

**Università degli Studi di Roma “La Sapienza”**

Dottorato di Ricerca in Fisiopatologia Chirurgica e

Gastroenterologia - XXIV Ciclo

*Coordinatore Chiar.ma Prof.ssa C. Montesani*



Tesi di Dottorato:

***“ SLEEVE GASTRECTOMY E DIABETE MELLITO DI TIPO 2:  
EFFETTO PRECOCE”***

Tutor

*Chiar.ma Prof.ssa C. Montesani*

Dottorando

*Dr. Mario Rizzello*

Anno accademico 2011-2012

## INTRODUZIONE

### Obesità e diabete

L'obesità rappresenta uno dei maggiori fattori di rischio per lo sviluppo del diabete mellito di tipo 2 (DMT2). E' stimato che il 57% dei pazienti obesi è affetto da DMT2, mentre il 90% dei pazienti con DMT2 è obeso.

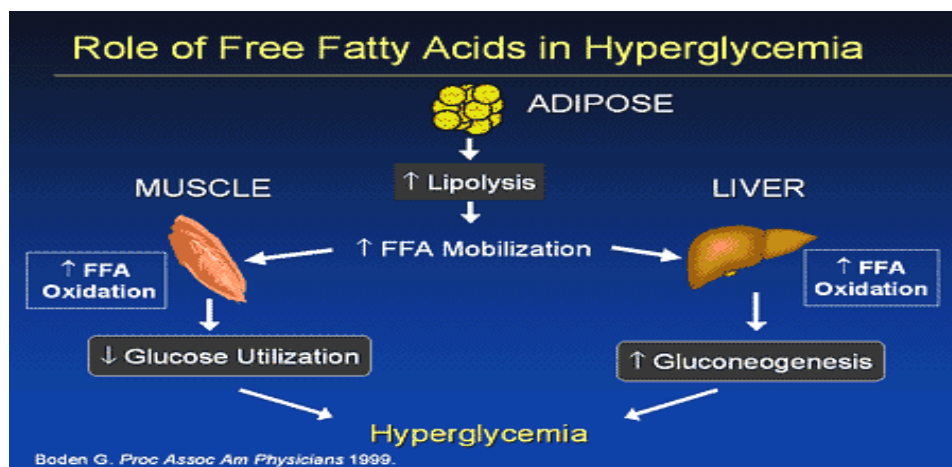
L'obesità e il diabete sono stati definiti dall'Organizzazione Mondiale della Sanità le epidemie del XXI secolo. Un nuovo termine, "*Diabesity*", è stato coniato recentemente per sottolineare la frequente associazione delle due situazioni patologiche (1). Nel decennio passato è stato dimostrato come un gran numero di fattori endocrini, infiammatori, neuronali e cellulari risultino alterati nei pazienti obesi. Il tessuto adiposo non rappresenta una semplice riserva energetica, produce infatti un gran numero di molecole biologicamente attive (Adiponectina, PAI-1, IL-6, TNF- $\alpha$ , Angiotensinogeno, etc.) (2). Sebbene sia possibile che questi fattori siano interdipendenti, è probabile che le sole alterazioni neuroendocrine giochino un ruolo determinante nella comparsa dell'insulino-resistenza (3,4). L'eccesso di tessuto adiposo, ed in particolar modo quello viscerale, si associa quindi ad insulino-resistenza con o senza possibili alterazioni dei valori glicemici.

Il grasso viscerale immettendo nel sangue portale grandi quantità di acidi grassi liberi (FFA) compromette la sensibilità dei recettori epatici per l'insulina, determinando una condizione di insulino-resistenza epatica. Ciò porta ad un incremento della secrezione insulinica, nel tentativo di compensare la riduzione della sensibilità recettoriale epatica. All'aumento dell'insulina ematica segue, per il fenomeno della "down-regulation", una diminuzione dei recettori periferici (soprattutto muscolari). Si instaura quindi uno stato di insulino-resistenza. Gli effetti di questa nuova situazione sono molteplici ed in particolare interessano i tre tessuti bersaglio dell'azione insulinica: fegato (aumento della gluconeogenesi), muscoli (riduzione della captazione di glucosio e della glicogeno-sintesi), tessuto adiposo (immissione in circolo di nuovi acidi grassi liberi) (5). In definitiva, quindi, si determina una condizione caratterizzata da un ridotto utilizzo periferico ed una concomitante aumentata produzione epatica di glucosio. Queste condizioni portano ad un rialzo dei livelli di glucosio circolante. Lo stato di iperglicemia, a sua volta, costituisce uno stimolo continuo sulla  $\beta$ -cellula pancreatica a secernere insulina.

La distribuzione del grasso corporeo ha quindi la sua importanza e la presenza di grasso viscerale ha un valore predittivo non solo per le patologie cardiovascolari ma anche per la comparsa di alterazioni metaboliche. Numerosi studi hanno dimostrato come l'aumento della circonferenza vita (maggiore di 88 cm nella donna e di 102 cm nell'uomo) si correli con l'insulino-resistenza oltre che con l'incremento del rischio cardiovascolare (6,7). Inoltre,

come accade per lo sviluppo del DMT2 nel normopeso, anche nell'obeso il progressivo deterioramento dello stato metabolico è il risultato di un fallimento del tentativo di compensare l'insulino-resistenza (8).

Clinicamente nelle fasi precoci delle alterazioni metaboliche la tolleranza glucidica permane nella norma, nonostante la resistenza periferica, poiché le  $\beta$ -cellule del pancreas aumentano la secrezione insulinica. Quando però lo stato di insulino-resistenza permane ed il pancreas non riesce più ad attuare un'adeguata situazione di compenso, compare un'iniziale alterazione del metabolismo glucidico, che si appalesa con un'alterata glicemia a digiuno (IFG, glicemia a digiuno maggiore di 100/mg/dl e minore di 126 mg/dl), confermata dal riscontro di un'intolleranza ai carboidrati (IGT: glicemia a 2 h dal pasto maggiore di 140 mg/dl e minore di 199 mg/dl) (figura 1). Un ulteriore aumento della resistenza insulinica e/o una graduale riduzione della secrezione pancreatica conducono al DMT2 conclamato (8-10). Tuttavia bisogna ricordare che, nonostante l'insulino-resistenza, molti individui obesi non sviluppano un DMT2. Questo fa supporre che l'insorgenza del diabete richieda una interazione tra insulino-resistenza indotta dall'obesità ed altri fattori che predispongono al diabete, come ad esempio un'alterazione congenita della secrezione insulinica (11).



**Figura 1. Ruolo svolto dal tessuto adiposo nella comparsa dell'iperglicemia (11-18).**

### **Chirurgia bariatrica e diabete**

Negli anni recenti, l'aumentata incidenza dell'obesità patologica (body mass index, BMI, maggiore di 40 Kg/m<sup>2</sup>), con le associate comorbidità ed il progressivo diffondersi in chirurgia dell'approccio laparoscopico ha determinato un crescente interesse per la chirurgia bariatrica e per i meccanismi fisiopatologici che ne regolano l'azione. Ad oggi è stata chiaramente dimostrata la concreta validità della chirurgia bariatrica nel determinare, in pazienti selezionati, un significativo calo ponderale ed una correzione dei diversi stati morbosi associati all'obesità patologica con un conseguente decremento della mortalità (12).

Di grande ed attualissimo interesse sono le ricerche riguardanti i meccanismi fisiopatologici alla base di queste modificazioni. Riguardo all'omeostasi glucidica, inizialmente i buoni risultati ottenuti erano attribuiti esclusivamente alla perdita di peso ed alla diminuita assunzione di cibo. Fin da subito però si evidenziarono i limiti di tale teoria. Il ritorno all'euglicemia ed ai normali valori di insulinemia, in particolare dopo bypass gastrico (BPG) e diversione biliopancreatica (DBP), si conseguiva molto tempo prima che si verificasse un significativo calo ponderale. L'analisi di questi risultati portò molti Autori a pensare che le importanti modificazioni anatomiche e fisiologiche che si associano al BPG e alla DBP potessero influenzare i meccanismi di controllo del DMT2 (13). Numerosi studi hanno riportato un cambiamento della risposta ormonale gastrointestinale (enteroglucagone, colecistochinina, peptideYY) dopo procedure come il BPG e la DBP (14). Queste evidenze, insieme ad altre che si sono aggiunte nel tempo, hanno portato alla diffusione dell'idea che le variazioni di alcuni ormoni gastrointestinali, successive a particolari modificazioni anatomiche, potessero svolgere un ruolo determinante nella riduzione del peso e nel suo mantenimento a lungo termine dopo chirurgia bariatrica e che tali variazioni potessero interferire con la regolazione del metabolismo glucidico e del bilancio energetico (15). In una nota meta-analisi del 2004 e rivista nel 2006, Buchwald rilevava una percentuale di risoluzione di DMT2 più alta nei pazienti sottoposti a DBP (98%) e a BPG (83,7%) ed una percentuale più bassa in quelli sottoposti ad interventi puramente restrittivi come la gastroplastica verticale (71,6%) e il bendaggio gastrico (47,9%) (12,16).

Inoltre, come confermato da altre esperienze, il "timing" di risoluzione del DMT2 risultava molto differente nelle diverse procedure. Mentre per gli interventi restrittivi la risoluzione seguiva un consistente calo ponderale, dopo BPG e DBP il ritorno all'euglicemia e ai normali valori di insulinemia si verificava pochi giorni dopo l'intervento chirurgico e molto tempo prima di un significativo calo ponderale.

Le caratteristiche distintive e comuni delle due procedure (BPG e DBP) sono l'esclusione del duodeno e di parte del piccolo intestino con conseguente transito "rapido" del cibo non digerito, o parzialmente digerito, nell'ileo.

Già nel 2001 Pories osservava che sia il BPG che la DBP portavano ad escludere dal transito alimentare le aree di intestino responsabili della produzione di particolari ormoni, le "incretine" (13). Si ipotizzò che l'iperinsulinemia del DMT2 derivasse da un'abnorme stimolazione pancreatica successiva ad un'ingente secrezione di incretine da parte dell'intestino, mentre l'insulino-resistenza era vista come un processo protettivo che si instaurava per contrastare l'iperinsulinismo.

