HAL
open science

Rôle de la néoglucogenèse intestinale et des récepteurs mu-opioïdes dans les effets bénéfiques du by-pass gastrique chez la souris

Aude Barataud

To cite this version:

Aude Barataud. Rôle de la néoglucogenèse intestinale et des récepteurs mu-opioïdes dans les effets bénéfiques du by-pass gastrique chez la souris. Physiologie [q-bio.TO]. Université Claude Bernard - Lyon I, 2014. Français. NNT : 2014LYO10276 . tel-01288432

HAL Id: tel-01288432

https://theses.hal.science/tel-01288432

Submitted on 15 Mar 2016

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

N° d'ordre : 276-2014

THÈSE DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

Pour l'obtention du DIPLOME DE DOCTORAT

UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD LYON I

ÉCOLE DOCTORALE BMIC

En vue d'une soutenance publique le 09 décembre 2014

par Aude BARATAUD

Rôle de la néoglucogenèse intestinale et des récepteurs mu-opioïdes dans les effets bénéfiques du by-pass gastrique chez la souris

Directeur de thèse : Mr Gilles MITHIEUX

JURY : Mme Carole KRETZ – Présidente du jury
Mr Fabrizio ANDREELLI – Rapporteur
Mr Patrick RITZ – Rapporteur
Mme Daniela COTA – Examinateur
Mme Amandine GAUTIER-STEIN – Examinateur
Mr Gilles MITHIEUX– Directeur de thèse

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1

Président de l'Université	**M. François-Noël GILLY**
Vice-président du Conseil d'Administration	M. le Professeur Hamda BEN HADID
Vice-président du Conseil des Etudes et de la Vie Universitaire	M. le Professeur Philippe LALLE
Vice-président du Conseil Scientifique	M. le Professeur Germain GILLET
Directeur Général des Services	M. Alain HELLEU

COMPOSANTES SANTE

Faculté de Médecine Lyon Est – Claude Bernard	Directeur : M. le Professeur J. ETIENNE
Faculté de Médecine et de Maïeutique Lyon Sud – Charles Mérieux	Directeur : Mme la Professeure C. BURILLON
Faculté d'Odontologie	Directeur : M. le Professeur D. BOURGEOIS
Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques	Directeur : Mme la Professeure C. VINCIGUERRA
Institut des Sciences et Techniques de la Réadaptation	Directeur : M. le Professeur Y. MATILLON
Département de formation et Centre de Recherche en Biologie Humaine	Directeur : Mme. la Professeure A-M. SCHOTT

COMPOSANTES ET DEPARTEMENTS DE SCIENCES ET TECHNOLOGIE

Faculté des Sciences et Technologies	Directeur : M. F. DE MARCHI
Département Biologie	Directeur : M. le Professeur F. FLEURY
Département Chimie Biochimie	Directeur : Mme Caroline FELIX
Département GEP	Directeur : M. Hassan HAMMOURI
Département Informatique	Directeur : M. le Professeur S. AKKOUCHE
Département Mathématiques	Directeur : M. Georges TOMANOV
Département Mécanique	Directeur : M. le Professeur H. BEN HADID
Département Physique	Directeur : M. Jean-Claude PLENET
UFR Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives	Directeur : M. Y.VANPOULLE
Observatoire des Sciences de l'Univers de Lyon	Directeur : M. B. GUIDERDONI
Polytech Lyon	Directeur : M. P. FOURNIER
Ecole Supérieure de Chimie Physique Electronique	Directeur : M. G. PIGNAULT
Institut Universitaire de Technologie de Lyon 1	Directeur : M. C. VITON
Ecole Supérieure du Professorat et de l'Education	Directeur : M. A. MOUGNIOTTE
Institut de Science Financière et d'Assurances	Directeur : M. N. LEBOISNE

RÉSUMÉ

Rôle de la néoglucogenèse intestinale et des récepteurs mu-opioïdes dans les effets bénéfiques du by-pass gastrique chez la souris

Le by-pass gastrique Roux-en-Y (BPG) est une chirurgie de l'obésité qui induit des améliorations spectaculaires de l'homéostasie glucidique indépendamment de la perte de poids. Un mécanisme proposé pour expliquer ces améliorations est une augmentation de la production intestinale de glucose (PIG) qui induit des effets bénéfiques sur l'organisme (satiété, amélioration de la sensibilité hépatique à l'insuline). Cette augmentation de la PIG, retrouvée chez la souris ayant subi un BPG simplifié, est également responsable des effets bénéfiques des régimes enrichis en protéines via l'inhibition des récepteurs mu-opioïdes (RMO) par les peptides. Nous avons donc testé l'hypothèse selon laquelle les effets bénéfiques du BPG dépendraient d'une inhibition des RMO par les protéines alimentaires et nous avons également testé le rôle causal de la PIG dans ces améliorations métaboliques.
Pour cela, nous avons réalisé un by-pass duodéno-jéjunal (BDJ), *ie* un BPG sans restriction gastrique, chez des souris sauvages (WT), des souris invalidées pour le gène du RMO ($MOR^{-/-}$) et des souris dépourvues de PIG ($I\text{-}G6pc^{-/-}$). Chez les souris obèses, Le BDJ induit une forte perte de poids (–30%), en partie expliquée par une malabsorption lipidique, ainsi qu'une amélioration des paramètres glucidiques dépendante de cette perte de poids. Au contraire, chez la souris de poids normal, le BDJ n'induit ni perte de poids ni malabsorption mais améliore la tolérance au glucose. Les effets sont les mêmes chez les souris WT, $MOR^{-/-}$ et $I\text{-}G6pc^{-/-}$ ce qui montre que les récepteurs mu-opioïdes et la PIG ne semblent pas avoir de rôle causal dans les améliorations du métabolisme énergétique et glucidique après BDJ.

Mots clés : chirurgie bariatrique, by-pass gastrique, by-pass duodéno-jéjunal, obésité, diabète de type II, récepteurs mu-opioïdes, néoglucogenèse intestinale, malabsorption.

Role of intestinal gluconeogenesis and mu-opioid receptors in the metabolic benefits of gastric bypass in mice

Roux-en-Y gastric bypass procedure (GBP) is an obesity surgery that induces dramatic glucose homeostasis improvements independently of weight loss. A proposed mechanism to explain these glucose homeostasis improvements is an increase in intestinal glucose production (IGP) that induces beneficial effects on metabolism (satiety, liver insulin sensitivity improvement). This increase in IGP is found in mice that have undergone a simplified GBP and is also responsible for the beneficial effects of protein-enriched diets through the inhibition of mu-opioid receptors (MOR) by alimentary peptides. We therefore hypothesized that the beneficial effects of GBP could depend on MOR inhibition by dietary protein and we also tested the causal role of IGP in these metabolic improvements.
For this purpose, we performed a duodenal-jejunal bypass surgery (DJB), *ie* GBP without gastric restriction, in wild-type mice (WT), in mice lacking MOR gene ($MOR^{-/-}$) and in mice lacking IGP ($I\text{-}G6pc^{-/-}$). In obese mice, DJB induces a rapid and substantial weight loss (-30%), partly explained by fat malabsorption, and weight loss dependent improvements of glucose homeostasis. In contrast, in the non-obese mice, DJB does not induce weight loss nor malabsorption but improves glucose tolerance. Effects are similar in WT, $MOR^{-/-}$ and $I\text{-}G6pc^{-/-}$ mice showing that mu-opioid receptors and IGP do not appear to have a causal role in glucose and energy metabolism improvements after DJB.

Key words: bariatric surgery, gastric bypass, duodenal-jejunal bypass, obesity, type 2 diabetes, mu-opioid receptors, intestinal gluconeogenesis, malabsorption

REMERCIEMENTS

Je tiens à adresser mes premiers remerciements aux membres de mon jury. Merci à Carole Kretz et à Daniela Cota d'avoir suivi mon travail pendant ces 3 années en participant à mon comité de suivi de thèse. Je vous remercie pour nos discussions et pour vos suggestions qui ont permis de faire avancer au mieux ce travail et merci à Carole Kretz d'avoir accepté de présider mon jury de thèse. Je remercie grandement Fabrizio Andreelli et Patrick Ritz qui m'ont fait l'honneur d'être rapporteurs de ma thèse. Merci pour le temps que vous avez consacré à la lecture de ce manuscrit et pour l'analyse approfondie que vous en avez faite.

Je souhaite également remercier mon directeur de thèse Gilles Mithieux pour m'avoir permis d'intégrer une équipe fantastique avec laquelle j'ai pu travailler pendant ces 3 années sur un sujet passionnant. J'ai beaucoup appris à ton contact et je te remercie pour la confiance et la liberté d'action que tu m'as accordées. Merci également d'avoir su développer mes compétences de communication orale (quasiment inexistantes auparavant…) et de m'avoir montré le verre à moitié plein !

J'adresse mes plus vifs remerciements à Amandine Gautier-Stein pour toute l'aide qu'elle m'a apportée tout au long de ma thèse et particulièrement lors de l'écriture de ce manuscrit. Tu as été la « petite voix » qui a su tirer le meilleur de moi et derrière laquelle se cache une grande et forte personne riche de beaucoup de connaissances et de beaucoup de qualités humaines. Je retiendrai de toi non seulement ta grande gentillesse, ta patience et ton positivisme mais aussi ton investissement dans tout ce que tu entreprends, ton esprit vif et ta curiosité scientifique. Merci pour tout Amandine.

Je veux également dire un très très très grand merci à celles qui m'ont tout appris des manips et de la chirurgie : Adeline et Carine. Je voudrais d'abord vous dire que j'ai été très heureuse de partager mon bureau avec vous pendant ces 3 années. Cela m'a permis de mieux vous connaître et de vous apprécier encore plus. Adeline, je te remercie pour toute l'aide que tu m'as apportée et pour m'avoir appris tant de choses toujours tout en douceur. Ta gentillesse, ta discrétion, ta disponibilité et ta capacité à écouter les autres sont autant de qualités dont tu fais preuve chaque jour et qui font qu'il est toujours agréable de travailler avec toi ou de passer un moment en ta compagnie. Carine, je te remercie également pour tout le temps que tu as consacré à me former et à m'aider et pour tout ce que tu m'as appris. J'ai aimé travailler avec toi, j'ai aimé discuter avec toi, j'ai aimé rire avec toi, j'ai aimé bricoler des trucs improbables avec toi, j'ai aimé que tu partages avec moi ces petits morceaux de chocolat qui semblent pousser dans le tiroir de ton bureau et j'ai aussi beaucoup aimé faire des courses dans les couloirs avec tes enfants ! Ces quelques lignes ne sont pas suffisantes pour vous dire à quel point je vous apprécie, autant professionnellement que personnellement, mais j'espère que vous l'aurez compris. Je vous

souhaite beaucoup de bonheur pour la suite et, pour tout ce que vous m'avez appris et pour tous les bons moments que nous avons partagés, je vous dis merci du fond du cœur.

Voilà venir le tour de ma brochette…Tout d'abord les filles je voudrais vous dire que vous êtes toutes plus géniales les unes que les autres et que je ne saurais jamais assez vous remercier pour tout ce que vous m'avez apporté pendant ces années. Ma thèse, comme toute thèse, n'a pas été un long fleuve tranquille. Il y a eu les moments de joie, les moments de doute, les moments d'euphorie, les moments de découragement…Et c'est en grande partie grâce à vous, ma brochette, grâce à votre soutien au quotidien, à vos rires et à vos encouragements que j'y suis arrivée. Vous avez été des collègues de choc et vous êtes des amies précieuses et je vous dis merci pour tout. Et plus personnellement (et par ordre alphabétique) :

- À Anne, dite TitAnne ou Announette, merci pour nos interminables discussions dont on voudrait qu'elles ne s'arrêtent jamais, merci d'être ma « petite mère Castor » qui a toujours une histoire à raconter, merci de m'avoir aidée et soutenue dès que j'en avais besoin. Ton dynamisme, ton entrain et ton sourire m'ont toujours donné du baume au cœur et même si notre travail ensemble s'arrête là, notre amitié ne fait que commencer ! Alors pour tous les bons moments qu'on a déjà passés ensemble et pour tous ceux que l'on va vivre : MERCI !

- À Blandine, dite Blandin, pour ton humour ravageur, pour ta bonne humeur contagieuse et ton rire presque aussi discret que le mien, pour toutes ces choses qui ont su égayer mes journées je te dis un grand merci ! Et bien évidemment je te dis aussi merci pour avoir pris grand soin de mes petites souris avec tes mains expertes ! Et parce que je ne pourrais pas me passer des histoires de cochon et de brebis (ça change des souris) et qu'il n'y a que toi pour si bien raconter les blagues, prépare-toi à me voir squatter la coloc assez souvent !!!

- À Daisy, dite Dédé ou D-zy, un simple merci ne suffira pas pour te dire à quel point j'ai apprécié toute l'aide que tu m'as apportée pendant ces 3 années et à quel point je suis heureuse de t'avoir pour amie. Pour ton soutien, pour nos discussions scientifiques et autres, pour toutes les chansons en yaourt chantées avec tant de conviction, pour m'avoir apaisée grâce à ton calme légendaire, pour nos fous rires, pour tes raisonnements par l'absurde, pour tes petites tapes dans le dos qui ont toujours fait leur effet, pour tes moments de craquage légendaires et pour tout le reste je te dis mille merciiiiiiiiiissss ! Je te souhaite beaucoup de bonheur pour ta nouvelle vie dans le sud et VIVE les forfaits de téléphone illimités !

- À Flore, dite TiFlore ou Docteur Flore Miss T., je te remercie du fond du cœur pour toute l'aide, les conseils et le soutien que tu m'as apportés aussi bien professionnellement que personnellement. Sache que j'ai toujours été touchée par ton émotivité qui fait aussi la beauté de ta personnalité, que j'adore ton rire et que j'aime nos discussions qui durent des heures, j'aime cette complicité qui existe entre nous, j'aime aussi ta gentillesse, ta

compassion et toutes tes autres qualités. Merci d'avoir été une collègue géniale et surtout merci d'être mon amie ! Je te souhaite bon courage pour la fin de ta thèse et j'espère pouvoir continuer à te soutenir et à t'aider aussi bien que tu l'as fait pour moi (et c'est d'ailleurs aussi pour ça qu'il faudra que je squatte la coloc assez souvent!). Encore merci pour tout mon TiFlore.

- À Jennifer, dite JeanNifleur ou JeanJean, comment résumer en seulement quelques lignes tout ce que tu m'as apporté et toutes les raisons qui font que je te dois beaucoup ? Je commencerai par te remercier pour le fait que tu as toujours su trouver les mots pour me rebooster et me redonner confiance et que tu n'as jamais douté de moi et cette confiance m'a vraiment été d'une grande aide. Je te remercie également pour ton aide si précieuse lors des manips, pour toutes nos discussions scientifiques si intéressantes, pour les nombreux et improbables culbutos, pour tous ces fous rires partagés et pour toute cette complicité qui font partie des meilleurs moments de ma thèse. J'espère sincèrement que notre amitié continuera à se développer, au-delà des kilomètres qui pourront nous séparer. Encore un grand merci pour tout mon JeanNifleur.

- À Julie, dite Youlie ou Youyou, parce que ta discrétion légendaire et tes petites boulettes m'ont tant fait rire, parce que ton caractère bien trempé m'a toujours plu, parce qu'avec nous tu prends la vie en mode kiss, peace, love, parce que Julie comme Cindy m'ont beaucoup apporté, je te remercie ma Youyou. Je te dis également un grand merci de nous avoir permis de nous ressourcer l'espace de quelques jours dans ta si belle région. Je souhaite sincèrement que tu t'épanouisses dans ta nouvelle carrière et j'espère garder ton amitié encore très longtemps malgré la distance.

En résumé, parce que la vie est faite de belles rencontres et que vous en faites partie, pour nos si nombreux fous rire, pour nos vadrouilles à Collioure, à Grenoble, à Montpellier, à Paris et bien sûr au bistro autrement je vous dis : meeeerrrci beaucoup ma brochette!!

Je voudrais aussi remercier toutes les autres personnes qui ont participé de près ou de loin à ce travail et avec qui j'ai partagé de bons moments au laboratoire. Merci à Fanny, dite Fanouchka, pour toutes les fois où tu m'as faite rire, pour ta franchise toujours appréciable, pour m'avoir chanté Disney et bien sûr pour ton travail inestimable avec les souris. Merci à Filipe, dit Filou, avec qui j'ai partagé mon bureau, mes courses de chaises, de nombreux fous rire et délires dont certains ornent les murs de notre bureau, check à toi mec. À Sylvie, notre miss catastrophe préférée qui est passée pro dans l'art de relativiser et qui m'a toujours encouragée même quand elle était loin, je te dis un grand merci. Merci également à Nico, dit Nonch-Nonch, et à sa voiture car tu as su marquer le laboratoire de ton empreinte et déclencher un petit vent de folie. Je remercie également Fabienne pour sa disponibilité, pour toutes les choses qu'elle fait pour faire tourner le labo sans qu'on n'en sache rien et bien sûr pour son tiramisu ! Merci à Maud pour tous tes conseils et pour m'avoir toujours consacré un moment dès que j'en avais besoin. Merci à Anne S. pour tous ses coups de mains qui passent parfois inaperçus mais qui facilitent le travail au quotidien. Merci à Anne D. pour nos

nombreuses discussions et pour m'avoir permis d'améliorer mon niveau aux mots fléchés. Merci à Marie-Ange, certainement l'une des secrétaires les plus efficaces qu'il m'ait été donné de rencontrer. Merci à Margaux pour son humeur toujours au beau fixe, ses bonjours retentissants et tout le soin et l'énergie qu'elle met dans son travail. Merci aussi aux nouvelle et future doctorantes MoMonika et Flora à qui je souhaite bon courage pour la suite. Et pour conclure, merci à tous d'avoir perdu quelques décibels à chaque oreille en supportant mon rire pendant 3 ans !

Je veux également remercier tous mes amis de longue date qui m'ont toujours soutenue et qui m'apportent toujours bonheur, joie et amitié sincère. Vous restez en permanence dans mes pensées même si je sais que je ne vous ai pas consacré assez de temps ces dernières années et j'espère d'ailleurs me rattraper très prochainement. Alors milles mercis à Marjo « ma merguez », à ma Véro, à ma Didine, à Annelise « ma corkèch », à ma Katoche et à Aurélie « mon couyoute » et bien sûr à mes petites sœurs de cœur Clairette et Tételle. Merci également à mes collègues de licence et master que je suis toujours très heureuse de revoir : Alix, Vincent, Mireille, Gwendo, Jéjé et Roro.

Je remercie de tout cœur ma belle-famille, tout particulièrement Mireille, Jean-Marc et Mamie Bijou pour leur accueil toujours chaleureux et pour toutes les gentilles attentions qu'ils ont toujours eues envers moi.

Un grand merci également à mes deuxièmes familles, les Ch'mi et les Labes, avec qui j'ai grandi et qui auront toujours une place particulière pour moi : Patricia, Ricou, Clairette, Tételle, Manon et Benji et Gigi, Patoche et François. Merci à vous tous pour tout ce qu'on partage depuis maintenant 25 ans.

Et bien sûr mes plus grands et plus tendres remerciements sont adressés à ma famille que j'aime de tout mon cœur. Vous avez toujours été là pour me soutenir, vous m'avez entourée de tout votre amour et surtout vous m'avez offert les bouffées d'air frais dont j'avais besoin pour continuer à avancer. Alors des millions de mercis à mes parents, à mes sœurs si joliment surnommée la Mite et la Twix, à Vincent (ou le Twix) et à mes neveux Sachouille et Maoul !

Ces si longs remerciements ne seraient pas complets si je ne remerciais pas celui qui partage ma vie depuis des années : Flo. Tu es à la fois mon compagnon, mon meilleur ami, mon comique préféré (si,si !) et mon plus grand soutien. Je ne te remercierais jamais assez pour tout ce que tu fais pour moi au quotidien, pour tout l'amour que tu me portes, pour ta capacité à toujours trouver les mots pour me faire rire, pour tout ce que tu as enduré sans jamais broncher pendant ces 3 années de thèse, pour tous les weekends où tu m'as aidée dans mon travail et pour tout le reste. Grâce à toi j'ai réellement trouvé un équilibre que j'espère bien conserver très très très longtemps. Avec tout mon amour : merci !

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AgRP : Agouti related protein

AMPK : Adenosine monophosphate activated protein

ATP : Adénosine triphosphate

BPG : By-pass gastrique Roux-en-Y

BWM : Body-weight matched

DJB : Duodenal-jejunal bypass (ou by-pass duodéno-jéjunal)

DPP-IV : Dipeptidyl peptidase 4

EGA : Entéro-gastro-anastomose

FXR : Farnesoid X receptor

GLP-1 : Glucagon-like peptide-1

GLP1-R : Glucagon-like peptide-1 receptor

GLUT2 : Glucose transporter 2

G6P : Glucoe-6-phosphate

G6Pase : Glucoe-6-phosphatase

G6PC : Sous-unité catalytique de la G6Pase

G6PT : Sous-unité de la G6Pase transportant le G6P

IL-6 : Interleukine 6

IMC : Indice de masse corporelle

KO : Knock-out

MC3R : Melanocortin 3 receptor

MC4R : Melanocortin 4 receptor

MOR : Mu-opioid receptor

α-MSH : Alpha melanocyte stimulating hormone

NGI : Néoglucogenèse intestinale

NPY : Neuropeptide Y

OCDE : Organisation de coopération et de développement économiques

OMS : Organisation mondiale de la santé

PEG : Production endogène de glucose

PEPCK : Phosphoénolpyruvate carboxykinase

PF : Pair-fed

PHG : Production hépatique de glucose

Pi : Phosphate inorganique

PIG : Production intestinale de glucose

POMC : Pro-opio-mélanocortine

PPARγ : Peroxisome proliferator-activated receptor gamma

RYGB : Roux-en-Y gastric bypass

TGR5-GPBAR-1 : G protein-coupled bile acid receptor 1

TNF-α : Tumor necrosis factor alpha

Y1R : Neuropeptide Y receptor Y1

Y2R : Neuropeptide Y receptor Y2

Y5R : Neuropeptide Y receptor Y5

SOMMAIRE

AVANT-PROPOS 1

DONNÉES BIBLIOGRAPHIQUES 4

I. Obésité et diabète de type 2 5

1. Définition et étiologie de l'obésité 5

2. Épidémiologie de l'obésité 6

3. Diabète de type II et autres comorbidités associées à l'obésité 7

4. Traitements de l'obésité 9

a. Prise en charge hygiéno-diététique 9
b. Traitements pharmacologiques 10
c. Traitements chirurgicaux 11

II. La chirurgie bariatrique 11

1. Les différents types de chirurgie bariatrique 12

a. Chirurgies « restrictives » 12

i. La gastroplastie verticale calibrée 12
ii. L'anneau gastrique ajustable 13
iii. La gastrectomie longitudinale ou gastrectomie en manchon ou « sleeve » gastrectomie 13

b. Chirurgies « malabsorptives » 14

i. By-pass jéjuno-iléal 14
ii. By-pass duodéno-jéjunal 15

c. Chirurgies mixtes 16

i. Le by-pass gastrique avec anse Y de Roux 16
ii. Les dérivations biliopancréatiques 17

2. Efficacité des différentes chirurgies de l'obésité 19

a. Sur la perte de poids 19
b. Sur la rémission du diabète de type II 19
c. Sur les autres comorbidités associées à l'obésité 20

d. Sur la mortalité opératoire 21
e. Efficacité singulière de la sleeve gastrectomie 21

III. Effets bénéfiques du by-pass gastrique Roux-en-Y 22

1. Effets sur la prise alimentaire 23

a. Modifications des sécrétions hormonales 23

i. Hormones gastrointestinales 23
ii. Leptine 26

b. Modifications hypothalamiques 26
c. Modifications des préférences alimentaires 28

2. Effets sur le poids 30

a. Contribution de la malabsorption 31
b. Contribution de la diminution de la prise calorique 31
c. Contribution de la dépense énergétique 32
d. Contribution du microbiote intestinal 33

3. Effets sur l'amélioration et la prévention du diabète de type 2 34

a. Contribution de la diminution de l'apport calorique et de la diminution du poids 35
b. Contribution des hormones gastro-intestinales 35
c. Contribution des adipocytokines 36
d. Contribution des acides biliaires 37
e. Contribution de la production intestinale de glucose 37

IV. La production endogène de glucose 38

1. Les voies métaboliques de la production de glucose 39

a. Glycogénolyse 39
b. Néoglucogenèse 40

2. Les organes producteurs de glucose 41

a. Le foie 41
b. Les reins 41
c. L'intestin 41

3. La glucose-6-phosphatase 42

4. Les effets différentiels de la production hépatique et de la production intestinale de glucose 43

a. Effets délétères de l'augmentation de la production hépatique de glucose 43
b. Effets bénéfiques de l'augmentation de la production intestinale de glucose 44
i. Effets des régimes enrichis en protéines et rôle des récepteurs mu-opioïdes 44
ii. Effets des régimes riches en fibres 46
c. Production endogène de glucose et chirurgie bariatrique 46

DÉMARCHE EXPÉRIMENTALE 48

RÉSULTATS 52

Article 1 : Role of dietary protein sensing in the metabolic benefits of duodenal-jejunal bypass in the mouse 53

Article 2 : Modifications of endogenous glucose production and food intake after duodenal-jejunal bypass in the mouse 71

DISCUSSION GÉNÉRALE 87

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES 99

TRAVAUX PERSONNELS 119

ANNEXES 121

Annexe 1 : Goncalves *et al.*, 2014 **:** Bile routing modification recapitulates the key features of gastric bypass in rat 122

Annexe 2 : Modifications morphologiques de l'intestin après by-pass duodéno-jéjunal chez le rat non-obèse et non-diabétique 145

AVANT-PROPOS

L'obésité est un problème mondial de santé publique qui touche plus de 500 millions de personnes dans le monde (estimations de 2008 de l'Organisation Mondiale de la Santé) et qui est un facteur de risque majeur associé au développement de nombreuses pathologies telles que le diabète de type II (Segula, 2014). C'est pourquoi les chirurgies de l'obésité, ou chirurgies bariatriques, ont connu un véritable essor ces dernières années. En effet, ces chirurgies de l'obésité ont démontré leur efficacité dans l'induction et le maintien d'une forte perte de poids mais également dans la rémission du diabète de type II (Sjöström et al., 2004). Il existe de nombreuses procédures de chirurgie bariatrique qui consistent soit à restreindre le volume de l'estomac, soit à raccourcir la longueur de l'intestin grêle afin de créer une malabsorption des nutriments, soit à associer restriction et malabsorption. C'est à cette dernière catégorie qu'appartient le by-pass gastrique Roux-en-Y (BPG), la chirurgie bariatrique la plus effectuée au niveau mondial (Buchwald and Oien, 2013). En plus de ses effets sur la perte de poids, le BPG induit des effets spectaculaires sur le métabolisme glucidique dans les jours qui suivent la chirurgie, c'est-à-dire avant toute perte de poids (Pories et al., 1995; Wickremesekera et al., 2005). Cependant, les mécanismes par lesquels le BPG induit ses effets bénéfiques restent à clarifier.

La production endogène de glucose est une fonction cruciale de l'organisme assurée par 3 organes : le foie, les reins et l'intestin. Selon son site de production, le glucose va induire des effets différents. En effet, l'augmentation de la production hépatique de glucose (PHG) a un rôle causal dans le développement du diabète de type II (Clore et al., 2000; Trinh et al., 1998). Contrairement à cet effet délétère du foie, l'augmentation de la production de glucose par l'intestin induit des effets bénéfiques sur l'organisme tels qu'une induction de la satiété, une augmentation de la sensibilité à l'insuline et une diminution de la PHG (Mithieux et al., 2005; De Vadder et al., 2014). Or, des études ont montré que lors des chirurgies bariatriques la production endogène de glucose est modifiée (Kim et al., 2014; Sun et al., 2013; Troy et al., 2008).

Ce travail de thèse s'inscrit dans la meilleure compréhension des mécanismes à l'origine des effets bénéfiques du BPG sur l'homéostasie glucidique. J'ai plus particulièrement étudié les relations entre la production intestinale de glucose et les effets bénéfiques du by-pass duodéno-jéjunal, une chirurgie de l'obésité qui reproduit le réarrangement de l'intestin obtenu après BPG mais pas la restriction gastrique. Ce manuscrit

de thèse est donc introduit par des données bibliographiques concernant tout d'abord l'obésité et le diabète de type II. Dans une deuxième partie, les différentes techniques de chirurgie bariatrique sont présentées et une troisième partie détaille plus particulièrement les effets bénéfiques du BPG. Enfin une dernière partie décrit la régulation de la production endogène de glucose. Cette introduction est suivie par les résultats obtenus lors de mon travail de thèse et présentés sous la forme d'articles rédigés. Puis une discussion générale replace ces résultats dans le contexte bibliographique et ouvre sur des perspectives d'étude.

DONNÉES BIBLIOGRAPHIQUES

Classification	IMC (kg/m²)	Risques pour la santé
Maigreur	< 18,5	Accrus
Poids normal	18,5 – 24,9	Faibles
Surpoids	25,0 – 29,9	Accrus
Obésité, classe I (obésité modérée)	30,0 – 34,9	Elevés
Obésité, classe II (obésité sévère)	35,0 – 39,9	Très élevés
Obésité, classe III (obésité morbide ou massive)	≥ 40	Extrêmement élevés

Tableau 1 : Classification de l'obésité

Classification de l'obésité en fonction de l'indice de masse corporelle (IMC) selon l'Organisation Mondiale de la Santé.

I. Obésité et diabète de type 2

1. Définition et étiologie de l'obésité

Le surpoids et l'obésité sont définis comme « une accumulation anormale ou excessive de graisse qui présente un risque pour la santé » selon l'Organisation Mondiale de la Santé.

La méthode la plus communément utilisée pour évaluer le surpoids et l'obésité est le calcul de l'indice de masse corporelle (IMC) qui correspond au poids (kg) divisé par la taille au carré (m^2). Le poids des individus dont l'IMC est compris entre 18,5 et 25 est considéré comme normal. Un surpoids correspond à un IMC compris entre 25 et 30 et l'obésité est définie par un IMC supérieur à 30. L'obésité peut être subdivisée en différentes catégories, ainsi le terme d' « obésité morbide » est utilisé pour des personnes ayant un IMC supérieur à 40 alors que la « super-obésité » qualifie les personnes ayant un IMC supérieur à 50 (Tableau 1). Les risques pour la santé augmentent avec l'augmentation de l'IMC. L'utilisation de l'IMC pour définir le poids d'un individu présente cependant des limites. Cet indice ne donne pas d'informations sur la proportion de masse grasse, de masse musculaire et de masse osseuse ainsi que sur la répartition de la graisse. Or plusieurs facteurs tels que la génétique, l'âge, le sexe, l'origine ethnique, le sport et certaines maladies font varier ces différents paramètres. Le rapport entre la circonférence abdominale et la circonférence des hanches (ou rapport taille-hanche) est donc quelquefois utilisé comme un index clinique de la répartition des graisses. Même si cette dernière mesure permet de définir plus précisément l'adiposité effective de l'organisme, l'IMC reste un bon indicateur de risque pour la santé dans la population générale et est le plus souvent utilisée dans le cadre du traitement de l'obésité.

Même s'il est reconnu que la cause première de l'obésité est une inadéquation entre l'absorption d'énergie et la dépense énergétique, l'étiologie de l'obésité reste complexe et multifactorielle. Le développement de cette pathologie dépend aussi bien de facteurs génétiques et environnementaux que psychologiques, sociaux et économiques (Wright and Aronne, 2012). Au cours des dernières années, les études sur le génome humain ont permis l'identification de gènes prédisposant à l'obésité. Plusieurs cas d'obésité monogénique ont été identifiés chez l'homme et concernent principalement la leptine et le système mélanocortinergique hypothalamique. La majorité des cas d'obésité présents dans la

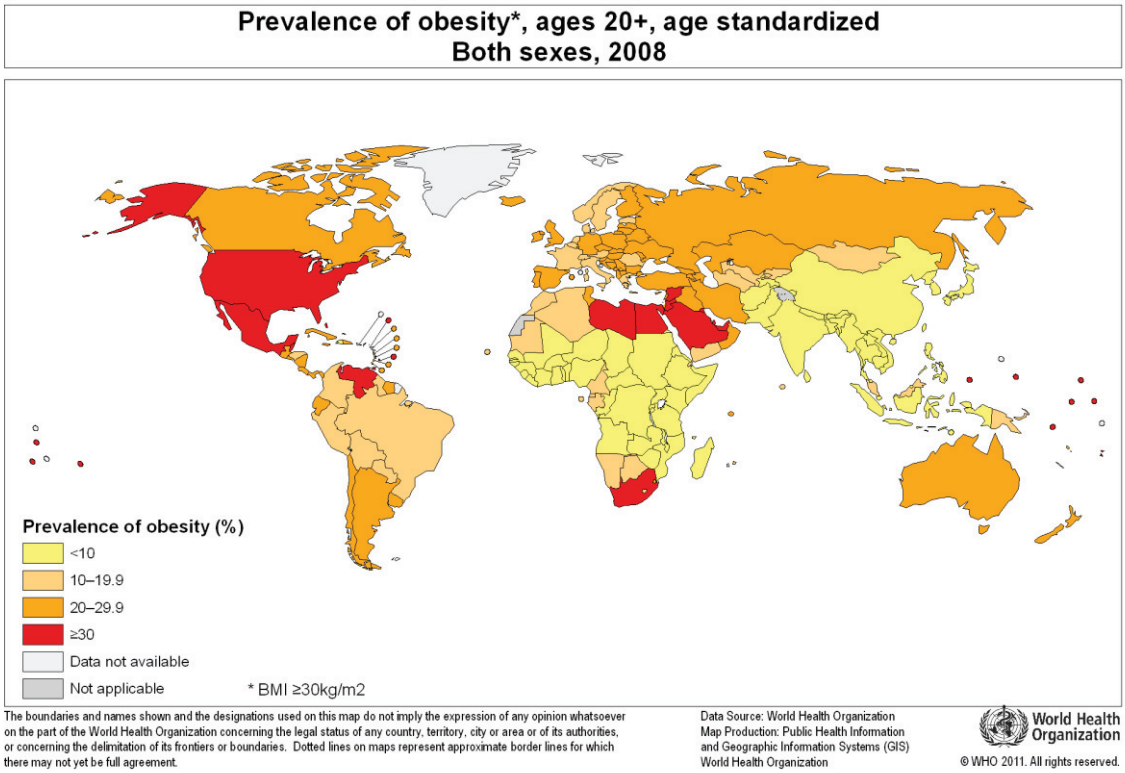


Figure 1 : Prévalence mondiale de l'obésité

selon l'Organisation Mondiale de la Santé en 2008

population est néanmoins d'origine polygénique (Razquin et al., 2011). En effet, environ 250 gènes ou régions chromosomiques ont été associés au développement de l'obésité. A ces facteurs génétiques s'ajoutent des facteurs environnementaux et sociaux. Au niveau mondial, la modification des comportements favorisant la consommation d'aliments riches en graisses et en sucres et la sédentarité concoure au développement de cette pathologie (Selassie and Sinha, 2011). De plus, la majorité des études estime que le taux de désordres psychologiques est plus important chez les obèses. Il existe également une interrelation entre l'obésité et les facteurs psychologiques comme l'estime de soi ou l'image corporelle. Toutefois, aucune étude n'a pu mettre en évidence un lien causal entre ces deux paramètres (McLaren, 2007).

2. Épidémiologie de l'obésité

L'obésité est un problème majeur de santé publique qui ne cesse de croître depuis des années, en particulier dans les pays industrialisés et en voie de développement (Figure 1). Au niveau mondial, l'obésité a plus que doublé depuis les années 1980 et, d'après les estimations de l'OMS datant de 2008, 1,4 milliard de personnes sont en surpoids dans le monde dont 500 millions sont obèses. Le surpoids et l'obésité diminuent l'espérance de vie moyenne d'environ 22% et sont les premiers facteurs de risque de décès puisque environ 3,4 millions d'adultes en meurent chaque année (Fontaine et al., 2003). Sur le plan économique, l'obésité est responsable de 1 à 3% des dépenses de santé dans l'ensemble des pays européens (Etude Fit not Fat, OCDE, 2010).

En France, les enquêtes ObÉpi ont démontré qu'en 15 ans le nombre de personnes obèses a quasiment doublé pour atteindre 6 922 000 personnes en 2012, ce qui représente 15% de la population française. L'IMC moyen est passé de 24,3 kg/m² en 1997 à 25,4 kg/m² en 2012 soit une augmentation moyenne de 1,1 kg/m² en 15 ans. De plus, le tour de taille, qui permet d'apprécier l'adiposité abdominale et qui est associée à un risque accru de développer des maladies cardio-métaboliques et une insulinorésistance, a nettement augmenté en 15 ans. En effet, le tour de taille est passé de 85,2 cm en moyenne en 1997 à 90,5 cm en moyenne en 2012 soit une augmentation de 5,3 cm en 15 ans.

3. Diabète de type II et autres comorbidités associées à l'obésité

L'obésité est un facteur de risque majeur associé au développement de nombreuses pathologies telles que l'hypertension artérielle, les maladies cardio-vasculaires, les dyslipidémies, les accidents vasculaires cérébraux, l'arthrose, l'apnée du sommeil, les reflux gastro-œsophagiens, certains troubles psychiatriques, une diminution de la fertilité, ainsi que certains cancers (Segula, 2014).

L'une des complications majeures de l'obésité est le diabète de type II. En effet, les personnes obèses ont 3 fois plus de risques de développer un diabète de type II par rapport aux personnes non-obèses. De plus, près de 90% des diabétiques sont obèses ou ont un excès de poids. Le diabète de type II a été caractérisé par l'OMS comme étant une pandémie mondiale. Cette maladie touche en effet au moins 347 millions de personnes (estimations de 2008) (Danaei et al., 2011), et a été responsable de 3,4 millions de décès en 2010. L'OMS prévoit que le diabète de type II sera la septième cause de décès en 2030. L'augmentation alarmante de cette prévalence pourrait être en partie liée à la croissance démographique ainsi qu'à l'augmentation de la durée de vie puisque 60% des personnes diabétiques ont entre 55 et 75 ans.

Le diabète de type II est une maladie caractérisée par une hyperglycémie chronique supérieure à 1,26 g/L ou à 7 mmol/L à jeun. Le diabète est une maladie évolutive d'un point de vue clinique. La voie de progression généralement décrite débute par un défaut d'action de l'insuline, appelé résistance à l'insuline, au niveau des organes insulinosensibles (le foie, les muscles et le tissu adipeux). Cette diminution de la sensibilité périphérique à l'insuline est compensée par une augmentation de la sécrétion d'insuline par le pancréas, conduisant à l'installation d'une hyperinsulinémie pendant la période de pré-diabète. Cette phase d'hyperinsulinémie est suivie par l'installation progressive d'une déficience de la sécrétion d'insuline alors incapable de compenser la résistance à l'insuline des organes, notamment celle du foie (Björnholm and Zierath, 2005). En effet, l'augmentation de la production hépatique de glucose joue un rôle clé dans la transition de l'état de pré-diabète au diabète franc, avec l'apparition de l'hyperglycémie caractéristique du diabète de type II. Cette hyperglycémie prolongée est le plus souvent asymptomatique mais entraîne à long terme, généralement après 10 à 20 ans de déséquilibre glycémique, de graves complications. Ces

complications concernent principalement les micro-vaisseaux, les artères et les nerfs. La fréquence des atteintes macrovasculaires (athérosclérose, infarctus du myocarde, accident vasculaire cérébral et artériopathie) est de l'ordre de 40% chez les diabétiques de type II. Les atteintes microvasculaires concernent principalement les yeux et les reins (prévalence de 20% en 2007). L'atteinte des micro-vaisseaux de la rétine va engendrer une rétinopathie, avec un risque de déficience visuelle voire de cécité. L'atteinte rénale peut conduire à l'insuffisance rénale mais reste plus rare (0,3% en 2007). L'hyperglycémie chronique peut aussi endommager les nerfs, en particulier ceux des membres inférieurs, et ainsi conduire au développement de la neuropathie diabétique. Ces complications sont majoritairement liées aux mécanismes de glucotoxicité induits par l'hyperglycémie chronique (Brownlee, 2000).

Les traitements actuels du diabète de type II visent à prévenir la survenue de ces complications. Le traitement de première intention est une prise en charge hygiéno-diététique visant à diminuer les apports caloriques et à augmenter l'activité physique des patients. Si le suivi de ces règles hygiéno-diététiques ne suffit pas à maintenir un équilibre glycémique stable, le recours à des médicaments devient nécessaire. Les différents médicaments proposés ciblent les principales dérégulations responsables du développement du diabète : l'insulinorésistance des tissus consommateurs de glucose (muscles et tissus adipeux), la production endogène de glucose et la sécrétion d'insuline. La metformine est l'antidiabétique le plus utilisé dans le traitement du diabète de type II et appartient à la famille des biguanides. Son action principale est de diminuer la production hépatique de glucose. La metformine inhibe le complexe 1 de la chaîne respiratoire mitochondriale, conduisant à une diminution de l'ATP intracellulaire (Owen et al., 2000). Cette diminution conduit notamment à l'inhibition de la production endogène de glucose *via* des mécanismes dépendants (liés à l'AMPK, AMP-activated protein kinase) (Shaw et al., 2005) et indépendants (Foretz et al., 2010) de la transcription. Les thiazolidinediones sont d'autres antidiabétiques qui réduisent efficacement la glycémie à jeun en améliorant la sensibilité à l'insuline et le captage de glucose au niveau périphérique. Ces molécules sont des agonistes puissants de PPARγ (peroxisome proliferator-activated receptor), un facteur de transcription fortement exprimé dans le tissu adipeux. L'activation de PPARγ dans le tissu adipeux blanc améliore le statut inflammatoire, diminue la lipolyse et augmente la sécrétion d'adiponectine (Kadowaki et al., 2006; Peraldi et al., 1997). Ceci limiteraient alors

l'insulinorésistance musculaire et hépatique (Berg et al., 2001). Il existe également des antidiabétiques appelés insulinosécrétagogues, tels que les sulfonylurés et les glinides, qui permettent de rétablir la sécrétion d'insuline. Ces molécules agissent au niveau des cellules β en inhibant les canaux potassiques ATP sensibles, ce qui déclenche la libération d'insuline par exocytose (Seino, 2012). Certains médicaments antidiabétiques vont mimer l'effet « incrétine » du GLP-1 (glucagon like peptide 1, cf § III.3.b), qui consiste, au niveau du pancréas, à augmenter la synthèse et la sécrétion d'insuline en réponse au glucose, à diminuer la sécrétion du glucagon, à augmenter la prolifération des cellules β et à inhiber l'apoptose de ces cellules β (Baggio and Drucker, 2007). Cette famille comprend les incrétino-mimétiques, des agonistes du récepteur du GLP-1, et les inhibiteurs de la DPP-IV (dipeptidyl peptidase IV), l'enzyme de dégradation du GLP-1 (Verspohl, 2009). Enfin, certains médicaments ciblent l'absorption intestinale des glucides alimentaires complexes : les inhibiteurs des alpha-glucosidases. Ces molécules inhibent la dégradation des glucides complexes en monosaccharides (réaction catalysée par les alpha-glucosidases) empêchant ainsi leur absorption par les entérocytes. Les antidiabétiques sont généralement d'abord prescrits en monothérapie (la metformine étant le traitement recommandé en première intention) mais peuvent ensuite être associés les uns aux autres (di- ou tri-thérapie) ou associés à l'insuline selon la sévérité et l'évolution du diabète de type II. Dans tous les cas, aucun des traitements classiques du diabète de type II ne permet une rémission totale de cette maladie.

4. Traitements de l'obésité

a. Prise en charge hygiéno-diététique

Le traitement de l'obésité repose tout d'abord sur une prise en charge nutritionnelle et comportementale des patients. Le but est d'induire une balance énergétique négative c'est-à-dire de diminuer les apports caloriques, d'augmenter les dépenses énergétiques ou de combiner les deux (Hankey, 2010). La prise en charge diététique consiste à soumettre les patients à des régimes hypocaloriques équilibrés ou encore à varier la composition en macronutriments de l'alimentation. Mais parfois de simples conseils nutritionnels, avec suppression des erreurs alimentaires, peuvent suffire à la perte de poids. Cependant, à long terme les patients présentent souvent une reprise de poids car l'organisme induit des

mécanismes compensatoires (tels que la diminution de la dépense énergétique de repos) qui vont contrecarrer la perte de poids induite par la diminution de l'apport calorique (Blomain et al., 2013). Une activité physique régulière et soutenue est donc associée à la prise en charge diététique, dans la mesure des possibilités de la personne. Il semble toutefois que la pratique régulière d'une activité physique est plus importante pour la prévention de la reprise de poids que pour la perte de poids (Jakicic et al., 2001). Quoi qu'il en soit, le maintien à long terme de la perte de poids uniquement grâce à des changements diététiques et comportementaux reste difficile (Christiansen et al., 2007).

b. Traitements pharmacologiques

Des traitements médicamenteux peuvent être associés à la prise en charge hygiéno-diététique afin d'augmenter et de maintenir la perte de poids. En France, seul l'orlistat est actuellement disponible pour le traitement à long terme de l'obésité. Cette molécule bloque une partie de l'absorption intestinale des graisses (30%) en inhibant les lipases gastriques et pancréatiques et permet ainsi d'éliminer 30 g de graisses par jour soit l'équivalent de 300 calories. Les effets secondaires de l'orlistat concernent principalement des désordres gastro-intestinaux (diarrhée, stéatorrhée, ballonnements, flatulences, douleurs abdominales) qui prennent place chez 15 à 30% des patients et peuvent mener à l'arrêt du traitement. Ces effets secondaires peuvent être diminués par la consommation d'une nourriture moins riche en lipides. D'autres médicaments, tels que la sibutramine (inhibant la recapture de la sérotonine et de la noradrénaline) et le rimonabant (agoniste inverse des récepteurs cannabinoïdes CB1), également utilisés pour traiter l'obésité ont été retirés du marché en raison de leurs effets secondaires trop importants.

