustable gastric banding versus Roux-en-Y gastric bypass: 10-year results of a prospective, randomized trial. *Surg Obes Relat Dis.* 2013 May-Jun;9(3):405-13.
4. Angrisani L, Cutolo PP, Formisano G, **Nosso G**, Santonicola A, Vitolo G. Long-term outcomes of laparoscopic adjustable silicone gastric banding (LAGB) in moderately obese patients with and without co-morbidities. *Obes Surg.* 2013 Jul;23(7):897-902
5. Corona G, Giorda CB, Cucinotta D, Guida P, Nada E; **SUBITO-DE study group**. The SUBITO-DE study: Sexual dysfunction in newly diagnosed Type 2 diabetes male patients. *J Endocrinol Invest.* 2013 Nov;36(10):864-868. Epub 2013 May 20.
6. E. Griffo, **G. Nosso**, R. Lupoli, M. Cotugno, G. Saldalamacchia, G. Vitagliano, L. Angrisani, P.P. Cutolo, A.A. Rivellese, B. Capaldo. Effetti a breve termine della chirurgia bariatrica sulla lipemia postprandiale e sugli ormoni gastrointestinali in pazienti obesi con diabete di tipo 2. *Il Giornale AMD* 2013;17:303-307
7. Vitagliano G, **Nosso G**, Cotugno M, Saldalamacchia G, Lupoli R, Griffo E, Angrisani L, Riccardi G, Capaldo B. Studio retrospettivo sull'efficacia ad 1 anno della terapia medica con liraglutide e della chirurgia bariatrica nel trattamento del paziente con diabete tipo 2 ed obesità. "Il Giornale Italiano di Diabetologia e Metabolismo" 2014;34:53

8. Griffo E, **Nosso G**, Lupoli R, Cotugno M, Saldalamacchia G, Vitolo G, Angrisani L, Cutolo PP, Rivellesse AA, Capaldo B. Early improvement of postprandial lipemia after bariatric surgery in obese type 2 diabetic patients. *Obes Surg.* 2014 May;24(5):765-70.
9. Corona G, Giorda CB, Cucinotta D, Guida P, Nada E; **Gruppo di studio SUBITO-DE**. Sexual dysfunction at the onset of type 2 diabetes: the interplay of depression, hormonal and cardiovascular factors. *J Sex Med.* 2014 Aug;11(8):2065-73. Epub 2014 Jul 7.
10. Cotugno M, **Nosso G**, Saldalamacchia G, Vitagliano G, Griffo E, Lupoli R, Angrisani L, Riccardi G, Capaldo B. Clinical efficacy of bariatric surgery versus liraglutide in patients with type 2 diabetes and severe obesity: a 12-month retrospective evaluation. *Acta Diabetol.* 2014 Sep 14.
11. **Nosso G**, Cotugno M, Griffo E, Saldalamacchia G, Lupoli R, Pacini G, Riccardi G, Angrisani L, Capaldo B. Glucose homeostasis and incretin hormones in obese type 2 diabetic patients 1 year after bariatric surgery. In corso di revisione per la pubblicazione in *Acta Diabetologica*
12. Griffo E, Cotugno M, **Nosso G**, Saldalamacchia G, Mangione A, Angrisani L, Rivellesse AA, Capaldo B. Effects of sleeve gastrectomy and gastric bypass on lipid profile in obese type 2 diabetic patients: a 2-year follow-up. In corso di revisione per la pubblicazione in *Metabolism*
13. **Nosso G**. Indicazioni e selezione dei pazienti da avviare alla chirurgia bariatrica. In corso di pubblicazione su *Il Giornale AMD*