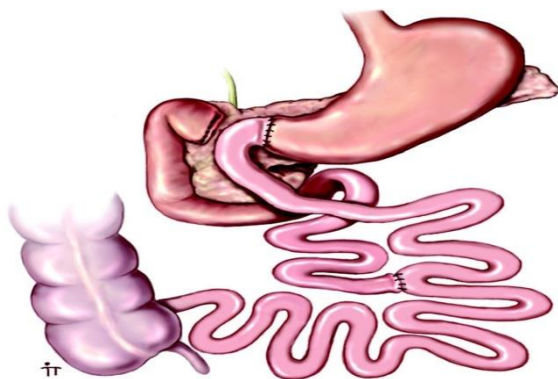
Cummings, pur ribadendo il ruolo del calo ponderale nel determinare un miglioramento della sensibilità insulinica e nell'aumentare la funzionalità delle cellule beta del pancreas, sosteneva che questo meccanismo da solo non poteva spiegare completamente i risultati ottenuti dalla chirurgia bariatrica. Lo stesso autore chiamò in causa un ormone, la ghrelina, prodotto principalmente nello stomaco, ad effetto oressigenico e che inoltre sembra interferire col metabolismo glucidico (17). Ricordando che il cibo ingerito è il principale regolatore in acuto della produzione dell'ormone e che la maggior parte del stomaco secernente Ghrelina (fondo gastrico) viene escluso dal transito alimentare dopo BPG (18,19), Cummings ipotizzò che il BPG alterasse la secrezione di ghrelina mediante un meccanismo denominato "override-inhibition". Con questo termine si indica il fenomeno per mezzo del quale gli ormoni normalmente secreti in risposta ad uno stimolo episodico, vengono paradossalmente inibiti quando questo stimolo diviene continuo. Il normale stimolo per la ghrelina potrebbe provenire dallo stomaco e dal duodeno vuoti, condizione che viene resa permanente dal BPG (20,21).

Secondo l'ipotesi del "override-inhibition" di Cummings, le procedure bariatriche che non escludono la maggior parte del tessuto produttore ghrelina (fondo gastrico) dal contatto con i nutrienti, non comporterebbero una diminuzione della secrezione dell'ormone. In accordo con quanto detto, le procedure come il bendaggio gastrico e DBP con metodica standard (sec. Scopinaro), erano associate a livelli di ghrelina invariati o aumentati (22-24). In queste due procedure l'effetto sul calo ponderale, e del conseguente miglioramento dell'omeostasi glucidica, era da attribuire ad altri meccanismi (restrizione, malassorbimento, etc.). Solamente tre, quindi, erano le procedure di chirurgia bariatrica alle quali seguiva una significativa modificazione dei quantitativi ematici di ghrelina totale: il BPG, la DBP nella variante con preservazione del piloro (duodenal switch, DS) e la Sleeve Gastrectomy (SG) consistente in una gastrectomia verticale con completa asportazione del fondo gastrico.

Successivamente numerosi studi hanno focalizzato l'attenzione sul ruolo svolto in chirurgia bariatrica dalla ghrelina e da altri ormoni prodotti dal tratto gastrointestinale (25-50). Un recente studio eseguito da Karamanakos (51) ha chiarito in maniera completa e riassuntiva quali sono i risultati che si ottengono sui valori ematici di ghrelina e di un'incertina con effetto an-oressigenico (PYY) dopo BPG e SG. I risultati ottenuti sono stati rilevanti: un excess weight loss (EWL) a 6 mesi maggiore dopo SG rispetto al BPG; a 12 mesi veniva confermato il miglior risultato della SG. Contemporaneamente l'autore notava che, dopo SG, i valori di Ghrelina ematica a digiuno, già bassi nei pazienti prima dell'intervento, decrescevano ulteriormente. Tale riduzione non si rilevava dopo BPG neanche dopo un consistente calo ponderale. Per quanto riguarda invece i valori ematici del PYY, incertina che a digiuno negli obesi risulta generalmente diminuita, si assisteva ad un suo significativo

incremento dopo le due procedure. In base alle osservazioni fatte, l'Autore arrivò alla conclusione che la ghrelina, andando incontro ad una sostanziale diminuzione dopo SG, con l'associato aumento del PYY determinerebbe una consistente riduzione del senso della fame, sia a breve che a lungo termine. Ciò potrebbe risultare fattore determinante per un più maggior EWL dopo SG. Tra i vari studi condotti nel tentativo di comprendere i meccanismi fisiopatologici con i quali la chirurgia bariatrica determina una precoce risoluzione del DMT2, di fondamentale importanza sono quelli di Rubino. Rubino già nel 2002 aveva focalizzato la sua attenzione sulla rapida risoluzione del DMT2 dopo BPG (52). Nel 2004, in un primo studio sperimentale, dopo aver praticato un bypass duodeno-digiunale su topi Goto-Kakizaki (un modello di topo non obeso affetto da DMT 2), con l'intento di mimare l'esclusione del duodeno e del digiuno prossimale che si determina con il BPG (figura 2) constatò: l'assenza di differenze in termini di calo ponderale tra i ratti operati ed il gruppo di controllo, nutrito con dieta e calorie identiche; i ratti sottoposti a bypass duodeno-digiunale mostravano un sorprendente, significativo e rapido aumento della tolleranza al glucosio rispetto a quelli del gruppo di controllo, nonostante l'equivalente peso corporeo dei due gruppi. Ne conseguiva che il bypass duodeno-digiunale da solo non determinava una perdita di peso, evidenza questa non sorprendente dal momento che il bypass non creava una restrizione gastrica, né bypassava un segmento di intestino sufficiente a determinare malassorbimento, né includeva una vagotomia. Tuttavia il bypass del primo tratto di intestino migliorava l'omeostasi glucidica indipendentemente dalla perdita di peso, dimostrando quindi che un semplice "riarrangiamento" delle anse poteva influenzare il metabolismo glucidico (53).

Rubino ipotizzò che alla base di questa influenza ci fosse un'alterazione di particolari ormoni gastrointestinali e, in accordo con questa previsione, rilevò più bassi livelli di ghrelina in alcuni ratti obesi (Zucker) sottoposti a bypass digiuno-digiunale (54). Dal momento che la ghrelina esercita effetti "pro-diabetici", questa riduzione dell'ormone poteva contribuire a migliorare l'omeostasi glucidica.



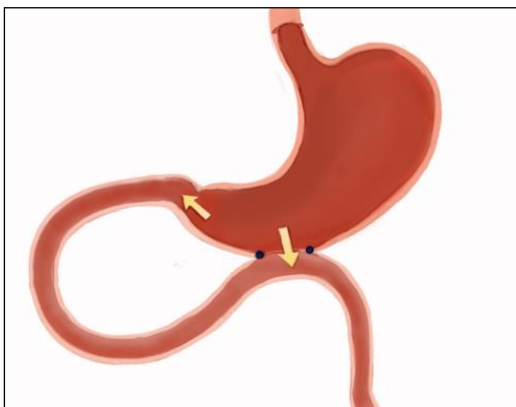
**Figura 2. Bypass gastro-digiunale.**

In realtà sono state elaborate due diverse teorie per spiegare gli effetti del bypass duodeno-digiunale sul DMT2: la “HINDGUT HYPOTHESIS” e la “FOREGUT HYPOTHESIS” .

La prima sostiene che gli effetti terapeutici ottenuti sul controllo del diabete siano il risultato di un prematuro transito nella porzione terminale dell'intestino da parte di nutrienti non digeriti o mal digeriti. Questo comporterebbe un aumento di particolari segnali fisiologici con un miglioramento del metabolismo glucidico. Un potenziale candidato a svolgere il ruolo di mediatore di questi effetti è il glucagon-like-peptide-1 (GLP-1) (55). L'aumentata concentrazione di questa incretina stimolerebbe la secrezione di insulina, la proliferazione e l'induzione di meccanismi antiapoptotici nelle  $\beta$ -cellule delle isole pancreatiche.

L'ipotesi alternativa, “FOREGUT HYPOTHESIS”, sostiene invece che gli effetti siano mediati dall'esclusione del duodeno e del digiuno dal transito dei nutrienti, esclusione che potrebbe prevenire l'out-put di un segnale che promuove l'insulino-resistenza ed il DMT2.

Nel 2006 Rubino, con un nuovo studio sperimentale condotto sulla stessa tipologia di ratti (Goto-kakizaki), cercò di capire quale delle due ipotesi potesse spiegare i risultati del BPG sul DMT2 (56). Per testare la “HINDGUT HYPOTHESIS” eseguì in un gruppo di ratti una gastro-digiunostomia (GJS), determinando un rapido transito nel tratto distale dell'intestino da parte del cibo mal digerito, senza però escludere completamente il duodeno ed il digiuno dal transito alimentare (figura 3). Per valutare la “FOREGUT HYPOTHESIS”, praticò in un altro gruppo un bypass duodeno-digiunale (DJB), che anche in questo caso determinava un rapido raggiungimento dell'intestino distale da parte dei nutrienti, che però bypassavano completamente duodeno e digiuno. A questi due tipi di interventi sono stati associati due gruppi di controllo. Nel primo sono stati compresi ratti sottoposti ad un “falso-intervento” (costituito da resezioni intestinali analoghe a DJB, alle quali hanno fatto seguito anastomosi intestinali che ripristinano la normale anatomia dell'intestino) per valutare lo stress operatorio. Il secondo gruppo, invece, includeva ratti non sottoposti ad alcun intervento.



**Figura 3. Gastro-digiunostomia eseguita da Rubino per valutare la “HINDGUT HYPOTHESIS”.**

Le cavie sottoposte ai primi due interventi venivano poi rioperate con l'intento rispettivamente di ottenere un bypass duodeno-digiunale nei ratti sottoposti a GJS, ed un ripristino del transito anche nel duodeno e nel digiuno nei ratti sottoposti a DJB. Veniva poi valutata, sia prima che dopo, la tolleranza ai carboidrati (con un test da carico, l'OGTT) insieme a all'introito alimentare ed al peso corporeo. Importanti risultati sono stati ottenuti: non si evidenziarono differenze nei gruppi di topi sottoposti ad intervento reale per quanto riguarda l'assunzione di cibo, la variazione del peso corporeo o modificazioni dell'assorbimento dei vari alimenti. Nei ratti operati con DJB si è potuto osservare un netto miglioramento della tolleranza ai carboidrati, che veniva però nuovamente peggiorata dal ripristino chirurgico del transito nel duodeno e nel digiuno; nel gruppo trattato con GJS non si sono invece rilevati miglioramenti del metabolismo glucidico se non dopo il secondo intervento. Le conclusioni alle quali si arrivò furono molteplici.