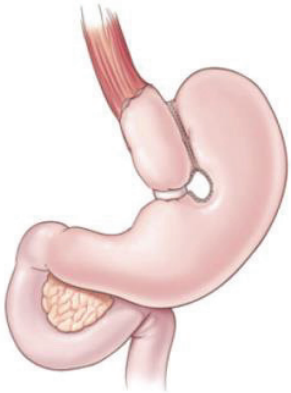
Il faut cependant noter que même en alliant la prise en charge diététique, l'activité physique et le traitement pharmacologique, la perte de poids moyenne à 1 ou 2 ans n'est que de 7 à 10% du poids basal et est difficilement maintenue sur le long terme (Douketis et al., 2005; Sjostrom et al., 2000). Ces approches sont donc insuffisantes pour traiter les cas d'obésité sévère.

c. Traitements chirurgicaux

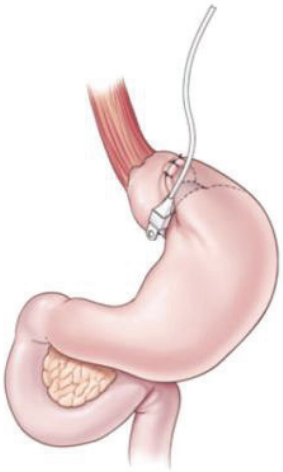
Les traitements chirurgicaux de l'obésité, regroupés sous le terme de chirurgie bariatrique, s'imposent aujourd'hui comme les méthodes les plus efficaces pour traiter l'obésité morbide (Gloy et al., 2013; Karlsson et al., 2007; Sjöström et al., 2004). En effet, la chirurgie bariatrique est le seul traitement qui permet d'induire rapidement une forte perte de poids et surtout de maintenir cette perte de poids à long terme (-23% par rapport au poids basal deux ans après la chirurgie, -18% vingt ans après l'opération) (Sjöström, 2013). De plus, de nombreuses études ont démontré que la chirurgie bariatrique résout ou améliore plus de 70% des dyslipidémies, environ 75% des hypertensions et plus de 80% des syndromes d'apnée du sommeil (Buchwald et al., 2004; Schauer et al., 2003; Sjöström et al., 2004). Mais l'un des effets les plus surprenants de la chirurgie bariatrique concerne le diabète de type II. En effet, alors qu'il n'existe actuellement aucun traitement pharmacologique qui permettent la guérison du diabète de type II, la chirurgie bariatrique permet une rémission complète de cette maladie dans 80% des cas (Buchwald et al., 2009; Pories et al., 1995; Schauer et al., 2003). L'ensemble de ces améliorations permet alors une augmentation de l'espérance de vie et une diminution de la mortalité liée à l'obésité (Buchwald et al., 2004; Sjöström, 2013). Cependant, la mortalité opératoire étant importante (de l'ordre de 0,5%) la chirurgie bariatrique n'est proposée qu'en deuxième intention, en cas d'échec des prises en charge hygiéno-diététiques et pharmacologiques. De plus, selon les recommandations de la Haute Autorité de Santé, l'intervention chirurgicale ne doit être pratiquée que chez les patients obèses morbides (IMC ≥ 40 kg/m²) ou qui ont un IMC ≥ 35 kg/m² associé à au moins une comorbidité susceptible d'être améliorée après la chirurgie. Bien que la chirurgie bariatrique connaisse un véritable essor avec un nombre d'interventions doublé entre 2006 et 2011, seuls 4% de la population cible a été opérée en 2011 en France (Etude 2013 de l'Assurance Maladie).

II. La chirurgie bariatrique

La chirurgie bariatrique consiste à modifier l'anatomie du tractus gastro-intestinal afin de diminuer la quantité et/ou l'absorption des aliments ingérés.



A. Gastroplastie verticale calibrée



B. Anneau gastrique ajustable

C. Sleeve gastrectomie

Figure 2 : Principales chirurgies restrictives

(D'après Rubino *et al.*, 2010)

Le concept de traiter chirurgicalement l'obésité est né d'observations faites au début du XXème siècle. En effet, plusieurs études montraient que des patients ayant subi une résection importante de l'estomac ou de l'intestin grêle, à cause d'un ulcère par exemple, présentaient une perte de poids importante qui persistait après l'opération. Les premières chirurgies digestives spécifiquement destinées à traiter l'obésité ont été réalisées dans les années 1950 et impliquaient l'exclusion de la plus grande partie de l'intestin grêle du trajet des aliments (Buchwald and Rucker, 1981; Payne and DeWind, 1969; Payne et al., 1973).

Depuis, de nombreuses autres techniques chirurgicales ont vu le jour et peuvent être regroupées en 3 catégories : les techniques purement « restrictives », les techniques purement « malabsorptives » et les techniques mixtes. Le principe des chirurgies dites « restrictives » est de diminuer le volume de l'estomac afin de diminuer la quantité d'aliment ingéré. Les chirurgies dites « malabsorptives » visent à diminuer l'absorption des nutriments, en diminuant d'une part la longueur d'absorption du grêle et d'autre part en retirant les enzymes digestives d'une partie de l'intestin. Enfin, les techniques de chirurgie bariatrique « mixtes » combinent une composante restrictive avec une composante malabsorptive. Dans le cadre de ce travail de thèse, deux chirurgies vont plus particulièrement nous intéresser : le by-pass duodéno-jéjunal (§ II.1.b.*ii*) et le by-pass gastrique Roux-en-Y (§ II.1.c.*i*).

1. Les différents types de chirurgie bariatrique

a. Chirurgies « restrictives »

Les chirurgies « restrictives » sont présentées dans la Figure 2 et impliquent toutes une diminution du volume de l'estomac sans modification de l'intestin.

i. La gastroplastie verticale calibrée

Cette intervention consiste à former une poche gastrique d'environ 40 mL en disposant des agrafes verticalement sur la partie supérieure de l'estomac. Sous cette poche, le chirurgien place un petit anneau qui permet la création d'un orifice de sortie de diamètre fixe (environ 12 mm) qui va réguler l'arrivée des aliments dans l'estomac distal (Figure 2A).

Cette technique très populaire dans les années 1980 a été progressivement abandonnée en raison du fort pourcentage d'échec à long terme (désunion de la ligne d'agrafe, dilatation de

la poche gastrique, ulcères). L'anneau gastrique ajustable est aujourd'hui préférentiellement utilisé car plus facile à réaliser et plus sûr (Rubino et al., 2010).

ii. L'anneau gastrique ajustable

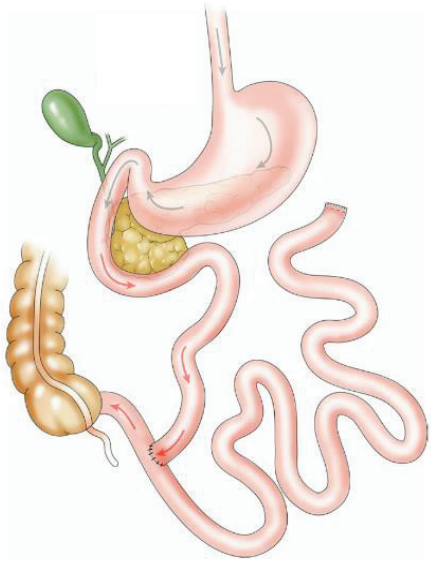
Développé dans les années 1990, l'anneau gastrique ajustable est la 3ème chirurgie bariatrique la plus utilisée au monde (Buchwald and Oien, 2013). Cette technique opératoire consiste à encercler la partie haute de l'estomac par un anneau dont le diamètre est modifiable, créant ainsi une petite poche gastrique d'environ 15-20 mL (Figure 2B). L'anneau est relié à un boîtier qui est placé sous la peau et dans lequel une solution liquide peut être injectée ou retirée afin d'ajuster la taille de l'orifice gastrique. Grâce à cette chirurgie, une sensation de satiété apparaît rapidement après un repas car peu d'aliments sont nécessaires pour remplir la petite poche gastrique. De plus, les aliments vont s'écouler très lentement à travers l'étroit orifice gastrique.

Cette technique implique par la suite une modification considérable des habitudes alimentaires des patients (manger lentement, mastiquer longuement, s'arrêter à la première impression de satiété, éviter certains aliments) sous peine de voir apparaître des douleurs et des vomissements. Les complications majeures liées à cette opération sont la dilatation de la poche gastrique due à un serrage excessif de l'anneau, l'infection du boîtier, des reflux gastro-œsophagiens ou la migration de l'anneau. L'avantage majeur de cette technique est sa réversibilité. En effet, l'anneau peut être retiré assez facilement mais son retrait entraîne généralement une reprise de poids.

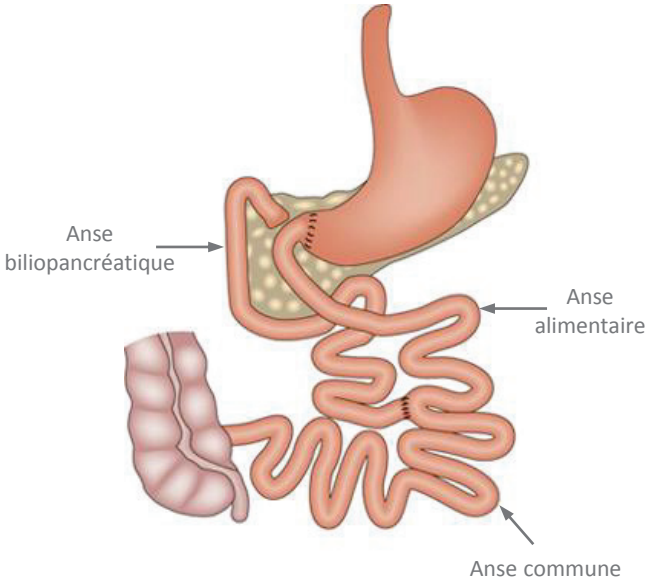
iii. La gastrectomie longitudinale ou gastrectomie en manchon ou « sleeve » gastrectomie

Cette chirurgie consiste en la résection verticale de plus des 2/3 de l'estomac dont la partie contenant les cellules qui sécrètent une hormone orexigène : la ghréline (Figure 2C). L'estomac restant est fermé grâce à un agrafage sur toute la hauteur de la grande courbure gastrique. Cet estomac restant à une forme de tube et un volume d'environ 100-150 mL après opération. La partie de l'estomac qui a été sectionnée est ensuite retirée de la cavité abdominale.

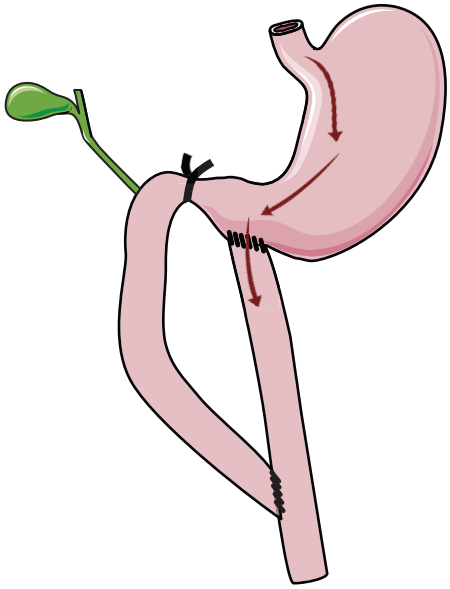
Initialement, cette chirurgie n'était que la première étape d'une chirurgie plus complexe : la diversion biliopancréatique avec switch duodénal (détaillée dans le paragraphe II.1.c.*ii*). Mais



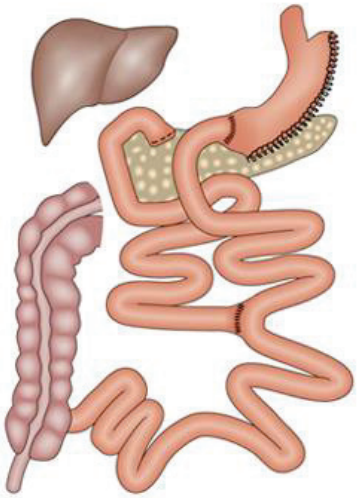
A. By-pass jéjuno-iléal



B. By-pass duodéno-jéjunal



C. Variante du by-pass duodéno-jéjunal (by-pass gastro-jéjunal)



D. By-pass duodéno-jéjunal avec sleeve gastrectomie

Figure 3 : Principales chirurgies malabsorptives

(D'après Rubino *et al.*, 2010)

en raison d'une morbidité post-opératoire élevée chez les patients super obèses, certains chirurgiens ont proposé une diversion biliopancréatique en deux temps : la sleeve gastrectomie seule dans un premier temps pour diminuer la durée opératoire puis quelques mois plus tard une procédure de court-circuit (ou by-pass) intestinal. Face aux résultats étonnants de la sleeve gastrectomie seule sur la perte de poids et l'amélioration des comorbidités (Mognol et al., 2005; Silecchia et al., 2006), cette chirurgie a été reconnue comme une chirurgie à part entière par la Haute Autorité de Santé en 2008 en France. La sleeve gastrectomie a connu un véritable essor ces dernières années : en 2008 elle ne représentait que 5,3% des opérations de chirurgie bariatrique effectuée dans le monde contre 27,8% en 2011 (Buchwald and Oien, 2013). Il s'agit de la 2ème chirurgie bariatrique la plus utilisée au monde et, en France, cette chirurgie était même la plus couramment pratiquée en 2011 (Etude 2013 de l'Assurance Maladie).

La sleeve gastrectomie est assez aisée à réaliser mais est irréversible et peut entraîner des hémorragies et des reflux gastro-intestinaux ainsi que dans de rares cas des fistules ou abcès post-opératoires. Cette chirurgie présente comme avantage de ne comporter aucune implantation de matériel étranger dans l'organisme contrairement à l'anneau gastrique. De plus, en cas de résultats décevants sur la perte de poids, elle peut être convertie en diversion biliopancréatique ou en by-pass gastrique (§ II.1.c).

b. Chirurgies « malabsorptives »

Lors de chirurgies dites « malabsorptives », le volume de l'estomac n'est pas réduit mais l'anatomie de l'intestin est réarrangée afin de créer une malabsorption des aliments (Figure 3).

i. By-pass jéjuno-iléal

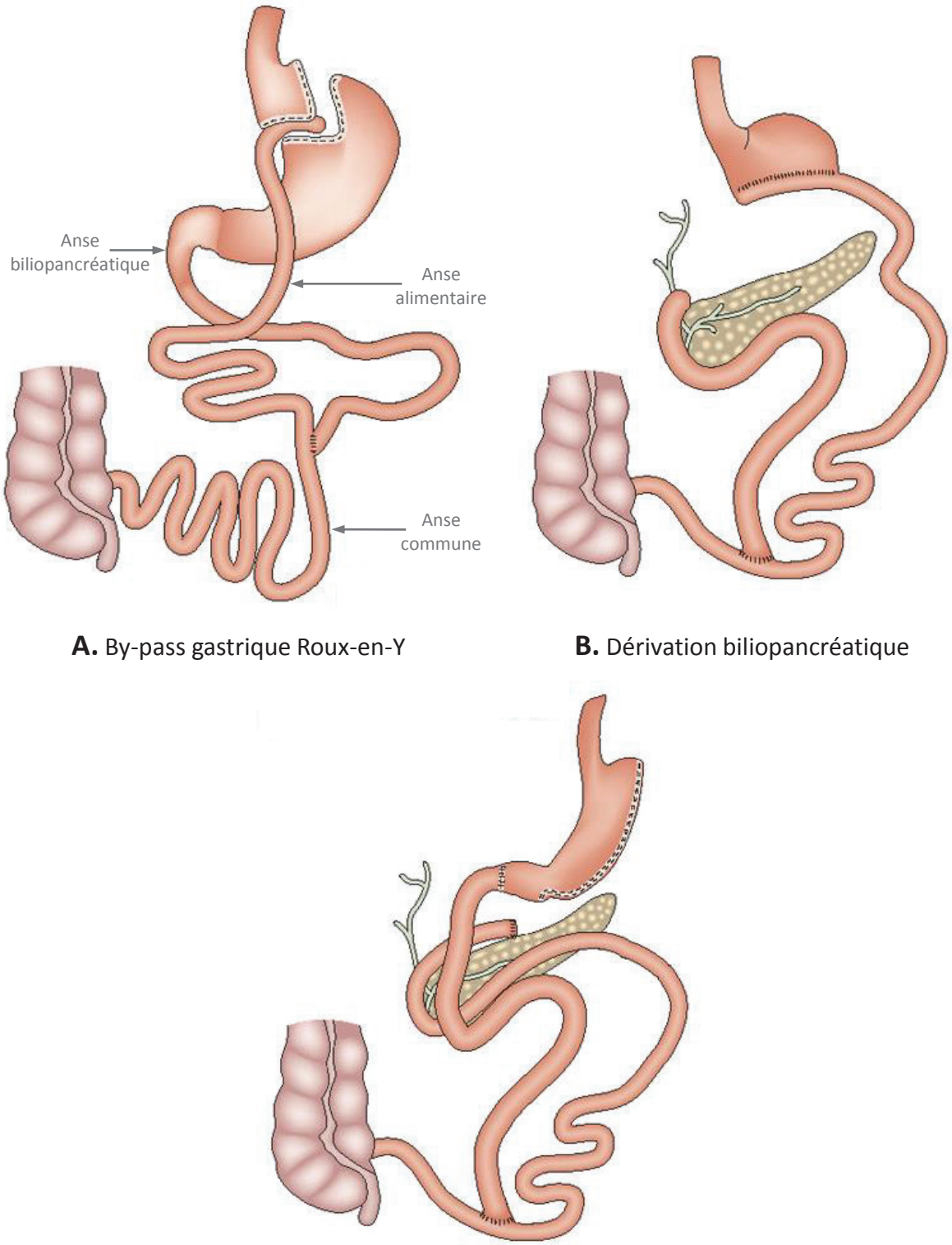
Le by-pass jéjuno-iléal (Figure 3A), décrit par Payne et DeWind en 1969 (Payne and DeWind, 1969) a été l'une des premières chirurgies de l'obésité très pratiquées dans les années 1960-1970. A cette époque, le by-pass jéjuno-iléal était la chirurgie la plus efficace pour induire et maintenir une forte perte de poids. Cette opération consistait à couper l'intestin environ 35 cm après le début du jéjunum puis à relier cet intestin proximal à l'iléon (environ 10 cm avant le côlon). Ainsi, la plus grande partie de l'intestin était exclue du trajet des aliments, ce qui créait une forte malabsorption. Cependant, en raison de ses multiples complications à

court et long terme (diarrhées, déséquilibre électrolytique, carences nutritionnelles importantes, insuffisances rénale et hépatique…) cette chirurgie a été quasiment abandonnée dans les années 1980. La plupart des patients ont dû subir une réversion de leur opération ou une conversion en une autre chirurgie bariatrique (Singh et al., 2009).

ii. By-pass duodéno-jéjunal

Il s'agit d'une procédure chirurgicale assez récente décrite pour la première fois par Rubino et Marescaux chez le rat (Rubino and Marescaux, 2004). Les auteurs ont montré que cette chirurgie entraînait des effets bénéfiques sur l'homéostasie glucidique indépendamment de toute perte de poids. Chez l'homme, cette chirurgie consiste d'abord à couper le début de l'intestin (coupures 2-3 cm après le pylore ainsi que 70-80 cm après le début du jéjunum) afin d'exclure cet intestin proximal du trajet des aliments. L'intestin distal est ensuite relié au pylore ce qui fait que les aliments ne s'écoulent que dans cette partie de l'intestin appelée anse alimentaire. Concernant l'intestin exclu, appelé anse biliopancréatique, son côté proximal est fermé grâce à des sutures et son côté distal est anastomosé sur l'anse alimentaire, environ 100 cm après la jonction gastro-jéjunale, afin de permettre aux sécrétions biliopancréatiques de se déverser dans l'intestin. La partie de l'intestin située après la jonction de ces 2 anses intestinales est appelée anse commune (Figure 3B). L'une des variantes de ce modèle, appelée parfois by-pass gastro-jéjunal, consiste à ligaturer le pylore plutôt que de le couper puis à inciser l'estomac pour y raccorder l'intestin distal (Figure 3C). Le by-pass duodéno-jéjunual est en fait un modèle simplifié de by-pass gastrique Roux-en-Y qui est une technique chirurgicale de référence décrite plus en détails dans le paragraphe II.1.c.*i*. En effet, le by-pass duodéno-jéjunual reproduit le réarrangement de l'intestin effectué lors du by-pass gastrique, sans modification de la taille de l'estomac.

Le by-pass duodéno-jéjunal est actuellement utilisé chez des patients diabétiques de type II non-obèses (IMC < 30 kg/m²) car Rubino et Marescaux ont montré que cette technique permettait d'améliorer l'homéostasie glucidique sans entraîner de perte de poids chez le rat diabétique non-obèse (Rubino and Marescaux, 2004). Chez l'homme, les premiers résultats du by-pass duodéno-jéjunal chez des patients avec un IMC compris entre 22 et 34 kg/m² ont été rapportés en 2007 (Cohen et al., 2007). D'autres études sur des patients de poids normal ou en surpoids ont suivi (Geloneze et al., 2012; Heo et al., 2013; Lee et al., 2010; Paik et al., 2012; Ramos et al., 2009) et montrent des résultats encourageants concernant l'utilisation



A. By-pass gastrique Roux-en-Y

B. Dérivation biliopancréatique

C. Dérivation biliopancréatique avec
« switch » duodénal

Figure 4 : Principales chirurgies mixtes

(D'après Rubino *et al.*, 2010)

de cette chirurgie pour le contrôle de l'homéostasie glucidique chez les patients diabétiques de type II non-obèses morbides. De plus, le by-pass duodéno-jéjunal présente l'avantage de pouvoir être combiné à une sleeve gastrectomie si il est réalisé chez des personnes obèses, afin d'augmenter la perte de poids (Figure 3D). Cependant, nous n'avons aujourd'hui pas assez de recul sur cette chirurgie et d'autres études chez l'homme sont nécessaires afin de déterminer les bénéfices à long terme du by-pass duodéno-jéjunal. Depuis quelques années, les études chez les rats minces ou obèses se sont multipliées et ont confirmé que le by-pass duodéno-jéjunal induit des effets antidiabétiques indépendants de la perte de poids (Hu et al., 2013; Jurowich et al., 2013; Liu et al., 2012; Patel et al., 2014; Speck et al., 2011; Sun et al., 2013). Quatre publications ont également reproduits les effets bénéfiques du by-pass duodéno-jéjunal chez des souris minces (Lan et al., 2010; Liu et al., 2008; Woods et al., 2011; Yan et al., 2013) et une démontre que cette technique chirurgicale est capable d'induire une forte perte de poids chez les souris obèses (Lan et al., 2010). Ces études chez l'animal sont essentielles et pourront mener à une meilleure compréhension des mécanismes impliqués dans les effets bénéfiques du by-pass duodéno-jéjunal.

c. Chirurgies mixtes

Les techniques de chirurgie bariatrique dites « mixtes » combinent une restriction du volume gastrique qui limite le volume d'ingestion des aliments et une modification de l'anatomie de l'intestin qui induit une malabsorption plus ou moins importante des nutriments (Figure 4).

i. Le by-pass gastrique avec anse Y de Roux

Le by-pass gastrique Roux-en-Y (BPG) est l'une des techniques de choix de la chirurgie bariatrique et également l'une des plus efficace en terme de rapport risques / bénéfices pour la santé (Dixon et al., 2012). Cette chirurgie est la plus effectuée au monde puisqu'elle représente quasiment la moitié (46,6%) des chirurgies de l'obésité réalisées dans le monde en 2011 (Buchwald and Oien, 2013). Le principe fondateur de cette technique fut décrit par Mason et Ito en 1967 (Mason and Ito, 1967) puis la technique fut améliorée par la suite. Le BPG présenté sur la Figure 4A comprend la création d'une petite poche gastrique de 15 à 30 mL par coupure de l'estomac juste après la jonction gastro-œsophagienne. Puis l'intestin est coupé environ 50-75 cm après le début du jéjunum (après l'angle de Treitz) et l'intestin distal est raccordé à la petite poche gastrique. L'intestin proximal est raccordé au jéjunum environ

100-150 cm après la jonction gastro-jéjunale, afin de permettre aux sécrétions gastriques de l'estomac exclu et aux sécrétions biliaires et pancréatiques de s'écouler dans le tractus gastro-intestinal. Ce montage chirurgical de l'intestin en forme de Y aboutit à la formation de 3 anses intestinales :

- l'anse alimentaire (ou anse de Roux) qui voit passer les aliments mais pas les sucs digestifs d'origine biliaire ou pancréatique ;
- l'anse biliopancréatique dans laquelle s'écoulent les sécrétions gastriques (de l'estomac exclu) et biliopancréatiques, et qui correspond au segment court-circuité car elle n'est pas en contact avec les aliments ;
- l'anse commune qui débute à la jonction de l'anse alimentaire avec l'anse biliopancréatique et dans laquelle les aliments vont entrer en contact avec les sécrétions gastriques et biliopancréatiques.

En raison de ce montage chirurgical complexe, le by-pass gastrique est une technique plus compliquée à mettre en œuvre par rapport aux techniques de chirurgie purement restrictives ou malabsorptives. Elle entraîne des complications précoces telles que fistules, occlusions ou hémorragies. Le principal effet secondaire du BPG est le « dumping syndrome » : l'irruption brutale et rapide d'aliments sucrés dans l'intestin grêle provoque nausées, crampes, sueurs, palpitations et diarrhée survenant quelques minutes après ce type de repas. La suppression de repas sucrés peut diminuer fortement ces symptômes. Après cette chirurgie, les patients présentent des carences nutritionnelles, principalement vitaminiques, qui imposent souvent la prise de compléments alimentaires pendant de nombreuses années ou à vie. La mortalité péri-opératoire liée au BPG reste élevée (de l'ordre de 0,5%). Cependant, les complications à court et à long terme de cette chirurgie sont de mieux en mieux anticipées et prises en charge puisque cette technique est pratiquée depuis de nombreuses années (Griffith et al., 2012). De plus, le BPG est l'une des chirurgies qui induit les meilleures améliorations des comorbidités, en particulier concernant la rémission du diabète de type II (Buchwald et al., 2009).

ii. Les dérivations biliopancréatiques

La première dérivation biliopancréatique a été décrite en 1979 par Scopinaro (Scopinaro et al., 1979). La dérivation biliopancréatique vise une malabsorption sélective des graisses en

raccourcissant la longueur d'intestin où la bile et les sécrétions pancréatiques agissent. Cette opération consiste tout d'abord à créer une poche gastrique d'environ 200 à 500 ml par gastrectomie horizontale. Sur cette poche gastrique, les derniers 250 cm de l'intestin grêle sont anastomosés tandis que l'intestin proximal exclu, qui constitue l'anse biliopancréatique, est relié au tractus digestif environ 50 cm avant la fin de l'intestin grêle (Figure 4B). Comme pour le by-pass gastrique Roux-en-Y, l'intestin est donc organisé en forme de Y mais les longueurs des anses sont différentes : l'anse alimentaire mesure environ 2 m, l'anse commune seulement 50 cm et l'anse biliopancréatique mesure plusieurs mètres. La portion intestinale dans laquelle les aliments sont mixés avec les sécrétions digestives (anse commune) est donc considérablement diminuée par rapport à celle du BPG, ce qui entraîne une importante malabsorption. Les complications post-opératoires associées à cette chirurgie sont identiques à celles du BPG mais plus fréquentes (fistules, occlusions, hémorragies). Cette chirurgie provoque des dumpings syndromes comme le BPG mais, en raison de la forte malabsorption qu'elle engendre, la dérivation de Scopinaro entraîne des carences plus importantes que le BPG ainsi que des selles très abondantes et diarrhéiques.

Afin d'atténuer les effets secondaires de la dérivation de Scopinaro, la dérivation biliopancréatique avec « switch » duodénal a été développée dans les années 1990 (Figure 4C). Cette procédure inclue une sleeve gastrectomie qui permet la conservation de la portion basse de l'estomac avec le pylore ce qui diminue les risques de dumping syndrome. Le duodénum est sectionné environ 2 cm après le pylore et une anastomose est effectuée avec les derniers 250 cm de l'intestin grêle. L'anse biliopancréatique est connectée cette fois-ci 100 cm avant la fin de l'intestin grêle ce qui augmente la longueur de l'anse commune et donc la longueur d'absorption des nutriments (Hess and Hess, 1998; Marceau et al., 1998). Malgré ces modifications, cette procédure reste essentiellement une procédure malabsorptive.

Les dérivations biliopancréatiques sont les chirurgies de l'obésité les plus efficaces concernant la perte de poids et la résolution des comorbidités. Cependant, en raison de leurs effets secondaires importants, qui nécessitent un contrôle rigoureux des patients durant toute leur vie, et de la forte mortalité qu'elles entraînent (≥ 1%), ces chirurgies sont essentiellement réservées aux patients « super-obèses » (IMC > 50 kg/m²). La dérivation biliopancréatique avec « switch » duodénal étant mieux tolérée sur le long terme, c'est elle

	Anneau gastrique	Sleeve gastrectomie	By-pass gastrique Roux-en-Y	Dérivations biliopancréatiques
Perte de l'excès de poids ¤	46 %	63 %	60 %	70 %
Rémission du diabète de type II	57 %	68 %	80 %	95 %
Rémission de l'hypertension	43 %	78 %	67 %	83 %
Rémission de l'apnée du sommeil	95 %	96 %	80 %	92 %
Amélioration de l'hyperlipidémie	59 %	83 %	97 %	99 %
Complications post-opératoires	+	+	++	++++
Mortalité opératoire (< 30 jours après l'opération)	0,1 %	0,3 %	0,5 %	1,1 %

Tableau 2 : Effets des principales chirurgies de l'obésité

Adapté des revues et méta-analyses de Buchwald *et al.*, 2004 ; Buchwald *et al.*, 2009 ; Yip *et al.*, 2013 ; Al Khalifa *et al.*, 2013 et Dey *et al.*, 2013.

¤ l'excès de poids correspond à la différence en kg entre le poids avant la chirurgie et le poids « idéal » qui correspond à un indice de masse corporelle de 25

qui est principalement utilisée aujourd'hui et elle compte pour environ 2% des chirurgies de l'obésité réalisées dans le monde.

2. Efficacité des différentes chirurgies de l'obésité

Les effets des principales chirurgies bariatriques, à savoir l'anneau gastrique ajustable, la sleeve gastrectomie, le by-pass gastrique Roux-en-Y (BPG) et les dérivations biliopancréatiques, sur la perte de poids, la mortalité et les principales comorbidités de l'obésité sont résumés dans le Tableau 2.

a. Sur la perte de poids

Ces 4 chirurgies entraînent une forte perte de poids sur le long terme qui est largement supérieure à celle obtenue par les traitements non chirurgicaux (Gloy et al., 2013; Sjöström, 2013). Cependant il existe une gradation de la perte de poids en fonction de la chirurgie : les dérivations biliopancréatiques sont les chirurgies qui mènent à la plus forte perte de poids (70% de l'excès de poids), suivies par le by-pass gastrique et la sleeve gastrectomie (60% et 63% respectivement) puis par l'anneau gastrique (46%) (Buchwald et al., 2009; Yip et al., 2013).

b. Sur la rémission du diabète de type II

Toutes ces techniques de chirurgie bariatrique conduisent également à une très forte amélioration voire une rémission des comorbidités liées à l'obésité. Ainsi, une rémission du diabète de type II à long terme est observée chez plus de la moitié des patients, quelle que soit la technique utilisée. Il faut rappeler que cet effet est d'autant plus remarquable qu'aucun traitement classique de l'obésité (prises en charge hygiéno-diététique et pharmacologique) ne mène à une rémission du diabète. Cette rémission est plus importante après les dérivations biliopancréatiques (95%) par rapport au by-pass gastrique (80%), qui a lui-même un effet supérieur par rapport à la sleeve gastrectomie (68%) et à l'anneau gastrique (57%) (Buchwald et al., 2004, 2009; Yip et al., 2013).

La perte de poids est connue pour être un facteur majeur dans l'amélioration de la résistance à l'insuline. Il a donc tout d'abord été supposé que les améliorations de l'homéostasie glucidique après chirurgie bariatrique étaient directement corrélées à

l'importance de la perte de poids. Cependant, les chirurgies comprenant un by-pass intestinal, comme les dérivations biliopancréatiques mais surtout le BPG qui a été plus largement étudié, ont rapidement démontré qu'elles induisaient des effets bénéfiques sur le métabolisme glucidique indépendamment de la perte de poids. En effet, le BPG améliore l'homéostasie glucidique très rapidement, dans la première semaine après la chirurgie et donc avant toute perte de poids significative (Pories et al., 1995; Wickremesekera et al., 2005). Ainsi, une étude a montré qu'après un BPG 30% des patients initialement diabétiques quittaient l'hôpital, en moyenne 2,8 jours après l'opération, avec une glycémie normale et plus aucun traitement pharmacologique (Schauer et al., 2003). A l'inverse, la rémission du diabète de type II est directement corrélée à l'importance de la perte de poids dans le cas des chirurgies purement restrictives comme l'anneau gastrique et la gastroplastie verticale calibrée (Korner et al., 2006; Stefater et al., 2012). Les effets antidiabétiques du BPG peuvent même entraîner chez les patients des épisodes d'hypoglycémies sévères. En effet, certains patients, en moyenne 2 à 4 ans après un BPG, présentent une hyper-sécrétion d'insuline ce qui provoque des hypoglycémies sévères et nécessite parfois de pratiquer des pancréatectomies partielles (Clancy et al., 2006; Patti et al., 2005; Service et al., 2005).

Il faut toutefois prendre en compte que le BPG, comme les autres techniques de chirurgie bariatrique, ne mène pas toujours à une amélioration ou une rémission du diabète de type II. Des études ont en effet démontré que certains paramètres sont associés à l'échec de la résolution du DT2 après BPG tels que : un diabète de type II diagnostiqué depuis plus de 10 ans, une faible perte de poids après opération, un diabète plus sévère *i.e.* associé à une insulino-thérapie avant l'opération, et un âge plus avancé (Chikunguwo et al., 2010; Schauer et al., 2003). De plus, même si la chirurgie bariatrique mène rapidement à une rémission du diabète de type II, cette rémission n'est pas forcément définitive et des rechutes peuvent survenir même des années après l'opération (Sjöström et al., 2004). Il n'en demeure pas moins que la chirurgie bariatrique est, de nos jours, le traitement le plus efficace du diabète de type II.

c. Sur les autres comorbidités associées à l'obésité

Les autres comorbidités liées à l'obésité sont également améliorées après chirurgie bariatrique. La chirurgie bariatrique entraîne un fort taux de rémission de l'hypertension

chez les patients ainsi qu'une importante amélioration de l'hyperlipidémie qui va diminuer les risques de développer des maladies cardiovasculaires (Buchwald et al., 2004; Al Khalifa et al., 2013) (Tableau 2). Exception faite de la sleeve gastrectomie, ces améliorations semblent être liées au type de chirurgie avec de plus fortes améliorations associées aux chirurgies principalement malabsorptives, puis aux chirurgies mixtes et enfin aux chirurgies restrictives. De plus, les syndromes d'apnée du sommeil sont aussi fortement améliorés après chirurgie. La plupart de ces comorbidités sont améliorées ou résolues en proportion de la perte de poids induite par ces chirurgies.

d. Sur la mortalité opératoire

La mortalité liée aux chirurgies de l'obésité est corrélée aux difficultés de réalisation de chaque procédure chirurgicale et aux complications post-opératoires de ces procédures. Ainsi, les dérivations biliopancréatiques sont associées à un fort taux de mortalité opératoire de l'ordre de 1,1%, le BPG entraîne 0,5% de mortalité, tandis que la sleeve gastrectomie et l'anneau gastriques ont les plus faibles taux de mortalité (0,3% et 0,1% respectivement) (Buchwald et al., 2004; Parikh et al., 2013).

e. Efficacité singulière de la sleeve gastrectomie

La sleeve gastrectomie semble être une chirurgie à part. En effet, bien qu'étant une chirurgie purement restrictive, elle semble avoir des effets bénéfiques supérieurs par rapport aux autres chirurgies restrictives (anneau gastrique ou gastrectomie verticale calibrée) et ces effets semblent être comparables à ceux du by-pass gastrique Roux-en-Y (Tableau 2). La sleeve gastrectomie induit une importante perte de poids (Yip et al., 2013), une forte rémission de l'hypertension (Dey et al., 2013) et du diabète de type II (Abbatini et al., 2010; Yip et al., 2013) ainsi que des effets bénéfiques sur le métabolisme glucidique indépendants de la perte de poids, comme après un BPG (Rizzello et al., 2010). Gan *et al.* (Gan et al., 2007) ont toutefois montré que l'arrêt des traitements antidiabétiques survenait plus rapidement après BPG qu'après sleeve gastrectomie. Il est actuellement difficile de donner une conclusion définitive sur les conséquences métaboliques de la sleeve gastrectomie car, bien qu'étant très prometteuse, c'est une chirurgie assez récente et nous ne disposons pas de données sur ses effets à long terme, contrairement au by-pass gastrique.

Ce travail de thèse s'inscrivant dans la meilleure compréhension des mécanismes par lesquels le by-pass gastrique induit ses effets bénéfiques, nous allons maintenant nous intéresser plus particulièrement à cette chirurgie.

III. Effets bénéfiques du by-pass gastrique Roux-en-Y

Comme il a été largement décrit précédemment, le BPG entraîne des améliorations drastiques à la fois sur la perte de poids et l'amélioration voire la rémission des comorbidités liées à l'obésité. Chez les patients diabétiques de type II, les améliorations de l'homéostasie glucidique après BPG sont supérieures à celles observées après une perte de poids équivalente induite par un régime hypocalorique (Laferrère et al., 2008; Plum et al., 2011). De nombreuses études ont également montré que les effets antidiabétiques de la chirurgie bariatrique sont plus prononcés et surviennent plus rapidement après BPG qu'après anneau gastrique (Korner et al., 2007; le Roux et al., 2006) ou gastroplastie verticale calibrée (Kellum et al., 1990) malgré une perte de poids équivalente au moment de la mesure. Le BPG induit donc des effets antidiabétiques qui lui sont propres et qui vont bien au-delà de ceux provoqués par une simple perte de poids. Ce sont ces effets indépendants de la perte de poids combinés à la forte perte pondérale qu'il occasionne qui font du BPG l'une des techniques de choix de la chirurgie bariatrique. Cependant, cette chirurgie est également associée à un taux de mortalité opératoire de 0,5% et à de nombreuses complications post-opératoires plus ou moins importantes. De plus, certains patients ne répondent pas à ce traitement chirurgical et à long terme une reprise de poids ainsi qu'une réapparition de certaines comorbidités sont possibles. C'est pourquoi la meilleure compréhension des mécanismes sous-jacents du BPG est l'un des enjeux majeurs de notre époque. Le décryptage de ces mécanismes pourra alors mener à la mise au point de traitements ciblés, moins invasifs et plus sûrs de l'obésité et du diabète de type II, qui sont deux graves problèmes de santé publique.

De nombreuses hypothèses ont été émises pour expliquer les effets bénéfiques du BPG. En plus des études chez l'homme, de nombreux modèles animaux de chirurgie bariatrique (dont

le BPG) ont été mis au point afin de confirmer ou d'invalider ces hypothèses. Les améliorations de l'homéostasie glucidique indépendantes de la perte de poids ont été retrouvées dans les modèles animaux de by-pass intestinal (Chambers et al., 2011; Liou et al., 2013; Meirelles et al., 2009; Rubino and Marescaux, 2004; Troy et al., 2008). Cependant, aucun mécanisme clair n'a encore été mis à jour et les données de la littérature suggèrent plutôt que les effets bénéfiques et spécifiques du BPG découlent d'une action synergique de plusieurs mécanismes. Les prochains paragraphes vont exposer les principaux effets bénéfiques du BPG (sur la prise alimentaire, la perte de poids, l'amélioration/la rémission de diabète de type II et l'amélioration des autres comorbidités liées à l'obésité) ainsi que les principales hypothèses émises pour expliquer ces effets bénéfiques.

1. Effets sur la prise alimentaire

Après BPG, les patients diminuent de façon importante leurs apports caloriques quotidiens et cette diminution est encore visible des années après la chirurgie (Coughlin et al., 1983; Sjöström et al., 2004). Les patients rapportent également une moindre sensation de faim et éprouvent plus rapidement une sensation de satiété lors d'un repas (le Roux et al., 2006; Schultes et al., 2010). Ces effets étaient ceux recherchés par la limitation importante du volume gastrique mais les études montrent aujourd'hui clairement que la limitation du volume gastrique n'est pas le seul mécanisme impliqué, ni le principal. De plus, des effets inattendus sur la modification des préférences alimentaires ont été rapportés après BPG. Les mécanismes sous-jacents de ces effets bénéfiques du BPG sur la prise alimentaire ne sont pas tous caractérisés et plusieurs explications ont été envisagées.

a. Modifications des sécrétions hormonales

i. Hormones gastrointestinales

L'une des hypothèses avancées pour expliquer les effets du BPG sur la diminution de la prise calorique est une modification de la sécrétion des hormones gastrointestinales modulant la prise alimentaire.

Les cellules endocrines du tractus gastrointestinal produisent différents peptides orexigènes (induisant la prise alimentaire) et anorexigènes (inhibant la prise alimentaire) en réponse au contenu nutritif du tube digestif. Ces peptides contrôlent la prise alimentaire par voie

humorale ou nerveuse (via l'activation des afférences vagales). La ghréline, hormone orexigène capable de stimuler la prise alimentaire et d'augmenter l'appétit, est sécrétée principalement par les cellules endocrines du fundus de l'estomac et du duodénum. La concentration circulante de ghréline est augmentée au cours du jeûne et décroît après un repas (Janssen et al., 2011; Kamegai et al., 2000). Le peptide YY (PYY) et le GLP-1 sont sécrétés par les cellules L de l'intestin distal (iléon et surtout côlon) en réponse aux nutriments (Côté et al., 2014). Récemment, la stimulation de la sécrétion de PYY et de GLP-1 par les acides biliaires a également été mise en évidence (Ullmer et al., 2013).

Le BPG induit une modification du taux plasmatique de ces hormones. Il a été suggéré que la réorganisation du trajet des aliments dans le tractus gastro-intestinal après la chirurgie pourrait être à l'origine de ces modifications.

La ghréline est sécrétée principalement par les cellules endocrines du fundus de l'estomac et du duodénum, c'est-à-dire les parties du tractus digestif qui sont exclues du trajet des aliments après BPG. Les souris déficientes pour le gène de la ghréline sont résistantes à l'obésité induite par un régime hypercalorique et ont également une préférence alimentaire modifiée par rapport aux souris sauvages, préférant la graisse comme source d'énergie (Cummings, 2006). C'est pourquoi de nombreuses études se sont intéressées à l'implication de la ghréline dans les effets bénéfiques du BPG mais leurs résultats sont contradictoires. En effet, selon les études, le taux circulant de ghréline après BPG est diminué, augmenté ou inchangé (Tymitz et al., 2011). Ces résultats contradictoires peuvent être expliqués en partie par les différences dans la façon de mesurer le taux de ghréline et également par les différents temps post-opératoires auxquels cette hormone a été mesurée. De plus, la sleeve gastrectomie qui a des effets similaires au BPG induit les mêmes effets bénéfiques chez les souris déficientes pour la ghréline et chez la souris sauvage (Chambers et al., 2013). Toutes ces données ne permettent pas de conclure clairement sur le rôle de la ghréline après BPG mais tendent à prouver qu'elle n'a pas un rôle causal dans la diminution des sensations de faim et de la prise calorique après BPG.