Questo studio dimostrava, con i due gruppi di controllo, che né lo stress operatorio, né il diminuito introito calorico svolgevano un ruolo determinante nella regolazione del metabolismo dei carboidrati. L'esclusione della parte prossimale del piccolo intestino dal contatto con i nutrienti è la componente necessaria a migliorare la tolleranza e più in generale il metabolismo dei carboidrati. Questi risultati supportavano la "FOREGUT HYPOTHESIS".

Inoltre la rapidità con cui si assisteva a tale regolazione confermava l'ipotesi secondo la quale esiste di un meccanismo ormonale da ricercare nel duodeno e nell'intestino tenue prossimale. L'esatto meccanismo ormonale alla base del miglioramento dell'omeostasi glucidica dopo BPG è ancora da definire. Tuttavia, quanto detto finora gettava le basi per una considerazione. Data la limitata efficacia della terapia convenzionale, alcune procedure di chirurgia bariatrica potrebbero rappresentare, in un futuro più o meno lontano, una valida opzione nel trattamento del DMT2. Se ciò dovesse avvenire noi oggi avremmo assistito agli nascita della chirurgia "metabolica".

Come detto si è cercato di capire inoltre in che modo e con quali "precoci" modificazioni sull'omeostasi glucidica (in termini di insulino-resistenza) la chirurgia bariatrica agisse. L'insulino-resistenza convenzionalmente è determinata da un test di tolleranza al glucosio (IVGTT) o ricavata col metodo HOMA-IR (Homeostasis Model Assessment for Insulin Resistance, valori normali <2,5). In lavori in cui si valutavano le modificazioni dell'omeostasi glucidica dopo chirurgia bariatrica si è osservata una precoce e permanente riduzione dell'insulino-resistenza. Scopinaro ha riportato, dopo DBP, una significativa riduzione dell'HOMA-IR già in V giornata post-operatoria, prima di un significativo calo ponderale



(57). Wickremesekera ha rilevato una rapida (6 giorni) e duratura riduzione dell'HOMA-IR anche dopo GBP (58). Risultati simili sono stati ottenuti da Balantyne il quale ha dimostrato un più rapido (3 mesi) e maggiore effetto del GBP rispetto al bendaggio gastrico (59).

Tuttavia negli ultimi tempi l'attenzione si è focalizzata su una particolare procedura bariatrica, la sleeve gastrectomy (SG). La SG, "gastrectomia a manica" o "gastrectomia verticale", come componente restrittiva della diversione biliopancreatica con duodenal switch (DS), è stata descritta per la prima volta nel 1998 da Douglas Hess e successivamente da Picard Marceau. Sulla base di alcuni risultati sperimentali, questi Autori sostituirono la gastrectomia distale della DBP con una "gastrectomia verticale" lungo la grande curvatura (sleeve gastrectomy) preservando la regione antropilorica e l'innervazione vagale, nel tentativo di ridurre l'incidenza di "Dumping Syndrome" e di ulcere marginali. Questa gastro-resezione verticale comporta la completa asportazione del fondo e di parte del corpo con un volume di stomaco residuo pari a 80–150 ml. La variante della BPD con risparmio della regione antropilorica è oggi conosciuta con il nome di diversione biliopancreatica con "duodenal switch" (DS) e rappresenta l'intervento chirurgico malassorbitivo più diffuso nel nord America per il trattamento dell'obesità patologica di IV grado ( $BMI > 50 \text{Kg/m}^2$ ).

Nel settembre del 1999 Michel Gagner realizzò al Mount Sinai Hospital di New York la prima DS per via laparoscopica. Nel 2001 lo stesso autore, avendo rilevato un incremento di morbilità e mortalità nei pazienti super-super-obesi (38% di complicanze maggiori e 6,25% di mortalità nei pazienti con  $BMI > 65$  vs 8,3% di complicanze maggiori e 0 mortalità nei pazienti con  $BMI$  tra 40 e 64) ha introdotto il concetto di chirurgia in due tempi (two-stages technique) per il trattamento della super-super-obesità ( $BMI > 60$ ). Il primo tempo consiste nella sola tubulizzazione gastrica (SG), il secondo tempo (anastomosi duodeno-ileale ed ileo-ileale) viene posticipato a quando l'effetto "restrittivo" sul calo ponderale ha raggiunto i massimi risultati (12 -18 mesi circa). Tutto ciò si traduce in una riduzione delle complicanze (5,6%) e della mortalità (0%). Negli anni successivi, numerose casistiche hanno riportato un calo ponderale dopo SG sovrapponibile a quello ottenuto dopo BPG e maggiore di quello ottenuto dopo interventi puramente restrittivi come il bendaggio gastrico (60-65). Per tale motivo, nonostante non esistano ad oggi evidenze a lungo termine (5 anni), numerosi Autori considerano la SG efficace alla pari del BPG e della DBP. La SG, quindi, nata come primo tempo di un intervento malassorbitivo (DS), è stata recentemente proposta come una tecnica "per se" di chirurgia bariatrica.

Inoltre Lacy et al, confrontando prospetticamente SG e BPG, hanno riportato un'elevata percentuale di risoluzione del DMT2 già 4 mesi dopo SG. Tale percentuale era paragonabile al GBP (51,4% vs. 62% rispettivamente,  $p=0,332$ ) (66). A 12 mesi la percentuale di

risoluzione nei due interventi era identica (84,6%, $p=0.618$ ). Il tutto avveniva prima che si verificasse un calo ponderale significativo. La precocità della risoluzione del DMT2 dopo SG suggeriva la presenza di un meccanismo “rapido” (ormonale?) di ripristino dell’omeostasi glucidica. Il già citato lavoro di Karamanakos ha analizzato le importanti variazioni di due ormoni (ghrelina e PYY) dopo SG (51).

Anche l’analisi retrospettiva della nostra casistica ha evidenziato per la SG una percentuale (78,6%) ed un timing di risoluzione (3,3 mesi) del DMT2 sovrapponibile al BPG (90,2% di risoluzione a 3,2 mesi) (67). Successivamente si osservò, dopo SG, un miglioramento della resistenza insulinica nei pazienti diabetici già nel post-operatorio (3-5 giorni) ed in assenza di un significativo calo ponderale (68). Sin da subito, quindi, è apparso evidente come la SG non potesse e non dovesse essere classificata come una semplice procedura “restrittiva”. Nel tentativo di comprendere i meccanismi fisiopatologici con i quali la SG determinasse queste precoci modificazioni dell’omeostasi glucidica, Peterli ha recentemente analizzato le modificazioni della concentrazione ematica di due “enterormoni” (Ghrelina, GLP-1, PYY) implicati nella omeostasi glucidica, dopo SG e BPG. Ad una settimana dall’intervento l’autore ha rilevato un riduzione statisticamente significativa della Ghrelina basale in entrambe le procedure. Inoltre dopo carico orale standard la secrezione di GLP-1 e PYY aumentava e quella della Ghrelina diminuiva in maniera statisticamente significativa in entrambe le procedure (69).

Scopo del presente lavoro è stato quello di valutare gli effetti precoci della SG sul profilo glicemico, sulla secrezione e resistenza insulinica, sulle variazioni della concentrazione sierica basale e dopo stimolazione endovenosa della Ghrelina, del GLP-1 e del PYY, il tutto prima di un significativo calo ponderale ed indipendentemente dal transito alimentare.

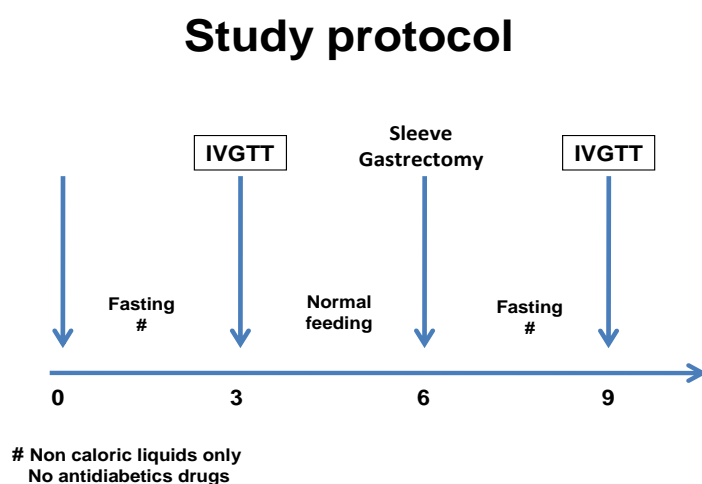
## **MATERIALI E METODI**

E’ stato preso in considerazione un numero di 24 pazienti obesi patologici ed affetti da T2DM (in accordo con i criteri dell’American Diabetic Association). Ulteriori 10 pazienti obesi patologici non diabetici sono stati utilizzati come controllo.

I pazienti obesi diabetici sono stati suddivisi in due gruppi in base alla durata del diabete: gruppo A (12 pazienti con durata di malattia < 10 anni, 7 femmine e 5 maschi, età media  $48.3 \pm 9.1$  anni, BMI =  $43.5 \pm 6.6$  kg/m<sup>2</sup>, HbA1c =  $6.6 \pm 0.7\%$ ); gruppo B (12 pazienti con durata di malattia > 10 anni, 8 femmine e 4 maschi, età media  $54.5 \pm 4.8$  anni, BMI =  $38.6 \pm 8.1$  kg/m<sup>2</sup>, HbA1c =  $10.1 \pm 2.3\%$ );

I 10 pazienti obesi non diabetici (6 femmine e 4 maschi, età media  $43.0 \pm 11.2$  anni, BMI =  $45.1 \pm 6.9$  kg/m<sup>2</sup>) costituivano il gruppo C.

Tutti i pazienti sono stati sottoposti a carico endovenoso di glucosio (IVGTT) tre giorni prima e tre giorni dopo l'intervento seguendo un protocollo schematizzato nella figura 4.



**Fig.4 Protocollo di studio: l'IVGTT è stato eseguito pre e post-operatoriamente in condizioni simili di stato nutrizionale e trattamento ipoglicemizzante.**

In sei pazienti del gruppo B con glicemia basale superiore a 200 mg/dl si è deciso di non eseguire il test.