Le GLP-1 ralentit la vidange gastrique et agit aussi sur l'hypothalamus et le cerveau pour diminuer la prise alimentaire. La grande majorité des études montre que la sécrétion postprandiale de GLP-1 est augmentée après BPG dans les jours qui suivent la chirurgie et

que cette augmentation perdure pendant au moins 10 ans (Dar et al., 2012; Dirksen et al., 2013). Cette hypersécrétion postprandiale de GLP-1 n'est pas retrouvée après des chirurgies purement restrictives (Korner et al., 2007; Rodieux et al., 2008) ou après une restriction alimentaire entraînant une perte de poids équivalente à celle du BPG (Laferrère et al., 2008). L'augmentation de la sécrétion du GLP-1 après un repas est donc spécifique du BPG et ne dépend pas de la perte de poids. L'arrivée plus rapide des nutriments et la plus forte concentration en acides biliaires dans l'iléon après BPG pourraient être à l'origine de l'augmentation de la sécrétion de GLP-1. Cependant, même si la sécrétion de GLP-1 semble jouer un rôle dans les effets bénéfiques du BPG, elle ne semble pas être l'une des causes principales de ces améliorations. En effet, une étude sur un modèle de BPG simplifié chez la souris a démontré que l'induction de la sécrétion de GLP-1 n'est pas responsable de la diminution de la prise alimentaire ni de la perte de poids, mais serait associée à une amélioration de la sécrétion d'insuline en réponse au glucose (Troy et al., 2008). Par ailleurs, le BPG a les mêmes effets sur la prise alimentaire chez les souris invalidées pour le récepteur au GLP-1 et chez les souris sauvages (Ye et al., 2014). Une autre publication montre aussi que les effets du BPG sont conservés chez des souris invalidées pour le récepteur au GLP-1 et chez des souris incapables de sécréter du GLP-1 en réponse au glucose (souris déficientes pour la sous-unité alpha-de la gustducine, une protéine impliquée dans la détection du goût sucré et amer, exprimée dans les cellules gustatives mais également dans les cellules L libérant le GLP-1) (Mokadem et al., 2014).

Le PYY réduit la faim et promeut la satiété en agissant sur l'hypothalamus mais aussi en retardant la vidange gastrique et en inhibant les sécrétions acides de l'estomac. Comme pour le GLP-1, la sécrétion postprandiale de PYY est augmentée après BPG mais pas après la pose d'un anneau gastrique ou une restriction calorique (Evans et al., 2012; Korner et al., 2006). L'arrivée plus rapide des nutriments dans l'iléon après BPG pourrait donc être également responsable de l'induction de la sécrétion de PYY. L'augmentation de la sécrétion de PYY est détectée dès la première semaine suivant la chirurgie et augmente avec le temps (Borg et al., 2006). Cette hypersécrétion de PYY est corrélée à la perte de poids et inversement corrélée à la reprise de poids (Dirksen et al., 2013; Meguid et al., 2008). Chez la souris, la perte de poids à court terme (10 jours) est diminuée chez les souris invalidées pour le gène du PYY par rapport aux souris sauvages après un BPG simplifié (Chandarana et al.,

2011). Cependant, cette étude ne présente pas l'effet du BPG sur la prise alimentaire et ne permet donc pas de conclure si l'effet bénéfique du PYY sur la perte de poids dépend de son effet anorexigène.

ii. Leptine

La leptine est une hormone sécrétée par les adipocytes. Ses principales actions sont de diminuer la prise alimentaire et d'augmenter la dépense énergétique. Chez les personnes obèses, le taux de leptine est élevé et pourtant cela ne mène pas à une diminution de la prise alimentaire ou à une augmentation des dépenses énergétique car les personnes obèses deviennent résistantes à cette hormone (Zhou and Rui, 2013). Le BPG induit une forte diminution de la concentration de leptine circulante et une augmentation de la sensibilité à la leptine. Cependant, ces améliorations semblent concomitantes à la perte de poids et ne seraient donc pas causales dans les effets bénéfiques rapides du BPG sur le métabolisme énergétique (Ballantyne et al., 2005; Korner et al., 2006).

b. Modifications hypothalamiques

Une modification de la signalisation hypothalamique a également été proposée pour expliquer les effets du BPG sur la modulation de la prise calorique. L'hypothalamus, et plus particulièrement le noyau arqué, est en effet un acteur majeur dans le contrôle de la prise alimentaire. Deux populations neuronales majeures du noyau arqué sont impliquées dans la régulation de la prise alimentaire (Simpson et al., 2009) :

- La première population neuronale contient les neurones cataboliques produisant la pro-opiomélanocortine (POMC). L'expression de POMC est augmentée après administration de leptine ou d'insuline. La forme active de POMC est le résultat de son clivage en plusieurs neuropeptides, parmi lesquels l'α-melanocyte stimulating hormone (ou α-MSH) qui exerce son effet anorexigène par sa liaison aux récepteurs MC4R (melanocortin receptor 4) ;
- La deuxième population neuronale co-exprime 2 neuropeptides anaboliques : le neuropeptide Y (NPY) et l'*Agouti-related peptide* (AgRP) qui induisent des effets orexigènes. Le NYY diminue la prise alimentaire en se fixant aux récepteurs Y1R, Y2R et Y5R, tout comme le PYY. L'AgRP, lui, induit une

diminution de la prise alimentaire via son action antagoniste du récepteur MC4R, qui s'oppose aux effets de l'α-MSH.

La modification de la signalisation hypothalamique en faveur de l'activation du récepteur MC4R constitue une hypothèse attrayante pour expliquer les effets rapides et importants du BPG sur la prise alimentaire. Les études chez l'homme ont établi que le BPG induit les mêmes effets chez les patients porteurs d'une mutation hétérozygote de MC4R et chez les patients non mutés (Aslan et al., 2011; Hatoum et al., 2012). Les résultats des études cliniques se retrouvent chez la souris : la présence d'un seul allèle sauvage de MC4R est suffisante pour conserver les effets bénéfiques du BPG (Hatoum et al., 2012). Par contre, les études réalisées chez la souris homozygote $MC4R^{-/-}$ concluent à un effet causal du récepteur MC4R dans les effets bénéfiques du BPG sur la perte de poids (Hatoum et al., 2012) et sur l'homéostasie glucidique (Zechner et al., 2013). Toutefois, les conclusions de ces études sont discutables. En effet, l'étude de Hatoum *et al.* montre que la perte de poids induite par le BPG dépend du fonds génétique : effective chez les souris $MC4R^{-/-}$ sur fonds génétique C57Bl/6, mais absente chez les souris $MC4R^{-/-}$ sur fonds génétique SV-129. De plus, l'alimentation n'est pas la même chez les souris obèses témoins, nourries avec un régime hypercalorique, et les souris $MC4R^{-/-}$, qui sont hyperphagiques et obèses sous régime standard et donc maintenues en régime standard. Ces études donnent également très peu, voire aucune indication sur la prise alimentaire des souris. Une autre étude a été menée chez des rats soumis à une perfusion intra-cérébro-ventriculaire d'un antagoniste des récepteurs MC3R et MC4R pendant 14 jours environ 4 mois après avoir subi un BPG ou une simple laparotomie (groupe témoin). La perfusion de l'antagoniste MC4R mène à une forte augmentation de la prise alimentaire quotidienne et également à une très forte augmentation du poids chez les rats BPG mais ces augmentations sont encore plus importantes chez les rats témoins. Les auteurs concluent donc que la signalisation centrale du système mélanocortinergique n'est pas essentielle dans les effets du BPG sur la prise alimentaire (Mumphrey et al., 2014). D'autres études sont nécessaires pour pouvoir conclure sur le rôle exact du récepteur MC4R dans les améliorations énergétiques après BPG.

c. Modifications des préférences alimentaires

La modification des préférences alimentaires après la chirurgie est un des effets étonnants du BPG qui pourrait expliquer la diminution des apports caloriques quotidiens. En effet, les patients montrent un désintérêt pour les aliments gras et sucrés après BPG (Miras and le Roux, 2010; Thomas and Marcus, 2008), ce qui n'est pas le cas après une procédure purement restrictive (Ernst et al., 2009; Olbers et al., 2006). Ces données suggèrent donc que la modification des préférences alimentaires après BPG ne dépend pas de la restriction du volume gastrique. La modification des préférences alimentaires ne semble pas non plus être la conséquence de la restriction calorique imposée par les recommandations diététiques après l'opération puisque ces recommandations sont sensiblement les mêmes après toutes les chirurgies bariatriques. Ces modifications des préférences alimentaires ont été retrouvées dans des modèles murins de BPG (le Roux et al., 2011; Shin et al., 2011; Zheng et al., 2009), ce qui confirme que les recommandations diététiques post-opératoires ne sont pas causales et suggèrent qu'elles proviennent de modifications physiologiques et pas uniquement psychologiques.

L'altération des choix alimentaires après BPG pourrait dépendre de phénomènes d'intolérance vis-à-vis de certains aliments. Le dumping syndrome est l'inconfort digestif le plus rapporté après BPG et se manifeste par des douleurs abdominales, des nausées, des palpitations ainsi que des diarrhées provoquées par l'irruption brutale et rapide d'aliments sucrés dans l'intestin grêle. Toutefois, l'importance du dumping syndrome diminue avec le temps (Suter et al., 2007) alors que la modification des préférences alimentaires perdure après BPG. Au contraire, après anneau gastrique, les intolérances alimentaires sont faibles juste après la chirurgie et se développent avec le temps sans pour autant entraîner d'altération dans le choix des aliments (Suter et al., 2007). Ces données suggèrent que la modification des préférences alimentaires après BPG n'est pas due à des intolérances alimentaires.

Cependant, une modification de la détection du goût semble participer à l'altération des préférences alimentaires après BPG. En effet, des études chez l'homme et chez les rongeurs ont mis en évidence une augmentation de l'acuité au goût sucré après BPG (Bueter et al., 2011; Burge et al., 1995; Tichansky et al., 2011). Il est probable que cette sensibilité accrue

au goût sucré participe à la diminution de la consommation d'aliments riches en sucres après BPG. D'un point de vue mécanistique, le GLP-1 a été proposé comme médiateur de ces changements de l'acuité au goût car les récepteurs au GLP-1 sont exprimés sur les fibres nerveuse des papilles gustatives et que la sécrétion postprandiale de GLP-1 est augmentée après BPG (Dar et al., 2012; Dirksen et al., 2013). Cependant, les résultats des études réalisées sur les rongeurs réfutent cette hypothèse. Tout d'abord, Mathes *et al.* (Mathes et al., 2012) montrent que la modulation pharmacologique du récepteur au GLP-1 chez le rat n'entraîne pas de modification de la réponse au goût sucré après BPG. De plus, une étude réalisée sur les souris invalidées pour le récepteur du GLP-1 démontre que ces souris, comme les souris sauvages, présentent une diminution de leur préférence pour la nourriture hypercalorique après BPG (Ye et al., 2014). La modification de l'acuité au goût sucré semble donc être impliquée dans la modification des préférences alimentaires après BPG par un mécanisme indépendant du GLP-1.

Le système de récompense semble également jouer un rôle dans les préférences alimentaires après BPG. En particulier, 2 composantes essentielles du système de récompense lié à la consommation d'aliments sont touchées : la composante hédonique, *i.e.* le plaisir de manger, et la composante motivationnelle, *i.e.* le désir de manger. Deux études chez l'homme ont rapporté que les patients obèses présentent une augmentation de leur composante hédonique liée à l'alimentation et que le BPG inverse ce phénomène (Schultes et al., 2010) et que les patients pensent moins à la nourriture après BPG (Delin et al., 1997). Ces résultats ont été confirmés chez les rats qui présentent une diminution du plaisir associé à la prise d'une solution fortement sucrée après BPG (Shin et al., 2011; Tichansky et al., 2011). La composante motivationnelle liée à la prise de nourriture sucrée et grasse est également diminuée après BPG (Miras et al., 2012).

Enfin, notre laboratoire a récemment démontré que chez le rat les changements de préférences alimentaires après chirurgie bariatrique dépendent du changement de biodisponibilité de la bile (Goncalves et al., 2014, en révision ; cf. annexe). Nous avons en effet réalisé des dérivations biliaires chez le rat en insérant l'extrémité d'un cathéter directement dans le canal cholédoque et son autre extrémité dans l'intestin (au milieu du jéjunum ou au milieu de l'iléon). Ces chirurgies, lorsqu'elles sont réalisées chez les rats obèses nourris avec un régime riche en graisse et en sucre, entraînent une diminution

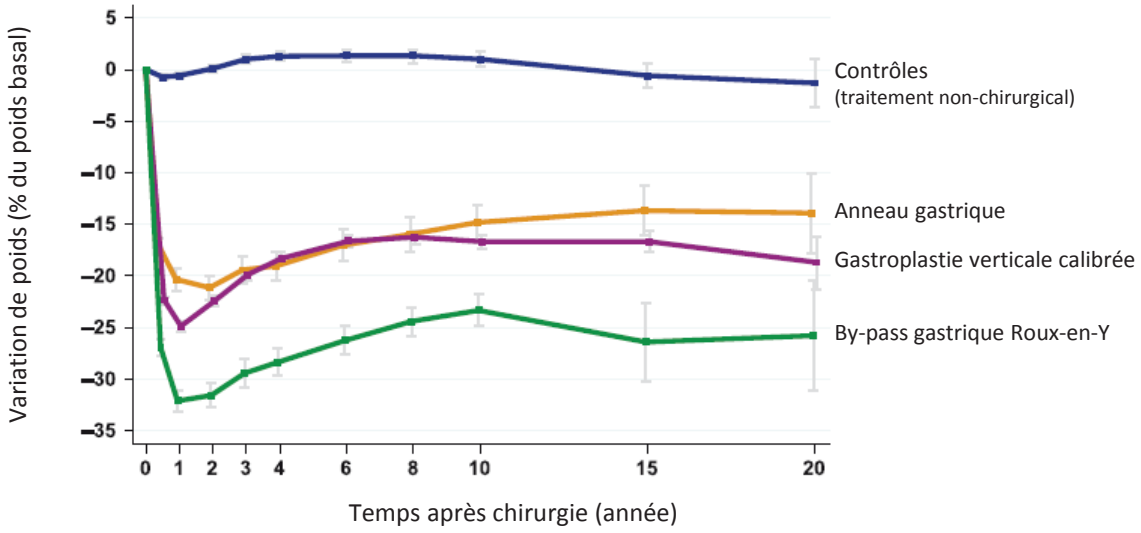


Figure 5 : Evolution du poids après chirurgies bariatriques

Ce graphique est issu de l'étude SOS (Swedish Obese Subjects) qui compare 2010 patients ayant subi une chirurgie bariatrique (68% gastroplastie verticale calibrée, 19% anneau gastrique et 13% by-pass gastrique Roux-en-Y) à 2037 patients obèses sous prise en charge médicale standard.

(D'après Sjöström *et al.*, 2012)

drastique et prolongée de la prise alimentaire. Face à un choix entre une nourriture standard ou une nourriture hypercalorique proposé 11 jours après la chirurgie, les rats dérivés mangent uniquement de la nourriture standard, contrairement aux rats témoins qui mangent préférentiellement le régime hypercalorique (qui compte pour 60% de la prise alimentaire). Les dérivations biliaires réalisées chez des rats minces sous régime standard entraînent seulement une diminution transitoire de la prise alimentaire. Mais face à un choix entre une nourriture standard ou une nourriture hypercalorique, les rats dérivés continuent à se nourrir avec le régime standard, alors que 70-80% de la prise calorique des rats témoins est alors issue de la nourriture hypercalorique. Cette étude démontre clairement que le changement du trajet de la bile dans les chirurgies telles que le BPG est causal dans la modification des préférences alimentaires. Cependant, les mécanismes moléculaires sous-jacents restent encore à déterminer.

Nous sommes encore loin d'avoir compris tous les processus par lesquels le BPG induit une modification des préférences alimentaires. Il semble effectivement que divers mécanismes complémentaires soient nécessaires pour induire cet effet. Quoi qu'il en soit, la modification des choix alimentaires après BPG en faveur d'une prise de nourriture peu calorique peut contribuer en grande partie à la diminution de l'apport calorique que l'on observe chez les patients après ce type de chirurgie.

2. Effets sur le poids

Le BPG est l'une des chirurgies de l'obésité les plus efficaces pour l'induction et le maintien d'une forte perte de poids à long terme. Ainsi le BPG entraîne une perte de plus de 60% de l'excès pondéral (Buchwald et al., 2009). Les résultats de Sjöstrom *et al.* (Sjöström, 2013) montrent que la plus forte perte de pois après BPG est observée 1 à 2 ans après la chirurgie avec une perte de poids maximum de 32 ± 8% (Figure 5). Le poids des patients opérés augmente dans les années suivantes jusqu'à se stabiliser 8-10 ans après la chirurgie (perte de poids d'environ 25%). Cette forte perte de poids semble être maintenue 15 et 20 ans après BPG mais ces résultats restent à confirmer car le nombre de patients examinés 15 et 20 ans après la chirurgie est faible. Les résultats de cette étude montrent également l'effet supérieur du BPG sur la perte de poids par rapport aux chirurgies purement restrictives (anneau gastrique et gastroplastie verticale calibrée).

a. Contribution de la malabsorption

Le BPG a été développé dans le but de créer une malabsorption des aliments (moins importante toutefois qu'après dérivations biliopancréatiques) en plus de restreindre la quantité d'aliments ingérés. Cependant, les patients ne présentent pas de signes cliniques (stéatorrhée ou malnutrition) ce qui suggère que la malabsorption n'est pas très importante après BPG. Une étude chez l'homme a montré que la malabsorption réduisait l'absorption des nutriments de 6% cinq mois après BPG et de 11% après 14 mois (Odstrcil et al., 2010). Cette malabsorption qui semble toucher principalement les lipides est observée également après BPG chez le rongeur (Nestoridi et al., 2012; Shin et al., 2012; Stylopoulos et al., 2009; Zechner et al., 2013). Toutes les études s'accordent à dire que la malabsorption ne joue qu'un rôle mineur dans la perte de poids après BPG. Cette faible malabsorption pourrait être expliquée par l'hypertrophie de l'intestin. En effet, des études chez le rat ont démontré qu'après BPG les anses intestinales dans lesquels circulent les aliments (anses alimentaire et commune) étaient hypertrophiées (Bueter et al., 2010; Mumphrey et al., 2013; le Roux et al., 2010). Cet effet pourrait être une réponse adaptative pour contrecarrer la diminution de la longueur d'absorption du grêle et ainsi optimiser la digestion et l'absorption des nutriments après BPG.

b. Contribution de la diminution de la prise calorique

L'un des principaux facteurs pouvant expliquer la perte de poids drastique et très rapide après BPG est l'importante diminution de la prise calorique observée après cette chirurgie et détaillée dans la section précédente III.1. Cependant cette diminution de l'apport calorique n'est pas suffisante à elle seule pour expliquer toute la perte de poids ni le maintien de cette perte de poids après BPG. En effet, il est d'abord très difficile d'obtenir une perte de poids si importante simplement grâce à une diminution des apports caloriques chez les patients obèses. De plus, lorsque la perte de poids est induite seulement par une modification du style de vie (diminution des apports caloriques et augmentation de l'activité physique), elle est souvent suivie d'une reprise de poids. Environ 30-35% du poids perdu de cette façon est regagné 1 an après le début du traitement et à peu près la moitié des patients retrouvent leur poids initial 5 an après (Sarwer et al., 2009). Cette difficile perte de poids et cette reprise de poids observées lors de régime hypocalorique sont le résultat de mécanismes

compensatoires mis en place par l'organisme afin de maintenir un poids stable, le principal mécanisme étant une modification de la dépense énergétique (Blomain et al., 2013).

c. Contribution de la dépense énergétique

La dépense énergétique est l'une des 2 composantes de la balance énergétique. La dépense énergétique totale comprend 3 composantes : la dépense énergétique de repos qui représente 60-75% de la dépense énergétique totale, l'effet thermique des aliments (ou thermogénèse postprandiale) et la dépense énergétique liée à l'activité physique. La dépense énergétique varie de façon proportionnelle au poids et à la masse grasse. Ainsi les personnes obèses présentent une augmentation de leur dépense énergétique totale associée également à une augmentation de leurs apports énergétiques. En cas de perte de poids induite par un régime hypocalorique, la dépense énergétique diminue et s'oppose donc à la perte de poids et semble également être impliquée dans les phénomènes de reprise de poids après régime (Blomain et al., 2013).

Contrairement aux régimes hypocaloriques, le BPG induit une perte de poids très importante et surtout durable ce qui suggère que la dépense énergétique est modifiée après cette chirurgie. Les études chez les rongeurs montrent que la dépense énergétique totale est augmentée après BPG par rapport à des animaux de même poids (Bueter et al., 2010; Hao et al., 2013; Nestoridi et al., 2012; Stylopoulos et al., 2009). Plus précisément, la plupart des études chez les rongeurs montrent qu'après BPG la diminution de la dépense énergétique est moins importante que celle qui devrait avoir lieu compte tenu de la forte perte de poids. Il est toutefois plus facile de réaliser ces études chez les rongeurs, chez lesquels on peut contrôler la composition de la nourriture ainsi que la prise alimentaire et chez lesquels on peut aussi étudier en parallèle des animaux en restriction alimentaire qui ont perdu le même poids que les animaux BPG. Chez l'homme par contre, la difficulté de contrôler tous ces facteurs est l'une des raisons pour lesquelles les études de la dépense énergétique totale donnent des résultats divergents, concluant souvent à une diminution de la dépense énergétique après BPG (Thivel et al., 2013). Toutefois, les études chez l'homme et chez l'animal semblent toutes deux s'accorder sur le fait que la thermogénèse postprandiale est augmentée après BPG (Bueter et al., 2010; Faria et al., 2012; Werling et al., 2013).

d. Contribution du microbiote intestinal

De nombreuses études suggèrent que le microbiote intestinal pourrait participer à la régulation du métabolisme énergétique de l'hôte (Delzenne et al., 2011; Tremaroli and Bäckhed, 2012). D'ailleurs, l'obésité est souvent associée à un changement de la composition de la flore intestinale qui va favoriser les bactéries qui augmentent l'extraction et le stockage d'énergie à partir des nutriments (Million et al., 2013). Un argument en faveur du rôle du microbiote intestinal sur la régulation du poids est que les souris axéniques (dépourvues de micro-organismes) colonisées avec un microbiote de souris obèse ont une prise de poids doublée par rapport à des souris colonisées avec un microbiote de donneur mince (Turnbaugh et al., 2006).

Après BPG, la composition du microbiote intestinal est fortement modifiée (Furet et al., 2010; Li et al., 2011; Zhang et al., 2009) et plusieurs facteurs peuvent être impliqués dans cette modification (le changement d'alimentation, les manipulations anatomiques du tractus gastro-intestinal, le changement de biodisponibilité de la bile, l'utilisation d'antibiotiques…). Le rôle potentiellement causal de ce changement de flore intestinale dans les effets bénéfiques induits pas le BPG, notamment dans la perte de poids, a été étudié chez la souris (Liou et al., 2013). Cette étude montre tout d'abord que la composition de la flore intestinale est fortement modifiée chez les souris BPG mais pas chez les souris soumises à une restriction calorique et qui présentent la même perte de poids que les souris BPG. Ceci montre donc que chez la souris le changement du microbiote intestinal après BPG n'est pas dépendant de la perte de poids mais est un effet spécifique de cette chirurgie. Les auteurs ont également montré que lorsqu'on transfère la flore intestinale d'une souris BPG à une souris axénique, cette souris va perdre du poids ce qui tendrait à prouver le rôle causal du microbiote dans la perte de poids après BPG. Cependant, il faut noter que les souris ne sont étudiées que 2 semaines après recolonisation et que la perte de poids observée n'est que de 5%, ce qui doit représenter moins de 2 g de différence. C'est pourquoi malgré les résultats encourageants de cette étude sur l'implication du microbiote intestinal dans les effets bénéfiques du BPG, d'autres études semblent nécessaires pour confirmer cette hypothèse.

3. Effets sur l'amélioration et la prévention du diabète de type 2

Le BPG entraîne la rémission du diabète de type II dans plus de 80% des cas et une amélioration de cette maladie chez la plupart des patients (Buchwald et al., 2009). Le BPG semble également prévenir la survenue du diabète de type II puisque chez les patients non diabétiques, la chirurgie bariatrique réduit l'incidence du diabète de 8 fois à 2 ans et de 3,5 fois 10 ans après l'intervention par rapport à une prise en charge non chirurgicale (Sjöström et al., 2004). Comme discuté précédemment (§ II.2.b), le BPG induit très rapidement (< 1 semaine) des effets antidiabétiques qui sont indépendants de la perte de poids (Thaler and Cummings, 2009). Cet effet n'est pas retrouvé lors des chirurgies restrictives, comme l'anneau gastrique ou la gastroplastie verticale calibrée, ce qui suggère un effet du réarrangement anatomique de l'intestin dans cet effet antidiabétique précoce et puissant.

Puisque le diabète de type II résulte d'une résistance à l'insuline associée à une altération progressive de la sécrétion d'insuline, il est logique de penser que les effets rapides du BPG sont dus à une diminution de l'insulinorésistance et/ou une augmentation de l'insulinosécrétion. L'étude de Wickremesekera montre que la résistance à l'insuline est significativement améliorée dès le 6ème jour post-opératoire après BPG et maintenue à long terme (Wickremesekera et al., 2005). Cet effet est retrouvé chez la souris (Troy et al, 2008). Le BPG mène aussi à une restauration rapide de la sécrétion postprandiale d'insuline (Laferrère et al., 2007). Il est également possible que le BPG induise une augmentation de la masse des cellules bêta-pancréatiques. Cette théorie est supporté par le fait que dans certains cas le BPG provoque des hypoglycémies hyperinsulinémiques nécessitant parfois le recours à des pancréatectomies partielles (*cf.* § II.2.b).

De nombreux mécanismes potentiels ont été impliqués dans l'effet antidiabétique du BPG. Cependant, il est clair qu'aucun de ces mécanismes à lui seul ne peut expliquer les effets bénéfiques de cette chirurgie sur l'homéostasie glucidique. En réalité, c'est probablement la combinaison de plusieurs de ces mécanismes, ainsi que probablement d'autres encore inconnus, qui va conduire à la rémission du diabète de type II. La compréhension de ces mécanismes est donc un enjeu majeur pour le traitement du diabète de type II.

a. Contribution de la diminution de l'apport calorique et de la diminution du poids

Au cours des premières semaines post-chirurgicales, l'apport calorique est drastiquement réduit après BPG (≈ 500 kcal/jour), ce qui pourrait contribuer aux effets bénéfiques précoces du BPG. Cependant, cette réduction de l'apport calorique est la même chez les patients avec un anneau gastrique, or les effets sur le métabolisme glucidique sont plus importants après BPG (Korner et al., 2006). De plus, les restrictions caloriques sévères sont plutôt connues pour aggraver les situations d'intolérance au glucose (Fery et al., 1990).

La perte de poids est connue pour améliorer la résistance à l'insuline et joue donc un rôle très important dans l'amélioration du diabète de type II après une chirurgie bariatrique. Toutefois, ce paramètre ne peut pas expliquer les effets précoces du BPG sur l'amélioration de l'équilibre glycémique puisque ces effets ont lieu avant toute perte de poids significative (Wickremesekera et al., 2005). Il est également important de noter que le by-pass duodéno-jéjunal, une chirurgie proche du BPG qui n'implique qu'un réarrangement de l'intestin sans restriction gastrique, est capable d'améliorer l'homéostasie glucidique indépendamment de toute perte de poids (Geloneze et al., 2012; Heo et al., 2013).

La diminution des apports caloriques, qu'ils soient imposés après la chirurgie ou inhérents au BPG (*cf.* § III.1), ainsi que la forte perte de poids après BPG sont 2 mécanismes très importants dans l'amélioration et la rémission à long terme du diabète de type II. Mais il semblerait que les effets bénéfiques précoces du BPG sur l'homéostasie glucidique soient indépendants de ces 2 facteurs.

b. Contribution des hormones gastro-intestinales

Une des hypothèses avancées pour expliquer les effets rapides du BPG sur l'équilibre glycémique est une modification de la sécrétion de GLP-1. Comme nous l'avons décrit précédemment (*cf.* § III.a), le GLP-1 est une hormone sécrétée en réponse à un repas par les cellules L de l'iléon et du côlon. En plus de ses effets sur la diminution de la prise alimentaire, cette hormone a une action incrétine, *i.e.* elle stimule la sécrétion d'insuline en réponse au glucose, elle inhibe la sécrétion de glucagon et elle pourrait augmenter la masse des cellules bêta-pancréatiques (dans des modèles murins) (Drucker, 2006). Or, la sécrétion

postprandiale de cette hormone est augmentée très rapidement après BPG mais pas après chirurgie restrictive (Dirksen et al., 2013; Korner et al., 2007; Rodieux et al., 2008). Le GLP-1 pourrait donc être responsable de la rapide amélioration de la sécrétion d'insuline après BPG ainsi que d'une augmentation de la masse des cellules bêta. L'un des arguments supportant cette hypothèse a été apporté grâce à une technique chirurgicale spéciale : l'interposition iléale. Cette technique implique la coupure d'une petite partie de l'iléon (qui exprime fortement les cellules L) qui est insérée au niveau du duodénum juste en aval des sécrétions biliopancréatiques. Cette chirurgie améliore rapidement le contrôle glycémique avec ou sans modification du poids via une augmentation de la sécrétion de GLP-1 (DePaula et al., 2009; Strader et al., 2005; Wang et al., 2008). Cependant, comme nous l'avons déjà dit précédemment (cf. § III.1.a), le BPG a les mêmes effets chez les souris sauvages et chez les souris déficientes pour le récepteur au GLP-1 (GLP-1R$^{-/-}$) (Mokadem et al., 2014; Ye et al., 2014). De plus, les améliorations du métabolisme glucidique sont similaires chez les souris non-opérées GLP-1R$^{-/-}$ dont l'alimentation a été restreinte pour qu'elles aient la même perte de poids qu'après BPG (Mokadem et al., 2014). Ces derniers arguments tendraient donc à invalider le rôle potentiel du GLP-1 dans les effets antidiabétiques précoces du BPG. Cependant, il faut prendre en compte que chez la souris obèse le BPG entraîne une rapide et importante perte de poids (≈ -30-35% en 1 ou 2 semaines) qui rend difficile la distinction entre les mécanismes dépendants et/ou indépendants de la perte de poids sur l'homéostasie glucidique.

c. Contribution des adipocytokines

Les adipocytokines sont des hormones sécrétées par le tissu adipeux, telles que la leptine et l'adiponectine, qui sont impliquées dans plusieurs processus physiologiques dont la sensibilité à l'insuline. Chez les personnes obèses, la sécrétion de leptine est augmentée (de façon concomitante à une installation de la résistance à la leptine) alors que la sécrétion d'adiponectine est diminuée (Cao, 2014). Le groupe des adipocytokines comprend également les cytokines pro-inflammatoires produites pas le tissu adipeux comme l'interleukine-6 (IL-6) et le tumor-necrosis factor α (TNF-α) qui altèrent la sensibilité à l'insuline (Cao, 2014). Le BPG modifie favorablement le profil de ces facteurs, ainsi les sécrétions de leptine, TNF-α et IL-6 sont diminuées tandis que la sécrétion de d'adiponectine est augmentée (Auguet et al., 2014; Manco et al., 2007). Mais cette modification du profil de

sécrétion des adipocytokines est également retrouvée après chirurgie restrictive et après une perte de poids induite par des mesures hygiéno-diététiques. Ceci suggère que les variations de sécrétions des adipocytokines sont directement liées à la perte de poids, ce qui conférerait aux adipocytokines un rôle sur la sensibilité à l'insuline sur le long terme, et non pas dans les effets rapides après BPG (Ballantyne et al., 2005; Marantos et al., 2011).

d. Contribution des acides biliaires

L'un des effets directs du réarrangement de l'intestin est la modification de la biodisponibilité de la bile dans l'intestin. Or, les acides biliaires ont un rôle dans la régulation du métabolisme lipidique mais également du métabolisme glucidique. Cette régulation de l'homéostasie glucidique pourrait dépendre de l'activation du récepteur nucléaire FXR (farnesoid X receptor) et du récepteur membranaire TGR5 (ou GPBAR-1 pour G protein-coupled bile acid receptor 1) par les acides biliaires (Prawitt et al., 2011). L'activation de ces récepteurs mènerait alors à une modulation des enzymes de la production endogène de glucose (*via* FXR) et à une augmentation de la sécrétion de GLP-1 (*via* TGR-5). Ces effets sont en adéquation avec le fait qu'après BPG les acides biliaires sont plus concentrés dans l'intestin distal où sont exprimées les cellules sécrétant le GLP-1 et qu'une concentration plus importante d'acides biliaires retourne au foie pour être recyclés. La modification du trajet de la bile après BPG mène également à une augmentation de la concentration plasmatique des acides biliaires qui semble avoir un rôle dans l'amélioration des paramètres glycémiques (Patti et al., 2009; Simonen et al., 2012). Des expériences chez le rat ont prouvé que le simple fait de dériver la bile (en insérant un cathéter dans le canal cholédoque) dans l'intestin distal permettait de reproduire l'augmentation de la concentration plasmatique des acides biliaires et les effets bénéfiques du BPG (Kohli et al., 2013 ; Goncalves et al., 2014, en révision). Cependant, les mécanismes responsables des effets bénéfiques de ce type de chirurgie restent à clarifier.

e. Contribution de la production intestinale de glucose

La production endogène de glucose est également impliquée dans la modulation de la sensibilité à l'insuline de l'organisme. Une augmentation de la production hépatique de glucose est suffisante pour induire le développement d'une insulinorésistance et d'autres caractéristiques du prédiabète (Clore et al., 2000; Magnusson et al., 1992). Au contraire, une

augmentation de la production de glucose par l'intestin induit des effets bénéfiques sur l'organisme tels que des phénomènes de satiété et une diminution de la production hépatique de glucose (Mithieux et al., 2005; De Vadder et al., 2014). Plusieurs études chez le rongeur ont montré que la production endogène de glucose était modifiée après chirurgie bariatrique en faveur d'une augmentation de la production intestinale de glucose (Kim et al., 2014; Paranjape et al., 2013; Sun et al., 2013; Troy et al., 2008). La contribution potentielle de la production intestinale de glucose aux effets bénéfiques du BPG sera discutée plus loin dans ce manuscrit (cf. § IV.4.c).

IV. La production endogène de glucose

La concentration plasmatique de glucose est finement régulée par l'organisme autour d'une valeur de 1 g/L (soit 5,56 mmol/L). Le glucose est une source carbonnée essentielle pour les cellules de l'organisme, permettant notamment le fonctionnement des hématies, du cerveau et des muscles à contraction rapide. L'équilibre glycémique est notamment le résultat d'une balance entre :

- la consommation de glucose par les organes et le stockage énergétique sous forme de glycogène (glycogénogenèse) et de triglycérides (lipogenèse) ;
- les apports alimentaires de glucose et la production endogène de glucose.

La production endogène de glucose (PEG) est une fonction cruciale pour l'organisme. Elle permet de maintenir la glycémie à un taux constant en période post-absorptive et durant le jeûne. Elle est assurée par deux voies : la glycogénolyse, qui correspond à l'hydrolyse du glycogène et qui prend place uniquement dans le foie, et la néoglucogenèse qui consiste à produire du glucose à partir de précurseurs non glucidiques. Cette dernière est mise en place dans les trois organes capables de produire du glucose dans l'organisme, c'est-à-dire le foie, les reins et l'intestin.

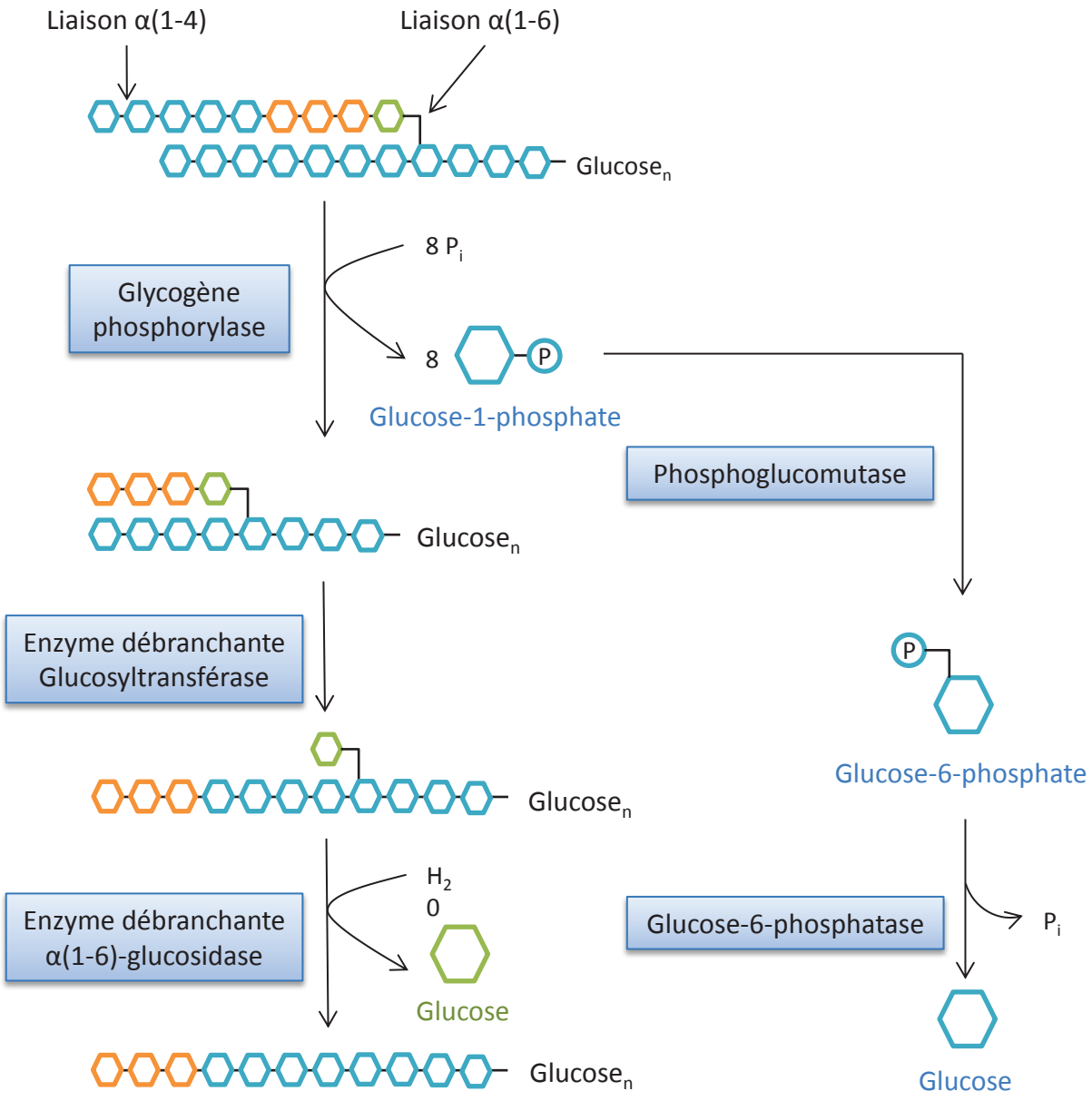


Figure 6 : La glycogénolyse

La glycogène phosphorylase permet la dégradation des chaînes linéaires de glycogène (en bleu) en glucose-1-phosphate. La phosphoglucomutase puis la glucose-6-phosphatase catalysent la transformation du glucose-1-phosphate en glucose. Les composantes glucosyltransférase et α(1-6)-glucosidase de l'enzyme débranchante permettent, respectivement, le transfère de 3 résidus glucose (en orange) sur la chaîne linéaire et l'hydrolyse du dernier résidu de glucose de la ramification (en vert).

1. Les voies métaboliques de la production de glucose

a. Glycogénolyse

La glycogénolyse permet la production de glucose à partir de glycogène, un polymère de glucose stocké principalement dans le foie et les muscles. Tandis que le muscle mobilise ses stocks de glycogène pour un apport énergétique *in situ*, le foie fournit le glucose nécessaire au fonctionnement de tout l'organisme. Le stock de glycogène hépatique est rapidement mobilisable en dehors des repas, mais s'épuise rapidement (12 heures de jeûne chez la souris, 24 heures chez l'homme).

Le glycogène est un polymère de molécules de glucose liées par des liaisons α1-4 et sur lequel se branchent, tous les 8 à 12 résidus, d'autres polymères de glucose via des liaisons α1-6. La dégradation du glycogène implique plusieurs enzymes (Figure 6) :

- Tout d'abord la glycogène phosphorylase qui coupe les liaisons α1-4 du glycogène et permet la libération de glucose-1-phosphate. Cette enzyme arrête de couper le glycogène lorsqu'il ne reste que 4 résidus glucose α1-4 sur la chaîne avant un branchement en α1-6. Cette structure résiduelle est appelée dextrine limite et résiste à l'action plus poussée de la phosphorylase.
- L'enzyme débranchante qui a 2 activités va ensuite prendre le relai. Son activité glucosyltransférase va lui permettre de transférer 3 résidus de la dextrine limite sur une autre chaîne du glycogène ce qui fait que ces résidus deviennent disponibles pour la glycogène phosphorylase. Puis l'activité α(1-6)-glucosidase de l'enzyme débranchante va permettre d'hydrolyser le dernier glucose de la dextrine limite relié par une liaison α1-6 et ainsi de libérer un glucose.
- Le glucose-1-phosphate libéré par la glycogène phosphorylase va être isomérisé en glucose-6-phosphate (G6P) par la phosphoglucomutase.
- Le G6P ainsi produit va être hydrolysé par la glucose-6-phosphatase (G6Pase) en phosphate inorganique (Pi) et glucose, qui va être libéré dans la circulation *via* le transporteur GLUT2 (glucose transporter 2).

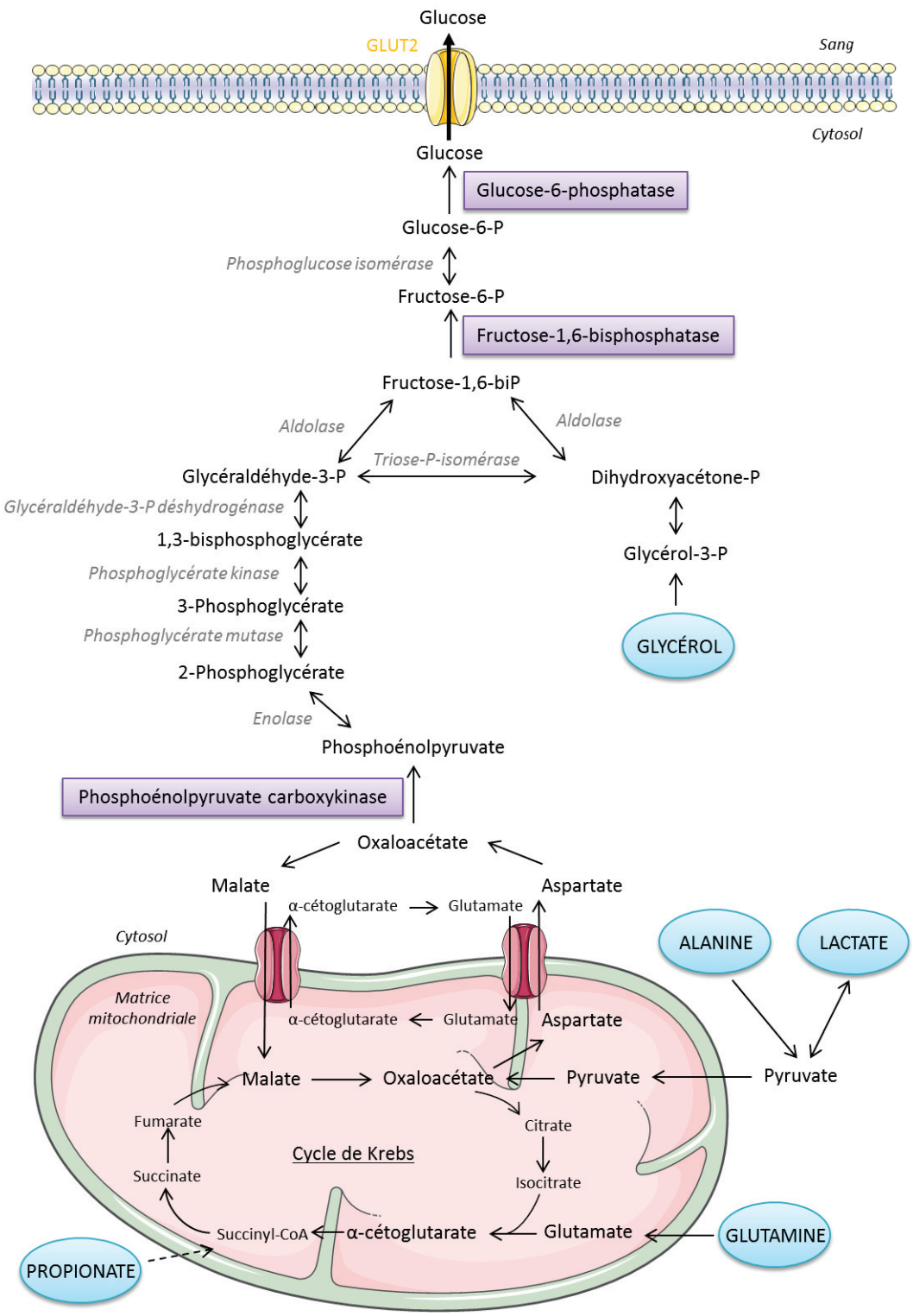


Figure 7 : La néoglucogenèse

Les enzymes spécifiques et les substrats de la néoglucogenèse sont encadrées respectivement en violet et en bleu. Les enzymes communes aux voies de la néoglucogenèse et de la glycolyse sont indiquées en gris italique.

P = phosphate

b. Néoglucogenèse

La néoglucogenèse permet la synthèse *de novo* de glucose à partir de précurseurs non glucidiques tels que (Figure 7):

- Le lactate et l'alanine via leur conversion en pyruvate par, respectivement, la lactate deshydrogénase et l'alanine aminotransférase. Le pyruvate est ensuite transformé en oxaloacétate par la pyruvate carboxylase. Ces substrats néoglucogéniques sont majoritairement utilisés par le foie ;
- Le glycérol issu de l'hydrolyse des triglycérides. Son entrée dans la voie de synthèse de glucose nécessite la présence de la glycérokinase, notamment exprimée dans le foie et l'intestin ;
- La glutamine via sa conversion en glutamate par la glutaminase dite « rénale ». Cette enzyme est également exprimée dans l'intestin, ce qui confère à ces deux organes une spécificité d'utilisation de la glutamine comme substrat néoglucogénique ;
- Les acides aminés glucoformateurs qui alimentent le cycle de Krebs et conduisent à la formation d'oxaloacétate ;
- Le propionate issu de la fermentation des fibres solubles par le microbiote intestinal. Le métabolisme du propionate fournit *in fine* du succinyl-coA susceptible d'entrer dans le cycle de Krebs. Connu pour être le principal substrat de la néoglucogenèse hépatique chez les ruminants, le propionate a récemment été décrit comme substrat de la néoglucogenèse intestinale (De Vadder et al., 2014).

La majorité des réactions de la néoglucogenèse est catalysée par les enzymes de la glycolyse. Néanmoins, trois réactions font intervenir des enzymes spécifiques de la production endogène de glucose :

- La phosphoénolpyruvate carboxykinase (PEPCK) qui convertit l'oxaloacétate en phosphoénolpyruvate ;
- La fructose-1,6-bisphosphatase qui transforme le fructose-1,6-bisphosphate en fructose-6-phosphate
- La glucose-6-phosphatase (G6Pase) qui hydrolyse le G6P en glucose et Pi.

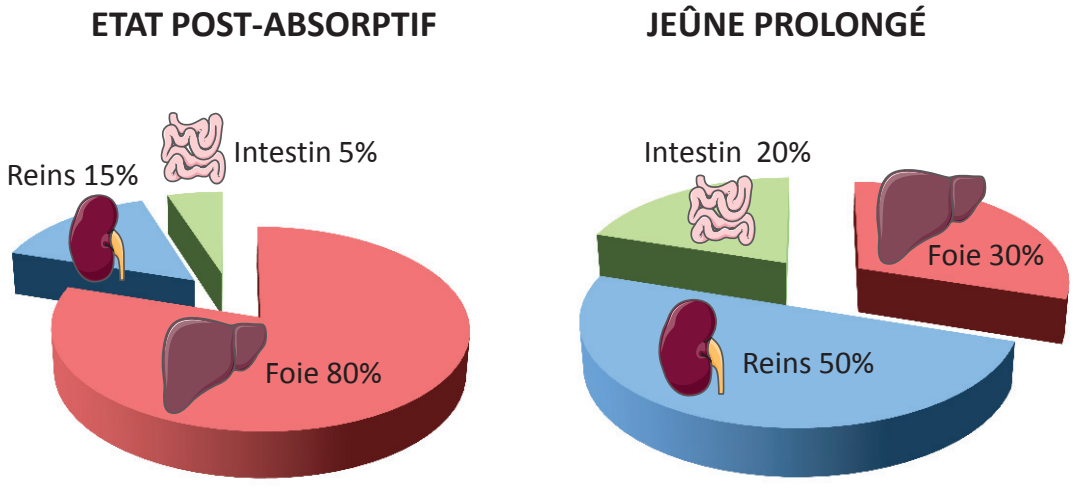


Figure 8 : Contribution relative des trois organes glucoformateurs à la production endogène de glucose.

Les données ont été obtenues chez le rat après 6h et 48h de jeûne.

Ces réactions sont irréversibles et constituent donc des points de régulation de la PEG. La PEPCK-c et la fructose-1,6-bisphosphatase sont exprimées dans de nombreux tissus, tandis que la G6Pase voit son expression restreinte aux trois tissus néoglucogéniques que sont le foie, les reins et l'intestin, ce qui leur confère leur capacité à produire du glucose (Rajas et al., 1999).

2. Les organes producteurs de glucose

Les trois organes producteurs de glucose (le foie, les reins et l'intestin) jouent des rôles complémentaires dans le maintien de la glycémie.

a. Le foie

Le foie a longtemps été considéré comme le seul organe capable de produire du glucose en dehors des repas. Lors d'un jeûne court, il assure un apport de glucose à l'organisme grâce à l'hydrolyse de ses stocks de glycogène. Si le jeûne se prolonge, la néoglucogenèse prend le relais et produit du glucose à partir du lactate et de l'alanine. Chez le rat, à l'état post-absorptif, la production hépatique de glucose (PHG) représente 80% de la production endogène de glucose (PEG). Au cours d'un jeûne de 48h, elle ne représente plus que 30%, le reste de la production étant assuré par les deux autres organes (Mithieux et al., 2006) (Figure 8).

b. Les reins

Les principaux substrats du rein sont la glutamine et le lactate. A l'état post-absorptif chez le rat, le rein produit environ 15 à 20% du glucose total, mais il devient presque majoritaire (45%) lors d'un jeûne supérieur à 24h (Mithieux et al., 2006) (Figure 8). La production rénale de glucose est également largement augmentée lorsqu'on soumet des rats à un régime riche en protéines. Dans ce cas, une redistribution de la PEG est observée avec une diminution de la production hépatique au profit des productions rénale et intestinale (Pillot et al., 2009).

c. L'intestin

Notre équipe a mis en évidence la présence de l'ARNm de la sous unité catalytique de la G6Pase dans l'intestin grêle du rat et de l'homme, montrant ainsi l'existence d'un nouvel

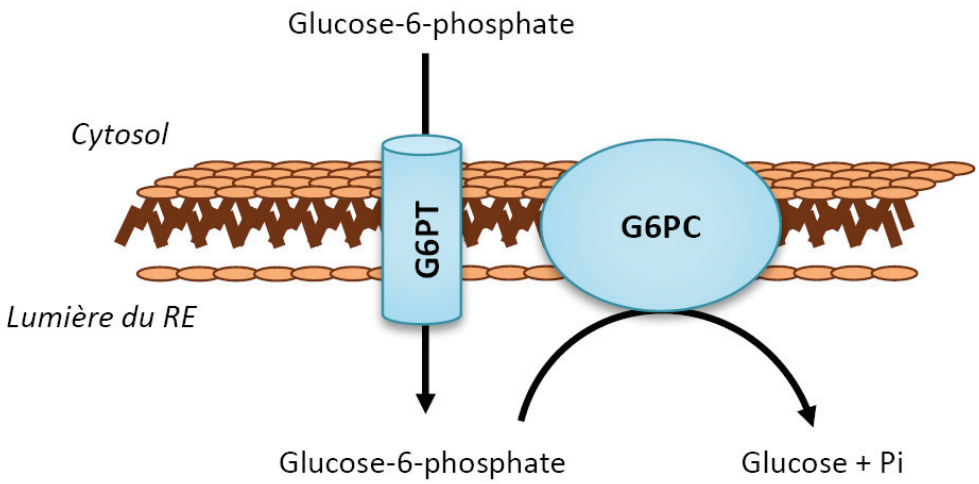


Figure 9 : Le complexe de la glucose-6-phosphatase

La G6Pase est composée de deux sous-unités. La G6PT transporte le glucose-6-phosphate dans la lumière du réticulum endoplasmique (RE) le rendant ainsi accessible au site catalytique de la G6PC qui transforme le glucose-6-phosphate en glucose et phosphate inorganique (Pi).

organe néoglucogénique (Rajas et al., 1999). En effet, l'intestin exprime la PEPCK et la G6Pase, localisées dans la partie supérieure des villosités intestinales (Rajas et al., 1999, 2000). La G6Pase est également localisée dans les cryptes, où le nouvel épithélium est formé (Rajas et al., 2007).

L'intestin génère du glucose à partir de la glutamine, du glycérol et du propionate (Croset et al., 2001; De Vadder et al., 2014). A l'état post-absorptif, la contribution de l'intestin à la PEG est très faible, de l'ordre de 5% (Mithieux et al., 2006) (Figure 8). Cependant, lors d'un jeûne, elle augmente considérablement et pourrait représenter 20% de la production totale à 48h de jeûne et même 35% de la PEG à 72h de jeûne (Croset et al., 2001; Mithieux et al., 2004). Comme la production rénale de glucose, la production intestinale de glucose est induite au cours des régimes riches en protéines chez le rat et représente alors environ 20% de la PEG (Mithieux et al., 2005). Nous avons également récemment démontré que la production intestinale de glucose était augmentée lors d'un régime riche en fibres (De Vadder et al., 2014).

3. La glucose-6-phosphatase

La G6Pase est l'enzyme clé de la production endogène de glucose car elle catalyse la dernière étape commune à la glycogénolyse et à la néoglucogenèse. Cette réaction enzymatique précède la libération du glucose dans la circulation sanguine et confère ainsi à la G6Pase une position stratégique dans la régulation de l'homéostasie glucidique.

La G6Pase est un complexe enzymatique situé dans la membrane du réticulum endoplasmique. Elle est constituée de deux sous-unités : une sous-unité transportant le glucose-6-phosphate du cytoplasme à la lumière du réticulum endoplasmique (G6PT) et une sous-unité catalytique (G6PC) qui transforme le G6P en glucose et phosphate inorganique (Figure 9). Alors que l'expression de la G6PT est ubiquitaire, celle de la G6PC est restreinte au foie, aux reins et à l'intestin. Dans l'intestin, la G6Pase est exprimée selon un gradient décroissant du duodénum à l'iléon (Rajas et al., 1999). Une étude par immunohistochimie de notre laboratoire a permis de préciser la localisation cellulaire de la G6Pase. Attestant d'une activité néoglucogénique dans ces tissus, la G6Pase est co-localisée avec la PEPCK dans les hépatocytes périportaux, les tubules proximaux du cortex rénal et le sommet des villosités

intestinales. D'une manière surprenante, la G6Pase est également localisée dans des tissus n'exprimant pas la PEPCK tels que les canaux biliaires intra-hépatiques, les cryptes des villosités intestinales, l'épithélium urinaire des tubules collecteurs et les calices rénaux (Rajas et al., 2007). Dans ces tissus, il a été récemment suggéré que la G6Pase pourrait être impliquée dans le transport de glucose et constituer une voie alternative d'absorption trans-épithéliale de glucose n'impliquant pas le transporteur GLUT2 (Stümpel et al., 2001).

4. Les effets différentiels de la production hépatique et de la production intestinale de glucose

Depuis de nombreuses années notre laboratoire s'intéresse au rôle spécifique de la production de glucose par chacun des organes néoglucogéniques dans le contrôle de l'homéostasie énergétique et glucidique. Nous avons ainsi pu mettre en évidence un nouveau concept selon lequel l'augmentation de la production hépatique de glucose aurait des effets « délétères » sur l'organisme (augmentation de la glycémie et insulinorésistance), alors qu'au contraire l'augmentation de la production intestinale de glucose aurait des effets bénéfiques.

a. Effets délétères de l'augmentation de la production hépatique de glucose

Des études ont démontré que les patients diabétiques de type II présentaient une augmentation de leur production hépatique (PHG) de glucose qui semble être responsable de leur hyperglycémie à jeun (Gerich, 1991; Magnusson et al., 1992). D'un point de vue moléculaire, cette augmentation de la PHG est corrélée à une augmentation de l'activité de la G6Pase hépatique (Clore et al., 2000). Des études chez des modèles murins ont permis de clarifier le rôle de la PHG dans le contrôle de l'homéostasie glucidique. En effet, une étude réalisée chez le rat a permis de mettre en évidence que la simple surexpression hépatique de la G6Pase était suffisante pour induire des altérations métaboliques comparables à celles observées lors d'un état pré-diabétique (Trinh et al., 1998). De plus, la surexpression hépatique du gène *Pepck* entraîne une augmentation de la production hépatique de glucose et conduit au développement d'une insulinorésistance chez la souris (Sun et al., 2002). A l'inverse, différentes études ont montré que la diminution de la PHG induisait des effets

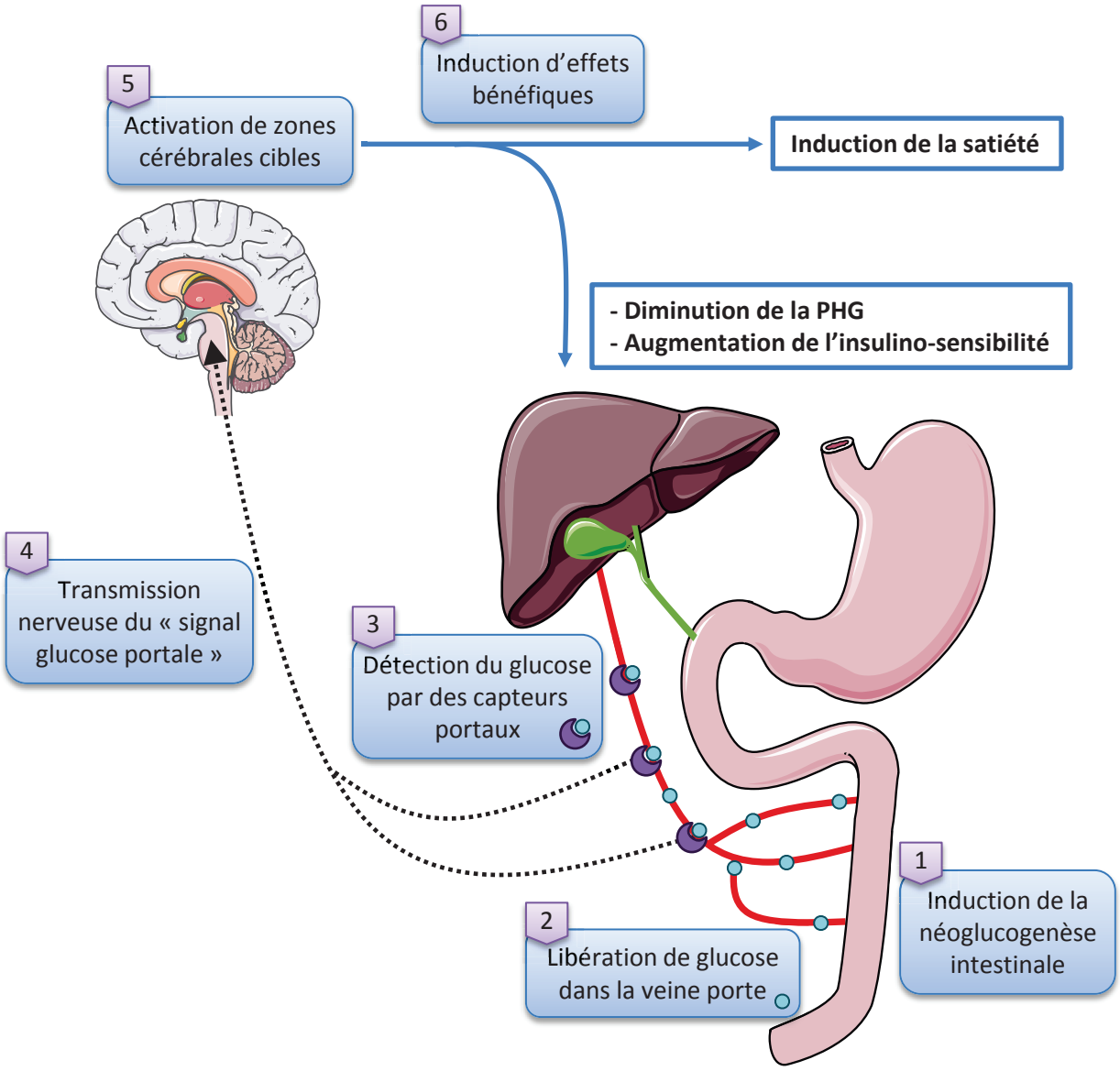


Figure 10 : Effets bénéfiques de l'augmentation de la néoglucogenèse intestinale

L'induction de la néoglucogenèse intestinale va induire la libération de glucose dans la veine porte. Ce glucose va être détecté par des capteurs portaux qui vont transmettre un signal nerveux (« signal glucose portal ») au cerveau et mener à l'activation de zones cérébrales cibles et ainsi induire des effets bénéfiques.

(D'après Delaere *et al.*, 2012, 2013 ; Pillot *et al.*, 2009 et De Vadder *et al.*, 2014)

bénéfiques sur l'homéostasie glucidique. Tout d'abord, Sloop *et al.* ont montré que l'inhibition de l'expression de la G6PT dans le foie *via* des oligonucléotides antisens entraînait une diminution de la glycémie proportionnelle à la diminution de l'activité de la G6Pase hépatique chez des souris génétiquement obèses et diabétiques (ob/ob) (Sloop et al., 2007). Ensuite, il a été démontré que l'inhibition de la PEPCK hépatique dans un modèle de souris obèse et diabétique (db/db) entraînait une diminution de la production hépatique de glucose et une amélioration des paramètres glucidiques (Gómez-Valadés et al., 2008). Enfin, notre laboratoire a récemment montré que les souris invalidées pour le gène *G6pc* spécifiquement dans le foie présentaient une augmentation de l'utilisation périphérique de glucose et de l'oxydation musculaire des lipides. Ces souris résistent ainsi au développement de l'obésité et du diabète sous régime hypercalorique (Abdul-Wahed et al., 2014). Ces données démontrent donc bien le rôle causal de l'augmentation de la production hépatique de glucose dans le développement de l'insulinorésistance et du diabète de type II.

b. Effets bénéfiques de l'augmentation de la production intestinale de glucose

Notre laboratoire a maintenant clairement établi que l'augmentation de la production intestinale de glucose (PIG) induisait des effets bénéfiques sur le métabolisme glucidique et énergétique. Le glucose est libéré par l'intestin dans la veine porte où il est détecté par des capteurs portaux qui vont transmettre l'information au cerveau *via* des afférences nerveuses. Ceci va aboutir non seulement à l'activation des aires cérébrales impliquées dans la satiété et la préférence alimentaire (Delaere et al., 2012, 2013) mais va aussi activer un arc réflexe central responsable d'une augmentation de la sensibilité périphérique à l'insuline et d'une diminution de la production hépatique de glucose (Pillot et al., 2009; De Vadder et al., 2014) (Figure 10). Au cours des 10 dernières années, notre laboratoire a démontré le rôle causal et bénéfique de l'augmentation de la PIG dans différentes situations.

i. Effets des régimes enrichis en protéines et rôle des récepteurs mu-opioïdes

Les régimes hyperprotéiques sont connus pour induire des effets bénéfiques tels que des phénomènes de satiété (Veldhorst et al., 2008; Weigle et al., 2005) ou des améliorations de l'homéostasie glucidique (Gannon et al., 2003; Nuttall et al., 1985). Nous avons démontré

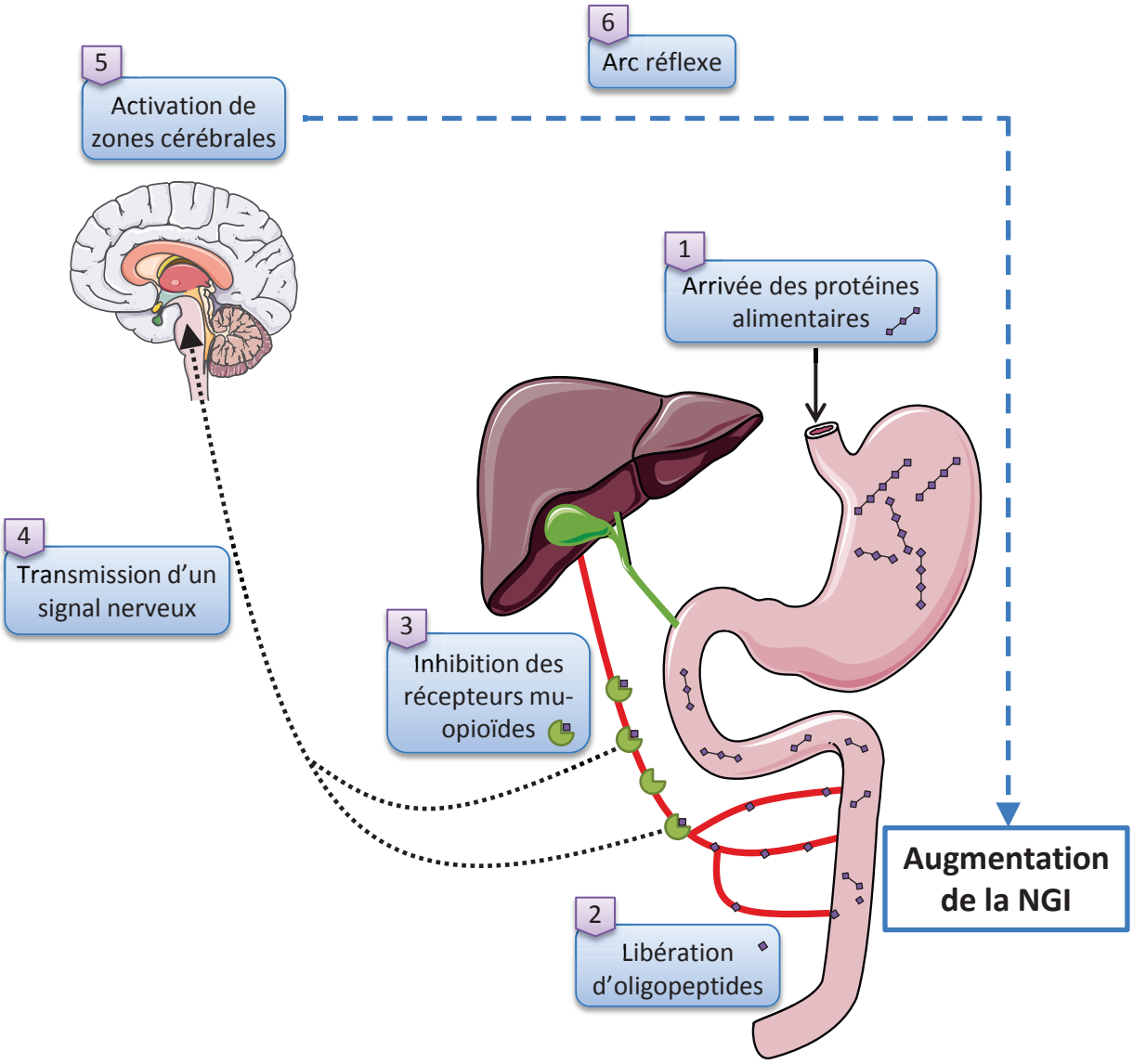


Figure 11 : mécanismes d'induction de la néoglucogenèse intestinale par les protéines alimentaires

Les protéines de l'alimentation sont digérées dans le tractus digestif ce qui permet la libération d'oligopeptides au niveau de la veine porte. Ces oligopeptides vont inhiber les récepteurs mu-opioïdes périportaux ce qui va induire un arc réflexe central aboutissant à l'induction de la néoglucogenèse intestinale (NGI).

(D'après Duraffourd *et al.*, 2012)

que les effets bénéfiques des protéines étaient dépendants d'une augmentation de la PIG. En effet, les régimes enrichis en protéines induisent chez le rat une diminution de la prise alimentaire reliée à une forte induction des gènes de la néoglucogenèse intestinale (NGI) (Mithieux et al., 2005). De plus, les souris invalidées pour le gène *G6pc* spécifiquement dans l'intestin (I-G6pc$^{-/-}$) sont insensibles à l'effet anorexigène des protéines (Penhoat et al., 2011), ce qui prouve bien le rôle causal de la NGI dans les effets bénéfiques des protéines.

D'un point de vue mécanistique, nous avons établi que cet effet des protéines dépendait d'une inhibition des récepteurs mu-opioïdes localisés au niveau des fibres nerveuses entourant la veine porte (Duraffourd et al., 2012). En effet, les récepteurs mu-opioïdes, bien qu'étant très connus pour leur rôle dans la réponse à la douleur, jouent également un rôle important dans le système de récompense et dans la modulation de la prise alimentaire et de la préférence alimentaire. Ainsi, l'administration d'agonistes mu-opioïdes augmente la prise alimentaire tandis que l'administration d'antagonistes mu-opioïdes la diminue (Nogueiras et al., 2012). De plus, certaines protéines de l'alimentation sont connues pour libérer des peptides à activité mu-opioïde lorsqu'elles sont digérées (Zioudrou et al., 1979). Ces données nous ont amenés à penser que l'effet anorexigène des régimes enrichis en protéines passait par une inhibition des récepteurs mu-opioïdes. Nous avons ainsi réalisé des perfusions de di- et tri-peptides ainsi que d'oligopeptides dans la veine porte de rongeurs et montré que ces peptides inhibaient les récepteurs mu-opioïdes péri-portaux. Cette inhibition conduit alors à la transmission d'un signal au cerveau *via* les afférences vagales et spinales qui, en retour, va induire la NGI. Cette augmentation de la production intestinale de glucose va ensuite induire ses effets bénéfiques, à savoir une induction de la satiété et une amélioration de la sensibilité hépatique à l'insuline (Duraffourd et al., 2012; Pillot et al., 2009) (Figure 11). Le rôle causal des récepteurs mu-opioïdes a été démontré à l'aide de souris invalidées pour le récepteur mu-opioïde (souris MOR$^{-/-}$) qui présentent une insensibilité à l'effet coupe-faim des régimes hyper-protéinés. Ces souris ne présentent pas non plus d'augmentation de leur activité G6Pase intestinale en réponse à une perfusion de peptides (Duraffourd et al., 2012), ce qui montre bien que l'inhibition des récepteurs mu-opioïdes par les peptides est un prérequis à l'induction de la NGI et donc aux effets bénéfiques des protéines.

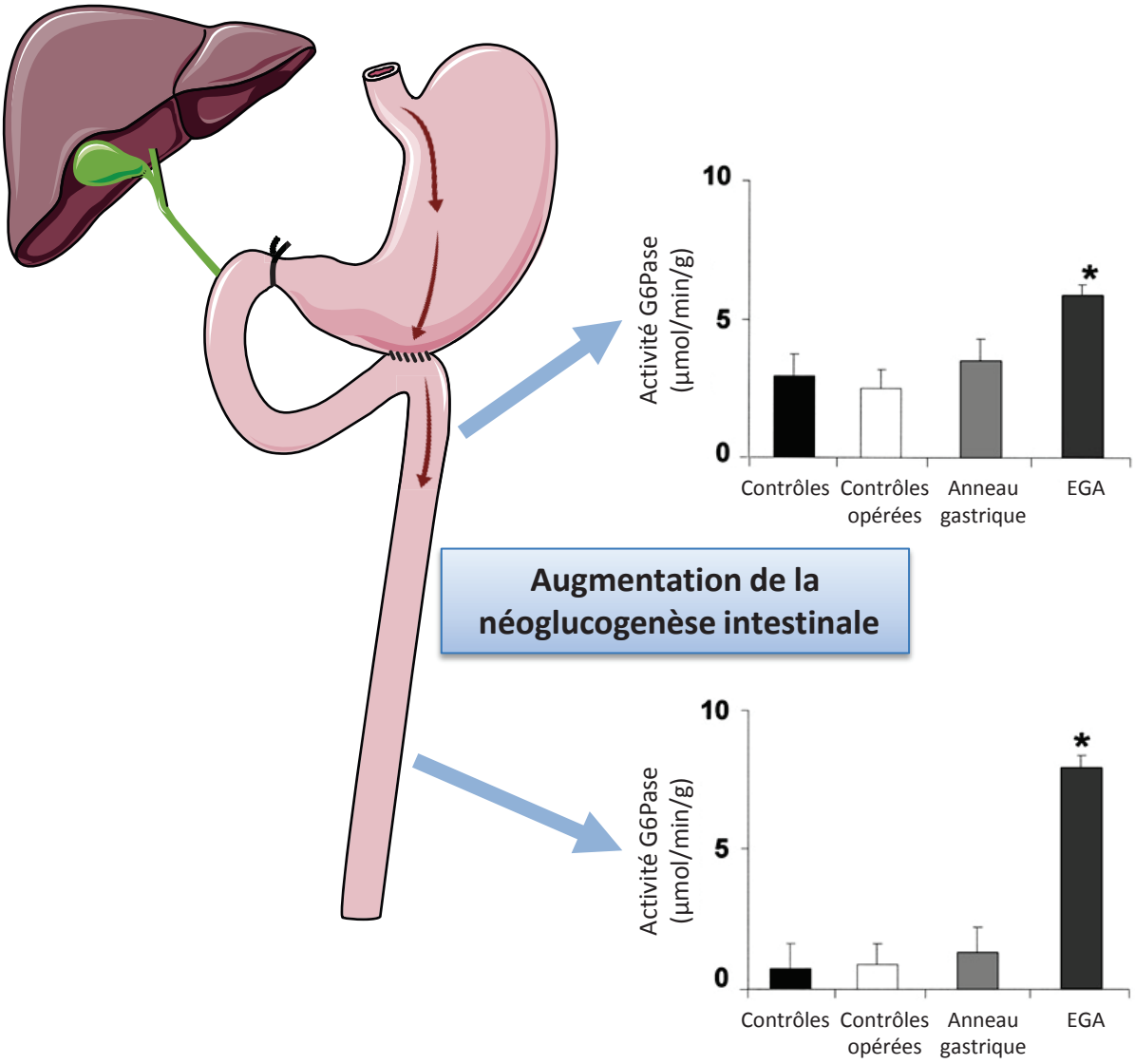


Figure 12 : Augmentation de la néoglucogenèse intestinale dans le cadre d'une chirurgie de l'obésité, l'entéro-gastro-anastomose (EGA)

Représentation de l'EGA, une chirurgie qui consiste à créer une anastomose entre le jéjunum et l'estomac et à ligaturer le pylore afin d'éviter le passage des aliments dans le duodénum. L'activité de la glucose-6-phospatase (G6Pase) est fortement augmentée après EGA dans l'anse intestinale où circulent les aliments par rapport aux souris témoins non-opérées (contrôles), aux souris témoins opérées soumises à une restriction alimentaire (contrôles opérées) et aux souris avec un anneau gastrique (Anneau gastrique).

(D'après Troy *et al.*, 2008)

ii. Effets des régimes riches en fibres

Récemment, nous avons rapporté le rôle causal de l'augmentation de la PIG dans les effets bénéfiques des régimes riches en fibres (De Vadder et al., 2014). En effet, la fermentation des fibres solubles par le microbiote intestinal produit des acides gras à chaînes courtes tels que le butyrate et le propionate, qui induisent directement ou indirectement la NGI. Cette augmentation de la NGI va alors mener à des effets bénéfiques sur le métabolisme énergétique en diminuant l'adiposité et sur le métabolisme glucidique en diminuant la production hépatique de glucose. Les souris invalidées pour le gène *G6pc* spécifiquement dans l'intestin sont insensibles aux effets bénéfiques des fibres alimentaires, démontrant le rôle causal de la PIG dans ces effets.

c. Production endogène de glucose et chirurgie bariatrique

Après by-pass gastrique, la production endogène de glucose est diminuée chez les patients obèses et diabétiques (Immonen et al., 2014; de Weijer et al., 2013). La contribution des organes glucoformateurs à la PEG semble également redistribuée avec une balance en faveur d'une diminution de la production hépatique de glucose et d'une augmentation de la production intestinale.

Des études chez l'homme et le rat montrent que la sensibilité hépatique à l'insuline est améliorée après BPG (Immonen et al., 2014; Paranjape et al., 2013). Chez le rat, une diminution de l'expression génique et protéique de la G6Pase hépatique est observée après by-pass duodéno-jéjunal (Kim et al., 2014; Sun et al., 2013). Cette diminution est accompagnée d'une augmentation de l'expression génique et protéique de la G6Pase intestinale dans les anses alimentaire et commune (Kim et al., 2014; Sun et al., 2013). Enfin, les effets de l'entéro-gastro-anastomose (EGA – Figure 12), une chirurgie assez différente de BPG mais plus facile à réaliser, ont été étudiés chez la souris (Troy et al., 2008). Les résultats montrent que l'EGA provoque une diminution de la prise alimentaire et du poids ainsi qu'une amélioration importante des paramètres glucidiques. Cette chirurgie engendre également une diminution la production endogène de glucose et une augmentation de l'activité de la G6Pase intestinale dans la partie de l'intestin où circulent les aliments, augmentation qui n'est pas retrouvée après anneau gastrique (Figure 12). De plus, les effets bénéfiques de cette chirurgie sur le métabolisme glucidique et la prise alimentaire sont

annulés chez les souris ayant subi une dénervation spécifique des fibres sensitives de la veine porte. Ces données suggèrent donc un rôle causal de la production intestinale de glucose dans les effets de cette chirurgie sur l'amélioration du contrôle glucidique et les sensations de satiété. Cependant, les mécanismes responsables de cette augmentation de la NGI après EGA n'ont pas encore été élucidés et aucun lien causal direct n'a encore été établi entre PIG et effets bénéfiques du BPG. Il est toutefois important de rappeler qu'une diminution de la production hépatique de glucose associée à une augmentation de la production intestinale de glucose pourraient toutes deux rendre compte, au moins en partie, des effets bénéfiques précoces des chirurgies bariatriques comme le BPG sur le métabolisme glucidique.

DÉMARCHE EXPÉRIMENTALE

Les données de la littérature rapportées dans l'introduction de ce manuscrit montrent que les chirurgies de l'obésité, et plus particulièrement le by-pass gastrique Roux-en-Y (BPG), sont le traitement le plus efficace du diabète de type II. Chez les patients obèses et diabétiques, le BPG entraîne effectivement une forte perte de poids qui est maintenue à long terme (Sjöström, 2013) mais également des améliorations spectaculaires et très rapides du métabolisme glucidique indépendamment de la perte de poids (Pories et al., 1995; Wickremesekera et al., 2005). Bien que de nombreuses hypothèses aient été proposées, les mécanismes par lesquels le BPG induit de tels effets sur le métabolisme énergétique et glucidique ne sont pas encore clairement identifiés (cf. § III).

Grâce aux études menées au cours de ces dix dernières années, notre laboratoire a pu proposer un nouveau rôle de la production endogène de glucose dans la régulation du métabolisme glucidique et énergétique. En effet, les productions hépatique et intestinale de glucose lorsqu'elles sont augmentées provoquent des effets différents sur l'organisme. L'augmentation de la production hépatique de glucose est délétère pour l'organisme, entraînant une insulinorésistance et le développement du diabète de type II, alors que l'augmentation de la production intestinale de glucose a des effets bénéfiques sur la sensibilité à l'insuline et la prise alimentaire (cf. § IV.4).

L'une des hypothèses attractives pour expliquer les effets bénéfiques du BPG est que la production intestinale de glucose (PIG) serait augmentée après ce type de chirurgie et induirait alors ses effets bénéfiques sur le métabolisme glucidique et énergétique. En effet, grâce à un travail collaboratif, nous avions fortement suggéré à partir d'un modèle de by-pass intestinal (l'entéro-gastro-anastomose) qu'une augmentation de la PIG était à l'origine des effets bénéfiques de cette chirurgie sur la prise alimentaire, la perte de poids et les améliorations des paramètres glucidiques (Troy et al., 2008) (Figure 12). Mais aucune explication n'avait été apportée quant aux mécanismes d'induction de cette PIG. Or, nous avons récemment démontré que lors des régimes enrichis en protéines, l'inhibition des récepteurs mu-opioïdes par le peptides avait un rôle causal dans l'induction de la néoglucogenèse intestinale (NGI) (Duraffourd et al., 2012). Les peptides issus de la digestion des protéines alimentaires sont effectivement capables d'inhiber les récepteurs mu-opioïdes périportaux, activant ainsi un arc-réflexe central qui va aboutir à l'induction des gènes de la

NGI (Figure 11). L'augmentation de la PIG résultant de cette induction va alors mener à ses effets bénéfiques sur la satiété et le métabolisme glucidique (Figure 10).

Dans ce travail de thèse, nous nous sommes intéressés aux rôles causals des protéines de l'alimentation, via les récepteurs mu-opioïdes, et de la NGI dans les effets bénéfiques du BPG. Mon hypothèse de thèse était que l'inhibition des récepteurs mu-opioïdes par les peptides alimentaires pouvait expliquer l'augmentation de la NGI et les effets bénéfiques de cette dernière lors du BPG. Un argument plaidant en faveur de cette hypothèse est que les récepteurs mu-opioïdes sont fortement exprimés dans l'intestin distal or, après BPG, les aliments sont délivrés directement dans l'intestin distal. Nous avons donc supposé qu'après BPG les peptides issus de la digestion des protéines pouvaient inhiber les récepteur mu-opioïdes de l'intestin, en plus des récepteurs mu-opioïdes périportaux, ce qui aurait pour conséquence de potentialiser l'effet d'induction de la NGI.

Afin de tester cette hypothèse, nous avons mis au point le by-pass duodéno-jéjunal chez la souris (Figure 3C). Notre choix s'est porté sur cette chirurgie car elle est tout d'abord moins compliquée à réaliser que le BPG. De plus, le by-pass duodéno-jéjunal reproduit le réarrangement de l'intestin après BPG, et c'est cette composante du BPG qui nous intéresse dans le cas de notre hypothèse de travail.

Nous avons donc tout d'abord étudié le rôle des protéines de l'alimentation dans les effets bénéfiques du by-pass duodéno-jéjunal, grâce à l'utilisation de souris invalidées pour le gène du récepteur mu-opioïde (souris $MOR^{-/-}$). Le by-pass duodéno-jéjunal a été effectué chez des souris $MOR^{-/-}$ de poids normal ou rendues obèses à l'aide d'un régime hyperlipidique et hyperglucidique. Nous avons étudié les effets de cette chirurgie sur la prise alimentaire, le poids et le métabolisme glucidique et les résultats sont présentés sous la forme d'un article rédigé (article 1).

La deuxième partie de mon travail de thèse m'a conduite à étudier le rôle causal de la NGI dans les effets bénéfiques du by-pass duodéno-jéjunal. Pour cela, nous disposons d'un modèle original de souris récemment développé par notre laboratoire : les souris invalidées pour la sous-unité catalytique de la G6Pase spécifiquement dans l'intestin (souris I-$G6pc^{-/-}$). Nous avons donc étudié les effets, chez cette souris et chez la souris sauvage, du by-pass duodéno-jéjunal sur la prise alimentaire, le poids et le métabolisme glucidique, mais

également sur la modification de la NGI et de la production hépatique de glucose et finalement sur la possible malabsorption. Les résultats de cette étude sont présentés sous la forme d'un article scientifique comprenant les sections introduction, matériels et méthodes et résultats (article 2). Les résultats de cette étude sont discutés dans la discussion générale de cette thèse.

RÉSULTATS

ARTICLE 1

ROLE OF DIETARY PROTEIN SENSING IN THE METABOLIC BENEFITS OF DUODENAL-JEJUNAL BYPASS IN THE MOUSE

Aude Barataud (PhD student)[1-3], Daisy Goncalves (PhD)[1-3], Jennifer Vinera (PhD student)[1-3], Carine Zitoun (research assistant)[1-3], Adeline Duchampt (research assistant)[1-3], Amandine Gautier-Stein (PhD)[1-3] and Gilles Mithieux (PhD)[1-3].

[1] Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, U855, Lyon, F-69008, France

[2] Université de Lyon, Lyon, F-69008, France

[3] Université Lyon 1, Villeurbanne, F-69622, France

ABSTRACT

Background: Roux-en-Y gastric bypass (RYGB) induces remission or substantial improvement of type 2 diabetes mellitus (T2DM) but underlying mechanisms are unclear. This surgery implicates a gut anatomy rearrangement so that nutrients as proteins are redirected directly in the distal gut. Beneficial effects of dietary proteins on energy and glucose metabolism are in part mediated by antagonism of mu-opioid receptors (MORs) surrounding the portal vein. MORs are also highly expressed in the distal gut. We hypothesized that the beneficial effects of RYGB could depend on the antagonism of periportal and intestinal MORs by peptides from food.

Methods: Duodenal-jejunal bypass (DJB), which reproduces the gut anatomy modifications induced after RYGB, was performed in obese and lean wild-type (WT) or MOR deficient ($MOR^{-/-}$) mice. Food intake and body weight was monitored daily during 3 weeks. Glucose homeostasis was assessed by glucose and insulin tolerance tests.

Results: In obese mice, DJB induced a rapid and sustained weight loss partly independent of food intake, and a rapid improvement of glycaemic parameters. A comparison with sham pair-fed mice demonstrated that weight loss is the major determinant of the improved metabolic parameters. In lean mice, DJB had no effect on weight loss but significantly enhanced glucose tolerance. The effects of DJB were similar in $MOR^{-/-}$ and WT mice whether they were lean or obese.

Conclusion: DJB in mice is a useful tool to better understand the mechanisms by which RYGB induces its beneficial outcomes. We found that MORs are not involved in the metabolic beneficial effects of DJB. These outcomes mainly depend on weight loss.

INTRODUCTION

Bariatric surgeries have emerged as the most effective and durable therapies to treat obesity and one of its comorbidities, type 2 diabetes mellitus (T2DM) [1,2]. The Roux-en-Y gastric bypass (RYGB) procedure is one of the most performed and most efficient bariatric surgery. This surgery involves the creation of a small gastric pouch directly connected with the mid-jejunum and the diversion of the biliopancreatic secretions into the distal jejunum. After RYGB surgery, patients exhibit a calorie intake reduction and a considerable and long-term weight loss of up to 30% [2,3]. Improvement or remission of T2DM is observed in approximately 80% of patients [4,5], but surprisingly the improvements in glycaemic control cannot be correlated exclusively to the extent of weight loss. Indeed, many type 2 diabetic patients stop their medication within days after surgery, before any significant body weight loss [6]. Thus, understanding the mechanisms underlying the metabolic improvements induced after RYGB should lead to the development of a less invasive treatment of T2DM.

A particularity of RYGB is that gut anatomy is rearranged, which results in a modification of nutrients routing. It is well known that macronutrients act as signalling molecules and, in particular, proteins are known to induce beneficial effects on health. Protein-enriched diets have proven their efficacy in promoting satiety [7,8] and in maintaining weight loss [9–11]. Moreover, several studies have showed that protein-enriched diets, ingested over a short or a long period of time, decrease postprandial blood glucose and improve overall glucose control in patients with T2DM [12,13]. Therefore, the question arises as to whether the dietary proteins play a role in the metabolic improvements induced by RYGB.

Recently, our laboratory highlighted that mu-opioid receptors (MORs) are essential in mediating the satiety effects of dietary proteins [14]. We demonstrated, through infusions of various peptides directly into the portal vein of rodents, that peptides are able to inhibit the

MORs surrounding the portal vein. This inhibition leads to satiety via the activation of a gut-brain neural circuitry implicating intestinal gluconeogenesis. The causal role of MORs was confirmed by the insensitivity of MOR-knockout ($MOR^{-/-}$) mice to the satiety effects induced by protein-enriched diet [14]. Remarkably, MORs are highly expressed in the distal gut [15–17] where food is directly diverted after RYGB. So, it can be assumed that after RYGB peptides from food might also inhibit the MORs in the distal gut, besides the MORs surrounding the portal vein, to induce their beneficial effects. In sum, after RYGB, the contact between peptides derived from food and MORs might arise more rapidly due to the rearrangement of the intestinal tract.

In this study, we assessed whether MORs are involved in the short-term metabolic effects of RYGB, either in a context of obesity or of leanness. Because we were interested in the role of gut remodelling in the beneficial effects of RYGB, we performed duodenal-jejunal bypass (DJB) surgery, which is a simplified RYGB that do not imply any gastric volume restriction (Fig. 1), in wild-type and $MOR^{-/-}$ mice.

MATERIALS AND METHODS

Study approval

All the experiments involved in this study were carried out in accordance with the principles and guidelines established by the European Convention for the Protection of Laboratory Animals and approved by our regional animal care committee (C2EA-55, Université Lyon 1, Lyon).

Mice and diets

Male C57Bl/6J wild-type mice (WT) were purchased from Charles River Laboratories at 4 weeks of age. Mu-opioid receptors knock-out mice ($MOR^{-/-}$) were generated in our facilities from two couples of mice obtained from The Jackson Laboratory ($Oprm1^{tm1Kff}$/J) [18]. All the mice were housed in the animal facility of Lyon 1 University under controlled temperature (22±2° C) and lighting (12 h light/dark cycle with light at 7 a.m.) with free access to food and water. Before surgery, mice were group-housed (2-4 mice per cage) and after surgery mice were individually housed to allow better healing and improve recovery.