In ciascun dei tre gruppi la concentrazione insulinica durante l'IVGTT è stata rilevata ottenendo un'AUC (Area Under the Curve) globale, un'AUC iniziale, espressione della fase di secrezione insulinica, ed un'AUC tardiva, espressione della fase di resistenza insulinica periferica. Inoltre i livelli sierici di Ghrelina, GLP-1 e PYY sono stati rilevati prima e 15 minuti dopo la somministrazione endovenosa di glucosio.

### IVGTT

E' stato eseguito tra le ore 8:00 e le ore 9:00 mediante la somministrazione per endovena di 12 g di glucosio per ogni m<sup>2</sup> di superficie corporea. A 0, 2, 3, 5, 10, 15, 20, 30,40, 60, 90, 120, 180 e 240 minuti sono stati eseguiti dei prelievi ematici dal braccio contro laterale rispetto all'infusione. Su tutti i prelievi è stato determinata la concentrazione insulinica mentre sui prelievi a 0 e 15 minuti è stata determinata la concentrazione di Ghrelina, GLP-1 e PYY.

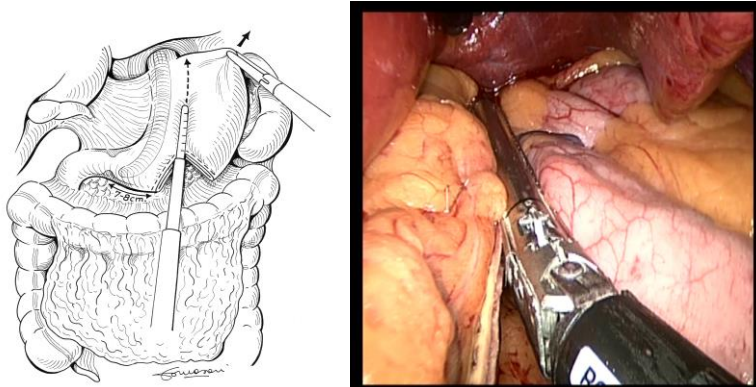
I valori di glucosio plasmatico sono stati determinati mediante la tecnica del glucosio ossidato con Beckman Glucose Analyzer (Beckman, Fullerton, CA, USA). L'insulina plasmatica è stata determinata mediante la tecnica immunoradiometrica (RADIM Diagnostic, Italy). La ghrelina plasmatica è stata determinata con un RIA kit (Phoenix Pharmaceuticals Inc., Phoenix, AZ, USA). Il GLP-1 plasmatico è stato determinato mediante l'utilizzo di ELISA kit (Linco

Research, St. Charles, MO, USA ). In questo caso i campioni ematici sono stati supplementari dall'aggiunta di un inibitore del DPP-IV (Millipore, Billerica, MA, USA). I valori di PYY plasmatici sono stati determinati con l'utilizzo di un Kit specifico (PhoenixPharmaceuticals). L'analisi statistica dei risultati è stata effettuata usando SPSS software ver.15.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA). La significatività statistica è stata posta per valori di  $p$  inferiori a 0,05.

## **SLEEVE GASTRECTOMY**

Posizionato il paziente in decubito supino con gambe divaricate ed in anti-Trendelenburg, con il primo operatore tra le gambe, l'aiuto e l'assistente rispettivamente alla sua destra e alla sua sinistra, si posizionano cinque trocar (uno da 5 mm, 3 da 10 mm ed uno da 15 mm di diametro).

La prima fase dell'intervento consiste nella scheletrizzazione della grande curvatura gastrica. Si sezionano i legamenti gastro-colico e gastro-splenico in vicinanza dello stomaco, avvalendosi di un dissectore ad ultrasuoni o a radiofrequenza, fino a visualizzare il pilastro diaframmatico di sinistra. Completata la scheletrizzazione, si procede alla completa mobilizzazione della grande curvatura gastrica. La seconda fase della procedura consiste in una resezione gastrica verticale "a manica" (sleeve). Sulla guida di una sonda oro-gastrica da 48 Fr, introdotta dall'anestesista e disposta dall'operatore lungo la piccola curvatura gastrica fino ad oltrepassare il piloro. Si procede alla tubulizzazione partendo da 8 cm dal piloro ed utilizzando una suturatrice lineare laparoscopica (Figura 5).



**Figura 5. Tubulizzazione gastrica in corso di SG.**

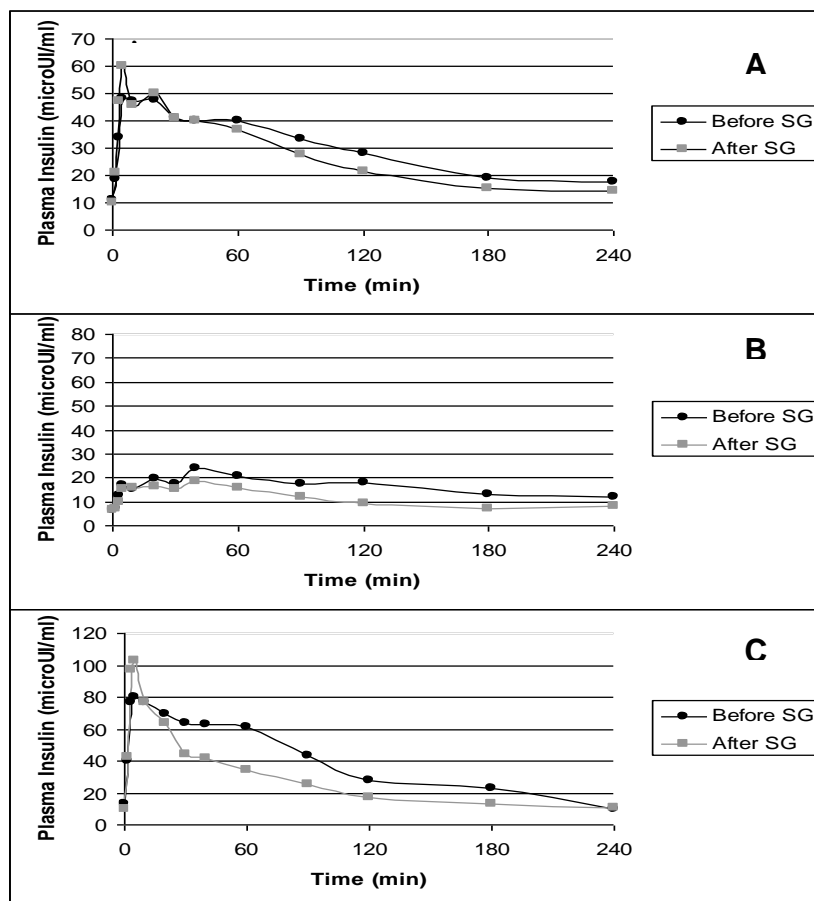
Procedendo in senso craniale, con la sonda strettamente addossata alla piccola curvatura gastrica, si sezionano il corpo ed il fondo utilizzando cariche della lunghezza di 60 o 45 mm (di spessore pari a 4,8 o 3,5 e a sei file di punti). Per ridurre il rischio di emorragie o fistole, in tutti i casi è stato eseguito un sopraggitto in polydiossanone (PDS 2-0).

Si esegue un test con blu di metilene al fine di calcolare il volume dello stomaco residuo e di escludere la presenza di eventuali tramiti fistolosi. L'intervento si conclude con l'estrazione dello stomaco resecato e la chiusura delle brecce dei trocar con diametro > 10 mm utilizzando strumenti che permettono una sutura a tutto spessore delle pareti addominali (suture Passer, Ago di Bercy).

## RISULTATI

In termini di calo ponderale, 3 giorni dopo l'intervento, non è stata rilevata alcuna modificazione statisticamente significativa ( $120.44 \pm 25.4$  vs.  $120.03 \pm 25.24$  kg).

I valori sierici basali di glucosio ed insulina non mostravano differenze statisticamente significative nei tre gruppi. L'andamento della secrezione insulinica durante l'IVGTT pre- e post-operatorio è riportata nella figura 6.



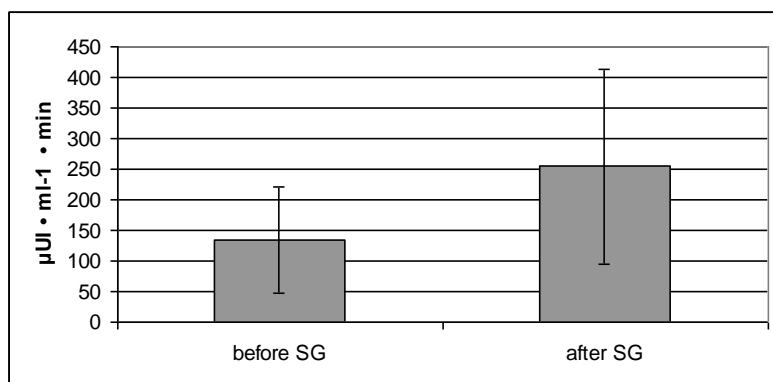
**Figura 6: andamento dell'insulinemia durante l'IVGTT prima e dopo l'intervento nei tre gruppi (\*p = 0.012).**

Dall'analisi delle AUC insulinica è risultato (tabella 1):