In order to induce obesity and diabetes, 4-weeks old WT and $MOR^{-/-}$ mice were submitted to ad libitum high-fat/high-sucrose (HF-HS) diet during 20 weeks prior to surgery. HF-HS diet, consisting of 36.1% fat, 35% carbohydrates (50% maltodextrine + 50% sucrose) and 19.8% proteins, was produced by the Unité de Préparation des Aliments Expérimentaux (INRA, UE0300, Jouy-en-Josas, France). For studies in lean animals, WT and $MOR^{-/-}$ mice were maintained on standard diet (SAFE A04, Augis, France) and surgery was performed at 14-weeks old. All the animals were maintained on their respective diet after surgery.

Surgical Procedures

Surgical preparation: food and water were not restricted before surgery. Anaesthesia was induced and maintained throughout the operation with Isoflurane and air/oxygen. During anaesthesia, mice were placed on a temperature-controlled heating pad to avoid hypothermia. Ophthalmic ointment (Ophtalon®) was applied on mice eyes to prevent drying and the abdomen was shaved and disinfected. During the entire operation, organs exposed to air were kept moist by regular application of NaCl 0.9%.

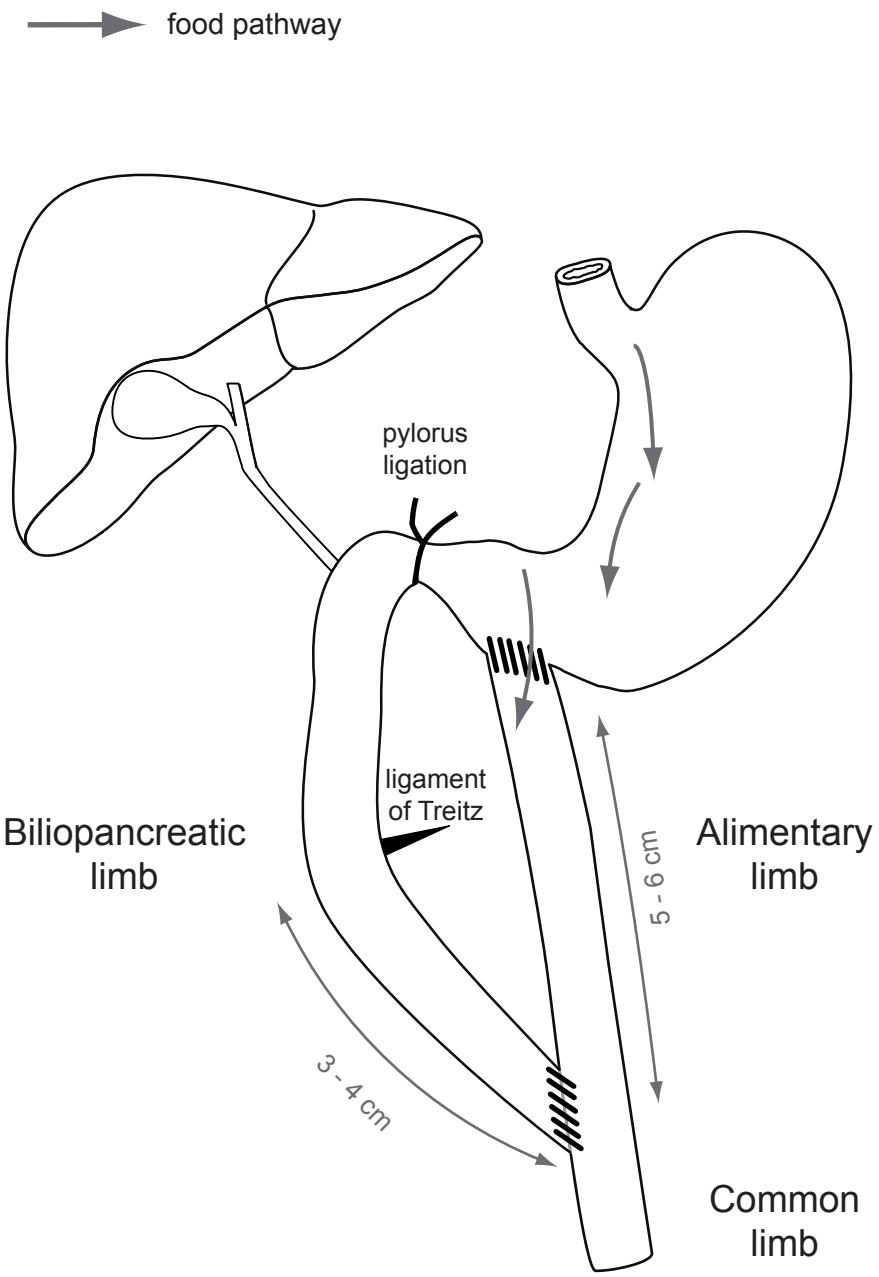


Fig. 1 Schematic representation of the duodenal-jejunal bypass in the mouse.

Jejunum was transected 3-4 cm downstream of the ligament of Treitz and the proximal jejunum was connected to the intestine 5-6 cm beyond the transversal section. Then distal jejunum was anastomosed to the stomach and finally pylorus was ligated. This procedure allows the creation of a biliopancreatic limb and an alimentary limb of about 5-6 cm each and a common limb of approximately 18-20 cm long.

DJB surgery: a 3 cm midline laparotomy was performed and small bowel was exposed to the surgeon. To achieve the duodenal-jejunal bypass as presented in Fig. 1, the first step of the procedure consisted in creating the biliopancreatic limb. To this end, the ligament of Treitz was identified and jejunum was transected 3-4 cm distal to this ligament. Then, a longitudinal and antimesenteric incision (approximately 0.5 cm length) was performed 5-6 cm distal to the transected bowel. Subsequently, the proximal jejunum was moved close to the longitudinal incision of the distal jejunum and the two parts of the gut were anastomosed in an end-to-side fashion using a continuous suture (Ethicon nylon 8-0). The second step of the surgery was the building of the alimentary limb. For this purpose, the stomach was exposed and an incision of 0.5 cm length was performed near to the pylorus, in a poor vascularized portion of the stomach. Then an end-to-side gastrojejunostomy was created with a 8-0 nylon running suture (Ethicon). The third step of the procedure involved the ligation of the pylorus in order to avoid the passage of food in the biliopancreatic limb. Therefore, the pylorus was isolated and surrounded by a 6-0 nylon suture thread (Ethicon) and three simple knots were made. Throughout the DJB surgery, a particular attention was given to stop potential bleeding. For this reason hemostatic compresses (Pangen) were applied to the intestine and stomach after incisions and sutures were started only after the complete cessation of bleeding. After gently returning the small intestine and stomach inside the abdominal cavity, the abdominal wall and the skin were closed using 6-0 nylon running and interrupted suture respectively (Ethicon).

Sham surgery: the sham operation consisted of a 3-cm midline laparotomy. Sham-operated and sham-operated pair-fed mice (sham-PF) underwent the same duration of anaesthesia as DJB-treated mice (1h15) and the abdominal wall and skin were closed using running and interrupted suture respectively (Ethicon 6-0 nylon). The sham-PF mice were pair-fed to match the daily food intake of the DJB mice.

Postoperative care: ketoprofen (5 mg/kg) was administered by an intraperitoneal injection before the abdominal wall closure and 1.5 mL of NaCl 0.9% was injected subcutaneously at the end of the surgery. Postoperative analgesia consisted of a daily injection of ketoprofen (5 mg/kg, s.c.) for 4 days after surgery. Mice were housed in individual cages and put on heating pad set at 37°C during 5 days. After the surgery, mice were given ad libitum access to water but were deprived of food during 24h. On the postoperative day 1, mice were provided approximately 2 mL of liquid diet (Ensure). From the second postoperative day, mice were fed ad libitum with the appropriate food (HF-HS or standard diet), except for sham-PF mice.

Body Weight and Food Intake

Body weight and food intake was monitored daily during 3 weeks. HF-HS diet was changed 3 times a week for ad libitum fed mice (sham-operated and DJB-treated mice) and daily for sham-PF mice.

Glucose and Insulin Tolerance Tests

Glucose tolerance test (GTT) and insulin tolerance test (ITT) were carried out 2 and 3 weeks after the surgery, respectively. Animals were fasted for 16 (GTT) or 6 hrs (ITT) and then received an intraperitoneal injection of glucose (1 g/kg) or insulin (0.75 IU/kg for obese mice and 0.5 IU/kg for lean mice, Insulatard, Novo Nordisk). Blood glucose was monitored for 120 (GTT) or 90 min (ITT) using a glucometer (Accu-Check, Roche) on samples collected from the tip of the tail vein. Insulinemia was quantified using an ELISA kit (Mercodia).

Statistical analysis

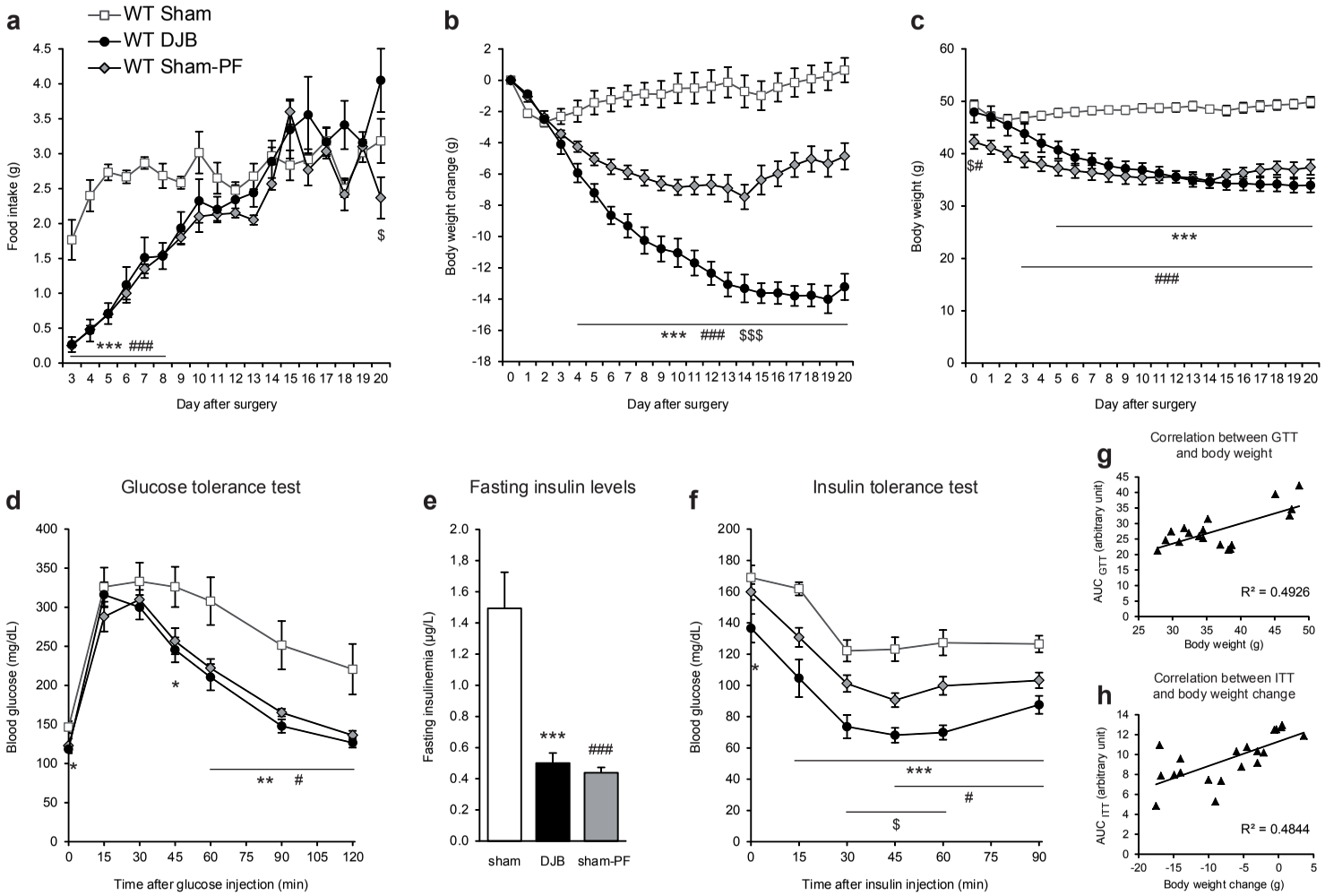


Fig. 2 Effects of duodenal-jejunal bypass on food intake, body weight and glucose homeostasis in wild-type obese mice.

a Evolution of food intake, **b** body weight change and **c** body weight of WT obese mice fed a HF-HS diet after DJB (black circles), sham (white squares) or sham pair-fed surgery (grey diamonds). **d** Glucose tolerance test was performed 2 weeks after surgery, **e** blood insulin levels were determined in 16-hour fasting mice and **f** insulin tolerance test was performed 3 weeks after the surgery. **g** Scatter plot of area under the curve values of GTT vs weight for each mice the day of GTT and **h** scatter plot of area under the curve values of ITT vs weight loss for each mice the day of ITT. The linear regression is annotated with Pearson's correlation coefficient (r). n=8 for WT DJB group, n=6 for WT sham and WT sham-PF groups; *p<0.05, **p<0.01 and ***p<0.001 for DJB vs sham group; #p<0.05 and ###p<0.001 for sham-PF vs sham group; $p<0.05 and $$$p<0.001 for DJB vs sham-PF group.

The results were expressed as mean ± SEM. Unpaired Student's t test was used for two-group comparisons. One-way ANOVA followed by Tukey's post-hoc test was used for three-group comparisons. $p<0.05$ was considered significant.

RESULTS

Duodenal-jejunal bypass induces weight loss and metabolic improvements in obese wild-type mice

We first studied the metabolic effects of DJB in obese mice fed a high-fat/high-sucrose (HF-HS) diet. Food intake after DJB was transiently reduced from postoperative day 3 to day 8 compared with sham WT group (Fig. 2a). Beyond the 8th day post-surgery, DJB WT mice stabilized their food intake and reached the same level as in sham WT mice. These results indicated that DJB did not induce a sustained decrease in food intake. However, DJB in WT obese mice led to a significant and sustained weight loss compared to sham surgery. Indeed, DJB WT mice showed a steeply weight loss for the first 15 days (-28%, i.e -13.7g, Fig. 2b) and stabilized their body weight around 34 g (Fig. 2c) until the end of the study. To distinguish the effects of DJB surgery from those related to the decrease in food intake, a group of sham-operated mice exactly pair-fed with DJB mice was studied (sham-PF WT, grey diamond, Fig. 2). As expected, sham-PF mice lost weight but to a lesser extent than DJB mice (maximal weight change: -7.5±0.7 g at 14 days post-surgery, Fig. 2b) and exhibited gradually weight regain from the second week after the surgery. Thus, DJB in WT obese mice induced a significant weight loss partially independent of food intake.

Then we evaluated the effects of DJB on glycaemic control improvements. Analysis of glucose tolerance test data revealed that DJB induced a significant improvement in glucose

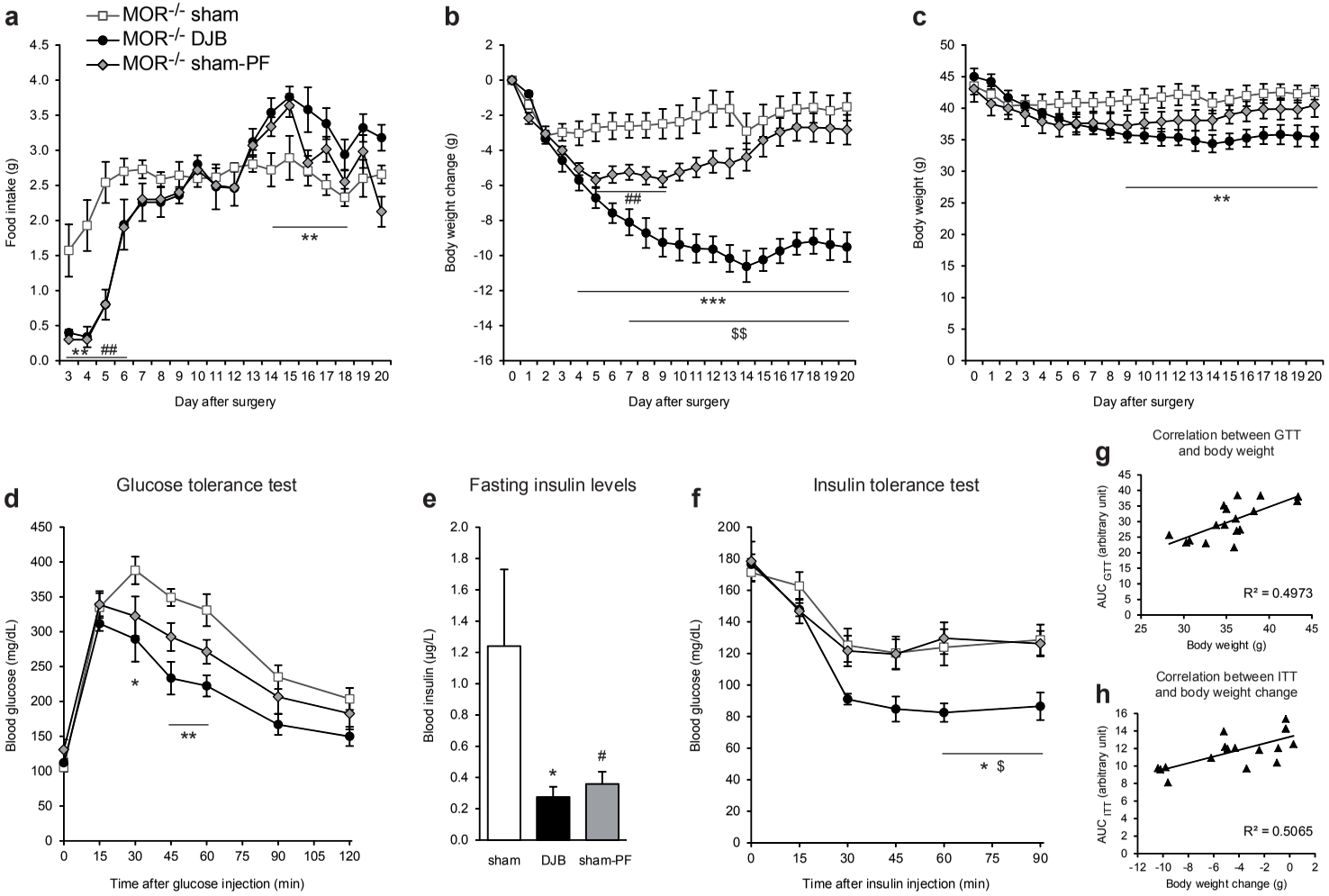


Fig. 3 Effects of duodenal-jejunal bypass on food intake, body weight and glucose homeostasis in MOR$^{-/-}$ obese mice.

a Evolution of food intake, **b** body weight change and **c** body weight of MOR$^{-/-}$ obese mice fed a HF-HS diet after DJB (black circles), sham (white squares) or sham pair-fed surgery (grey diamonds). **d** Glucose tolerance test was performed 2 weeks after surgery, **e** blood insulin levels were determined in 16-hour fasting mice and **f** insulin tolerance test was performed 3 weeks after the surgery. **g** Scatter plot of area under the curve values of GTT vs weight for each mice the day of GTT and **h** scatter plot of area under the curve values of ITT vs weight loss for each mice the day of ITT. The linear regression is annotated with Pearson's correlation coefficient (r). n=5 for MOR$^{-/-}$ DJB group, n=6 for MOR$^{-/-}$ sham and MOR$^{-/-}$ sham-PF groups; *p<0.05, **p<0.01 and ***p<0.001 for DJB vs sham group; #p<0.05 and ##p<0.01 for sham-PF vs sham group; $p<0.05 and $$p<0.01 for DJB vs sham-PF.

tolerance (Fig. 2d) associated with a 3 fold decrease in blood insulin levels (Fig. 2e) compared to sham WT mice. The same improvement in glycaemic controls was measured in sham-PF mice (Figs 2d and 2e). Noteworthy, DJB and sham-PF WT mice exhibited the same weight at the time of the GTT. In addition, the area under the curve of glycaemia during GTT was positively correlated to body weight (Figure 2g). Concerning insulin sensitivity, DJB WT mice exhibited a substantial reduction in their blood glucose levels after insulin injection compared with those of sham WT mice (Fig. 2f). Sham-PF WT mice displayed a smaller but significant enhancement of their insulin sensitivity compared with sham WT mice, with no improvement of fasting glycaemia (Fig 2f). Interestingly, the area under the curve of glycaemia during ITT was positively correlated with body weight loss (Figure 2h). Together, these data suggest that the improvements in glucose tolerance and insulin sensitivity after DJB in obese WT mice are mainly dependent on weight loss.

Duodenal-jejunal bypass induces weight loss and metabolic improvements in obese MOR$^{-/-}$ mice

To assess the involvement of mu-opioid receptors (MORs) in the metabolic improvements observed after DJB, we performed the same experiments in MOR$^{-/-}$ obese mice. As in WT mice, DJB in MOR$^{-/-}$ obese mice led to an initial hypophagia from postsurgical day 3 to day 6 and then to a stabilization of their food intake at the same level as sham MOR$^{-/-}$ mice (around 2.5 g/day, Fig. 3a). As in WT mice, DJB induced a decrease in body weight in MOR$^{-/-}$ mice, independently of food intake. Indeed, DJB MOR$^{-/-}$ mice lost weight gradually during 14 days (-24% i.e. -10.6 g, Fig. 3b) and then stabilized their body weight around 35 g (Fig. 3c), whereas PF-MOR$^{-/-}$ lost weight during the first week (maximal weight loss: -5.7±0.4 g on day 5 post-surgery) and regained weight from the 9th post-surgical day until the end of the experiment (+2.8 g between day 9 and 20, Fig. 3b). Taken together, these data showed that

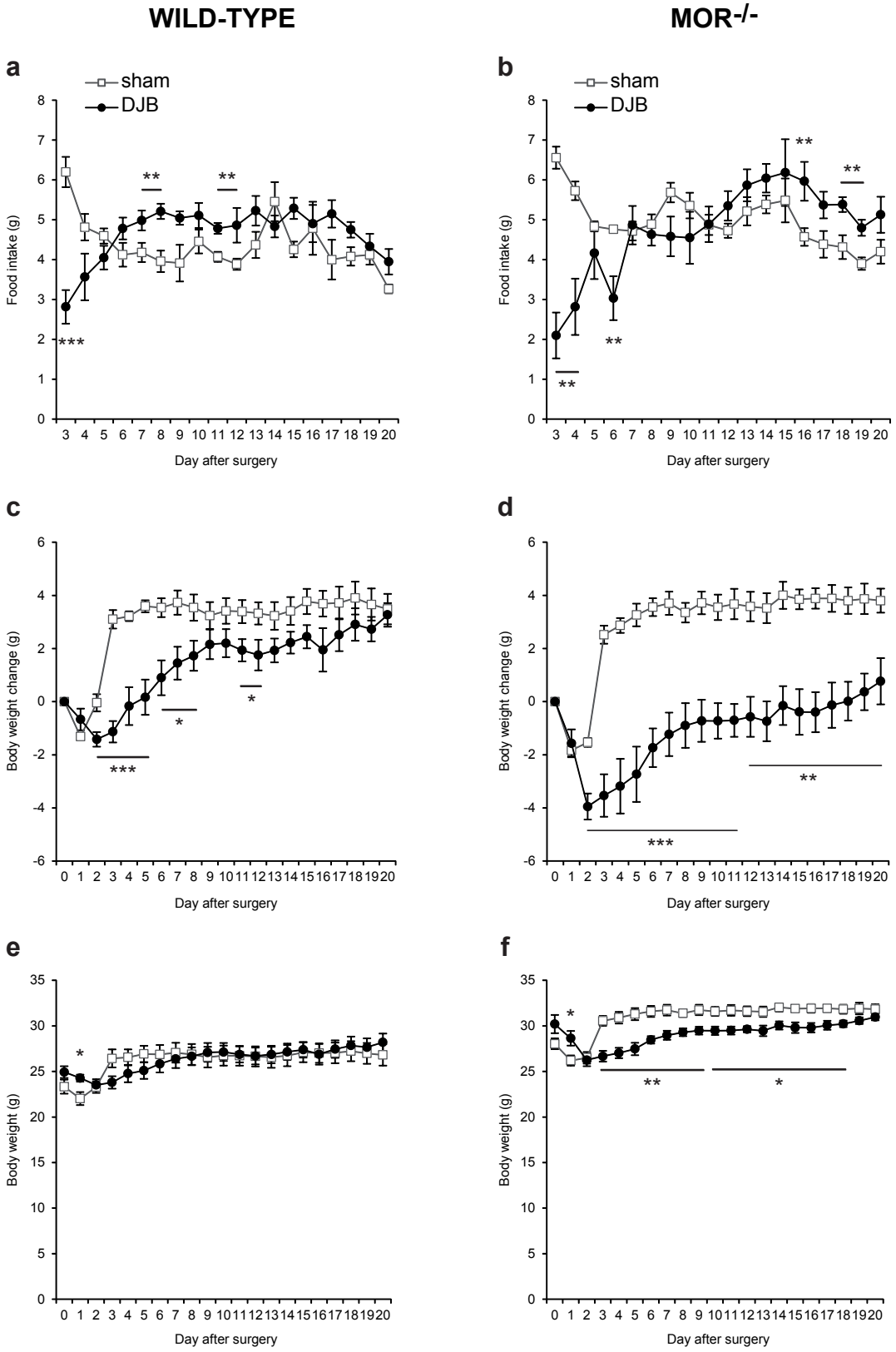


Fig. 4 Effects of duodenal-jejunal bypass on food intake and body weight in wild-type and MOR$^{-/-}$ lean mice.

a-b Evolution of food intake, **c-d** body weight change and **e-f** body weight of WT and MOR$^{-/-}$ lean mice fed a standard diet after DJB (black circles) or sham surgery (white squares). n=6 for WT DJB group, n=7 for WT sham group, n=7 for MOR$^{-/-}$ DJB group, n=7 for MOR$^{-/-}$ sham group; *p<0.05, **p<0.01 and ***p<0.001 vs sham group.

DJB induced almost identical effects on food intake and body weight in WT and MOR$^{-/-}$ obese mice.

DJB performed in MOR$^{-/-}$ mice induced an improvement in glucose tolerance (Fig. 3d). Sham-PF MOR$^{-/-}$ mice showed a trend toward an improvement in glucose tolerance but the results were not statistically significant (Fig. 3d). In addition, DJB and pair-feeding induced a decrease in blood insulin levels (Fig. 3e). As for WT mice, these improvements were positively correlated with body weight (Fig 3g). DJB MOR$^{-/-}$ mice exhibited better insulin sensitivity compared to sham MOR$^{-/-}$ mice (Fig. 3f) whereas sham-PF MOR$^{-/-}$ mice did not display any improvement in insulin sensitivity compared with sham MOR$^{-/-}$ mice. However, as for WT mice, the improvement in insulin sensitivity induced by DJB was positively correlated with body weight loss (Fig 3h). These results showed that, as in WT obese mice, DJB performed in MOR$^{-/-}$ obese mice induced a decrease in body weight independently of food intake, leading to the improvement of glycaemic parameters.

Duodenal-jejunal bypass does neither induce food intake decrease nor weight loss in lean wild-type and MOR$^{-/-}$ mice

Since the decrease in body weight has a major impact on the metabolic improvements induced by DJB, we studied the metabolic effects of this surgery in lean mice. Indeed, data from the literature showed that in lean mice bariatric surgery caused little or no weight loss [19,20].

DJB and sham surgeries were performed in 14-weeks old WT and MOR$^{-/-}$ mice fed a standard diet. As illustrated in Figure 4a, DJB in WT lean mice resulted in an early short phase of hypophagia (from the first day to postoperative day 3) followed and counterbalanced by a short period of hyperphagia (during the second postsurgical week), then food intake returned to basal level. In MOR$^{-/-}$ mice, DJB induced comparable outcomes except that DJB MOR$^{-/-}$

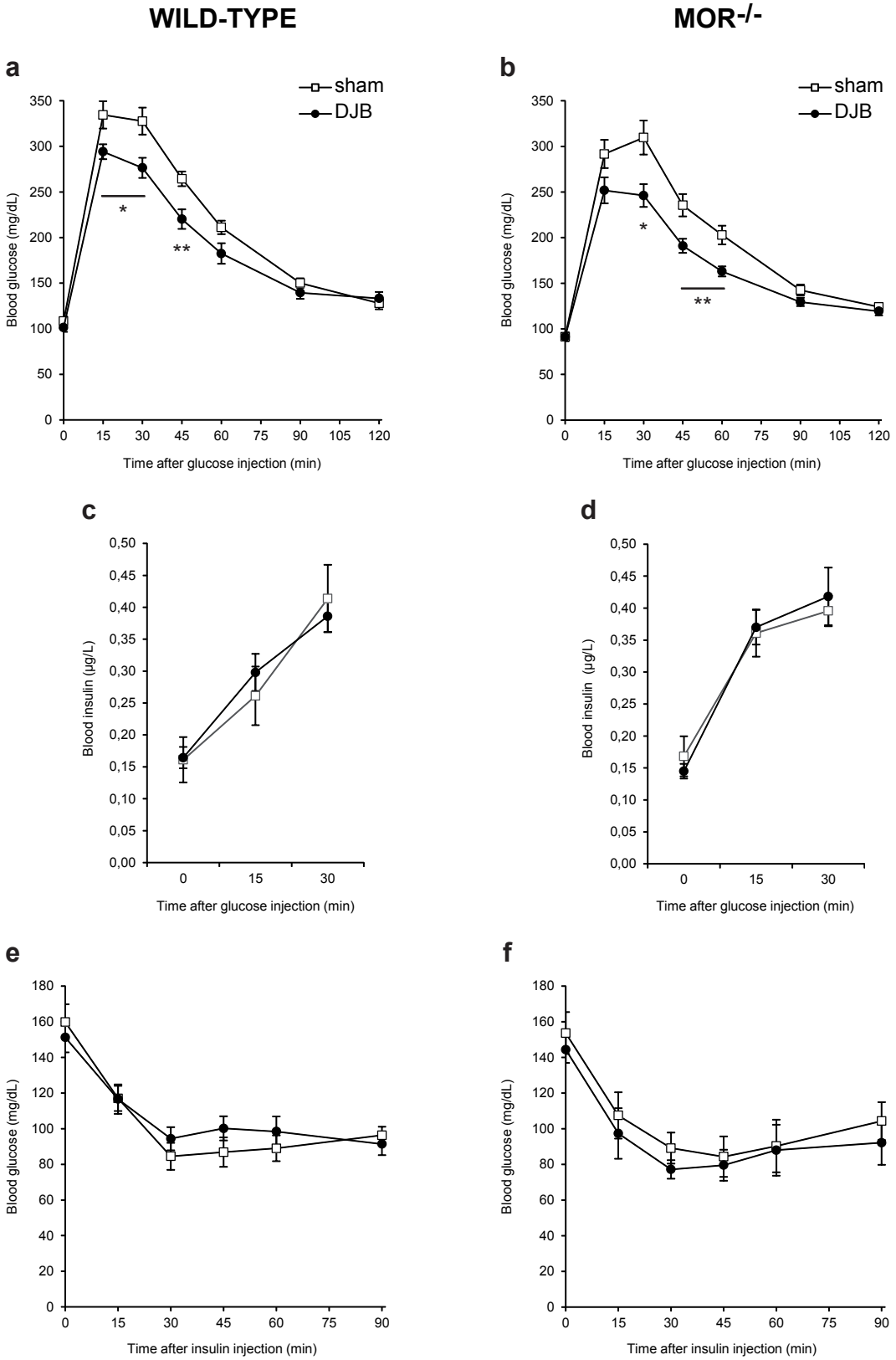


Fig. 5 Effects of duodenal-jejunal bypass on glucose homeostasis in wild-type and MOR$^{-/-}$ lean mice.

a-b Glucose tolerance test was performed 2 weeks after surgery, **c-d** blood insulin levels were determined during the glucose tolerance test and **e-f** insulin tolerance test was performed 3 weeks after surgery in WT and MOR$^{-/-}$ lean mice fed a standard diet after DJB (black circles) or sham surgery (white squares). n=6 for WT DJB group, n=7 for WT sham group, n=7 for MOR$^{-/-}$ DJB group, n=7 for MOR$^{-/-}$ sham group; *$p<0.05$ and **$p<0.01$ vs sham group.

mice displayed a longer hypophagia period and a delayed hyperphagia rebound (Fig. 4b). Thus, DJB performed in WT or MOR$^{-/-}$ mice did not induce a lasting decrease in food intake.

DJB and sham WT mice exhibited a similar body weight from the second day after surgery (Fig. 4e). When DJB mice were refed ad libitum (i.e., from postsurgical day 2), they regained weight (Fig.4c). However, weight regain occurred more slowly in DJB WT mice compared to sham WT mice, but this can be explained by the short initial hypophagia experienced by the DJB mice (Fig 4c). Since DJB MOR$^{-/-}$ mice displayed a longer hypophagia period compared with DJB WT mice, they also regained weight more slowly (Fig 4d) and returned to their basal weight only 14 days after the surgery (Fig 4f). Therefore, DJB MOR$^{-/-}$ mice displayed a statistically significant reduced body weight compared to sham MOR$^{-/-}$ mice from postoperative day 4 to 18 (Fig. 4f), but it is noteworthy that the weight difference between the 2 groups of mice is weak (less than 2.2 g on the second and third week after surgery). Together, these results highlighted that DJB did not induce lasting weight loss in lean WT and MOR$^{-/-}$ mice.

Glucose tolerance is enhanced after duodenal-jejunal bypass in lean wild-type and MOR$^{-/-}$ mice.

To determine whether DJB affects glucose homeostasis in mice independently of weight loss, we carried out intraperitoneal glucose and insulin tolerance tests in operated lean mice.

Blood glucose levels were significantly reduced in DJB WT mice compared with sham WT mice 15, 30 and 45 min after glucose injection (Fig. 5a). MOR$^{-/-}$ mice also displayed a better glucose tolerance after DJB surgery compared to sham surgery (Fig. 5b). This glucose tolerance enhancement after DJB was not associated with any increase in blood insulin levels during the glucose tolerance test in WT and MOR$^{-/-}$ mice (Fig. 5c and 5d, respectively).

Insulin tolerance test data demonstrated that neither DJB WT mice nor DJB MOR$^{-/-}$ mice exhibited any improvement in insulin sensitivity relative to their counterpart sham mice (Fig. 5e for WT mice, Fig. 5f for MOR$^{-/-}$ mice). Together, these data indicated that DJB performed in lean WT and MOR$^{-/-}$ mice induced beneficial effects on glucose tolerance that are specific to surgery and independent of weight loss.

DISCUSSION

This paper reports for the first time the effects of DJB on glucose homeostasis in obese and diabetic mice fed a high-calorie diet throughout the study. We highlight that DJB in mouse is a suitable model to analyse the metabolic consequences of the rearrangement of the intestinal tract produced by RYGB surgery. Indeed, obese mice undergoing DJB surgery exhibited a 30% sustained weight loss and significant improvements in glucose tolerance and insulin sensitivity as RYGB in humans. However, in this mouse model of DJB, the major weight loss occurred within days after the surgery, while in humans the same weight loss was observed only 6-12 months after RYGB. This substantial and early weight loss is nonetheless consistent with the findings of others teams that performed either RYGB [21–24] or DJB in obese mice [25], suggesting that gastric restriction is not necessary for weight loss after bariatric surgery in mice. Another result diverging from the findings in humans is that DJB in mice does not induce a lasting reduction in calorie intake. In obese mice fed a HF-HS diet, DJB induced a transient decrease in food intake during the first postsurgical days. This may account for the recovery period after this heavy surgery. Then, DJB mice exhibited the same food intake as sham mice. This phenomenon was also observed in all the mouse models of RYGB fed a high calorie diet, regardless of the gastric pouch size [21,24,25]. This absence of long-term decrease in calorie intake might arise from the lack of food choice after the surgery in rodents, since only one kind of food is often proposed after the surgery (low-calorie or high-calorie

diet), whereas in patients undergoing RYGB, modifications of food preference were reported after the surgery to the benefit of low-calorie diet intake [26,27]. Using sham-pair-fed mice, we finally demonstrated that DJB in obese mice induces a substantial and sustained weight loss, which cannot be explained only by the decrease in food intake.

Regarding the consequences of DJB on glucose homeostasis in obese and diabetic mice, our results showed that the significant improvement in glucose tolerance was directly correlated with body weight. Moreover, insulin sensitivity improved in proportion to weight loss. These results highlight that the early and substantial weight loss occurring after DJB *per se* might be sufficient to confer the improvements in glucose metabolism, confirming the studies with mice that were body-weight matched to RYGB mice [24,28,29]. Hence, performing DJB in obese mice could help in understanding the mechanisms underlying the rapid weight loss induced by bariatric surgeries.

Using this mouse DJB model, we studied the possible role of dietary protein in the beneficial effect of DJB. Since MORs are a key mechanistic link in the favourable effects induced by protein-enriched diets [14], we used $MOR^{-/-}$ mice to address this question. We first noted that these mice displayed a lower body weight than WT mice when they fed a HF-HS diet. These results are consistent with data from the literature that revealed that $MOR^{-/-}$ mice consuming a high-calorie diet gain less body weight than WT mice because of a lesser fat storage [30,31]. Nevertheless, DJB induced a rapid and massive weight loss in $MOR^{-/-}$ obese mice, as in WT obese mice. Moreover, the positive correlations between glucose homeostasis and weight and between insulin sensitivity and weight loss induced by DJB were conserved in $MOR^{-/-}$ mice. This suggests that MORs were not implicated in the glycaemic parameters improvements after DJB. However, the possible role of MORs might be hidden by the effect of weight loss.

To confirm the weight loss-independent effects of DJB, we performed this surgery in lean mice, as it has been reported that DJB induces little or no weight loss in the lean state

[19,20,32]. According to our findings, DJB in WT lean mice led to glucose tolerance enhancement as soon as 2 weeks after the surgery independently of weight loss, contrary to what happened in obese mice, whereas insulin sensitivity was not modified 3 weeks post-surgery. These differences between lean and obese mice in the control of glucose homeostasis after DJB suggest that this surgery induces its effects by targeting different metabolic processes depending on the basal host metabolism. Concerning the potential role of MORs, we showed that in lean mice DJB surgery elicited almost identical effects on food intake, body weight change, glucose tolerance and insulin sensitivity in $MOR^{-/-}$ compared to WT mice. However, it is noteworthy that the effect of DJB on body weight in lean $MOR^{-/-}$ mice did not exactly match the effect of DJB in lean WT mice (Fig. 4). A similar observation could be made from the comparison between the changes in body weight in response to pair-feeding in obese WT vs $MOR^{-/-}$ mice (Fig 2a-c and 3 a-c). These data are in agreement with a possible role of MOR in the modulation of body weight, independently of food intake or gastric surgery.

The beneficial effects of bariatric surgery seem thus independent of MORs and/or of the changes in the intestinal availability of dietary protein. This is consistent with the study of Swensson et al. [33] conducted in patients undergoing gastric bypass procedure, which concluded that substituting a high-protein diet instead of the recommended standard low-fat diet after the surgery did not induce additional excess body weight loss. However, the consumption of a high-protein diet after weight loss induced by bariatric surgery appeared to be critical in preventing weight regain [34] and maintaining free-fat mass [35]. Thus, further studies are needed to define precisely the role of dietary proteins supplementation in the beneficial effects of bariatric surgery. The use of a suitable mouse model of bariatric surgery subjected to different diets may help to address this issue.

In conclusion, this study strongly suggests that: 1) DJB in obese mice promotes a sustained weight loss, which cannot be explained by the only decrease in food intake; 2) DJB improves glucose control in obese mice, which is mainly dependent on the decrease in body weight; 3) MORs and by extension dietary protein sensing are likely not involved in the beneficial outcomes induced by DJB. Therefore, this paper shows that DJB surgery in mice is a suitable model to elucidate the mechanisms underlying the rapid T2D improvement after RYGB, while DJB is less difficult to realize than RYGB and promotes the same beneficial effects on body weight and glucose homeostasis. Since benefits induced by bariatric surgery seem to be the result of a number of complex mechanisms, studies from various mouse models (with or without diabetes, obese or lean) combined with pair-feeding/weight-matching approaches must now be conducted to improve our knowledge in the mechanisms underlying gastric bypass surgeries.

CONFLICT OF INTEREST

All contributing authors declare that they have no conflict of interest to disclose.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank the members of “Animalerie Lyon Est Conventionnelle et SPF” and Fanny Vulin-Bouilloux, Margaux Raffin and Blandine Gri (Université Lyon 1, Laennec) for animal care. We are also grateful to Dr Daniela Cota and Pr Carole Kretz for helpful advising in the course of this work. We thank the “Centre National de la Recherche Scientifique” (G.M.), the “Institut National de la Recherche Agronomique” (A.G.-S.) and the “Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale” (C.Z., A.D.) for funding our positions. We also wish to

thank the “Ministère de la Recherche et de l’Enseignement Supérieur” (D.G., J.V.) and the “Agence Nationale de la Recherche” (A.B.) for funding our positions as Ph.D students. This work was supported by the “Institut National de la Recherche Agronomique” and the “Agence Nationale de la Recherche” (ANR-11-BSV1-016-01 [GlucoFloraB project]).

REFERENCES

1. Rubino F. From bariatric to metabolic surgery: definition of a new discipline and implications for clinical practice. Curr Atheroscler Rep. 2013;15:369.

2. Sjöström L, Lindroos A-K, Peltonen M, Torgerson J, Bouchard C, Carlsson B, et al. Lifestyle, diabetes, and cardiovascular risk factors 10 years after bariatric surgery. N. Engl. J. Med. 2004;351:2683–93.

3. Pories WJ, Swanson MS, MacDonald KG, Long SB, Morris PG, Brown BM, et al. Who would have thought it? An operation proves to be the most effective therapy for adult-onset diabetes mellitus. Ann. Surg. 1995;222:339–50; discussion 350–2.

4. Adams TD, Pendleton RC, Strong MB, Kolotkin RL, Walker JM, Litwin SE, et al. Health outcomes of gastric bypass patients compared to nonsurgical, nonintervened severely obese. Obesity (Silver Spring). 2010;18:121–30.

5. Brethauer SA, Aminian A, Romero-Talamás H, Batayyah E, Mackey J, Kennedy L, et al. Can diabetes be surgically cured? Long-term metabolic effects of bariatric surgery in obese patients with type 2 diabetes mellitus. Ann. Surg. 2013;258:628–36; discussion 636–7.

6. Schauer PR, Burguera B, Ikramuddin S, Cottam D, Gourash W, Hamad G, et al. Effect of laparoscopic Roux-en Y gastric bypass on type 2 diabetes mellitus. Ann. Surg. 2003;238:467–84; discussion 84–5.

7. Weigle DS, Breen PA, Matthys CC, Callahan HS, Meeuws KE, Burden VR, et al. A high-protein diet induces sustained reductions in appetite, ad libitum caloric intake, and body weight despite compensatory changes in diurnal plasma leptin and ghrelin concentrations. Am. J. Clin. Nutr. 2005;82:41–8.

8. Veldhorst M, Smeets A, Soenen S, Hochstenbach-Waelen A, Hursel R, Diepvens K, et al. Protein-induced satiety: effects and mechanisms of different proteins. Physiol. Behav. 2008;94:300–7.

9. Jakubowicz D, Froy O, Wainstein J, Boaz M. Meal timing and composition influence ghrelin levels, appetite scores and weight loss maintenance in overweight and obese adults. Steroids. 2012;77:323–31.

10. Aller EEJG, Larsen TM, Claus H, Lindroos AK, Kafatos A, Pfeiffer A, et al. Weight loss maintenance in overweight subjects on ad libitum diets with high or low protein content and glycemic index: the DIOGENES trial 12-month results. Int J Obes (Lond). 2014;

11. Claessens M, van Baak MA, Monsheimer S, Saris WHM. The effect of a low-fat, high-protein or high-carbohydrate ad libitum diet on weight loss maintenance and metabolic risk factors. Int J Obes (Lond). 2009;33:296–304.

12. Gannon MC, Nuttall FQ, Saeed A, Jordan K, Hoover H. An increase in dietary protein improves the blood glucose response in persons with type 2 diabetes. Am. J. Clin. Nutr. 2003;78:734–41.

13. Nuttall FQ, Gannon MC. Metabolic response of people with type 2 diabetes to a high protein diet. Nutr Metab (Lond). 2004;1:6.

14. Duraffourd C, De Vadder F, Goncalves D, Delaere F, Penhoat A, Brusset B, et al. Mu-opioid receptors and dietary protein stimulate a gut-brain neural circuitry limiting food intake. Cell. 2012;150:377–88.

15. Fickel J, Bagnol D, Watson SJ, Akil H. Opioid receptor expression in the rat gastrointestinal tract: a quantitative study with comparison to the brain. Brain Res. Mol. Brain Res. 1997;46:1–8.

16. Bagnol D, Mansour A, Akil H, Watson SJ. Cellular localization and distribution of the cloned mu and kappa opioid receptors in rat gastrointestinal tract. Neuroscience. 1997;81:579–91.

17. Sternini C, Patierno S, Selmer I-S, Kirchgessner A. The opioid system in the gastrointestinal tract. Neurogastroenterol. Motil. 2004;16 Suppl 2:3–16.

18. Matthes HW, Maldonado R, Simonin F, Valverde O, Slowe S, Kitchen I, et al. Loss of morphine-induced analgesia, reward effect and withdrawal symptoms in mice lacking the mu-opioid-receptor gene. Nature. 1996;383:819–23.

19. Liu W, Zassoko R, Mele T, Luke P, Sun H, Liu W, et al. Establishment of duodenojejunal bypass surgery in mice: a model designed for diabetic research. Microsurgery. 2008;28:197–202.

20. Woods M, Lan Z, Li J, Wheeler MB, Wang H, Wang R. Antidiabetic effects of duodenojejunal bypass in an experimental model of diabetes induced by a high-fat diet. Br J Surg. 2011;98:686–96.

21. Nestoridi E, Kvas S, Kucharczyk J, Stylopoulos N. Resting energy expenditure and energetic cost of feeding are augmented after Roux-en-Y gastric bypass in obese mice. Endocrinology. 2012;153:2234–44.

22. Kucharczyk J, Nestoridi E, Kvas S, Andrews R, Stylopoulos N. Probing the mechanisms of the metabolic effects of weight loss surgery in humans using a novel mouse model system. J. Surg. Res. 2013;179:e91–8.

23. Hao Z, Zhao Z, Berthoud H-R, Ye J. Development and verification of a mouse model for Roux-en-Y gastric bypass surgery with a small gastric pouch. PLoS ONE. 2013;8:e52922.

24. Mokadem M, Zechner JF, Margolskee RF, Drucker DJ, Aguirre V. Effects of Roux-en-Y gastric bypass on energy and glucose homeostasis are preserved in two mouse models of functional glucagon-like peptide-1 deficiency. Mol Metab. 2014;3:191–201.

25. Lan Z, Zassoko R, Liu W, Garcia B, Sun H, Wang R, et al. Development of techniques for gastrojejunal bypass surgery in obese mice. Microsurgery. 2010;30:289–95.

26. Ullrich J, Ernst B, Wilms B, Thurnheer M, Schultes B. Roux-en Y gastric bypass surgery reduces hedonic hunger and improves dietary habits in severely obese subjects. Obes Surg. 2013;23:50–5.

27. Laurenius A, Larsson I, Melanson KJ, Lindroos AK, Lönroth H, Bosaeus I, et al. Decreased energy density and changes in food selection following Roux-en-Y gastric bypass. Eur J Clin Nutr. 2013;67:168–73.

28. Liou AP, Paziuk M, Luevano J-M, Machineni S, Turnbaugh PJ, Kaplan LM. Conserved shifts in the gut microbiota due to gastric bypass reduce host weight and adiposity. Sci Transl Med. 2013;5:178ra41.

29. Zechner JF, Mirshahi UL, Satapati S, Berglund ED, Rossi J, Scott MM, et al. Weight-independent effects of roux-en-Y gastric bypass on glucose homeostasis via melanocortin-4 receptors in mice and humans. Gastroenterology. 2013;144:580–90.e7.

30. Tabarin A, Diz-Chaves Y, Chaves YD, Carmona M del C, Catargi B, Zorrilla EP, et al. Resistance to diet-induced obesity in mu-opioid receptor-deficient mice: evidence for a “thrifty gene.” Diabetes. 2005;54:3510–6.

31. Zuberi AR, Townsend L, Patterson L, Zheng H, Berthoud H-R. Increased adiposity on normal diet, but decreased susceptibility to diet-induced obesity in mu-opioid receptor-deficient mice. Eur. J. Pharmacol. 2008;585:14–23.

32. Yan S, Sun F, Li Z, Xiang J, Ding Y, Lu Z, et al. Reduction of intestinal electrogenic glucose absorption after duodenojejunal bypass in a mouse model. Obes Surg. 2013;23:1361–9.

33. Swenson BR, Saalwachter Schulman A, Edwards MJ, Gross MP, Hedrick TL, Weltman AL, et al. The effect of a low-carbohydrate, high-protein diet on post laparoscopic gastric bypass weight loss: a prospective randomized trial. J. Surg. Res. 2007;142:308–13.

34. Faria SL, de Oliveira Kelly E, Lins RD, Faria OP. Nutritional management of weight regain after bariatric surgery. Obes Surg. 2010;20:135–9.

35. Moizé V, Andreu A, Rodríguez L, Flores L, Ibarzabal A, Lacy A, et al. Protein intake and lean tissue mass retention following bariatric surgery. Clin Nutr. 2013;32:550–5.

ARTICLE 2

MODIFICATIONS OF ENDOGENOUS GLUCOSE PRODUCTION AND FOOD INTAKE AFTER DUODENAL-JEJUNAL BYPASS IN THE MOUSE

Aude Barataud (PhD student)[1-3], Jennifer Vinera (PhD student)[1-3], Daisy Goncalves (PhD)[1-3], Carine Zitoun (research assistant)[1-3], Adeline Duchampt (research assistant)[1-3], Amandine Gautier-Stein (PhD)[1-3] and Gilles Mithieux (PhD)[1-3].

[1] Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, U855, Lyon, F-69008, France

[2] Université de Lyon, Lyon, F-69008, France

[3] Université Lyon 1, Villeurbanne, F-69622, France

INTRODUCTION

Over the past several decades, obesity has become a major health concern affecting hundreds of millions of people (1). The rise in the prevalence of obesity is associated with increase in the prevalence of metabolic disorders associated with excess body weight, in particular type 2 diabetes mellitus (T2DM). The primary therapy for obese patients who have T2DM is to induce weight loss, which improves the major factors involved in the pathogenesis of T2DM (2). However, most patients with T2DM fail to achieve successful weight loss and adequate glycaemic control from medical therapy. In contrast, bariatric surgeries have emerged as an effective treatment for obesity and T2DM (3,4). The Roux-en-Y gastric bypass (RYGB) procedure is one of the most efficient bariatric surgeries including a gastrointestinal rearrangement combined with a stomach volume restriction. RYGB induces a substantial and sustained weight loss of up to 30% and an enhanced postprandial satiety (5,6) but also a rapid T2DM improvement, before any weight loss has occurred (7,8). However, the underlying mechanisms of the weight-loss independent effects of RYGB on glucose homeostasis remain unclear.

Endogenous glucose production is a crucial metabolic function deregulated during T2DM. Indeed, hepatic glucose production (HGP) is increased in type 2 diabetic patients and causally related to hyperglycaemia and insulin resistance (9–12). On the contrary, an increase in intestinal glucose production has been proven to induce beneficial effects on glucose and energy metabolism. Indeed, glucose produced by intestinal gluconeogenesis (IGN) is released into the portal vein and detected by a portal glucose sensor (13) that initiates a gut-brain neural circuit inducing satiety (14,15), an increase in hepatic insulin sensitivity and a decrease in HGP (16,17).

After bariatric surgery in humans, changes in endogenous glucose production (EGP) have been reported in favor of an induction of IGN and a decrease in HGP (18,19). In rodents,

bariatric surgeries induce changes in gene and protein expression of glucose-6-phosphatase (G6Pase), a key regulatory enzyme of endogenous glucose production. Indeed, G6Pase expression is decreased in the liver and increased in the intestine of rats undergoing a bariatric surgery with intestinal rearrangement (20,21). Moreover, using a mouse model of entero-gastro anastomosis (EGA), a model of stomach-sparing intestinal bypass, we demonstrated first that intestinal G6Pase activity and intestinal glucose production were increased specifically after EGA (22). Secondly, we showed that benefits of EGA on glucose homeostasis were abolished after the inactivation of the portal nervous afferents, suggesting a causal role of increased intestinal glucose production in the improved glucose control after this surgery (22). These modifications of endogenous glucose production after intestinal bypass surgeries could explain the major beneficial effects of these surgeries on the rapid improvements of glucose homeostasis.

This paper aims to assess the causal role of IGN in the improvements of glycaemic parameters after RYGB. To address this question, we performed duodenal-jejunal bypass (DJB), a surgery that reproduces the intestinal anatomy rearrangement of RYGB (Supplemental Figure 1), in wild-type mice and in mice lacking IGN thanks to an intestinal-specific-knockout of the catalytic subunit (*G6pc*) of G6Pase (I-G6pc$^{-/-}$ mice), the key enzyme in EGP.

MATERIALS AND METHODS

Animals and diets

All the experiments were carried out in accordance with the principles and guidelines established by the European Convention for the Protection of Laboratory Animals and approved by our regional animal care committee (C2EA-55, Université Lyon 1, Lyon).

Male C57Bl/6J wild-type mice (WT) were purchased from Charles River Laboratories at 4 weeks of age. Mice with an intestine-specific disruption of the glucose-6-phosphatase gene (I-

G6pc$^{-/-}$ mice) were generated as described previously (23). All the mice were housed in the animal facility of Lyon 1 University under controlled temperature (22±2° C) and lighting (12 h light/dark cycle with light at 7 a.m.) with free access to food and water.

To induce obesity and diabetes, 4-weeks old WT and I-G6pc$^{-/-}$ mice were placed on high-fat/high-sucrose (HF-HS) diet for 20 weeks prior to surgery. HF-HS diet, consisting of 36.1% fat, 35% carbohydrates (50% maltodextrine + 50% sucrose) and 19.8% proteins, was produced by the Unité de Préparation des Aliments Expérimentaux (INRA, UE0300, Jouy-en-Josas, France). For experiments in lean animals, WT and I-G6pc$^{-/-}$ mice were maintained on standard diet (SAFE A04, Augis, France) and surgery was performed at 14-weeks old. All the animals were maintained on their respective diet after surgery.

For each genotype (WT and I-G6pc$^{-/-}$), two groups were constituted at the day of surgery in mice fed a standard diet: duodenal-jejunal bypass-treated mice (DJB) and sham-operated mice (sham). Experiments on obese mice involved a third group: the sham-operated pair-fed mice (sham-PF). Sham-PF mice received sham surgery and were pair-fed to match the daily food intake of the DJB mice.

Surgical Procedures

Duodenal-jejunal bypass surgery was performed under controlled anaesthesia as it has been described in details previously (Supplemental Figure 1). Briefly, the small intestine was transected 3-4 cm distal to the ligament of Treitz. The proximal intestine was anastomosed 5-6 cm beyond the distal intestine in an and-to-side fashion using a running suture (Ethicon nylon 8-0). Then, the distal intestine was anastomosed to the glandular stomach with a 8-0 nylon running suture (Ethicon). Finally the pylorus was surrounded and ligated with a 6-0 nylon suture thread (Ethicon). This surgery resulted in the creation of 3 intestinal limbs: alimentary and biliopancreatic limbs of approximately 6 cm each and common limb of nearly

20 cm. Sham operations consisted of a laparotomy and repair. Analgesia was provided by ketoprofen injection (5 mg/kg) at the end of the surgery and a subcutaneous injection of 1.5 mL of NaCl 0.9% was performed to avoid deshydratation.

The first week after surgery mice were individually housed and put on heating pad set at 37°C to improve healing and recovery and then mice were group-housed (2-4 mice per cage). All mice received daily ketoprofen (5 mg/kg) for 4 days. After the surgery, mice were given ad libitum access to water but were deprived of food during 24h and then were provided approximately 2 mL of liquid diet (Ensure). From the second postoperative day, mice were fed ad libitum with the appropriate food (HF-HS or standard diet), except for sham-PF mice.

Glucose and Insulin Tolerance Tests

Glucose tolerance test (GTT) and insulin tolerance test (ITT) were carried out 2 and 3 weeks after the surgery, respectively. Animals were fasted for 16 (GTT) or 6 hr (ITT) and then received an intraperitoneal injection of glucose (1 g/kg) or insulin (0.75 IU/kg for obese mice and 0.5 IU/kg for lean mice, Insulatard, Novo Nordisk). Blood glucose was monitored for 120 (GTT) or 90 min (ITT) using a glucometer (Accu-Check, Roche) on samples collected from the tip of the tail vein. Insulinemia was quantified using an ELISA kit (Mercodia).

Body Weight, Food Intake, Metabolic Cage and Acid Steatocrit

Body weight and food intake was monitored daily during 25 days. On postoperative days 25-28, mice were placed on metabolic cages during 48 hours. Food intake and water consumption were measured and urine and stools were collected at the end of the 48 hs experiment. Fecal fat excretion was determined using acid steatocrit method. Frozen stools samples were powdered and mixed with 1N perchloric acid and 0.5% oil red O. The homogenates were placed in a capillary tube and centrifuged and the length of the different

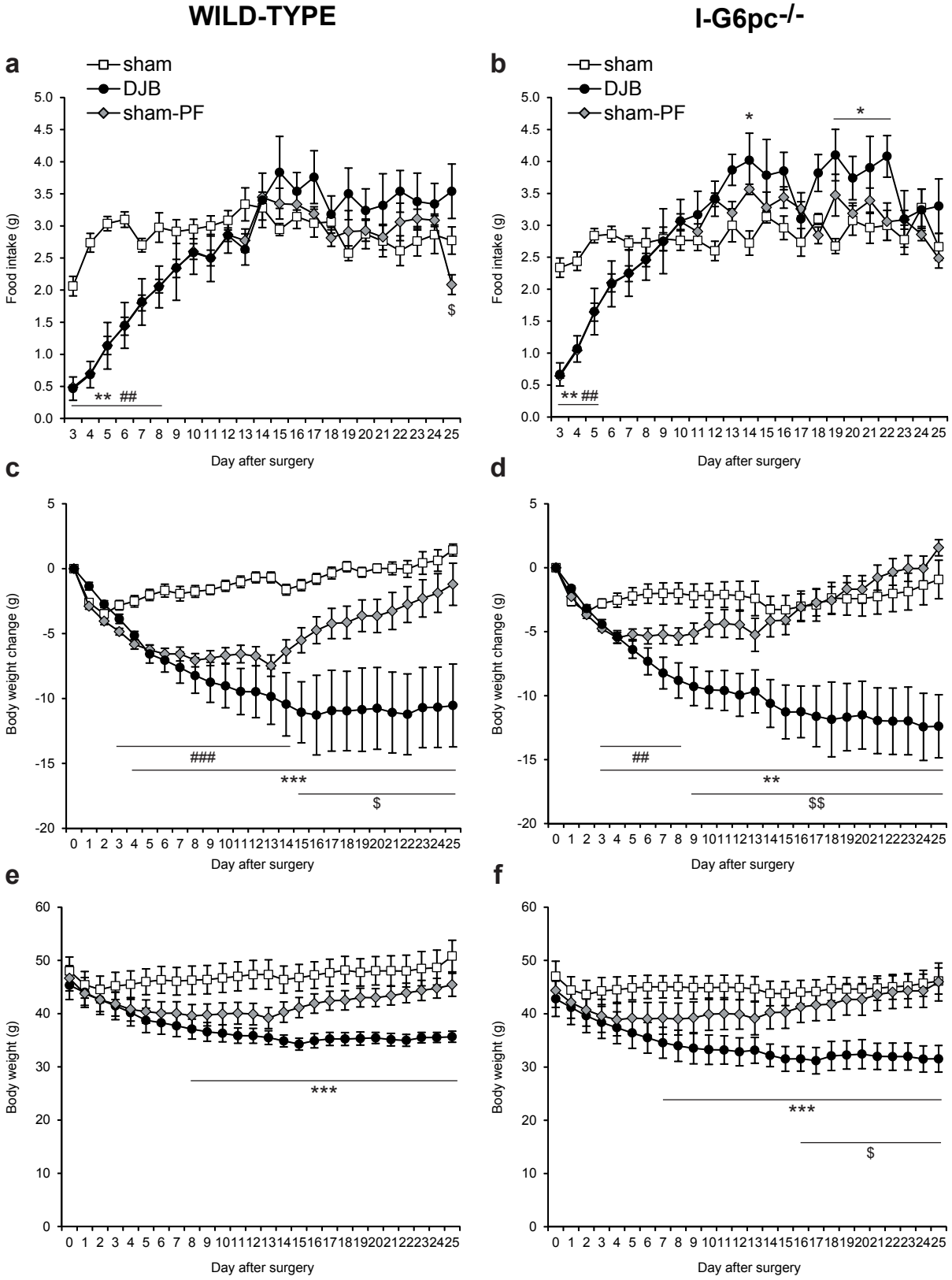


Figure 1: Effects of duodenal-jejunal bypass on food intake and body weight in wild-type and I-G6pc$^{-/-}$ obese mice.

a-b Evolution of food intake, **c-d** body weight change and **e-f** body weight of WT and I-G6pc$^{-/-}$ obese mice fed a high-fat hjgh-sucrose diet after DJB (black circles), sham (white squares) or sham pair-fed surgery (grey diamonds). n=8 for WT sham group, n=6 for WT DJB group, n=8 for WT sham-PF group, n=8 for I-G6pc$^{-/-}$ sham group, n=6 for I-G6pc$^{-/-}$ DJB group, n=7 for I-G6pc$^{-/-}$ sham-PF group; *p<0.05, **p<0.01 and ***p<0.001 for DJB vs sham group; ##p<0.001 and ###p<0.001 for sham-PF vs sham group; $p<0.05 and $$p<0.01 for DJB vs sham-PF group.

layers was measured under a microscope. Steatocrit was calculated as 100 x [length of fatty layer / (length of solid layer + length of fatty layer)]. Fecal fat excretion was calculated as acid steatocrite (%) x 48 h stool weight.

Tissue sampling and metabolic studies

Thirty days after surgery, 6 hours-fasted mice were euthanized by cervical dislocation. The different limbs of the intestine of DJB mice were measured and rinsed using saline solution and rapidly frozen at liquid nitrogen temperature to be stored at -80°C until use. For sham mice, intestine was cut in fragments reproducing the length of the limbs of DJB mice. The liver was removed and frozen using tongs previously chilled in liquid N_2. G6Pase activity was assayed under maximal velocity conditions as previously described (24,25). Liver protein content was measured using the Pierce BCA protein assay kit (Thermo Scientific).

Statistical analysis

The results were expressed as mean ± SEM. Areas under the curves (AUC) were calculated by trapezoidal integration. Unpaired Student's t test was used for two-group comparisons. One-way ANOVA followed by Tukey's post-hoc test was used for three-group comparisons. $p<0.05$ was considered significant.

RESULTS

Duodenal-jejunal bypass in obese wild-type and I-G6pc$^{-/-}$ mice results in transient reduction of food intake and substantial weight loss.

In obese WT mice fed a HF-HS diet, DJB resulted in a transient decrease in food intake from postoperative day 3 to postoperative day 8 (Figure 1a). Then, food intake of DJB WT mice

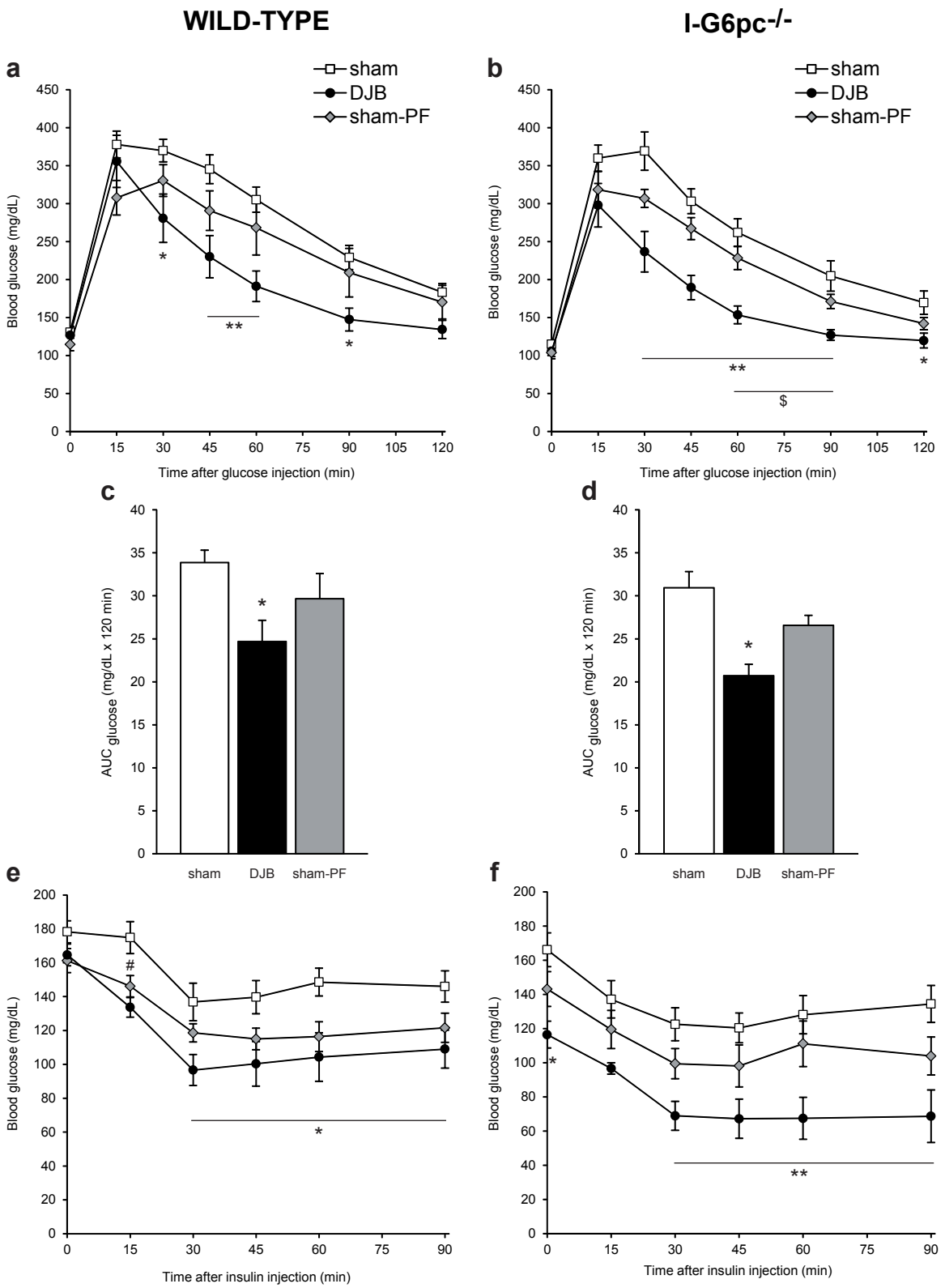


Figure 2: Effects of duodenal-jejunal bypass on glucose homeostasis in wild-type and I-G6pc$^{-/-}$ obese mice.

a-b Evolution of glucose during glucose tolerance test performed 2 weeks after surgery, **c-d** area under the curve of glucose tolerance test and **e-f** evolution of glucose during insulin tolerance test performed 3 weeks after surgery in WT and I-G6pc$^{-/-}$ obese mice fed a high-fat high-sucrose diet after DJB (black circles), sham (white squares) or sham pair-fed surgery (grey diamonds). n=8 for WT sham group, n=6 for WT DJB group, n=8 for WT sham-PF group, n=8 for I-G6pc$^{-/-}$ sham group, n=6 for I-G6pc$^{-/-}$ DJB group, n=7 for I-G6pc$^{-/-}$ sham-PF group; *p<0.05 and **p<0.01 for DJB vs sham group; $p<0.05 for DJB vs sham-PF group; n.s. between sham-PF and sham group.

reached the same level as the one of sham WT mice until the end of the study. In obese I-G6pc$^{-/-}$ mice, DJB induced a similar effect on food intake as in WT mice, except that the hypophagic period was shorter (only 2 days) and that DJB I-G6pc$^{-/-}$ mice exhibited a short hyperphagic rebound from postsurgical day 19 to 22 (Figure 1b). Regardless of the genotype, DJB resulted in a rapid and substantial weight loss (WT mice Figure 1c and I-G6pc$^{-/-}$ mice Figure 1d) of about 11 g in 2 weeks. Then, DJB mice stabilized their body weight around 35 g for WT mice (Figure 1e) and 32 g for I-G6pc$^{-/-}$ mice (Figure 1f). To distinguish the specific effects of DJB surgery from those related to the transient decrease in food intake, a group of sham-operated mice exactly pair-fed with DJB mice was studied (sham-PF, grey diamond, Figure 1). Weight loss after pair-feeding was less important than after DJB in both WT (Figure 1c) and in I-G6pc$^{-/-}$ mice (Figure 1d). Above all, sham-PF mice rapidly exhibited weight regain so that their body weight was not significantly different from the one of sham mice throughout the study (Figure 1e for WT mice, Figure 1f for I-G6pc$^{-/-}$ mice).

Thus, these data reveal that in obese mice: 1) DJB promotes a transient decrease only in food intake but a lasting decrease in body weight; 2) the dramatic weight loss induced by DJB is only partly dependent on the decrease in food intake; 3) the modifications in body weight after DJB surgery in obese mice are not dependent on intestinal gluconeogenesis (IGN); 4) the deficiency in IGN is associated to a shorter hypophagia period and a hyperphagia rebound after DJB.

Glucose tolerance and insulin sensitivity are improved in obese wild-type and I-G6pc$^{-/-}$ mice after duodenal-jejunal bypass.

Figure 2a shows that DJB in WT mice induced a marked improvement in glucose tolerance compared to sham WT mice, whereas pair-feeding did not result in a significant improvement in glucose tolerance compared to sham mice (Figure 2a). Similar results were observed in I-

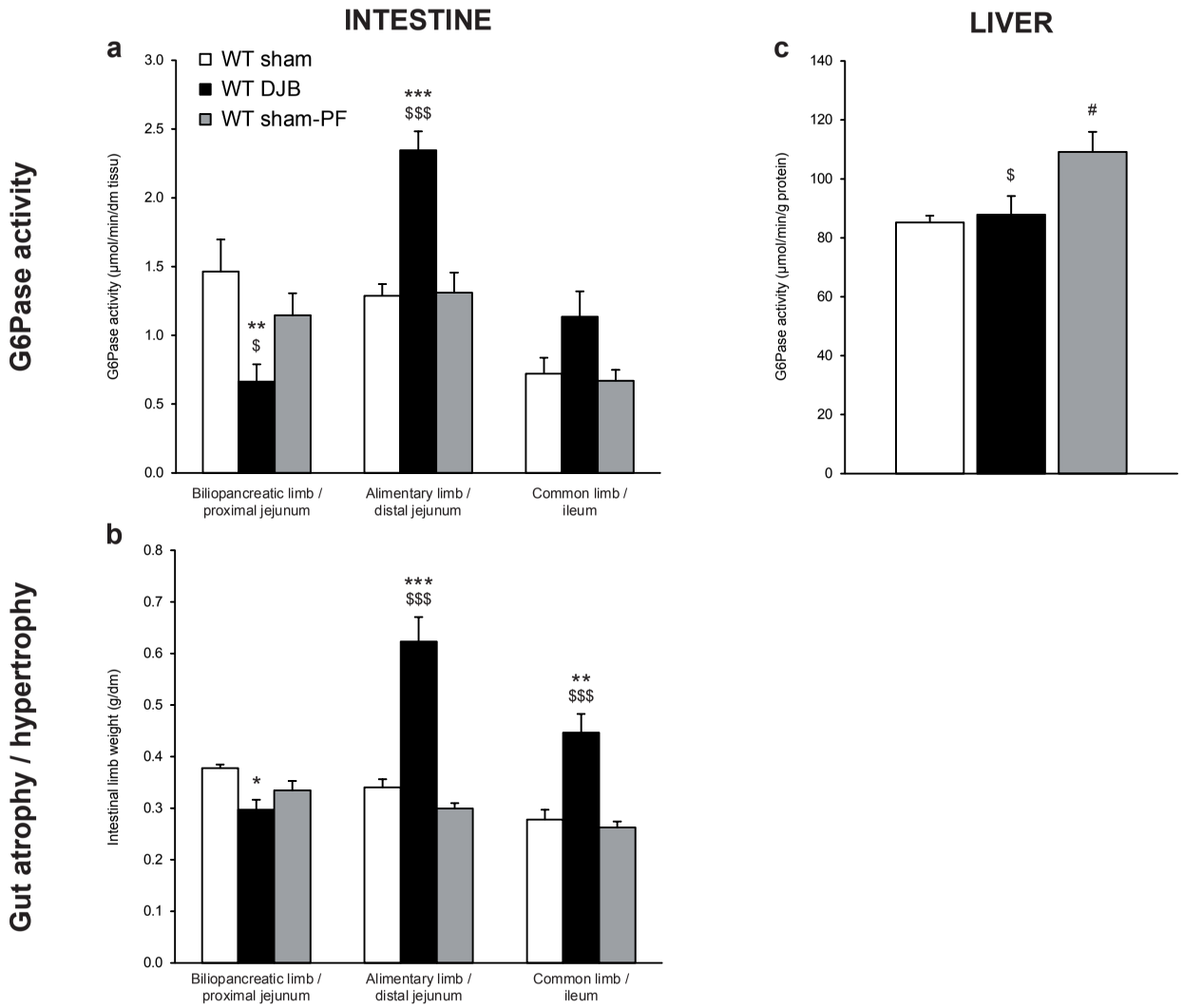


Figure 3: Changes in glucose-6-phosphatase activity and gut morphology after duodenal-jejunal bypass in wild-type obese mice.

a Activity of the glucose-6-phosphatase (G6Pase) in the intestine, **b** weight of the intestinal limbs and **c** G6Pase activity in the liver of WT obese mice after DJB (black column), sham (white column) or sham pair-fed surgery (grey column). n=8 for WT sham group, n=6 for WT DJB group, n=8 for WT sham-PF group; *p<0.05, **p<0.01 and ***p<0.001 for DJB vs sham group; #p<0.05 for sham-PF vs sham group; $p<0.05 and $$$p<0.001 for DJB vs sham-PF group.

G6pc$^{-/-}$ DJB and sham-PF mice compared to I-G6pc$^{-/-}$ sham mice (Figure 2b). These findings were confirmed by the total areas under the curve of glucose tolerance test (Figure 2c and 2d). Results from insulin tolerance test showed that DJB WT mice displayed a substantial improvement in insulin sensitivity compared to sham WT mice (Figure 2e). As for glucose tolerance, sham-PF WT mice exhibited no significant improvement in insulin sensitivity (Figure 2e). Comparable outcomes about insulin sensitivity were observed in I-G6pc$^{-/-}$ mice (Figure 2f).

Together, these results highlight that the blunting in food intake after DJB could not explain *per se* the marked enhancement in glucose homeostasis. These findings also show that DJB in WT and I-G6pc$^{-/-}$ obese mice resulted in similar improvements in glucose tolerance and insulin sensitivity, suggesting that IGN was not crucial in these benefits. However, the contribution of IGN to the glycaemic parameters improvements after DJB might be hidden by the substantial weight loss induced by this surgery.

Duodenal-jejunal bypass in obese mice induces modification of intestinal glucose-6-phosphatase activity.

Then, we analyzed the G6Pase activity in the liver and the intestine of obese WT mice after DJB, to determine whether the endogenous glucose production capacity was modified in DJB. As presented in Figure 3a, DJB mice displayed a decrease in G6Pase activity in the biliopancreatic limb compared to sham and sham-PF WT mice. On the contrary, G6Pase activity was markedly increased in the alimentary limb after DJB and showed only a tendency to increase in the common limb of DJB WT mice. These changes in G6Pase enzymatic activity were directly correlated with the weight changes in intestinal limbs after DJB. Indeed, we observed a slight intestinal atrophy of the biliopancreatic segment, whereas a marked hypertrophy was observed in the alimentary and common limbs of DJB WT mice (Figure 3b).

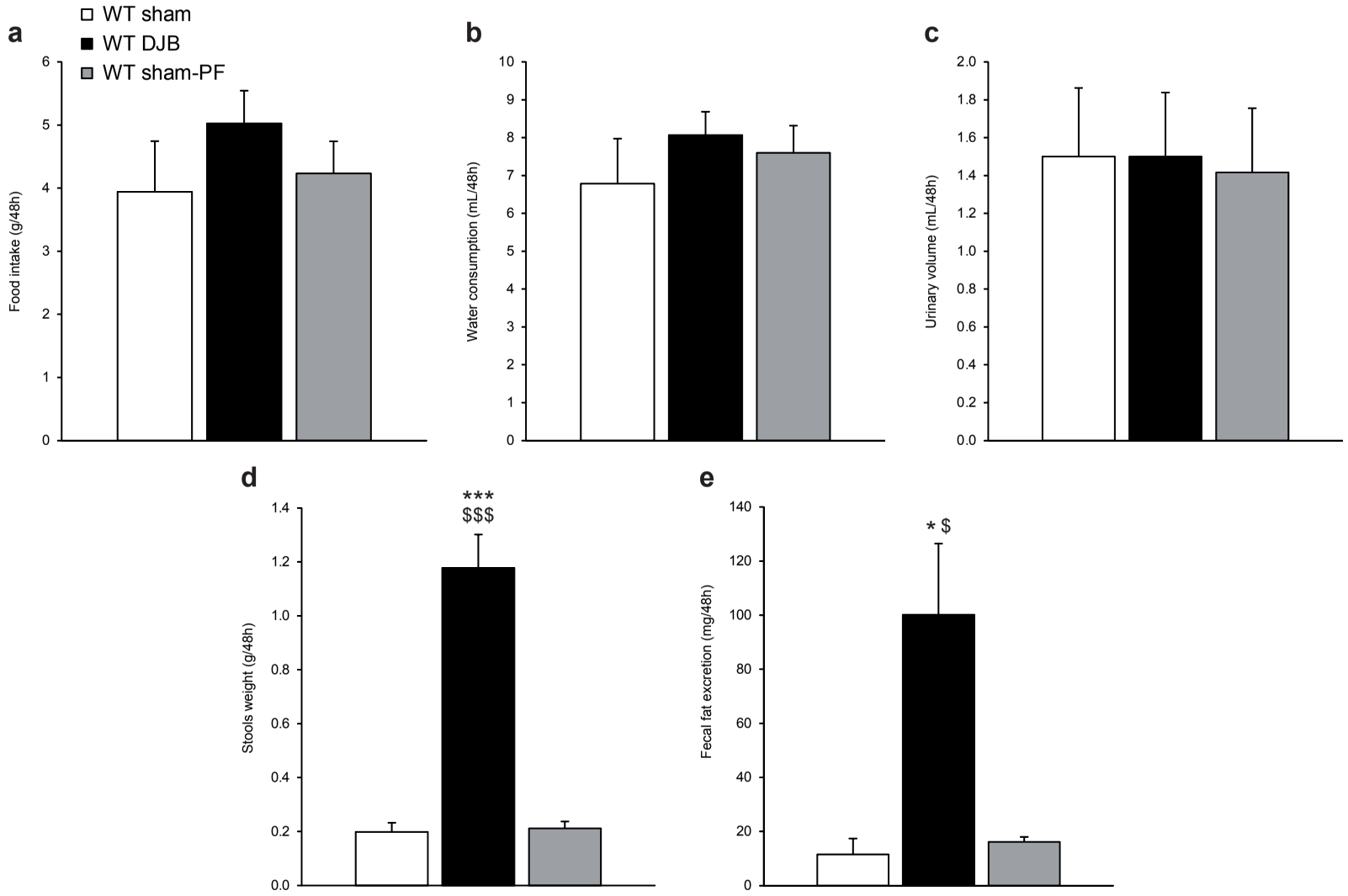


Figure 4: Results of 48 hours-metabolic cages in wild-type obese mice after duodenal-jejunal bypass.

a Food intake, **b** water consumption, **c** urinary volume, **d** stools weight and **e** fecal fat excretion during 48 hours-metabolic cages in WT obese mice after DJB (black column), sham (white column) or sham pair-fed surgery (grey column). n=6 for WT sham group, n=5 for WT DJB group, n=6 for WT sham-PF group; *p<0.05 and ***p<0.001 for DJB vs sham group; $p<0.05 and $$$p<0.001 for DJB vs sham-PF group; n.s. between sham-PF and sham group.

Thus, after DJB surgery, there was a redistribution of the G6Pase activity in the enlarged intestinal limbs where the food passes, at the expense of the atrophied gut limb receiving biliopancreatic secretions. Hepatic G6Pase activity was similar in DJB and sham mice, while it was increased in sham-PF mice, possibly reflecting an adaptive response to food intake modifications (Figure 3c). These data suggest that hepatic glucose production could be a target of DJB surgery, since the increase in G6Pase activity due to food restriction was not observed in DJB mice.

Together, these data highlight that endogenous glucose production was modified after DJB in obese mice, especially in the gut.

In obese mice, an important malabsorption might account for the substantial weight loss induced by duodenal-jejunal bypass

Since the dramatic DJB-induced weight loss in both WT and I-G6pc$^{-/-}$ mice could not be ascribed to the decreased food intake, we assessed the question of a possible malabsorption of nutrients consecutive to the surgery. Data obtained from 48 hours-studies in metabolic cages in WT obese mice showed that food intake (Figure 4a), water consumption (Figure 4b) and urinary volume (Figure 4c) were similar in sham, DJB and sham-PF groups. However, the stools weight of DJB WT mice was approximately 6-fold increased compared with sham and sham-PF WT mice (Figure 4d). This significant increase in fecal output after DJB indicated a strong malabsorption after the surgical procedure. This substantial loss of energy in the feces appeared to be mainly due to fat malabsorption as fecal fat excretion was on average 7 times higher in DJB WT mice than in sham and sham-PF WT mice (Figure 4e).

These findings would therefore suggest that the predominant mechanism of weight loss after DJB in obese mice fed a high-calorie diet is malabsorption and substantial loss of energy, probably mainly from fat, in the feces.

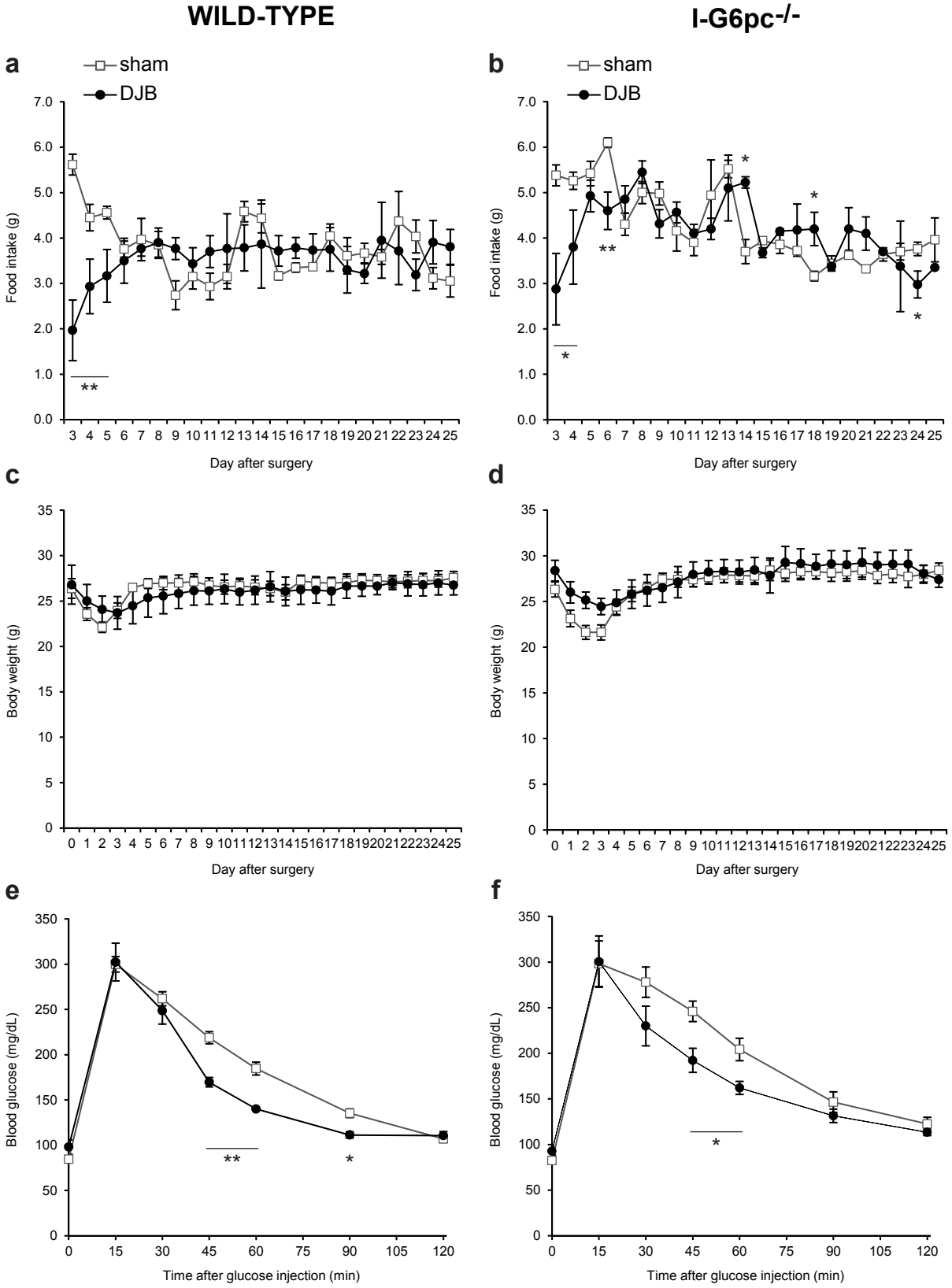


Figure 5: Effects of duodenal-jejunal bypass on food intake, body weight and glucose tolerance in wild-type and I-G6pc$^{-/-}$ lean mice.

a-b Evolution of food intake, **c-d** body weight and **e-f** evolution of glucose during glucose tolerance test in WT and I-G6pc$^{-/-}$ lean mice fed a standard diet after DJB (black circles) or sham surgery (white squares). n=6 for WT sham group, n=4 for WT DJB group, n=5 for I-G6pc$^{-/-}$ sham group, n=4 for I-G6pc$^{-/-}$ DJB group; *p<0.05 and **p<0.01 vs sham group.

In lean wild-type and I-G6pc$^{-/-}$ mice, duodenal-jejunal bypass improves glucose tolerance without inducing weight loss or decrease in food intake.

To avoid the problem of massive weight loss, we studied the metabolic effects of DJB surgery in lean mice fed a standard diet. Indeed, data from our previous work and data from the literature showed that in lean mice DJB caused little or no weight loss (26,27). Concerning food intake, DJB WT mice showed only a short and modest hypophagia from the 3rd to the 5th postsurgical day and then ate the same amount of food as sham WT mice (Figure 5a). In I-G6pc$^{-/-}$ mice, DJB induced comparable outcomes except that minor variations in food intake were found punctually (Figure 5b). As expected, DJB in lean mice did not induce weight loss, allowing DJB mice to exhibit a similar body weight than sham mice throughout the study, both in WT (Figure 5c) and I-G6pc$^{-/-}$ mice (Figure 5d). No nutrient malabsorption occurred in lean mice fed a standard diet, as demonstrated by the results from metabolic cages assessment (Supplemental Figure 2). Regarding glycaemic parameters, glucose tolerance was improved after DJB surgery in WT (Figure 5e) and I-G6pc$^{-/-}$ mice (Figure 5f), whereas no change in insulin sensitivity was observed in the two mouse strains (Supplemental Figure 3).

Taken together, these data suggest that in lean mice fed a standard diet, DJB induces neither nutrient malabsorption nor weight loss. A possible explanation is that malabsorption would primarily relate to lipids, so that it would occur only when mice are fed with a high-fat diet. Our findings also show that improvement in glucose tolerance after DJB in lean mice would likely not be dependent on the presence of IGN.

Duodenal-jejunal bypass decreases hepatic glucose-6-phosphatase activity in lean wild-type mice.