	Before SG	After SG	P
<b>Group A</b>			
Basal insulin ( $\mu\text{UI/ml}$ )	10.76 $\pm$ 7.72	9.92 $\pm$ 4.69	n.s.
Basal glucose (mg/dl)	97.2 $\pm$ 27.1	101.4 $\pm$ 14.0	n.s.
Total insulin AUC ( $\mu\text{UI} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{min}$ )	7053.33 $\pm$ 2940.05	6479.17 $\pm$ 4484.05	n.s.
Early insulin AUC ( $\mu\text{UI} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{min}$ )	133.50 $\pm$ 86.70	254.10 $\pm$ 158.40	0.012
Late insulin AUC ( $\mu\text{UI} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{min}$ )	5275.00 $\pm$ 4533.90	3552.40 $\pm$ 3326.88	0.04
<b>Group B</b>			
Basal insulin ( $\mu\text{UI/ml}$ )	6.61 $\pm$ 2.44	6.63 $\pm$ 4.08	n.s.
Basal glucose (mg/dl)	144 $\pm$ 35.4	147.7 $\pm$ 45.6	n.s.
Total insulin AUC ( $\mu\text{UI} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{min}$ )	4063.33 $\pm$ 2101.78	2180.00 $\pm$ 2489.32	n.s.
Early insulin AUC ( $\mu\text{UI} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{min}$ )	54.35 $\pm$ 16.40	47.05 $\pm$ 44.85	n.s.
Late AUC ( $\mu\text{UI} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{min}$ )	3891.66 $\pm$ 2115.98	1825.33 $\pm$ 988.83	0.04
<b>Group C</b>			
Basal insulin ( $\mu\text{UI/ml}$ )	13.20 $\pm$ 8.26	10.15 $\pm$ 5.49	n.s.
Basal glucose (mg/dl)	92.6 $\pm$ 8.7	88.6 $\pm$ 15.2	n.s.
Total insulin AUC ( $\mu\text{UI} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{min}$ )	27545 $\pm$ 64000	6318 $\pm$ 4575.33	n.s.
Early insulin AUC ( $\mu\text{UI} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{min}$ )	295.25 $\pm$ 350.12	309.22 $\pm$ 317.60	n.s.
Late insulin AUC ( $\mu\text{UI} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{min}$ )	15906.20 $\pm$ 3297.91	3156.40 $\pm$ 2532.68	0.028

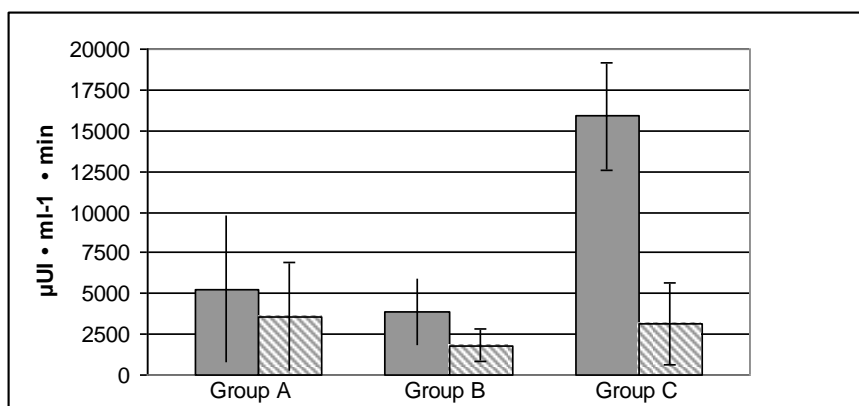
**Tabella 1: valori basali di insulinemia, glicemia, AUC insulinica prima e dopo SG**

- Nel gruppo A, l'AUC insulinica totale non presentava differenze significative rispetto al preoperatorio. Tuttavia analizzando le due fasi della curva si è rilevato nel postoperatorio un aumento statisticamente significativo dell'AUC insulinica iniziale (da 133.50  $\pm$  86.70 a 254.10  $\pm$  158.44  $\mu\text{UI ml}^{-1} \text{min}$ ; P = 0.012) (Figura 7).



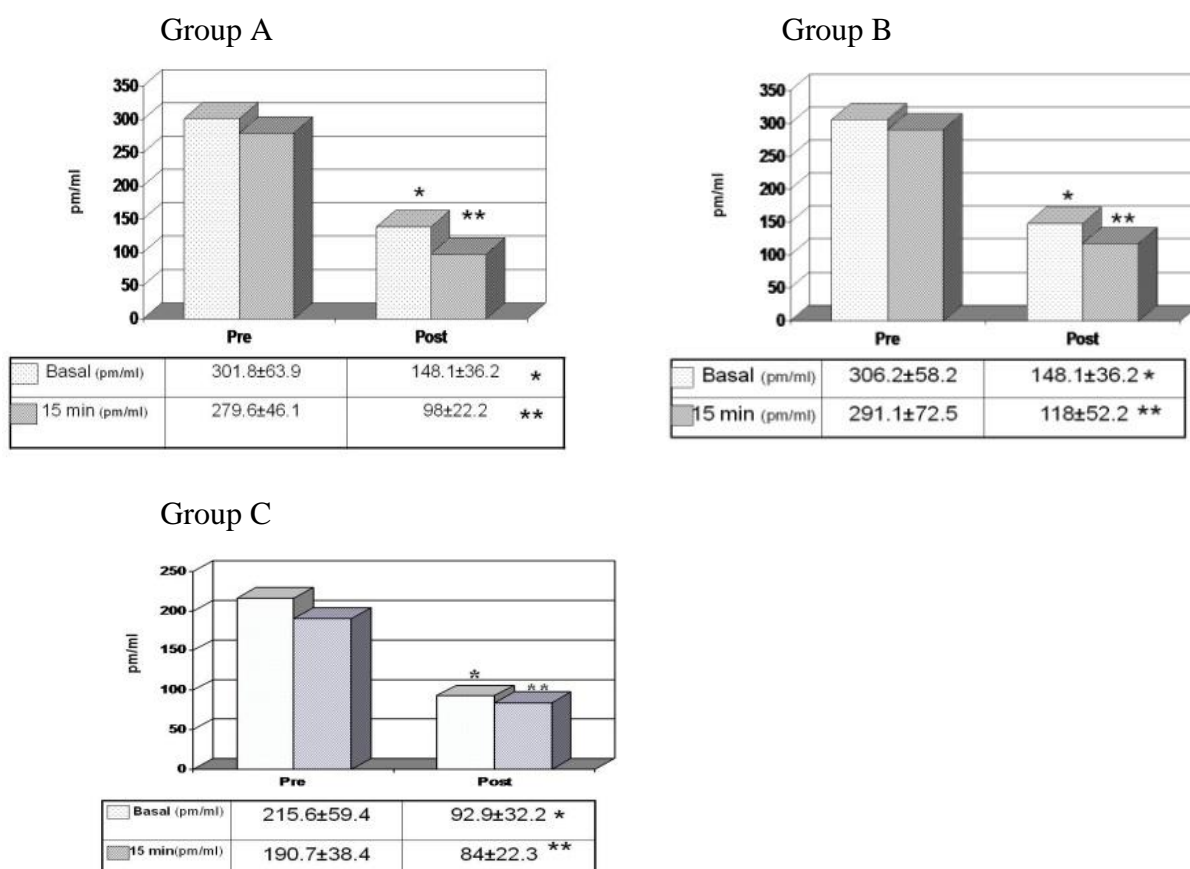
**Figura 7: AUC insulinica iniziale nel gruppo A prima e dopo SG (p = 0.012).**

L'AUC insulinica tardiva presentava una riduzione statisticamente significativa (da 5,275.00  $\pm$  4,533.900 a 3,552.41  $\pm$  3,326.32  $\mu\text{UI ml}^{-1} \text{min}$ ; P =0.04) (figura 8).



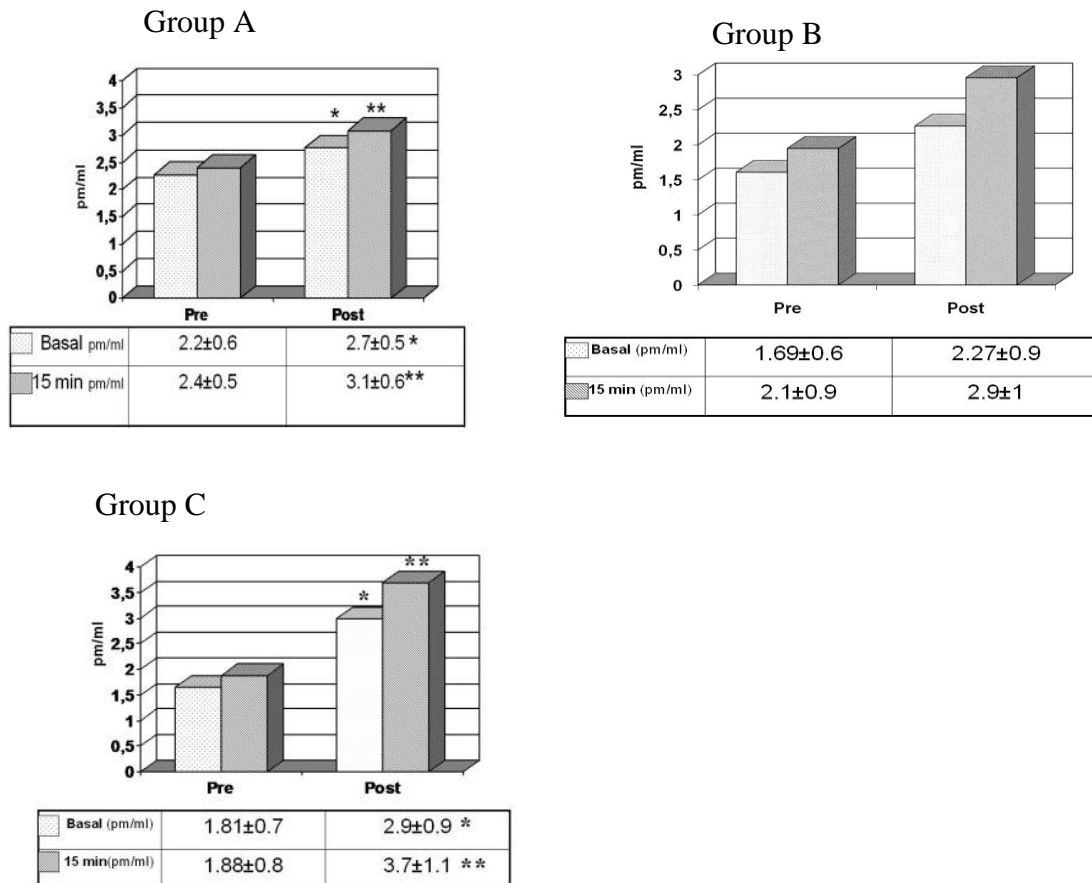
**Figura 8: AUC insulinica tardiva prima e dopo SG nel gruppo A (p=0.04), nel gruppo B (p=0.04) e nel gruppo C (p = 0.028).**

I valori sierici basali di ghrelina diminuivano significativamente nel postoperatorio. Durante l'IVGTT, a 15 minuti, i valori sierici di ghrelina diminuivano significativamente rispetto ai valori basali, sia nel pre- che nel postoperatorio. Inoltre nel postoperatorio i valori di ghrelina a 15 minuti risultavano significativamente ridotti rispetto al preoperatorio (figura 9).