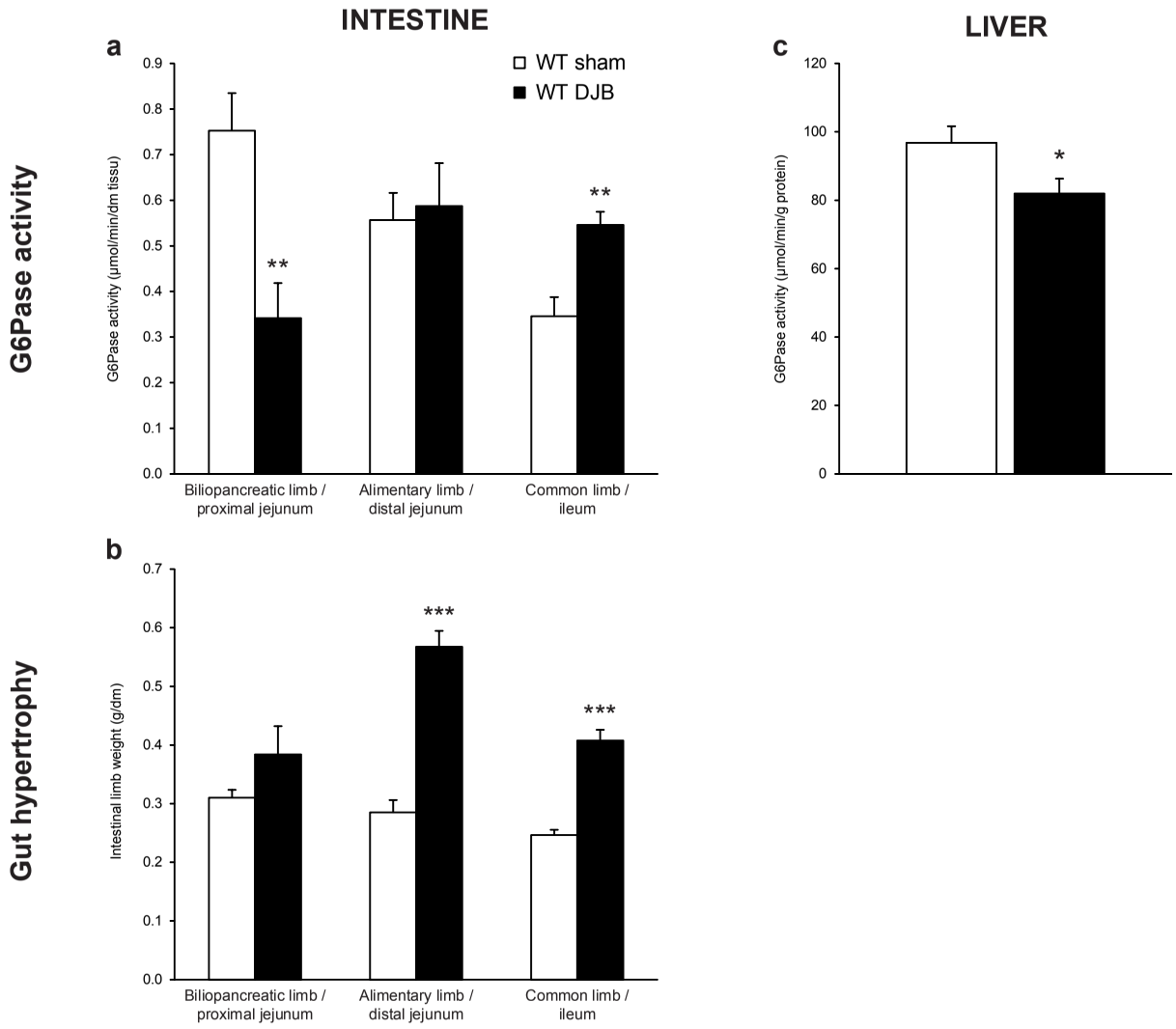


Figure 6: Changes in glucose-6-phosphatase activity and gut morphology after duodenal-jejunal bypass in wild-type lean mice.

a Activity of the glucose-6-phosphatase (G6Pase) in the intestine, **b** weight of the intestinal limbs and **c** G6Pase activity in the liver of WT lean mice after DJB (black column) or sham surgery (white column). n=6 for WT sham group, n=4 for WT DJB group; *p<0.05, **p<0.01 and ***p<0.001 vs sham group.

To assess whether endogenous glucose production is modulated after DJB in lean mice, we studied the G6Pase activity in the intestine and liver of WT lean mice. We showed that intestinal G6Pase activity was modified after DJB (Figure 6a). Indeed, G6Pase activity was decreased in the biliopancreatic limb, unchanged in the alimentary limb and increased in the common limb after DJB. Morphological changes of the intestine were observed after DJB in lean mice, including hypertrophy of the alimentary and common limb, as pointed out by the greater weight of these limbs after DJB (Figure 6b). In the liver, G6Pase activity was significantly decreased in DJB WT mice compared to sham mice (Figure 6c) and this decrease was also observed in I-G6pc$^{-/-}$ DJB mice (data not shown).

These results show, firstly, that the rearrangement of the intestinal tract after DJB in lean mice induces morphological adaptation of the gut, as in obese mice, with significant changes in G6Pase activity. Secondly, DJB induces an IGN-independent decrease of hepatic G6Pase activity that probably reflects a decrease in hepatic glucose production, which might contribute to the glucose tolerance improvement after DJB surgery in lean mice.

REFERENCES

1. Ng M, Fleming T, Robinson M, Thomson B, Graetz N, Margono C, et al. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. Lancet. 2014 Aug 30;384(9945):766–81.

2. Vetter ML, Amaro A, Volger S. Nutritional management of type 2 diabetes mellitus and obesity and pharmacologic therapies to facilitate weight loss. Postgrad Med. 2014 Jan;126(1):139–52.

3. Rubino F. From bariatric to metabolic surgery: definition of a new discipline and implications for clinical practice. Curr Atheroscler Rep. 2013 Dec;15(12):369.

4. Sjöström L, Lindroos A-K, Peltonen M, Torgerson J, Bouchard C, Carlsson B, et al. Lifestyle, diabetes, and cardiovascular risk factors 10 years after bariatric surgery. N Engl J Med. 2004 Dec 23;351(26):2683–93.

5. Le Roux CW, Aylwin SJB, Batterham RL, Borg CM, Coyle F, Prasad V, et al. Gut hormone profiles following bariatric surgery favor an anorectic state, facilitate weight loss, and improve metabolic parameters. Ann Surg. 2006 Jan;243(1):108–14.

6. Sjöström 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 Mar;273(3):219–34.

7. Pories WJ, Swanson MS, MacDonald KG, Long SB, Morris PG, Brown BM, et al. Who would have thought it? An operation proves to be the most effective therapy for adult-onset diabetes mellitus. Ann Surg. 1995 Sep;222(3):339–50; discussion 350–2.

8. Wickremesekera K, Miller G, Naotunne TD, Knowles G, Stubbs RS. Loss of insulin resistance after Roux-en-Y gastric bypass surgery: a time course study. Obes Surg. 2005 Apr;15(4):474–81.

9. Clore JN, Stillman J, Sugerman H. Glucose-6-phosphatase flux in vitro is increased in type 2 diabetes. Diabetes. 2000 Jun;49(6):969–74.

10. Trinh KY, O'Doherty RM, Anderson P, Lange AJ, Newgard CB. Perturbation of fuel homeostasis caused by overexpression of the glucose-6-phosphatase catalytic subunit in liver of normal rats. J Biol Chem. 1998 Nov 20;273(47):31615–20.

11. Magnusson I, Rothman DL, Katz LD, Shulman RG, Shulman GI. Increased rate of gluconeogenesis in type II diabetes mellitus. A 13C nuclear magnetic resonance study. J Clin Invest. 1992 Oct;90(4):1323–7.

12. Gerich JE. Is muscle the major site of insulin resistance in type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus? Diabetologia. 1991 Aug;34(8):607–10.

13. Delaere F, Duchampt A, Mounien L, Seyer P, Duraffourd C, Zitoun C, et al. The role of sodium-coupled glucose co-transporter 3 in the satiety effect of portal glucose sensing. Mol Metab. 2012;2(1):47–53.

14. Duraffourd C, De Vadder F, Goncalves D, Delaere F, Penhoat A, Brusset B, et al. Mu-opioid receptors and dietary protein stimulate a gut-brain neural circuitry limiting food intake. Cell. 2012 Jul 20;150(2):377–88.

15. Mithieux G, Misery P, Magnan C, Pillot B, Gautier-Stein A, Bernard C, et al. Portal sensing of intestinal gluconeogenesis is a mechanistic link in the diminution of food intake induced by diet protein. Cell Metab. 2005 Nov;2(5):321–9.

16. Pillot B, Soty M, Gautier-Stein A, Zitoun C, Mithieux G. Protein feeding promotes redistribution of endogenous glucose production to the kidney and potentiates its suppression by insulin. Endocrinology. 2009 Feb;150(2):616–24.

17. De Vadder F, Kovatcheva-Datchary P, Goncalves D, Vinera J, Zitoun C, Duchampt A, et al. Microbiota-generated metabolites promote metabolic benefits via gut-brain neural circuits. Cell. 2014 Jan 16;156(1-2):84–96.

18. Hayes MT, Foo J, Besic V, Tychinskaya Y, Stubbs RS. Is intestinal gluconeogenesis a key factor in the early changes in glucose homeostasis following gastric bypass? Obes Surg. 2011 Jun;21(6):759–62.

19. Immonen H, Hannukainen JC, Iozzo P, Soinio M, Salminen P, Saunavaara V, et al. Effect of bariatric surgery on liver glucose metabolism in morbidly obese diabetic and non-diabetic patients. J Hepatol. 2014 Feb;60(2):377–83.

20. Kim M, Son YG, Kang YN, Ha TK, Ha E. Changes in Glucose Transporters, Gluconeogenesis, and Circadian Clock after Duodenal-Jejunal Bypass Surgery. Obes Surg. 2014 Sep 4;

21. Sun D, Wang K, Yan Z, Zhang G, Liu S, Liu F, et al. Duodenal-jejunal bypass surgery up-regulates the expression of the hepatic insulin signaling proteins and the key regulatory enzymes of intestinal gluconeogenesis in diabetic Goto-Kakizaki rats. Obes Surg. 2013 Nov;23(11):1734–42.

22. Troy S, Soty M, Ribeiro L, Laval L, Migrenne S, Fioramonti X, et al. Intestinal gluconeogenesis is a key factor for early metabolic changes after gastric bypass but not after gastric lap-band in mice. Cell Metab. 2008 Sep;8(3):201–11.

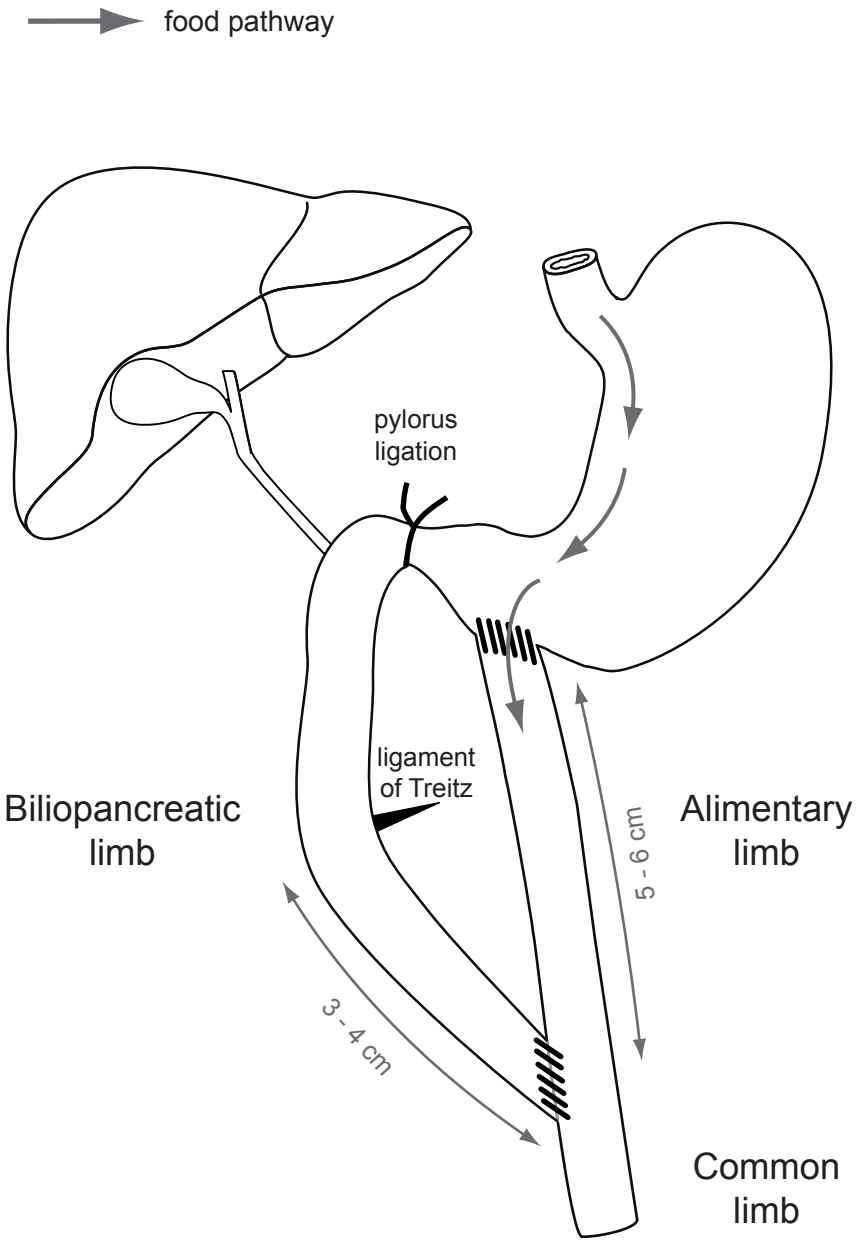
23. Penhoat A, Mutel E, Amigo-Correig M, Pillot B, Stefanutti A, Rajas F, et al. Protein-induced satiety is abolished in the absence of intestinal gluconeogenesis. Physiol Behav. 2011 Nov 30;105(1):89–93.

24. 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 Jul;117(1):132–9.

25. Mithieux G, Daniele N, Payrastre B, Zitoun C. Liver microsomal glucose-6-phosphatase is competitively inhibited by the lipid products of phosphatidylinositol 3-kinase. J Biol Chem. 1998 Jan 2;273(1):17–9.

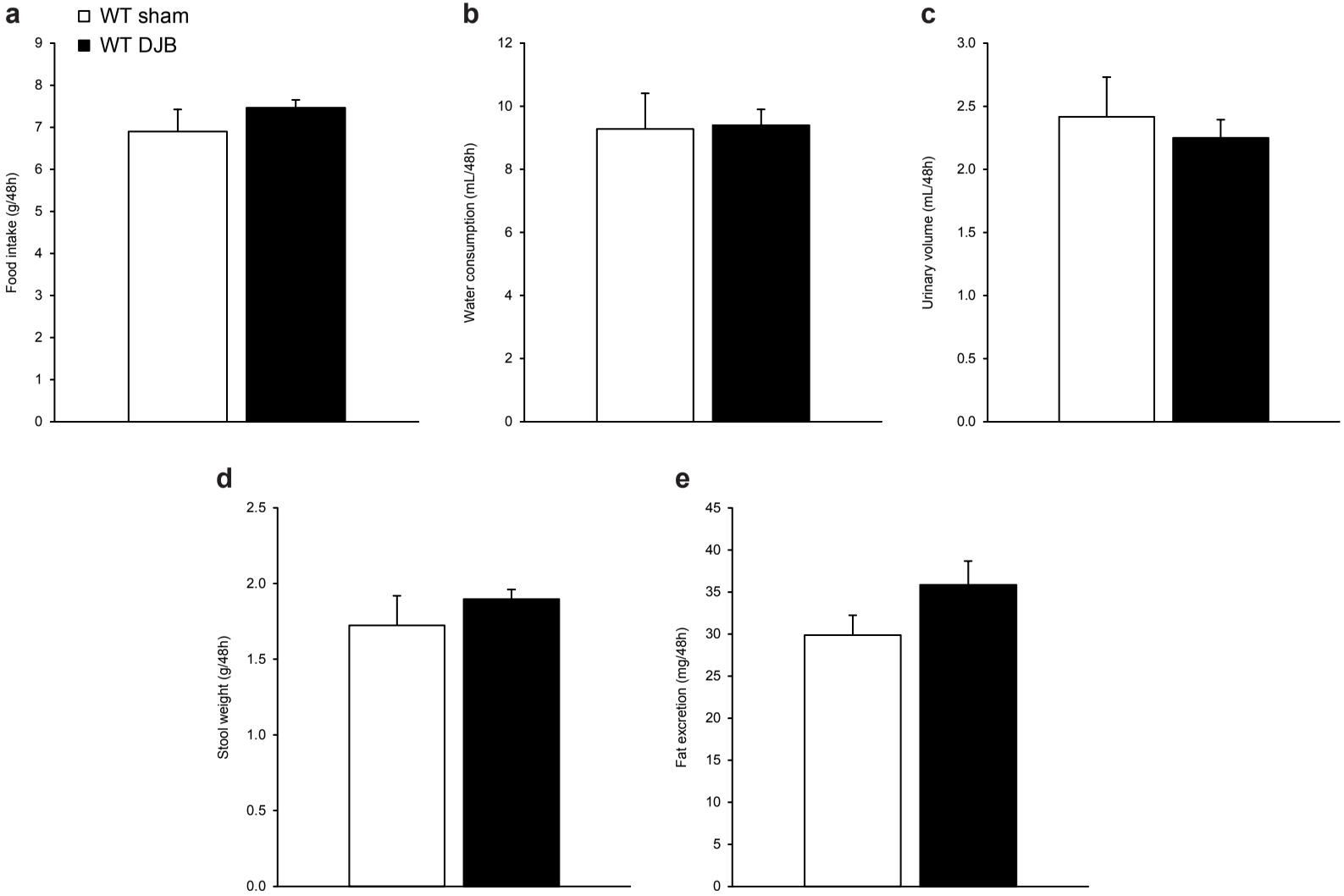
26. Liu W, Zassoko R, Mele T, Luke P, Sun H, Liu W, et al. Establishment of duodenojejunal bypass surgery in mice: a model designed for diabetic research. Microsurgery. 2008;28(3):197–202.

27. Woods M, Lan Z, Li J, Wheeler MB, Wang H, Wang R. Antidiabetic effects of duodenojejunal bypass in an experimental model of diabetes induced by a high-fat diet. Br J Surg. 2011 May;98(5):686–96.



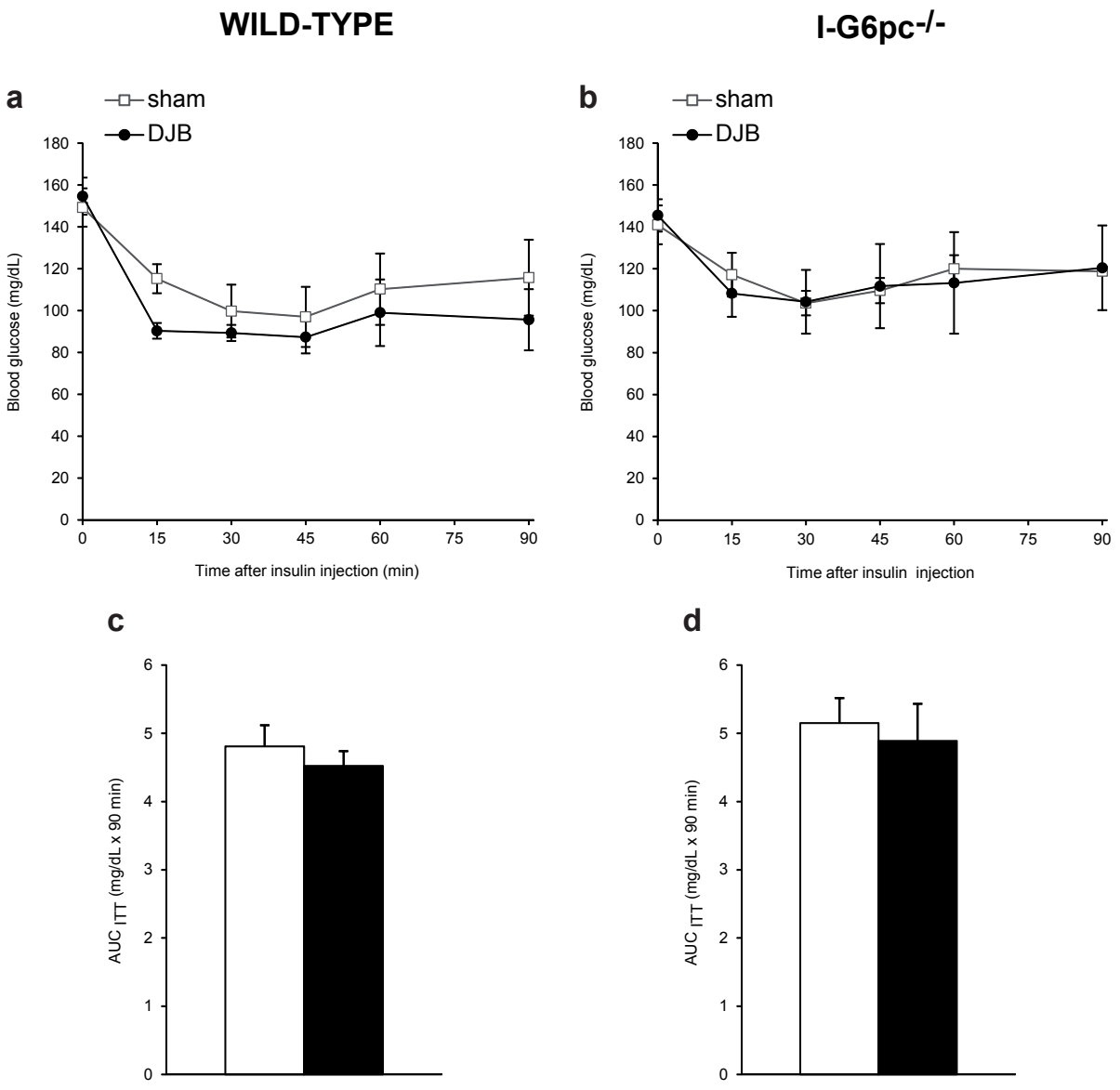
Supplemental Figure 1: Schematic representation of the duodenal-jejunal bypass in the mouse.

Jejunum was transected 3-4 cm downstream of the ligament of Treitz and the proximal jejunum was connected to the intestine 5-6 cm beyond the transversal section. Then distal jejunum was anastomosed to the stomach and finally pylorus was ligated. This procedure allows the creation of a biliopancreatic limb and an alimentary limb of about 5-6 cm each and a common limb of approximately 18-20 cm long.



Supplemental Figure 2: Results of 48 hours-metabolic cages in wild-type lean mice after duodenal-jejunal bypass.

a Food intake, **b** water consumption, **c** urinary volume, **d** stools weight and **e** fecal fat excretion during 48 hours-metabolic cages in WT lean mice after DJB (black column) or sham surgery (white column). n=6 for WT sham group, n=4 for WT DJB group.



Supplemental Figure 3: Effects of duodenal-jejunal bypass on insulin sensitivity in wild-type and I-G6pc$^{-/-}$ lean mice after duodenal-jejunal bypass.

a-b Evolution of glucose during insulin tolerance test and **c-d** area under the curve of glucose tolerance test in WT and I-G6pc$^{-/-}$ lean mice after DJB (black circles) or sham surgery (white squares). n=6 for WT sham group, n=4 for WT DJB group, n=5 for I-G6pc$^{-/-}$ sham group, n=4 for I-G6pc$^{-/-}$ DJB group.

DISCUSSION GÉNÉRALE

Les chirurgies bariatriques sont actuellement considérées comme le meilleur traitement de l'obésité car elles entraînent une diminution de la prise calorique ainsi qu'une perte de poids importante qui est maintenue à long terme (Sjöström, 2013). De plus, les chirurgies comprenant une modification de l'anatomie de l'intestin, plus particulièrement le by-pass gastrique Roux-en-Y (BPG), mènent à une rémission du diabète de type II dans plus de 80% des cas (Buchwald et al., 2009). Les améliorations des paramètres glucidiques après BPG sont d'ailleurs observées dans les jours qui suivent la chirurgie ce qui suggère que ce montage chirurgical exerce un effet spécifique sur le contrôle de l'homéostasie glucidique indépendamment de la perte de poids (Pories et al., 1995; Wickremesekera et al., 2005). Cependant, les mécanismes à l'origine de ces effets spectaculaires restent encore largement inexpliqués. La meilleure compréhension de ces mécanismes est donc un enjeu majeur pour le développement de traitements ciblés et moins invasifs de l'obésité et du diabète de type II.

L'une des hypothèses attractives pour expliquer les effets bénéfiques du BPG est que la production intestinale de glucose (PIG) serait augmentée après ce type de chirurgie et entraînerait ses effets bénéfiques sur le métabolisme glucidique et énergétique. En effet, en utilisant un modèle simple de chirurgie de l'obésité (l'entéro-gastro-anastomose ou EGA, Figure 12), nous avons fortement suggéré que l'augmentation de la PIG et la détection du signal glucose portal qu'elle induit étaient nécessaires pour engendrer les phénomènes de satiété et les améliorations de l'homéostasie glucidique conséquents à la chirurgie. Notre laboratoire a également mis en évidence que l'augmentation de la NGI est causale dans les effets bénéfiques des régimes enrichis en protéines et que cette augmentation dépend des récepteurs mu-opioïdes. En effet, les di et tri-peptides issus de la digestion des protéines alimentaires sont capables d'inhiber les récepteurs mu-opioïdes exprimés dans les terminaisons nerveuses de la veine porte ce qui conduit, *via* un arc-réflexe central, à l'augmentation de la NGI et donc à l'induction de la satiété (Figure 11).

Or, l'une des particularités du BPG est qu'en raison de la modification de l'anatomie de l'intestin les aliments arrivent directement dans l'intestin distal où les récepteurs mu-opioïdes sont fortement exprimés. Nous avons alors émis l'hypothèse que les di et tri-peptides issus de la digestion des protéines de l'alimentation étaient capables d'inhiber ces MOR intestinaux, en plus des MOR périportaux. Cette inhibition mènerait donc à une plus

Publication	Chirurgie		Durée du suivi	Nourriture		Prise alimentaire	Poids		Paramètres glucidiques
	BPG / DJB	Contrôle		avant opération (durée)	après opération		Avant chirurgie	Perte de poids (%)	
Yin et al., 2011	BPG modifié (jonction intestin à l'œsophage)	Sham	8 sem	HF (12 sem)	HF	N.R.	N.R.	- 20-30% (4 sem) 0 % (8 sem)	Amélioration GTT (1, 2, 4 et 8 sem post-op)
Nestoridi et al., 2012	BPG (poche gastrique 20%)	Sham	3 mois	HF (jusqu'à peser 45-50 g)	-Ø (48h) -liquide (jours 2 à 7) -HF	↘ (2 sem) puis = sham	45-50 g	- 30-35%	Amélioration glycémie et GTT (3 mois post-op)
Hatoum et al., 2012	BPG (poche gastrique 20%)	Sham	9 sem	HF	-liquide (1-2 sem) -HF (2ème sem)	N.R.	50 g	- 30%	N.E.
Kucharczyk et al., 2013	-BPG (poche gastrique 5%) -BPG (poche gastrique 20%)	Sham	8 sem	HF (20 sem)	-Ø (48h) -liquide (jours 2 à 7) -HF	N.R.	45 g	- 30%	Amélioration GTT et ITT après les 2 BPG (8-10 sem post-op)
Hao et al., 2013	BPG (poche gastrique 5%)	Sham	8 sem	HF (12 sem)	-nourriture standard (2 jours) -HF	> Sham (5 sem post-op)	46 ± 5 g	- 30%	Amélioration ITT (4 sem post-op)

Tableau 3 : Principaux effets du by-pass gastrique et du by-pass duodéno-jéjunal chez la souris obèse

BPG = by-pass gastrique Roux-en-Y ; DJB = by-pass duodéno-jéjunal ; Sham BWM = souris « body weight-matched » *i.e.* souris contrôles opérées soumises à une restriction calorique après l'opération afin qu'elles aient le même poids que les souris BPG ; Sham PF = souris « pair-fed » *i.e.* souris contrôles opérées dont la quantité de nourriture après l'opération est restreinte au même niveau que celui des souris BPG ; HF = high-fat ; HF-HS = high-fat high-sucrose ; GTT = test de tolérance au glucose ; ITT = test de sensibilité à l'insuline ; N.R. = non rapporté ; N.E. = non étudié

forte augmentation de la NGI et par conséquent à une potentialisation de ses effets bénéfiques sur la satiété et sur l'amélioration du contrôle de l'homéostasie glucidique. L'objectif de ce travail de thèse était donc d'étudier d'une part le rôle potentiel des protéines de l'alimentation dans les effets bénéfiques du BPG, grâce à l'utilisation de souris invalidées pour le gène du récepteur mu-opioïde (souris $MOR^{-/-}$). D'autre part, il s'agissait d'établir le rôle causal de la production intestinale de glucose dans les effets bénéfiques du BPG à l'aide d'un modèle original de souris récemment développé par notre laboratoire : les souris invalidées pour la sous-unité catalytique de la G6Pase spécifiquement dans l'intestin (souris I-$G6pc^{-/-}$). La première étape de mon travail de thèse a été de mettre au point un modèle de chirurgie bariatrique chez la souris afin de pouvoir tester nos hypothèses. Puisque le BPG est une chirurgie lourde et complexe et que nous nous intéressions davantage au rôle de la modification anatomique de l'intestin plutôt qu'au rôle de la restriction gastrique, nous avons décidé de réaliser chez les souris une chirurgie qui reproduit seulement le réarrangement de l'intestin après BPG : le by-pass duodéno-jéjunal (ou DJB pour duodenal-jejunal bypass).

- ✓ Effets du by-pass duodéno-jéjunal chez la souris obèse

Nos travaux ont montré que chez la souris rendue obèse et diabétique grâce à un régime hypercalorique le DJB n'entraîne pas de diminution de la prise calorique à long terme. En effet, les souris obèses DJB présentent une prise alimentaire similaire à celle des souris sham dès la deuxième semaine post-opératoire. Une diminution de la prise alimentaire est observée la première semaine après la chirurgie mais celle-ci semble être attribuable à la phase de récupération suite à cette chirurgie lourde. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par d'autres équipes étudiant le BPG ou le DJB chez la souris obèse (cf. Tableau 3 qui récapitule les principaux résultats du BPG et du DJB chez la souris obèse). Cependant, ces résultats ne reproduisent pas les effets observés chez l'homme, à savoir une diminution de la prise calorique après BPG (cf. § III .1). Ces résultats divergents peuvent être la conséquence du changement de préférence alimentaire rapporté après BPG chez l'homme. En effet, après la chirurgie, les patients changent leurs habitudes alimentaires et augmentent leur consommation d'aliments peu denses en énergie, ce qui participe à la diminution de leur prise calorique (cf. § III.1.c). Mais contrairement à l'homme, les souris ne peuvent pas modifier leurs choix alimentaires puisqu'un seul type de nourriture leur est

Publication	Chirurgie		Durée du suivi	Nourriture		Prise alimentaire	Poids		Paramètres glucidiques
	BPG / DJB	Contrôle		avant opération (durée)	après opération		Avant chirurgie	Perte de poids (%)	
Liou et al., 2013	BPG (poche gastrique 5%)	-Sham -Sham BWM	12 sem	HF (jusqu'à peser 40-50 g)	-liquide (2 sem) -HF	= sham (4-6 sem post-op) -25% pour les sham BWM	40-50 g	- 30%	-Améliorations glycémie, insulinémie et GTT identiques cz BPG et BWM (15 sem post-op)
Gautron et al., 2013	BPG (poche gastrique 20%)	Sham	4-5 sem	HF (jusqu'à peser 45-50 g)	-Ø (48h) -liquide (jours 2 à 7) -HF	N.R.	45-50 g	-30%	N.E.
Zechner et al., 2013	BPG (poche gastrique 20%)	-Sham -Sham BWM	8 sem	HF (12-14 sem)	-Ø (48h) -liquide (jours 2 à 7) -HF	= sham (4 sem post-op) -27% pour les sham BWM	50 g	- 27%	Mêmes améliorations chez BPG et BWM (GTT, ITT, insulinémie, glycémie, sécrétion d'insuline) (6-8 sem post-op)
Verbeek et al., 2014	BPG (poche gastrique 5%)	Sham	8 sem	HF-HS (12 sem)	-hydrogel + HF-HS (2 jours) -HF-HS	↘ (1ère sem) puis = sham	40 g	- 25%	Amélioration GTT (6 sem post-op)

Tableau 3 (suite) : Principaux effets du by-pass gastrique et du by-pass duodéno-jéjunal chez la souris obèse

BPG = by-pass gastrique Roux-en-Y ; DJB = by-pass duodéno-jéjunal ; Sham BWM = souris « body weight-matched » *i.e.* souris contrôles opérées soumises à une restriction calorique après l'opération afin qu'elles aient le même poids que les souris BPG ; Sham PF = souris « pair-fed » *i.e.* souris contrôles opérées dont la quantité de nourriture après l'opération est restreinte au même niveau que celui des souris BPG ; HF = high-fat ; HF-HS = high-fat high-sucrose ; GTT = test de tolérance au glucose ; ITT = test de sensibilité à l'insuline ; N.R. = non rapporté ; N.E. = non étudié

proposé après l'opération. Or, plusieurs études montrent qu'après BPG chez le rat, une diminution de l'apport calorique est observée lorsqu'une nourriture peu calorique ou que 2 types de nourriture sont proposées après l'opération (Seyfried et al., 2011). Les changements de préférences alimentaires après BPG en faveur de nourritures peu caloriques et peu sucrées sont en effet bien documentés chez le rat (le Roux et al., 2011; Shin et al., 2011), mais pas chez la souris. Il serait donc intéressant de proposer aux souris plusieurs nourritures après DJB (*e.g.*, régime standard ou hyperglucidique ou hyperlipidique/hyperglucidique) afin de vérifier si les souris présentent également des modification de leurs préférences alimentaires.

Concernant la perte de poids, nos études ont montré que le DJB entraînait en 2 semaines seulement une très forte perte de poids (- 27% en moyenne) similaire à celle observée chez les patients des années après BPG. Cette importante et rapide perte de poids est retrouvée dans les autres modèles de DJB chez la souris obèse ainsi que dans les modèles de BPG, quelle que soit la taille de l'estomac (Tableau 3). Ces données montrent donc bien que ni la diminution de la taille de l'estomac ni la diminution de l'apport calorique ne sont nécessaires pour induire une perte de poids chez la souris obèse. L'étude de souris pair-fed en parallèle des souris DJB nous a permis de montrer que cette perte de poids était en grande partie indépendante de la prise alimentaire. En effet, à prise alimentaire égale, les souris pair-fed perdent 2 fois moins de poids que les souris DJB et surtout retrouvent leur poids initial 1 mois après la chirurgie. Cette perte de poids massive et rapide après DJB ou BPG chez la souris obèse doit être prise en considération car nul doute qu'elle va être à l'origine de nombreuses améliorations métaboliques. Le métabolisme glucidique, notamment, est fortement amélioré suite à une perte de poids. Des études chez l'homme montrent que le BPG induit des améliorations de l'homéostasie glucidique supérieure à celles observées, à perte de poids équivalente, après un régime hypocalorique (Laferrère et al., 2008; Plum et al., 2011). Cependant, il faut noter que ces études sont réalisées sur des patients ayant perdu moins de 10% de leur poids ce qui est bien inférieur à la perte de poids de 25-30% observée après BPG ou DJB, en seulement 1 ou 2 semaines, chez la souris obèse. L'article de Bradley et al. montre, lui, qu'une perte de poids plus importante (20%) après BPG ou anneau gastrique induit les mêmes effets bénéfiques sur la sensibilité à l'insuline et la tolérance au glucose (Bradley et al., 2012), même si des différences persistent concernant la sécrétion

Publication	Chirurgie		Durée du suivi	Nourriture		Prise alimentaire	Poids		Paramètres glucidiques
	BPG / DJB	Contrôle		avant opération (durée)	après opération		Avant chirurgie	Perte de poids (%)	
Mokadem et al., 2014	BPG (poche gastrique 20%)	-Sham -Sham BWM -Sham PF	8 sem	HF (jusqu'à peser 45-50 g)	-Ø (48h) -liquide (jours 2 à 7) -HF	↘ (4 jours) puis = sham	45-50 g	-30%	Mêmes améliorations chez BPG et BWM (GTT, ITT, insulinémie, glycémie, sécrétion d'insuline) (6-8 sem post-op)
Lan et al., 2010	DJB	Ø	4 sem	HF (8 sem)	Nourriture standard	N.R.	40-50 g	- 40%	Diminution de la glycémie (4 sem post-op)
Woods et al., 2011	DJB	Sham	4 sem	HF (8 sem)	Nourriture standard	↘ (2 sem) puis = sham	33-34 g	- 17-18%	Amélioration GTT (4 sem post-op)

Tableau 3 (suite et fin) : Principaux effets du by-pass gastrique et du by-pass duodéno-jéjunal chez la souris obèse

BPG = by-pass gastrique Roux-en-Y ; DJB = by-pass duodéno-jéjunal ; Sham BWM = souris « body weight-matched » *i.e.* souris contrôles opérées soumises à une restriction calorique après l'opération afin qu'elles aient le même poids que les souris BPG ; Sham PF = souris « pair-fed » *i.e.* souris contrôles opérées dont la quantité de nourriture après l'opération est restreinte au même niveau que celui des souris BPG ; HF = high-fat ; HF-HS = high-fat high-sucrose ; GTT = test de tolérance au glucose ; ITT = test de sensibilité à l'insuline ; N.R. = non rapporté ; N.E. = non étudié

d'insuline ou de GLP-1. Ces données suggèrent donc qu'une perte de poids supérieure à 20% du poids basal serait le premier facteur responsable des améliorations drastiques de l'homéostasie glucidique après BPG. Or, dans notre modèle murin de DJB ainsi que dans les modèles de BPG, les souris obèses perdent plus de 20% de leur poids dans les jours qui suivent la chirurgie (Tableau 3). Il apparaît donc que la perte de poids est d'une importance primordiale pour expliquer certaines améliorations métaboliques après BPG ou DJB.

De façon plus originale, nous avons pu mettre en évidence une forte malabsorption des nutriments, principalement des lipides, après DJB. Cette malabsorption peut en partie expliquer la perte de poids et le maintien de cette perte de poids après l'opération. De plus, les souris DJB pourraient compenser cette forte perte d'énergie dans les fèces en augmentant leur prise alimentaire, ce qui pourrait expliquer que nous n'avons pas observé de diminution prolongée de leur prise alimentaire. L'étude du contenu énergétique des fèces des souris DJB n'a pas été réalisé dans ce travail mais d'autres études chez la souris obèse BPG ont permis d'estimer la perte énergétique due à la malabsorption. Ainsi Zechner *et al.* estiment que la malabsorption compte pour environ 11% de la diminution de l'absorption énergétique totale, tandis que Nestoridi *et al.* et Liou *et al.* montrent que la perte d'énergie dans les fèces est augmentée d'environ 3 fois après BPG (Liou et al., 2013; Nestoridi et al., 2012; Zechner et al., 2013). Chez le rat nourri en régime hypercalorique une malabsorption a également été décrite (Canales et al., 2013; Saeidi et al., 2012) et chez l'homme la malabsorption réduit l'absorption énergétique d'environ 6-11% (Odstrcil et al., 2010). Cependant, toutes les études s'accordent à dire que la malabsorption à elle seule ne peut pas expliquer la forte perte de poids observée après BPG. Il semble en effet que chez les rongeurs une augmentation de la dépense énergétique soit également causale dans ce phénomène, plus particulièrement une augmentation de la dépense énergétique de repos et une augmentation de la thermogenèse postprandiale (Bueter et al., 2010; Mokadem et al., 2014; Nestoridi et al., 2012; Stylopoulos et al., 2009; Zechner et al., 2013). Compte tenu des fortes similitudes de phénotype entre notre modèle de DJB et les modèles de BPG chez la souris obèse, on peut supposer qu'une augmentation de la dépense énergétique a également lieu après DJB même si ce postulat n'a pas encore été testé.

L'un des phénomènes décrit pour limiter la malabsorption est une modification de la morphologie de l'intestin, plus précisément une hypertrophie des anses intestinales dans

lesquelles circulent les aliments (le Roux et al., 2010). Cette hypertrophie va avoir pour conséquence d'augmenter la surface d'absorption des nutriments et va ainsi pouvoir compenser en partie la diminution de la longueur d'absorption de l'intestin grêle après BPG. Les modèles animaux de BPG présentent effectivement une augmentation de la taille des villosités et des cryptes de leur muqueuse intestinale (Hansen et al., 2013; Stearns et al., 2009; Yan et al., 2013). Cette hypertrophie semble être due à une augmentation de la prolifération des cellules des cryptes ainsi qu'à une augmentation de la sécrétion de GLP-2 (glucagon-like peptide 2) dans l'intestin, qui va augmenter la croissance de la muqueuse intestinale et inhiber l'apoptose (le Roux et al., 2010; Taqi et al., 2010). Nous avons retrouvé cette adaptation de la muqueuse dans notre modèle de DJB chez la souris, comme le montrent les histogrammes représentant la densité des différentes anses intestinales après DJB chez la souris obèse et mince (cf. figures 3b et 6b de l'article 2). Ces données confirment une étude préliminaire que nous avions réalisée chez le rat après DJB (cf. annexe 2). L'étude des coupes histologiques des différentes anses intestinales chez la souris DJB est en cours de réalisation afin de déterminer plus précisément les modifications morphologiques subies par l'intestin grêle. Il serait toutefois intéressant d'étudier le temps que met la muqueuse à modifier sa morphologie et donc à diminuer la malabsorption. Cela nous permettrait ainsi de savoir si la forte perte de poids induite dans les 2 premières semaines après DJB chez la souris obèse serait liée à une forte malabsorption qui ne serait pas compensée par une hypertrophie intestinale. En effet, en se plaçant quelques semaines voire quelques mois après l'opération pour étudier la malabsorption, il se peut que les études sous-estiment la contribution de cette malabsorption à la perte de poids initiale chez le rongeur. Ces données restent toutefois à confirmer chez l'homme puisque l'hypertrophie des anses alimentaire et commune n'a pas encore été vérifiée chez les patients après BPG.

Nous nous sommes également intéressés aux améliorations rapides des paramètres glycémiques après by-pass. Grâce aux souris pair-fed, nous avons pu mettre en évidence que, chez les souris obèses, les améliorations de la tolérance au glucose et de la sensibilité à l'insuline après DJB étaient corrélées à la perte de poids. Ces résultats concordent avec 2 études qui ont étudié des souris appariées pour le poids, c'est-à-dire des souris dont la prise alimentaire a été restreinte afin qu'elles présentent la même perte de poids que les souris BPG. Ces 2 études montrent clairement que les améliorations des paramètres glucidiques

Publication	Chirurgie		Durée du suivi	Nourriture		Prise alimentaire	Poids		Paramètres glucidiques
	BPG / DJB	Contrôle		avant opé	après opération		Avant chirurgie	À la fin du suivi	
Seyfried et al., 2012	BPG (poche gastrique ≈2%)	Sham	2 mois	Standard	-liquide (2 jours) -standard	↘ (3 jours) hyperphagie (8 jours) puis stabilisation (< sham en moyenne sur 60 jours)	30 g	28 g (< sham, ≈2 g)	N.E.
Hatoum et al., 2012	BPG modifié (jonction intestin à l'œsophage)	Sham	8 sem	Standard	-liquide (1 ou 2 sem) -standard (sem 1 à 4) -standard et HF (sem 4 à 8)	N.R.	32 g	25 g (< sham après changement de régime alimentaire)	N.E.
Seyfried et al., 2013	BPG (poche gastrique 5%)	-Sham -Sham BWM	2 mois	Standard	-liquide (2 jours) -standard	< sham en moyenne sur 60 jours (4,3 *vs* 4,6 g) (4,1 g/jr pour les sham BWM)	28-30 g	28 g (< sham, ≈2 g)	N.E.
Liu et al., 2008	DJB	Sham	1 mois	Standard	Standard	= sham	23 g	23,5 g (= sham)	N.E.
Woods et al., 2011	DJB	Sham	1 mois	Standard	Standard	↗ (J+7 et J+14) = sham (J+28)	25 g	25,8 g (< sham, ≈2 g)	Amélioration du GTT (4 sem post-op)
Yan et al., 2013	DJB	Sham	1 mois	Standard	Standard	↘ (5 jours) = sham	23-24 g	22-23 g (< sham, ≈2 g)	Amélioration du GTT (2 mois post-op)

Tableau 4 : Principaux effets du by-pass gastrique et du by-pass duodéno-jéjunal chez la souris mince

BPG = by-pass gastrique Roux-en-Y ; DJB = by-pass duodéno-jéjunal ; Sham BWM = souris « body weight-matched » *i.e.* souris contrôles opérées soumises à une restriction calorique après l'opération afin qu'elles aient le même poids que les souris BPG ; HF = high-fat ; GTT = test de tolérance au glucose ; N.R. = non rapporté ; N.E. = non étudié

sont les mêmes chez les souris BPG et chez les souris appariées, suggérant donc que la forte perte de poids (≥20%) après BPG peut expliquer à elle seule les améliorations de l'homéostasie glucidique (Mokadem et al., 2014; Zechner et al., 2013), comme cela a été démontré chez l'homme (Bradley et al., 2012). Puisque cette perte de poids arrive très rapidement après BPG ou DJB chez la souris obèse, il semble difficile d'étudier dans ces modèles les mécanismes à l'origine des effets indépendants de la perte de poids du BPG. Pour toutes ces raisons, il est indispensable d'analyser des souris pair-fed et/ou appariées en poids en parallèle des souris DJB (ou BPG) sous régime hypercalorique, afin de préciser les rôles respectifs de la prise alimentaire et de la perte de poids dans les améliorations du métabolisme glucidique.