**Figura 9: valori plasmatici della ghrelina in condizioni basali e a 15 minuti durante l'IVGTT nei tre gruppi (\*,\*\* p<0,05 rispetto al preoperatorio).**

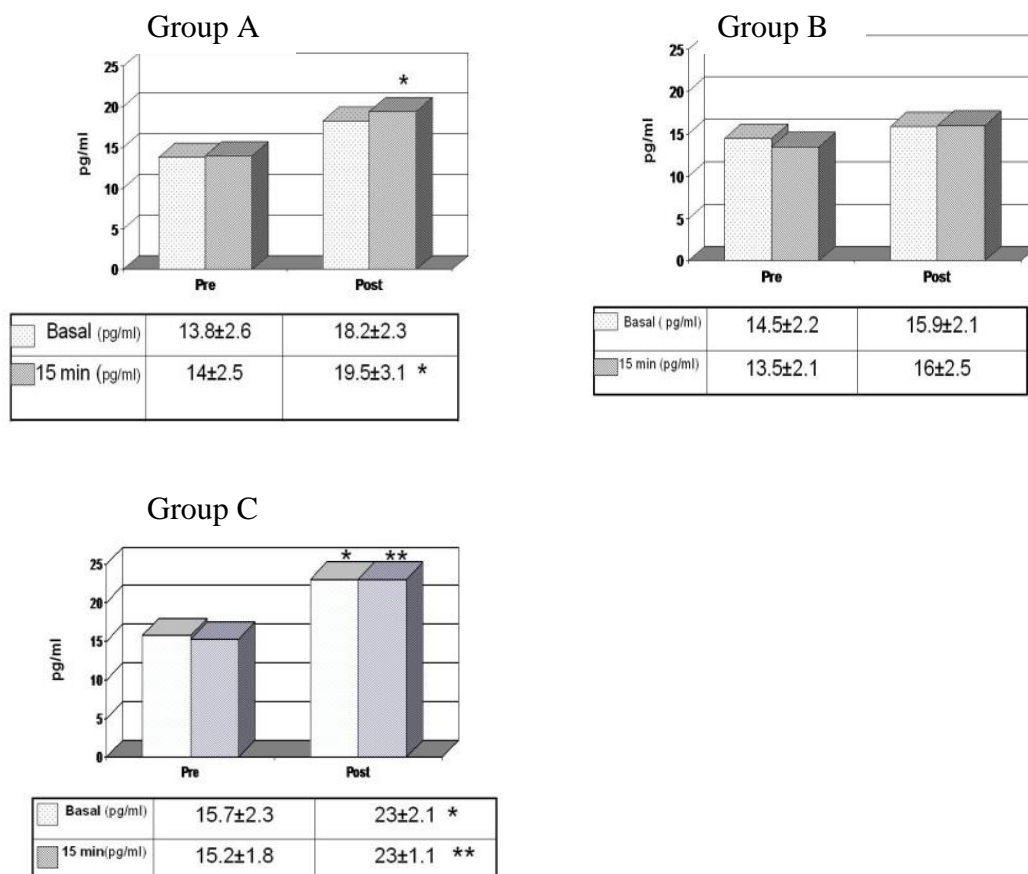
Dopo l'intervento i valori plasmatici basali del GLP-1 risultavano aumentati in maniera significativa rispetto al preoperatorio. Durante l'IVGTT pre- e postoperatorio, l'infusione endovenosa di glucosio determinava un aumento della concentrazione di GLP-1, anche se non statisticamente significativo. Tuttavia i valori di GLP-1 a 15 minuti risultavano aumentati in maniera statisticamente significativa rispetto al preoperatorio (figura 10).



**Figura 10: valori plasmatici dell GLP-1 in condizioni basali e a 15 minuti durante l'IVGTT nei tre gruppi (\*,\*\* p<0,05 rispetto al preoperatorio).**

Dopo l'intervento i valori basali di PYY aumentavano anche se non in maniera significativa. Nel postoperatorio, a 15 minuti durante l'IVGTT, i valori di PYY risultavano aumentati in maniera statisticamente significativa rispetto al preoperatorio (figura 11).





**Figura 11: valori plasmatici del PYY in condizioni basali e a 15 minuti durante l'IVGTT nei tre gruppi (\*,\*\* p<0,05 rispetto al preoperatorio).**

- Nel gruppo B nel corso dell'IVGTT, non sono state rilevate differenze significative dell'AUC insulinica totale ed iniziale rispetto al preoperatorio. Infatti in tutti questi pazienti, come ci si aspettava data la lunga storia di diabete, mancava la prima fase di secrezione insulinica (figura 6). Tuttavia nel postoperatorio si assisteva ad una riduzione significativa della AUC insulinica tardiva (da  $3,891.66 \pm 2,115.98$  a  $1,825.33 \pm 988.83$  l UI ml-1min,  $p = 0.045$ ), da attribuire ad una riduzione della resistenza insulinica periferica (figura 8).

Le modificazioni nella concentrazione plasmatica di ghrelina erano simili a quelle osservate nel gruppo A (figura 9). Come nel gruppo A, durante l'IVGTT, i valori di GLP-1 aumentavano a 15 minuti sia nel pre- che nel postoperatorio. Dopo SG i valori basali ed a 15 minuti di GLP-1 e PYY erano aumentati seppur non in maniera statisticamente significativa rispetto al preoperatorio (figure 10 e 11).

- Nel gruppo C, durante l'IVGTT, non sono state differenze significative dell'AUC insulinica totale ed iniziale rispetto al preoperatorio. Tutti i pazienti presentavano il picco fisiologico

iniziale della secrezione insulinica (figura 6). Tuttavia dopo SG si è registrata una riduzione statisticamente significativa dell'AUC insulinica tardiva (da  $15,906.20 \pm 3,297.91$  a  $3,156.40 \pm 2,532.68$  l UI ml-1min,  $p = 0.028$ ) (figura 8). In questo gruppo si sono osservate le stesse modificazioni della concentrazione sierica di ghrelina dei gruppi A e B (figura 9). Durante l'IVGTT pre e postoperatorio i valori di GLP-1 aumentavano a 15 minuti. Inoltre nel postoperatorio i valori basali e a 15 minuti risultavano aumentati significativamente rispetto al preoperatorio (figura 10). I valori basali e glucostimolati di PYY aumentavano significativamente dopo l'intervento (figura 11).

## **DISCUSSIONE**

Negli ultimi decenni la prevalenza del DMT2 è aumentato in maniera esponenziale. Ciò è dovuto principalmente alla stretta associazione tra DMT2 ed obesità. Il 90% dei pazienti diabetici è sovrappeso o obeso (1) e ciò a conferma del fatto che l'obesità è il fattore di rischio principale per lo sviluppo di questa malattia. Nei pazienti obesi, a differenza del trattamento medico, la chirurgia bariatrica si è dimostrata efficace nel determinare un significativo e duraturo calo ponderale. A questo si associa un miglioramento/guarigione delle comorbidità associate all'obesità patologica, in primis il DMT2 (12,16). Tuttavia i meccanismi fisiopatologici con i quali la chirurgia bariatrica determina questi risultati sono differenti. Per le procedure bariatriche puramente restrittive il tutto avviene in seguito ad una riduzione dell'intake calorico con associato calo ponderale. Per le altre procedure bisogna ipotizzare altri meccanismi. Già Rubino (53, 54) nei suoi studi sperimentali aveva messo in evidenza il fatto che il "bypassare" il duodeno e la prima porzione digiunale determinasse da solo e prima di un significativo calo ponderale un miglioramento dell'omeostasi glucidica. Ciò veniva confermato nell'uomo da Guidone e Briatore che riportavano un miglioramento dell'insulino-resistenza periferica qualche giorno dopo una DBP ed in assenza di un calo ponderale significativo (70, 71). Successivamente Salinari eseguendo ad un mese da una DBP un IVGTT riportava una normalizzazione della curva insulinica nei pazienti diabetici (72). Per le procedure bariatriche come BPG e DBP bisognava pensare quindi ad un meccanismo simil-ormonale in grado di determinare questi rapidi cambiamenti dell'omeostasi glucidica. Nascevano così due ipotesi, la "foregut" e la "hindgut". Per la prima ipotesi il salto del duodeno e della prima porzione duodenale da parte del cibo e dei nutrienti in genere determinava una mancata secrezione di ormoni "diabetogeni". Per la seconda il rapido transito del cibo e dei nutrienti nelle porzioni più distali dell'ileo determinava un'iper-secrezione di ormoni "antidiabetici" (73).

I meccanismi fisiopatologici responsabili del DMT2 sono principalmente due: la riduzione progressiva della secrezione insulinica da parte delle beta-cellule pancreatiche, con

conseguente assenza del fisiologico picco insulinico nella fase precoce dell'IVGTT; un aumento delle resistenze periferiche all'insulina evidenziabile dallo studio della fase tardiva dell'IVGTT.

Dall'analisi dei nostri dati risultava evidente come anche la SG determinasse un miglioramento dell'omeostasi glucidica immediatamente dopo l'intervento, in assenza di un significativo calo ponderale e, a differenza di quanto già dimostrato da altri autori (69) indipendentemente dal transito alimentare. Infatti durante l'IVGTT in tutti e tre i gruppi oggetto del nostro studio abbiamo registrato un aumento della secrezione insulinica ed un miglioramento della resistenza periferica dopo SG. Nel gruppo A abbiamo registrato la completa normalizzazione della fase precoce di secrezione insulinica. Anche nei pazienti con storia di DMT2 superiore a 10 anni (gruppo B), abbiamo registrato un miglioramento della secrezione insulinica. Tuttavia questo miglioramento non era statisticamente significativo e ciò ad ulteriore conferma del fatto che la storia di malattia ( $> 0 < 10$  anni) rappresenta un fattore prognostico importante per la risoluzione di malattia dopo SG (74).

Anche per la SG come per il BPG e la DBP bisognava quindi ipotizzare un meccanismo simil-ormonale responsabile del rapido miglioramento dell'omeostasi glucidica.

A differenze delle altre due procedure però la SG non determina un "bypass" di una porzione intestinale. L'intervento consiste infatti nell'asportazione di una parte dello stomaco (principalmente il fondo). Proprio in questa porzione di stomaco andava quindi ricercato quel fattore inibente la secrezione insulinica. Numerosi studi hanno evidenziato una riduzione della concentrazione ematica di Ghrelina, prodotta principalmente nel fondo gastrico, dopo chirurgia bariatrica (37,38,40). Inoltre è riportato in letteratura un'implicazione di questo ormone nell'omeostasi glucidica attraverso un effetto inibente la secrezione insulinica (75). La SG determina una significativa riduzione della concentrazione ematica di ghrelina, ed i risultati del presente lavoro lo confermano. Ciò potrebbe spiegare l'aumento della AUC insulinica precoce durante l'IVGTT specialmente nel gruppo A.

Inoltre in uno studio sperimentale Karamanakos riportava dopo SG una riduzione significativa della concentrazione basale di Ghrelina con associato aumento della concentrazione basale di PYY (51). Il PYY è un enterormone co-secreto con il GLP-1 dalle cellule L nella porzione terminale dell'ileo in seguito al transito alimentare. Recenti studi hanno messo in evidenza una correlazione diretta tra PYY ed insulino-sensibilità (76). Il GLP-1 è notoriamente un incretina che esercita principalmente un effetto insulinotropo (77,78).

Questo lavoro conferma i risultati ottenuti da Peterli in termini di modificazioni della concentrazione di ghrelina, GLP-1 e PYY dopo SG (69). A differenza di Peterli però i nostri risultati sono stati registrati durante un test da carico di glucosio per endovena in assenza quindi

di un transito alimentare. Nel nostro studio l'unico fattore che determinava le modificazioni di concentrazione dei suddetti ormoni con l'associato miglioramento dell'omeostasi glucidica era la SG. Se è comprensibile la riduzione della concentrazione di ghrelina, non sono chiari i meccanismi fisiopatologici attraverso i quali la SG determini "per se" un aumento della secrezione di GLP-1 e del PYY, senza un transito di nutrienti attraverso l'intestino.

Tuttavia, seppure la secrezione di GLP-1 (e PYY) avvenga principalmente al contatto dei nutrienti con le cellule L dell'ileo, recentemente è stata riportata l'esistenza di una fase precoce nella secrezione di questi ormoni e che presenta una regolazione gastrica. Il nervo vago ed il gastrin-releasing-peptide (GRP) sembrano infatti avere un qualche ruolo nelle prime fasi di secrezioni di GLP-1 e PYY (79). E' possibile che la SG modificando l'anatomia gastrica vada ad interferire in questi meccanismi di regolazione.

I risultati da noi ottenuti in termini di modificazioni ormonali dopo SG potrebbero quindi essere spiegati con un'amplificazione di questa fase gastrica di secrezione di GLP-1 e PYY. Questo, insieme alla contestuale riduzione della concentrazione sierica della ghrelina, potrebbe a sua volta determinare un'aumentata secrezione insulinica ed un miglioramento della resistenza insulinica periferica.

## **CONCLUSIONI**

Il rapido miglioramento dell'omeostasi glucidica dopo SG specialmente nei pazienti con storia di DMT2 maggiore di 10 anni, sembra essere determinato da un "fattore gastrico" responsabile di un riassetto ormonale (ghrelina, GLP-1 e PYY) che precede il calo ponderale e che è indipendente dal transito alimentare.

In futuro bisognerà cercare di comprendere il meccanismo attraverso il quale questo riassetto ormonale contribuisce a determinare le precoci modificazioni dell'omeostasi glucidica dopo SG.

## BIBLIOGRAFIA

- (1) F.Leonetti, M.C. Ribaudò, D. Capoccia. *Diabesity una nuova malattia?* Chirurgia bariatrica 2006:11-16.
- (2) Hui-Ling Lu, Hong-Wei W., Yu M; et al. *Roles of adipocyte derived hormone adiponectin and resistin in insulin resistance of type 2 diabetes.* World J Gastroenterol 2006; 12:1747-51.
- (3) N.Scopinaro. *Obesità. Chirurgia, basi teoriche e tecniche chirurgiche.* R. Dionigi.2006: 443-461.
- (4) M.Qatanani, M. Alcazar. *Mechanism of Obesity-associated insulin resistance: many choices on the menu.* Genes & development. 21:1443-1455.
- (5) Sangeeta R. Kashyap, Ralph A. De Fronzo. *The insulin resistance syndrome: physiological considerations.* Diabetes Vasc Dis Res 2007; 4:13-19.
- (6) Iacobellis G.,Ribaudò M.C., Zappaterreno A., et al. *Relationship of insulin sensitività and left ventricular mass in uncomplicated obesity.* Obes Res 2003; 11:518-24.
- (7) Iacobellis G, Ribaudò M.C., Leto G. *Influence of excess fat on cardiac morphology and function: study in uncoplicated obesity.* Obes Res. 2002; 10:767-73.
- (8) De Fronzo RA, Bonadona RC, Ferranini E. *Pathogenesis of NIDDM. A balanced overview.* Diabetes care 1992; 15:318-68.
- (9) *American diabetes association: clinical practice recommendations 2002.* Diabetes care 27: 51,2004.
- (10) Sekah *Pathogenesis of type 2 diabetes.* J Clin Endocrinol Metab 86:4047,2001.
- (11) Gerich JE. *The genetic basis of type 2 diabetes mellitus: impaired insulin secretion versus impaired insulin sensitività.* Endocr Rew 1998; 19:491-503
- (12) Buchwald H, Avidor Y, Braunwold E, et al. *Bariatric surgery. A sistematic review and Meta-analysis.* Jama 2004; 292:1724-1737.
- (13) Pories WJ, Albrechts RJ. *Etiology of type 2 diabetes mellitus: role of the foregut.* World J Surg 2001; 25: 527-531.
- (14) April D.Strader, Sthephen C. Woods. *Gastrointestinal hormones and food intake.* Gastroenterology 2005; 128:175-191.
- (15) Cummings D.E., Overduin J.,Shannon D.M.H., F. K.E.Schubert. *Hormonal mechanism of weight loss and diabetes resolution after bariatric surgery.* Surgery for obesity and related disease 2005; 358-368.
- (16) Buchwald H, Estok R, Fahrbach K, et al. *Effects of bariatric surgery on type 2 diabetes: a systematic review and metanalysis.*2006

- (17) Cummings D.E., Overduin J., Shannon D.M.H., F. K.E.Schubert. *Hormonal mechanism of weight loss and diabetes resolution after bariatric surgery*. Surgery for obesity and related disease 2005; 358-368.
- (18) Kojima M., Hosoda H., Date Y., et al. *Grelin is a growth hormone-releasing acylated peptide from stomach*. Nature 1998; 402:656-60.
- (19) Ariyasu H., Takaya K., Tagani T., et al. *Stomach is a major source of circulating ghrelin, and feeding state determinates plasma ghrelin, like immunoreactivity levels in humans*. J Clin Endocrinol Metab 2001; 86:4753-8.
- (20) Cummings DE, Weigle DS, Frayo RS, et al. *Human plasma ghrelin levels after diet-induced weight loss and gastric by-pass surgery*. New Engl J Med 2002; 346: 1623-30.
- (21) Cummings DE, Shannon MH, . *Roles for ghrelin in the regulation of appetite and body weight*. Aech Surg 2003; 138:389-96..
- (22) Stoecki R, Chandar, Iangeri, et al. *Changes of body weight and plasma ghrelin levels after gastric banding and gastric by pass*. Obes Res 2004; 12:346-50.
- (23) Frunbeck G, Caballero AD, Gil MJ, *Fundus functionality and ghrelin concentrations after bariatric surgery*. New Engl J Med 2004; 350: 308-9.
- (24) Williams DL, Grill HJ, Cummings DE, et al. *Vagotomy dissociated short-and long-term controls of circulating ghrelin*. Endocrinology 2003; 144: 5184-7.
- (25) Wren AM, Seal LI, Cohen MA et al. *Ghrelin enhances appetite and increases food intake in humans*. J Clin Endocrinol Metab. 2001;86:5992;
- (26) Tschop M. Weyer C.Tataranni PA, et al. *Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity*. Diabetes 2001; 50:707-709;
- (27) Stoeckli R. Chanda R, Langer I, et al. *Changes of body weight and plasma ghrelin levels after gastric banding and gastric bypass*. Obes Res 2004; 12:346-350;
- (28) Faraj M.Havel PJ,Phelis S, Phelis S et al *Plasma acylation-stimulating protei, adiponectin, leptin, and ghrelin before and after weight loss induced by gastric bupass surgery in morbidly obese subjects*.I Chin Endocrinol Metab 2003;98:1594-1602;
- (29) Vidal J, Morinigo R., Casamitjana R. *et al Shot-term effect of gastric bypass on circulating ghrelin levels*. NAASO annual meeting. Obes Res 2003; 11 (suppl): A9;
- (30) Copeland P, Davis P, KaplanL. *Weight loss after gastric bypass in associated with decreased plasma gastric inhibitory polypeptide without a significant change in circulating ghrelin*. NAASO annual meeting Obes Res. 2003; 11 (suppl): A17;
- (31) HoldstokC. Engstrom BE, Obrvall M. et al *Ghrelin and adipose tissue regulatory peptides: effect of gastric bypass surgery in obese humans*, JClin Endocrinal Metab, 2003; 88; 3177-3183;

- (32) Batterham RL, Cowley MA, Small CJ, et al. *Gut hormone PYY 3-36, physiologically inhibits food intake.* Nature, 2002; 418:650-654;
- (33) Le Roux CW, Batterham RL, Alywin SJ, et al. *Attenuated peptide YY release in obese subjects is associated with reduced satiety.* Endocrinology. 2006; 147:3-8;
- (34) Korner J, Bessler M, Cirilo LJ, et al. *Effect of Roux-en-Y gastric bypass surgery on fasting and postprandial concentrations of plasma ghrelin, peptide YY and insulin.* J Clin Endocrinol Metab. 2005; 90:359-365;
- (35) Borg CM, Le Roux CW, Ghatei MA, et al. *Progressive rise in gut hormone levels after Roux-en-Y gastric Bypass suggests gut adaptation and explains altered satiety.* Br. J Surg. 2006;93:210-215;
- (36) Geloneze B, Tambascia MA, Pilla VF, et al. *Ghrelin: a gut-brain hormone. Effect of gastric bypass surgery.* Obes Surg. 2003; 13:17-22.
- (37) Langer FB, Hoda MAR, Bohdjalian A, et al. *Sleeve gastrectomy and gastric banding: effect on plasma ghrelin levels.* Obes Surg. 2005; 15: 1024-1029;
- (38) Cohen R, Uzzan B, Bihan H, et al. *Ghrelin levels and sleeve gastrectomy in super-super-obesity.* Obes Surg. 2005;15:1501-1502;
- (39) Chelikani PK, Haver AC, Reidelberger R.D. *Ghrelin attenuates the inhibitory effects of glucagon-like-peptide-1 and peptide YY (3-36) on food intake and gastric emptying in rats.* Diabetes 2006;55:3038-3046
- (40) Leonetti F, Silecchia G, Iacobellis G, Ribaldo MC, Zappaterreno A, Tiberti C, Iannucci CV, Perrotta N, Bacci V, Basso MS, Basso N, Di Mario U. *Different plasma ghrelin levels after laparoscopic gastric bypass and adjustable gastric banding in morbid obese subjects.* J Clin Endocrinol Metab 2003;66:4227-4231;
- (41) Koima M, Hosoda H, Date Y, et al. *Ghrelin is a growth-hormone-releasing peptide from stomach.* Nature 1999;402:656-60;
- (42) Nakazato M, Murakami N, Date Y, et al. *A role for ghrelin in the central regulation of feeding.* Nature 2002; 409:194.8;
- (43) Ikezaki A, Hosoda H, Ito H, et al. *Fasting plasma ghrelin levels are negatively correlated with insulin resistance and PAI-I, but not with leptin, in obese children and adolescents.* Diabetes 2002;51:3408-11;
- (44) Dezaki K, Hosoda H, Kakei M, et al. *Endogenous ghrelin in pancreatic islets restrict insulin release by attenuating  $Ca^{2+}$  signaling in B-cells: implication in the glycaemic control in rodents.* Diabetes 2004;53:3142-51;

- (45) Dezaki K, Sone H, Koizumi M, et al. *Blochade of pancreatic islet-derived ghrelin enhances insulin secretion to prevent high-fat diet-induced glucose intolerance.* Diabetes 2006;55:3486-93;
- (46) Sun Y, Asnicar M, Saha PK, et al. *Ablation of ghrelin improves the diabetic but not obese phenotype of ob/ob mice.* Cell Metab 2006;3:379-86;
- (47) Van Der Lely AJ, et al. 2004 *Biological, physiological, pathophysiological, and pharmacological aspects of ghrelin.* Endocr Rev 25(3):436-457;
- (48) Hosoda H, et al. 2003 *Structural divergence of human ghrelin. Identification of multiple ghrelin-derived molecules produced by post-translational processing.* J Biol Chem 278 (1): 64-70;
- (49) Hosoda H, et al 2000 *Ghrelin and des-acyl ghrelin: two major forms of rat ghrelin peptide in gastrointestinal tissue.* Biochem Biophys Res Commun 279 (3):909-913;
- (50) English PJ et al. 2002 *Food fails to suppress ghrelin levels in obese humans.* J Clin Endocrinol Metab 87 (6): 2984;
- (51) Karamanakos N, Vagenas K, Kalfarentzos F, K.Alexandrides T. *Weight loss, appetite suppression, and changes in fasting and post prandial ghrelin and peptide YY levels after Roux-en-Y Gastric Bypass and Sleeve Gastrectomy.* Annals of surgery 2008 Vol 247;3: 401 – 405; (2)
- (52) Rubino F, Gagner M: *Potential of surgery to curing type 2 diabetes mellitus.* Ann.Surg.2002;5:554-9.
- (53) Rubino F, Marescaux J. *Effect of duodenal-jejunal exclusion in a non obese animal model of type 2 diabetes: a new perspective for an old disease.* Ann Surg 2004; 239:1-11;
- (54) Rubino F, Zizzari P, Tomasetto C, et al. *The role of the small bowel in the regulation of circulating ghrelin levels and food intake in the obese Zucker rat.* Endocrinology 2005; 146: 1745-51;
- (55) Mason EE. *Ileal transposition and enteroglucagons/GLPI in obesity (and diabetic?) surgery.* Obes Surg. 1999;9:223-228;
- (56) Rubino F, Forgione A, Cummings DE 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;244:741-749;
- (57) Scopinaro N et al: *Recovery of insulin sensitivity in obese patients at short-term after biliopancreatic diversion.* Journal of Surgical Research 2003;113: 217–221;
- (58) Wickremesekera K et al: *Loss of Insulin Resistance after Roux-en-Y Gastric Bypass Surgery: a Time Course Study.* Obesity Surgery,2005: **15**, 474-48;



- (59) Ballantyne G.H. et al: *Short-term Changes in Insulin Resistance following Weight Loss Surgery for Morbid Obesity:Laparoscopic Adjustable Gastric Banding versus Laparoscopic Roux-en-Y Gastric Bypass*. Obesity Surgery (2006);16:1189-1197
- (60) Silecchia G, Boru C, Pecchia A, Rizzello M, Casella G, Leonetti F, Basso N. *Effectiveness of laparoscopic sleeve gastrectomy (first stage of biliopancreatic diversion with duodenal switch) on co-morbidities in super obese high-risk patients*. Obes Surg 2006;16:1138-1144;
- (61) Himpens J, Dapri G, Gadiere GB. *A prospective randomized study between laparoscopic gastric banding, and laparoscopic isolated sleeve gastrectomy: results after 1 and 3 years*. Obes Surg 2006;16:1450-1456;
- (62) Antonio Iannelli, Raffaella Dainese, Thierry Piche, Enrico Facchiano, Jan Gugenheim. *Laparoscopic sleeve gastrectomy for morbid obesity*. World J Gastroenterol 2008;14(6):821-827;
- (63) Cottam D, Qureshi FG, Mattar SG, et al. *Laparoscopic sleeve gastrectomy as an initial weight-loss procedure for high-risk patients with morbid obesity*. Surg Endosc 2006; 20(6):859-63
- (64) Moon Han S, Kim W, Oh JH. *Results of laparoscopic sleeve gastrectomy (LSG) at 1 year in morbidly obese Korean patients*. Obes Surg 2005; 15(10):1469-75;
- (65) Karamanakos N, Vagenas K, Kalfarentzos F, K.Alexandrides T. *Weight loss, appetite suppression, and changes in fasting and post prandial ghrelin and peptide YY levels after Roux-en-Y Gastric Bypass and Sleeve Gastrectomy*. Annals of surgery 2008 Vol 247;3: 401 – 405; (2)
- (66) J.Vidal, A.Ibarzabal, J. Nicolau, A. Lacy. *Short-term effects of Sleeve Gastrectomy on type 2, Diabetes Mellitus in Severely Obese Subjects*. Obesity Surgery,17, 2007;17:1069-74;
- (67) Abbatini F, Rizzello M, Casella G, Alessandri G, Capoccia D, Leonetti F, Basso N (2010) *Long-term effects of laparoscopic sleeve gastrectomy, gastric bypass, and adjustable gastric banding on type 2 diabetes*. Surg Endosc 24(5):1005–1010;
- (68) Rizzello M, Abbatini F, Casella G, Alessandri G, Fantini A, Leonetti F, Basso N (2010) *Early postoperative insulin-resistance changes after sleeve gastrectomy*. Obes Surg 20(1):50–55;
- (69) Peterli R, Woźniarhanssen B, Peters T, Devaux N, Kern B, Christoffel-Courtin C, Drewe J, von Flüe M, Beglinger C (2009) *Improvement in glucose metabolism after bariatric surgery: comparison of laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass and*

*laparoscopic sleeve gastrectomy: a prospective randomized trial.* Ann Surg 250(2):234–241

- (70) Guidone C, Manco M, Valera-Mora E, Iaconelli A, Gniuli D, Mari A, Nanni G, Castagneto M, Calvani M, Mingrone G (2006) *Mechanisms of recovery from type 2 diabetes after malabsorptive bariatric surgery.* Diabetes 55(7):2025–2031;
- (71) Briatore L, Salani B, Andraghetti G, Danovaro C, Sferrazzo E, Scopinaro N, Adami GF, Maggi D, Cordera R (2008) *Restoration of acute insulin response in T2DM subjects 1 month after biliopancreatic diversion.* Obesity 16(1):77–81;
- (72) Salinari S, Bertuzzi A, Asnaghi S, Guidone C, Manco M, Mingrone G (2009) *First-phase insulin secretion restoration and differential response to glucose load depending on the route of administration in type 2 diabetic subjects after bariatric surgery.* Diabetes Care 32(3):375–380;
- (73) Rubino F (2008) *Is type 2 diabetes an operable intestinal disease? A provocative yet reasonable hypothesis.* Diabetes Care 31 Suppl 2:S290–S296;
- (74) Laville M, Disse E (2009) *Bariatric surgery for diabetes treatment: why should we go rapidly to surgery.* Diabetes Metab 35(6 Pt 2):562–563;
- (75) Dezaki K, Sone H, Yada T (2008) *Ghrelin is a physiological regulator of insulin release in pancreatic islets and glucose homeostasis.* Pharmacol Ther 118(2):239–249;
- (76) van den Hoek AM, Heijboer AC, Voshol PJ, Havekes LM, Romijn JA, Corssmit EP, Pijl H (2007) *Chronic PYY3–36 treatment promotes fat oxidation and ameliorates insulin resistance in C57BL6 mice.* Am J Physiol Endocrinol Metab 292:E238–E245;
- (77) Meier JJ, Gallwitz B, Salmen S, Goetze O, Holst JJ, Schmidt WE, Nauck MA (2003) *Normalization of glucose concentrations and deceleration of gastric emptying after solid meals during intravenous glucagon-like peptide 1 in patients with type 2 diabetes.* J Clin Endocrinol Metab 88:2719–2725;
- (78) Kindel TL, Yoder SM, Seeley RJ, D’Alessio DA, Tso P (2009) *Duodenal-jejunal exclusion improves glucose tolerance in the diabetic, Goto-Kakizaki rat by a GLP-1 receptor-mediated mechanism.* J Gastrointest Surg 13(10):1762–1772;
- (79) Perez-Tilve D, Nogueiras R, Mallo F, Benoit SC, Tschoep M (2006) *Gut hormones ghrelin, PYY, and GLP-1 in the regulation of energy balance [corrected] and metabolism.* Endocrine 29(1):61–69  
Surg Endosc (2011) 25:3540–3550.