En conclusion, les résultats de nos études montrent clairement que chez les souris obèses le DJB reproduit les effets bénéfiques du BPG sur la perte de poids et sur l'amélioration du métabolisme glucidique malgré l'absence de restriction gastrique. La diminution du volume de l'estomac ne semble donc pas essentielle aux effets bénéfiques du BPG. Le DJB chez la souris obèse semble également être un bon modèle d'étude des mécanismes responsables de la perte de poids après BPG. Concernant la prise alimentaire, d'autres études seront nécessaires pour savoir si ce modèle reproduit effectivement tous les effets du BPG chez l'homme, en particulier les changements de préférence alimentaire. Par contre, en ce qui concerne l'étude des améliorations du métabolisme glucidique, l'interprétation des résultats devra se faire avec précaution si des souris pair-fed et appariées pour le poids ne sont pas étudiées en parallèle, la forte perte de poids étant manifestement responsable de ces améliorations. De plus, l'étude des améliorations précoces du métabolisme glucidique (avant toute perte de poids) n'est pas réalisable avec ce modèle d'étude, la majorité de la perte de poids survenant trop rapidement après la chirurgie.

- ✓ Effets du by-pass duodéno-jéjunal chez la souris mince

En effectuant le DJB chez la souris de poids normal nourrie en régime standard, nous avons montré que cette chirurgie n'induisait pas de perte de poids ni de modification de la prise alimentaire. Ces résultats sont en accord avec les résultats obtenus après BPG ou DJB chez des souris minces (Tableau 4). Nous avons observé qu'à partir du moment où les souris sont nourries à volonté après l'opération elles reprennent du poids ce qui est cohérent avec le

fait que ces souris ne semblent pas présenter de malabsorption des nutriments. Ces données confortent donc l'hypothèse selon laquelle ce sont principalement les lipides qui seraient moins bien absorbés après ce type de chirurgie, puisque la nourriture standard donnée aux rongeurs de laboratoire ne contient que très peu de lipides. La malabsorption après BPG ou DJB dépendrait donc peu du raccourcissement de la longueur de l'intestin. En revanche, elle semble dépendre de la composition en nutriments de l'alimentation et pourrait dépendre de la modification du trajet des sécrétions biliopancréatiques, les lipases pancréatiques et les sels biliaires jouant un rôle important dans l'absorption des lipides.

L'étude des paramètres glucidiques chez la souris DJB mince a permis de mettre en évidence une amélioration de la tolérance au glucose indépendante de toute perte de poids. Nous avons donc montré que le DJB est capable d'améliorer la tolérance au glucose chez des animaux qui ne sont pas diabétiques. Cependant, les résultats ne montrent aucune augmentation de la sécrétion d'insuline en réponse au glucose 15 et 30 min après l'injection de glucose (cf. figure 5c de l'article 1). L'analyse de test de tolérance à l'insuline montre qu'il n'y a pas non plus d'amélioration de la sensibilité à l'insuline après DJB chez les souris minces (cf. figure 5e de l'article 1 et figure supplémentaire 3 de l'article 2). L'une des explications pour expliquer cette amélioration du métabolisme glucidique serait que le DJB entraîne une diminution de la production hépatique de glucose indépendante de l'insuline, comme le suggère la diminution de l'activité de la G6Pase dans le foie des souris DJB minces (cf. figure 6 de l'article 2). Une autre hypothèse serait que le pic précoce de sécrétion d'insuline serait augmenté. Toutefois, nos résultats ne permettent pas de mettre en évidence ce pic précoce, qui survient 2 à 5 min après l'injection de glucose, car l'insulinémie n'a été mesurée que 15 et 30 minutes après la charge intrapéritonéale de glucose. Une autre hypothèse attrayante permettant d'expliquer l'amélioration de la tolérance au glucose après DJB chez la souris mince est supportée par l'étude de Saeidi *et al.* de 2013 qui montre que, chez le rat, le BPG induit une reprogrammation du métabolisme intestinal du glucose dans l'anse alimentaire en réponse aux modifications morphologiques de l'intestin. Cette reprogrammation résulte en une plus forte consommation de glucose par l'intestin, ce qui pourrait expliquer la meilleure tolérance au glucose après DJB indépendamment d'une quelconque amélioration de la sensibilité à l'insuline (Saeidi et al., 2013).

Il est important de noter que la technique chirurgicale du DJB avait été initialement décrite comme une chirurgie entraînant une amélioration des paramètres glucidiques mais pas de perte de poids chez le rat diabétique non-obèse (Rubino and Marescaux, 2004), résultats que nous retrouvons chez les souris non-obèses après DJB. C'est d'ailleurs pour cela que le DJB est actuellement réalisé chez des patients diabétiques de type II non obèses morbides, voire de poids normal (Geloneze et al., 2012; Heo et al., 2013; Lee et al., 2010; Paik et al., 2012; Ramos et al., 2009). Cependant, nos résultats sur les effets du DJB chez la souris obèse ainsi que les résultats d'autres équipes (Lan et al., 2010 ; Woods et al., 2011) montrent que cette chirurgie entraîne une très forte perte de poids chez des souris rendues obèses grâce à un régime hypercalorique. Ces données suggèrent donc que la définition du DJB, à savoir une chirurgie permettant d'améliorer le contrôle glycémique sans entraîner de perte de poids, devrait être reconsidérée. En fait, les résultats des expérimentations chez la souris montre que les chirurgies comprenant un by-pass intestinal (BPG comme DJB) ont des effets similaires sur la perte de poids qui vont dépendre en grande partie des paramètres métaboliques de base des souris, à savoir si elles sont obèses, en surpoids ou de poids normal. De plus, ces deux types de chirurgie semblent induire des effets bénéfiques semblables sur le contrôle de l'homéostasie glucidique que la souris soit obèse ou non.

Quoi qu'il en soit, le développement de la recherche fondamentale relative à la chirurgie bariatrique devrait permettre de mieux comprendre les mécanismes de ces chirurgies et ainsi d'aider à une meilleure prise en charge des patients. Dans ce but, le développement de techniques chirurgicales chez la souris est très intéressant puisque les souris sont facilement manipulables génétiquement ce qui rend plus aisé l'étude de l'implication d'une ou de plusieurs protéines et/ou fonctions dans les effets du BPG. Dans ce contexte, le DJB chez la souris semble être un bon modèle pour étudier les effets bénéfiques du BPG.

- ✓ Rôle de la néoglucogenèse intestinale et des récepteurs mu-opioïdes dans les effets bénéfiques du DJB

Après la mise au point du modèle chirurgical chez la souris, mon objectif était de déterminer quel mécanisme induit la NGI après BPG et si cette induction est nécessaire aux effets bénéfiques du BPG.

Comme précisé précédemment, nous avons testé le rôle des protéines alimentaires dans l'induction de la néoglucogenèse intestinale (NGI) après BPG. Pour cela nous avons réalisé un DJB chez des souris invalidées pour le gène du récepteur mu-opioïde (souris $MOR^{-/-}$). Les résultats de cette première étude montrent que les effets du DJB sur la prise alimentaire, la perte de poids et l'amélioration des paramètres glucidiques sont similaires chez les souris sauvages (WT) et $MOR^{-/-}$ que ce soit chez des souris obèses ou chez des souris minces. Ces données suggèrent donc que les récepteurs mu-opioïdes et par extension la détection nerveuse des protéines de l'alimentation ne sont pas impliquées dans les effets bénéfiques du DJB.

Le montage de l'intestin étant différent entre l'EGA et le DJB. Nous avons donc étudié si le DJB a les mêmes effets activateurs que l'EGA sur la NGI. Chez les souris obèses, le DJB induit une augmentation de l'activité G6Pase dans l'anse alimentaire et une diminution dans l'anse biliopancréatique. Chez les souris minces l'activité G6Pase est également diminuée dans l'anse biliopancréatique et augmentée dans l'anse commune. Concernant la production hépatique de glucose, le DJB induit une diminution de l'activité G6Pase hépatique quel que soit le génotype. Ces données montrent bien que, comme l'EGA, le DJB modifie bien de façon opposée les activités G6Pase intestinale et hépatique. Cependant, contrairement à l'étude réalisée sur le modèle EGA, nous n'avons pas déterminé le flux de glucose produit par l'intestin après DJB. Ce flux pourrait être inchangé car les variations de l'activité G6Pase sont opposées entre l'anse biliopancréatique et l'anse alimentaire. Par ailleurs, la NGI n'est pas uniquement dépendante de l'activité G6Pase et dépend fortement de la présence de substrats néoglucogéniques. Pour déterminer clairement le rôle causal de la NGI dans les améliorations métaboliques après DJB, nous avons réalisé le DJB chez la souris I-$G6pc^{-/-}$ qui ne produit pas de glucose à partir de son intestin.

Les résultats de l'étude sur les souris I-$G6pc^{-/-}$ montrent que le DJB induit les mêmes variations de poids et les mêmes améliorations du métabolisme glucidique chez les souris I-$G6pc^{-/-}$ et chez les souris WT quel que soit l'état métabolique de départ (obèse ou maigre). Ces résultats suggéreraient donc que la NGI ne serait pas cruciale dans les effets métaboliques du DJB chez la souris, contrairement à ce qui avait été suggéré avec l'EGA. En revanche, il est important de souligner que la souris I-$G6pc^{-/-}$ obèse ré-augmente sa prise alimentaire plus rapidement que la souris WT obèse après DJB, allant même jusqu'à une

phase hyperphagique (cf article 2, Fig. 1). Ceci suggère fortement un rôle suppresseur de la NGI sur la sensation de faim, en complet accord avec les résultats précédents obtenus avec le modèle de l'EGA. Des modifications différentielles du métabolisme et/ou des sensations de faim induites par l'EGA et le DJB pourraient expliquer les différences observées entre les deux modèles chirurgicaux. En effet, contrairement au DJB qui induit une diminution transitoire de la prise alimentaire chez les souris obèses, l'EGA induit une diminution drastique et prolongée de la prise alimentaire (0,7-0,8 g/jour après la chirurgie *vs* 3,7 g/jour avant la chirurgie) (Chandarana et al., 2011; Troy et al., 2008). Or, la NGI est connue pour induire des effets de satiété (Mithieux et al., 2005) ce qui est parfaitement cohérent avec le phénotype observé après EGA. Cette diminution drastique de la prise alimentaire après EGA pourrait également découler d'une modification des préférences alimentaires chez les souris ou de la mise en place de processus d'intolérance alimentaire qui seraient absents ou en tout cas moins importants après DJB. Il serait en tout cas très intéressant d'étudier ces 2 modèles de chirurgie bariatrique en parallèle afin de déterminer quels mécanismes moléculaires les différencient et donc quels mécanismes sont à l'origine de l'induction de la NGI après EGA.

En résumé, ces résultats démontrent bien à quel point les mécanismes à l'origine des effets bénéfiques des chirurgies bariatriques sont complexes et difficiles à analyser. En effet, des réarrangements de l'intestin assez semblables, comme dans le cas du DJB et de l'EGA, vont mener à des modifications différentes du métabolisme et à des phénotypes différents. Au contraire, des modifications totalement différentes du tractus gastro-intestinal vont avoir des conséquences similaires. Par exemple, la dérivation biliaire, le DJB et la gastrectomie sleeve, qui implique une coupure de l'estomac sans réarrangement de l'intestin, provoque des effets similaires (Schneck et al., 2014; Goncalves et al., 2014, en révision). L'étude simultanée de plusieurs modèles murins de chirurgie bariatrique pourrait donc aider à la meilleure compréhension des mécanismes impliqués dans les améliorations du métabolisme énergétique et glucidique induites par ces chirurgies.

En conclusion, l'ensemble de nos résultats a permis de souligner l'importance capitale d'étudier les effets des chirurgies bariatriques chez les rongeurs en multipliant les modèles d'étude et en utilisant les modèles témoins appropriés. En effet, seul le développement de la recherche fondamentale autour de la chirurgie bariatrique permettra la meilleure

compréhension des mécanismes impliqués dans la perte de poids et la rémission du diabète de type II, et ouvrira peut-être la voie au développement de traitements innovateurs, moins invasifs, dans le futur.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

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

Abdul-Wahed, A., Gautier-Stein, A., Casteras, S., Soty, M., Roussel, D., Romestaing, C., Guillou, H., Tourette, J.-A., Pleche, N., Zitoun, C., et al. (2014). A link between hepatic glucose production and peripheral energy metabolism via hepatokines. Mol. Metab. *3*, 531–543.

Adams, T.D., Pendleton, R.C., Strong, M.B., Kolotkin, R.L., Walker, J.M., Litwin, S.E., Berjaoui, W.K., LaMonte, M.J., Cloward, T.V., Avelar, E., et al. (2010). Health outcomes of gastric bypass patients compared to nonsurgical, nonintervened severely obese. Obes. Silver Spring Md *18*, 121–130.

Aller, E.E.J.G., Larsen, T.M., Claus, H., Lindroos, A.K., Kafatos, A., Pfeiffer, A., Martinez, J.A., Handjieva-Darlenska, T., Kunesova, M., Stender, S., et al. (2014). Weight loss maintenance in overweight subjects on ad libitum diets with high or low protein content and glycemic index: the DIOGENES trial 12-month results. Int. J. Obes. 2005.

Aslan, I.R., Campos, G.M., Calton, M.A., Evans, D.S., Merriman, R.B., and Vaisse, C. (2011). Weight loss after Roux-en-Y gastric bypass in obese patients heterozygous for MC4R mutations. Obes. Surg. *21*, 930–934.

Auguet, T., Terra, X., Hernández, M., Sabench, F., Porras, J.A., Orellana-Gavaldà, J.M., Llutart, J., Guiu-Jurado, E., Berlanga, A., Martinez, S., et al. (2014). Clinical and adipocytokine changes after bariatric surgery in morbidly obese women. Obes. Silver Spring Md *22*, 188–194.

Baggio, L.L., and Drucker, D.J. (2007). Biology of incretins: GLP-1 and GIP. Gastroenterology *132*, 2131–2157.

Bagnol, D., Mansour, A., Akil, H., and Watson, S.J. (1997). Cellular localization and distribution of the cloned mu and kappa opioid receptors in rat gastrointestinal tract. Neuroscience *81*, 579–591.

Ballantyne, G.H., Gumbs, A., and Modlin, I.M. (2005). Changes in insulin resistance following bariatric surgery and the adipoinsular axis: role of the adipocytokines, leptin, adiponectin and resistin. Obes. Surg. *15*, 692–699.

Berg, A.H., Combs, T.P., Du, X., Brownlee, M., and Scherer, P.E. (2001). The adipocyte-secreted protein Acrp30 enhances hepatic insulin action. Nat. Med. *7*, 947–953.

Björnholm, M., and Zierath, J.R. (2005). Insulin signal transduction in human skeletal muscle: identifying the defects in Type II diabetes. Biochem. Soc. Trans. *33*, 354–357.

Blomain, E.S., Dirhan, D.A., Valentino, M.A., Kim, G.W., and Waldman, S.A. (2013). Mechanisms of Weight Regain following Weight Loss. ISRN Obes. *2013*, 210524.

Borg, C.M., le Roux, C.W., Ghatei, M.A., Bloom, S.R., Patel, A.G., and Aylwin, S.J.B. (2006). Progressive rise in gut hormone levels after Roux-en-Y gastric bypass suggests gut adaptation and explains altered satiety. Br. J. Surg. *93*, 210–215.

Bradley, D., Conte, C., Mittendorfer, B., Eagon, J.C., Varela, J.E., Fabbrini, E., Gastaldelli, A., Chambers, K.T., Su, X., Okunade, A., et al. (2012). Gastric bypass and banding equally improve insulin sensitivity and β cell function. J. Clin. Invest. *122*, 4667–4674.

Brethauer, S.A., Aminian, A., Romero-Talamás, H., Batayyah, E., Mackey, J., Kennedy, L., Kashyap, S.R., Kirwan, J.P., Rogula, T., Kroh, M., et al. (2013). Can diabetes be surgically cured? Long-term metabolic effects of bariatric surgery in obese patients with type 2 diabetes mellitus. Ann. Surg. *258*, 628–636; discussion 636–637.

Brownlee, M. (2000). Negative consequences of glycation. Metabolism. *49*, 9–13.

Buchwald, H., and Oien, D.M. (2013). Metabolic/bariatric surgery worldwide 2011. Obes. Surg. *23*, 427–436.

Buchwald, H., and Rucker, R.D. (1981). The history of metabolic surgery for morbid obesity and a commentary. World J. Surg. *5*, 781–787.

Buchwald, H., Avidor, Y., Braunwald, E., Jensen, M.D., Pories, W., Fahrbach, K., and Schoelles, K. (2004). Bariatric surgery: a systematic review and meta-analysis. JAMA *292*, 1724–1737.

Buchwald, H., Estok, R., Fahrbach, K., Banel, D., Jensen, M.D., Pories, W.J., Bantle, J.P., and Sledge, I. (2009). Weight and type 2 diabetes after bariatric surgery: systematic review and meta-analysis. Am. J. Med. *122*, 248–256.e5.

Bueter, M., Löwenstein, C., Olbers, T., Wang, M., Cluny, N.L., Bloom, S.R., Sharkey, K.A., Lutz, T.A., and le Roux, C.W. (2010). Gastric bypass increases energy expenditure in rats. Gastroenterology *138*, 1845–1853.

Bueter, M., Miras, A.D., Chichger, H., Fenske, W., Ghatei, M.A., Bloom, S.R., Unwin, R.J., Lutz, T.A., Spector, A.C., and le Roux, C.W. (2011). Alterations of sucrose preference after Roux-en-Y gastric bypass. Physiol. Behav. *104*, 709–721.

Burge, J.C., Schaumburg, J.Z., Choban, P.S., DiSilvestro, R.A., and Flancbaum, L. (1995). Changes in patients' taste acuity after Roux-en-Y gastric bypass for clinically severe obesity. J. Am. Diet. Assoc. *95*, 666–670.

Canales, B.K., Ellen, J., Khan, S.R., and Hatch, M. (2013). Steatorrhea and hyperoxaluria occur after gastric bypass surgery in obese rats regardless of dietary fat or oxalate. J. Urol. *190*, 1102–1109.

Cao, H. (2014). Adipocytokines in obesity and metabolic disease. J. Endocrinol. *220*, T47–T59.

Chambers, A.P., Stefater, M.A., Wilson-Perez, H.E., Jessen, L., Sisley, S., Ryan, K.K., Gaitonde, S., Sorrell, J.E., Toure, M., Berger, J., et al. (2011). Similar effects of roux-en-Y gastric bypass and vertical sleeve gastrectomy on glucose regulation in rats. Physiol. Behav. *105*, 120–123.

Chambers, A.P., Kirchner, H., Wilson-Perez, H.E., Willency, J.A., Hale, J.E., Gaylinn, B.D., Thorner, M.O., Pfluger, P.T., Gutierrez, J.A., Tschöp, M.H., et al. (2013). The effects of vertical sleeve gastrectomy in rodents are ghrelin independent. Gastroenterology *144*, 50–52.e5.

Chandarana, K., Gelegen, C., Karra, E., Choudhury, A.I., Drew, M.E., Fauveau, V., Viollet, B., Andreelli, F., Withers, D.J., and Batterham, R.L. (2011). Diet and gastrointestinal bypass-induced weight loss: the roles of ghrelin and peptide YY. Diabetes *60*, 810–818.

Chikunguwo, S.M., Wolfe, L.G., Dodson, P., Meador, J.G., Baugh, N., Clore, J.N., Kellum, J.M., and Maher, J.W. (2010). Analysis of factors associated with durable remission of diabetes after Roux-en-Y gastric bypass. Surg. Obes. Relat. Dis. Off. J. Am. Soc. Bariatr. Surg. *6*, 254–259.

Christiansen, T., Bruun, J.M., Madsen, E.L., and Richelsen, B. (2007). Weight loss maintenance in severely obese adults after an intensive lifestyle intervention: 2- to 4-year follow-up. Obes. Silver Spring Md *15*, 413–420.

Claessens, M., van Baak, M.A., Monsheimer, S., and Saris, W.H.M. (2009). The effect of a low-fat, high-protein or high-carbohydrate ad libitum diet on weight loss maintenance and metabolic risk factors. Int. J. Obes. 2005 *33*, 296–304.

Clancy, T.E., Moore, F.D., and Zinner, M.J. (2006). Post-gastric bypass hyperinsulinism with nesidioblastosis: subtotal or total pancreatectomy may be needed to prevent recurrent hypoglycemia. J. Gastrointest. Surg. Off. J. Soc. Surg. Aliment. Tract *10*, 1116–1119.

Clore, J.N., Stillman, J., and Sugerman, H. (2000). Glucose-6-phosphatase flux in vitro is increased in type 2 diabetes. Diabetes *49*, 969–974.

Cohen, R.V., Schiavon, C.A., Pinheiro, J.S., Correa, J.L., and Rubino, F. (2007). Duodenal-jejunal bypass for the treatment of type 2 diabetes in patients with body mass index of 22-34 kg/m2: a report of 2 cases. Surg. Obes. Relat. Dis. Off. J. Am. Soc. Bariatr. Surg. *3*, 195–197.

Côté, C.D., Zadeh-Tahmasebi, M., Rasmussen, B.A., Duca, F.A., and Lam, T.K.T. (2014). Hormonal signaling in the gut. J. Biol. Chem. *289*, 11642–11649.

Coughlin, K., Bell, R.M., Bivins, B.A., Wrobel, S., and Griffen, W.O. (1983). Preoperative and postoperative assessment of nutrient intakes in patients who have undergone gastric bypass surgery. Arch. Surg. Chic. Ill 1960 *118*, 813–816.

Croset, M., Rajas, F., Zitoun, C., Hurot, J.M., Montano, S., and Mithieux, G. (2001). Rat small intestine is an insulin-sensitive gluconeogenic organ. Diabetes *50*, 740–746.

Cummings, D.E. (2006). Ghrelin and the short- and long-term regulation of appetite and body weight. Physiol. Behav. *89*, 71–84.

Danaei, G., Finucane, M.M., Lu, Y., Singh, G.M., Cowan, M.J., Paciorek, C.J., Lin, J.K., Farzadfar, F., Khang, Y.-H., Stevens, G.A., et al. (2011). National, regional, and global trends in fasting plasma glucose and diabetes prevalence since 1980: systematic analysis of health

examination surveys and epidemiological studies with 370 country-years and 2·7 million participants. Lancet *378*, 31–40.

Dar, M.S., Chapman, W.H., Pender, J.R., Drake, A.J., O'Brien, K., Tanenberg, R.J., Dohm, G.L., and Pories, W.J. (2012). GLP-1 response to a mixed meal: what happens 10 years after Roux-en-Y gastric bypass (RYGB)? Obes. Surg. *22*, 1077–1083.

Delaere, F., Duchampt, A., Mounien, L., Seyer, P., Duraffourd, C., Zitoun, C., Thorens, B., and Mithieux, G. (2012). The role of sodium-coupled glucose co-transporter 3 in the satiety effect of portal glucose sensing. Mol. Metab. *2*, 47–53.

Delaere, F., Akaoka, H., De Vadder, F., Duchampt, A., and Mithieux, G. (2013). Portal glucose influences the sensory, cortical and reward systems in rats. Eur. J. Neurosci. *38*, 3476–3486.

Delin, C.R., Watts, J.M., Saebel, J.L., and Anderson, P.G. (1997). Eating behavior and the experience of hunger following gastric bypass surgery for morbid obesity. Obes. Surg. *7*, 405–413.

Delzenne, N.M., Neyrinck, A.M., Bäckhed, F., and Cani, P.D. (2011). Targeting gut microbiota in obesity: effects of prebiotics and probiotics. Nat. Rev. Endocrinol. *7*, 639–646.

DePaula, A.L., Macedo, A.L.V., Schraibman, V., Mota, B.R., and Vencio, S. (2009). Hormonal evaluation following laparoscopic treatment of type 2 diabetes mellitus patients with BMI 20-34. Surg. Endosc. *23*, 1724–1732.

Dey, A., Mittal, T., and Malik, V.K. (2013). Initial experience with laparoscopic sleeve gastrectomy by a novice bariatric team in an established bariatric center--a review of literature and initial results. Obes. Surg. *23*, 541–547.

Dirksen, C., Bojsen-Møller, K.N., Jørgensen, N.B., Jacobsen, S.H., Kristiansen, V.B., Naver, L.S., Hansen, D.L., Worm, D., Holst, J.J., and Madsbad, S. (2013). Exaggerated release and preserved insulinotropic action of glucagon-like peptide-1 underlie insulin hypersecretion in glucose-tolerant individuals after Roux-en-Y gastric bypass. Diabetologia *56*, 2679–2687.

Dixon, J.B., le Roux, C.W., Rubino, F., and Zimmet, P. (2012). Bariatric surgery for type 2 diabetes. Lancet *379*, 2300–2311.

Douketis, J.D., Macie, C., Thabane, L., and Williamson, D.F. (2005). Systematic review of long-term weight loss studies in obese adults: clinical significance and applicability to clinical practice. Int. J. Obes. 2005 *29*, 1153–1167.

Drucker, D.J. (2006). The biology of incretin hormones. Cell Metab. *3*, 153–165.

Duraffourd, C., De Vadder, F., Goncalves, D., Delaere, F., Penhoat, A., Brusset, B., Rajas, F., Chassard, D., Duchampt, A., Stefanutti, A., et al. (2012). Mu-opioid receptors and dietary protein stimulate a gut-brain neural circuitry limiting food intake. Cell *150*, 377–388.

Ernst, B., Thurnheer, M., Wilms, B., and Schultes, B. (2009). Differential changes in dietary habits after gastric bypass versus gastric banding operations. Obes. Surg. *19*, 274–280.

Evans, S., Pamuklar, Z., Rosko, J., Mahaney, P., Jiang, N., Park, C., and Torquati, A. (2012). Gastric bypass surgery restores meal stimulation of the anorexigenic gut hormones glucagon-like peptide-1 and peptide YY independently of caloric restriction. Surg. Endosc. *26*, 1086–1094.

Faria, S.L., de Oliveira Kelly, E., Lins, R.D., and Faria, O.P. (2010). Nutritional management of weight regain after bariatric surgery. Obes. Surg. *20*, 135–139.

Faria, S.L., Faria, O.P., Cardeal, M. de A., de Gouvêa, H.R., and Buffington, C. (2012). Diet-induced thermogenesis and respiratory quotient after Roux-en-Y gastric bypass. Surg. Obes. Relat. Dis. Off. J. Am. Soc. Bariatr. Surg. *8*, 797–802.

Fery, F., d' Attellis, N.P., and Balasse, E.O. (1990). Mechanisms of starvation diabetes: a study with double tracer and indirect calorimetry. Am. J. Physiol. *259*, E770–E777.

Fickel, J., Bagnol, D., Watson, S.J., and Akil, H. (1997). Opioid receptor expression in the rat gastrointestinal tract: a quantitative study with comparison to the brain. Brain Res. Mol. Brain Res. *46*, 1–8.

Fontaine, K.R., Redden, D.T., Wang, C., Westfall, A.O., and Allison, D.B. (2003). Years of life lost due to obesity. JAMA *289*, 187–193.

Foretz, M., Hébrard, S., Leclerc, J., Zarrinpashneh, E., Soty, M., Mithieux, G., Sakamoto, K., Andreelli, F., and Viollet, B. (2010). Metformin inhibits hepatic gluconeogenesis in mice independently of the LKB1/AMPK pathway via a decrease in hepatic energy state. J. Clin. Invest. *120*, 2355–2369.

Furet, J.-P., Kong, L.-C., Tap, J., Poitou, C., Basdevant, A., Bouillot, J.-L., Mariat, D., Corthier, G., Doré, J., Henegar, C., et al. (2010). Differential adaptation of human gut microbiota to bariatric surgery-induced weight loss: links with metabolic and low-grade inflammation markers. Diabetes *59*, 3049–3057.

Gan, S.S.H., Talbot, M.L., and Jorgensen, J.O. (2007). Efficacy of surgery in the management of obesity-related type 2 diabetes mellitus. ANZ J. Surg. *77*, 958–962.

Gannon, M.C., Nuttall, F.Q., Saeed, A., Jordan, K., and Hoover, H. (2003). An increase in dietary protein improves the blood glucose response in persons with type 2 diabetes. Am. J. Clin. Nutr. *78*, 734–741.

Gautron, L., Zechner, J.F., and Aguirre, V. (2013). Vagal innervation patterns following Roux-en-Y gastric bypass in the mouse. Int. J. Obes. 2005 *37*, 1603–1607.

Geloneze, B., Geloneze, S.R., Chaim, E., Hirsch, F.F., Felici, A.C., Lambert, G., Tambascia, M.A., and Pareja, J.C. (2012). Metabolic surgery for non-obese type 2 diabetes: incretins, adipocytokines, and insulin secretion/resistance changes in a 1-year interventional clinical controlled study. Ann. Surg. *256*, 72–78.

Gerich, J.E. (1991). Is muscle the major site of insulin resistance in type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus? Diabetologia *34*, 607–610.

Gloy, V.L., Briel, M., Bhatt, D.L., Kashyap, S.R., Schauer, P.R., Mingrone, G., Bucher, H.C., and Nordmann, A.J. (2013). Bariatric surgery versus non-surgical treatment for obesity: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. BMJ *347*, f5934.

Gómez-Valadés, A.G., Méndez-Lucas, A., Vidal-Alabró, A., Blasco, F.X., Chillon, M., Bartrons, R., Bermúdez, J., and Perales, J.C. (2008). Pck1 gene silencing in the liver improves glycemia control, insulin sensitivity, and dyslipidemia in db/db mice. Diabetes *57*, 2199–2210.

Goncalves, D., Barataud, A., De Vadder, F., Vinera, J., Zitoun, C., Duchampt, A., and Mithieux, G. (2014). Bile routing modification recapitulates the key features of gastric bypass in rat. Ann. Surg. (en révision).

Griffith, P.S., Birch, D.W., Sharma, A.M., and Karmali, S. (2012). Managing complications associated with laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass for morbid obesity. Can. J. Surg. J. Can. Chir. *55*, 329–336.

Hankey, C.R. (2010). Session 3 (Joint with the British Dietetic Association): Management of obesity: Weight-loss interventions in the treatment of obesity. Proc. Nutr. Soc. *69*, 34–38.

Hansen, C.F., Bueter, M., Theis, N., Lutz, T., Paulsen, S., Dalbøge, L.S., Vrang, N., and Jelsing, J. (2013). Hypertrophy dependent doubling of L-cells in Roux-en-Y gastric bypass operated rats. PloS One *8*, e65696.

Hao, Z., Zhao, Z., Berthoud, H.-R., and Ye, J. (2013). Development and verification of a mouse model for Roux-en-Y gastric bypass surgery with a small gastric pouch. PloS One *8*, e52922.

Hatoum, I.J., Stylopoulos, N., Vanhoose, A.M., Boyd, K.L., Yin, D.P., Ellacott, K.L.J., Ma, L.L., Blaszczyk, K., Keogh, J.M., Cone, R.D., et al. (2012). Melanocortin-4 receptor signaling is required for weight loss after gastric bypass surgery. J. Clin. Endocrinol. Metab. *97*, E1023–E1031.

Hayes, M.T., Foo, J., Besic, V., Tychinskaya, Y., and Stubbs, R.S. (2011). Is intestinal gluconeogenesis a key factor in the early changes in glucose homeostasis following gastric bypass? Obes. Surg. *21*, 759–762.

Heo, Y., Ahn, J.-H., Shin, S.-H., and Lee, Y.-J. (2013). The effect of duodenojejunal bypass for type 2 diabetes mellitus patients below body mass index 25 kg/m(2): one year follow-up. J. Korean Surg. Soc. *85*, 109–115.

Hess, D.S., and Hess, D.W. (1998). Biliopancreatic diversion with a duodenal switch. Obes. Surg. *8*, 267–282.

Hu, C., Zhang, G., Sun, D., Han, H., and Hu, S. (2013). Duodenal-jejunal bypass improves glucose metabolism and adipokine expression independently of weight loss in a diabetic rat model. Obes. Surg. *23*, 1436–1444.

Immonen, H., Hannukainen, J.C., Iozzo, P., Soinio, M., Salminen, P., Saunavaara, V., Borra, R., Parkkola, R., Mari, A., Lehtimäki, T., et al. (2014a). Effect of bariatric surgery on liver glucose metabolism in morbidly obese diabetic and non-diabetic patients. J. Hepatol. *60*, 377–383.

Jakicic, J.M., Clark, K., Coleman, E., Donnelly, J.E., Foreyt, J., Melanson, E., Volek, J., Volpe, S.L., and American College of Sports Medicine (2001). American College of Sports Medicine position stand. Appropriate intervention strategies for weight loss and prevention of weight regain for adults. Med. Sci. Sports Exerc. *33*, 2145–2156.

Jakubowicz, D., Froy, O., Wainstein, J., and Boaz, M. (2012). Meal timing and composition influence ghrelin levels, appetite scores and weight loss maintenance in overweight and obese adults. Steroids *77*, 323–331.

Janssen, S., Laermans, J., Verhulst, P.-J., Thijs, T., Tack, J., and Depoortere, I. (2011). Bitter taste receptors and α-gustducin regulate the secretion of ghrelin with functional effects on food intake and gastric emptying. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. *108*, 2094–2099.

Jurowich, C.F., Rikkala, P.R., Thalheimer, A., Wichelmann, C., Seyfried, F., Sander, V., Kreissl, M., Germer, C.-T., Koepsell, H., and Otto, C. (2013). Duodenal-jejunal bypass improves glycemia and decreases SGLT1-mediated glucose absorption in rats with streptozotocin-induced type 2 diabetes. Ann. Surg. *258*, 89–97.

Kadowaki, T., Yamauchi, T., Kubota, N., Hara, K., Ueki, K., and Tobe, K. (2006). Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. J. Clin. Invest. *116*, 1784–1792.

Kamegai, J., Tamura, H., Shimizu, T., Ishii, S., Sugihara, H., and Wakabayashi, I. (2000). Central effect of ghrelin, an endogenous growth hormone secretagogue, on hypothalamic peptide gene expression. Endocrinology *141*, 4797–4800.

Karlsson, J., Taft, C., Rydén, A., Sjöström, L., and Sullivan, M. (2007). Ten-year trends in health-related quality of life after surgical and conventional treatment for severe obesity: the SOS intervention study. Int. J. Obes. 2005 *31*, 1248–1261.

Kellum, J.M., Kuemmerle, J.F., O'Dorisio, T.M., Rayford, P., Martin, D., Engle, K., Wolf, L., and Sugerman, H.J. (1990). Gastrointestinal hormone responses to meals before and after gastric bypass and vertical banded gastroplasty. Ann. Surg. *211*, 763–770; discussion 770–771.

Al Khalifa, K., Al Ansari, A., Alsayed, A.R., and Violato, C. (2013). The impact of sleeve gastrectomy on hyperlipidemia: a systematic review. J. Obes. *2013*, 643530.

Kim, M., Son, Y.G., Kang, Y.N., Ha, T.K., and Ha, E. (2014). Changes in Glucose Transporters, Gluconeogenesis, and Circadian Clock after Duodenal-Jejunal Bypass Surgery. Obes. Surg.

Kohli, R., Setchell, K.D., Kirby, M., Myronovych, A., Ryan, K.K., Ibrahim, S.H., Berger, J., Smith, K., Toure, M., Woods, S.C., et al. (2013). A surgical model in male obese rats uncovers protective effects of bile acids post-bariatric surgery. Endocrinology *154*, 2341–2351.

Korner, J., Inabnet, W., Conwell, I.M., Taveras, C., Daud, A., Olivero-Rivera, L., Restuccia, N.L., and Bessler, M. (2006). Differential effects of gastric bypass and banding on circulating gut hormone and leptin levels. Obes. Silver Spring Md *14*, 1553–1561.

Korner, J., Bessler, M., Inabnet, W., Taveras, C., and Holst, J.J. (2007). Exaggerated glucagon-like peptide-1 and blunted glucose-dependent insulinotropic peptide secretion are associated with Roux-en-Y gastric bypass but not adjustable gastric banding. Surg. Obes. Relat. Dis. Off. J. Am. Soc. Bariatr. Surg. *3*, 597–601.

Kucharczyk, J., Nestoridi, E., Kvas, S., Andrews, R., and Stylopoulos, N. (2013). Probing the mechanisms of the metabolic effects of weight loss surgery in humans using a novel mouse model system. J. Surg. Res. *179*, e91–e98.

Laferrère, B., Heshka, S., Wang, K., Khan, Y., McGinty, J., Teixeira, J., Hart, A.B., and Olivan, B. (2007). Incretin levels and effect are markedly enhanced 1 month after Roux-en-Y gastric bypass surgery in obese patients with type 2 diabetes. Diabetes Care *30*, 1709–1716.

Laferrère, B., Teixeira, J., McGinty, J., Tran, H., Egger, J.R., Colarusso, A., Kovack, B., Bawa, B., Koshy, N., Lee, H., et al. (2008). Effect of weight loss by gastric bypass surgery versus hypocaloric diet on glucose and incretin levels in patients with type 2 diabetes. J. Clin. Endocrinol. Metab. *93*, 2479–2485.

Lan, Z., Zassoko, R., Liu, W., Garcia, B., Sun, H., Wang, R., and Wang, H. (2010). Development of techniques for gastrojejunal bypass surgery in obese mice. Microsurgery *30*, 289–295.

Laurenius, A., Larsson, I., Melanson, K.J., Lindroos, A.K., Lönroth, H., Bosaeus, I., and Olbers, T. (2013). Decreased energy density and changes in food selection following Roux-en-Y gastric bypass. Eur. J. Clin. Nutr. *67*, 168–173.

Lee, H.C., Kim, M.K., Kwon, H.S., Kim, E., and Song, K.-H. (2010). Early changes in incretin secretion after laparoscopic duodenal-jejunal bypass surgery in type 2 diabetic patients. Obes. Surg. *20*, 1530–1535.

Li, J.V., Ashrafian, H., Bueter, M., Kinross, J., Sands, C., le Roux, C.W., Bloom, S.R., Darzi, A., Athanasiou, T., Marchesi, J.R., et al. (2011). Metabolic surgery profoundly influences gut microbial-host metabolic cross-talk. Gut *60*, 1214–1223.

Liou, A.P., Paziuk, M., Luevano, J.-M., Machineni, S., Turnbaugh, P.J., and Kaplan, L.M. (2013). Conserved shifts in the gut microbiota due to gastric bypass reduce host weight and adiposity. Sci. Transl. Med. *5*, 178ra41.

Liu, S., Zhang, G., Wang, L., Sun, D., Chen, W., Yan, Z., Sun, Y., and Hu, S. (2012). The entire small intestine mediates the changes in glucose homeostasis after intestinal surgery in Goto-Kakizaki rats. Ann. Surg. *256*, 1049–1058.

Liu, W., Zassoko, R., Mele, T., Luke, P., Sun, H., Liu, W., Garcia, B., Jiang, J., and Wang, H. (2008). Establishment of duodenojejunal bypass surgery in mice: a model designed for diabetic research. Microsurgery *28*, 197–202.

Magnusson, I., Rothman, D.L., Katz, L.D., Shulman, R.G., and Shulman, G.I. (1992). Increased rate of gluconeogenesis in type II diabetes mellitus. A 13C nuclear magnetic resonance study. J. Clin. Invest. *90*, 1323–1327.

Manco, M., Fernandez-Real, J.M., Equitani, F., Vendrell, J., Valera Mora, M.E., Nanni, G., Tondolo, V., Calvani, M., Ricart, W., Castagneto, M., et al. (2007). Effect of massive weight loss on inflammatory adipocytokines and the innate immune system in morbidly obese women. J. Clin. Endocrinol. Metab. *92*, 483–490.

Marantos, G., Daskalakis, M., Karkavitsas, N., Matalliotakis, I., Papadakis, J.A., and Melissas, J. (2011). Changes in metabolic profile and adipoinsular axis in morbidly obese premenopausal females treated with restrictive bariatric surgery. World J. Surg. *35*, 2022–2030.

Marceau, P., Hould, F.S., Simard, S., Lebel, S., Bourque, R.A., Potvin, M., and Biron, S. (1998). Biliopancreatic diversion with duodenal switch. World J. Surg. *22*, 947–954.

Mason, E.E., and Ito, C. (1967). Gastric bypass in obesity. Surg. Clin. North Am. *47*, 1345–1351.

Mathes, C.M., Bueter, M., Smith, K.R., Lutz, T.A., le Roux, C.W., and Spector, A.C. (2012). Roux-en-Y gastric bypass in rats increases sucrose taste-related motivated behavior independent of pharmacological GLP-1-receptor modulation. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. *302*, R751–R767.

Matthes, H.W., Maldonado, R., Simonin, F., Valverde, O., Slowe, S., Kitchen, I., Befort, K., Dierich, A., Le Meur, M., Dollé, P., et al. (1996). Loss of morphine-induced analgesia, reward effect and withdrawal symptoms in mice lacking the mu-opioid-receptor gene. Nature *383*, 819–823.

McLaren, L. (2007). Socioeconomic status and obesity. Epidemiol. Rev. *29*, 29–48.

Meguid, M.M., Glade, M.J., and Middleton, F.A. (2008). Weight regain after Roux-en-Y: a significant 20% complication related to PYY. Nutr. Burbank Los Angel. Cty. Calif *24*, 832–842.

Meirelles, K., Ahmed, T., Culnan, D.M., Lynch, C.J., Lang, C.H., and Cooney, R.N. (2009). Mechanisms of glucose homeostasis after Roux-en-Y gastric bypass surgery in the obese, insulin-resistant Zucker rat. Ann. Surg. *249*, 277–285.

Million, M., Lagier, J.-C., Yahav, D., and Paul, M. (2013). Gut bacterial microbiota and obesity. Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis. *19*, 305–313.

Miras, A.D., and le Roux, C.W. (2010). Bariatric surgery and taste: novel mechanisms of weight loss. Curr. Opin. Gastroenterol. *26*, 140–145.

Miras, A.D., Jackson, R.N., Jackson, S.N., Goldstone, A.P., Olbers, T., Hackenberg, T., Spector, A.C., and le Roux, C.W. (2012). Gastric bypass surgery for obesity decreases the reward value of a sweet-fat stimulus as assessed in a progressive ratio task. Am. J. Clin. Nutr. *96*, 467–473.

Mithieux, G., Daniele, N., Payrastre, B., and Zitoun, C. (1998). Liver microsomal glucose-6-phosphatase is competitively inhibited by the lipid products of phosphatidylinositol 3-kinase. J. Biol. Chem. *273*, 17–19.

Mithieux, G., Bady, I., Gautier, A., Croset, M., Rajas, F., and Zitoun, C. (2004). Induction of control genes in intestinal gluconeogenesis is sequential during fasting and maximal in diabetes. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. *286*, E370–E375.

Mithieux, G., Misery, P., Magnan, C., Pillot, B., Gautier-Stein, A., Bernard, C., Rajas, F., and Zitoun, C. (2005). Portal sensing of intestinal gluconeogenesis is a mechanistic link in the diminution of food intake induced by diet protein. Cell Metab. *2*, 321–329.

Mithieux, G., Gautier-Stein, A., Rajas, F., and Zitoun, C. (2006). Contribution of intestine and kidney to glucose fluxes in different nutritional states in rat. Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol. *143*, 195–200.

Mognol, P., Chosidow, D., and Marmuse, J.-P. (2005). Laparoscopic sleeve gastrectomy as an initial bariatric operation for high-risk patients: initial results in 10 patients. Obes. Surg. *15*, 1030–1033.

Moizé, V., Andreu, A., Rodríguez, L., Flores, L., Ibarzabal, A., Lacy, A., Jiménez, A., and Vidal, J. (2013). Protein intake and lean tissue mass retention following bariatric surgery. Clin. Nutr. Edinb. Scotl. *32*, 550–555.

Mokadem, M., Zechner, J.F., Margolskee, R.F., Drucker, D.J., and Aguirre, V. (2014). Effects of Roux-en-Y gastric bypass on energy and glucose homeostasis are preserved in two mouse models of functional glucagon-like peptide-1 deficiency. Mol. Metab. *3*, 191–201.

Mumphrey, M.B., Patterson, L.M., Zheng, H., and Berthoud, H.-R. (2013). Roux-en-Y gastric bypass surgery increases number but not density of CCK-, GLP-1-, 5-HT-, and neurotensin-expressing enteroendocrine cells in rats. Neurogastroenterol. Motil. Off. J. Eur. Gastrointest. Motil. Soc. *25*, e70–e79.

Mumphrey, M.B., Hao, Z., Townsend, R.L., Patterson, L.M., Morrison, C.D., Münzberg, H., Stylopoulos, N., Ye, J., and Berthoud, H.-R. (2014). Reversible hyperphagia and obesity in rats with gastric bypass by central MC3/4R blockade. Obes. Silver Spring Md *22*, 1847–1853.

Nestoridi, E., Kvas, S., Kucharczyk, J., and Stylopoulos, N. (2012). Resting energy expenditure and energetic cost of feeding are augmented after Roux-en-Y gastric bypass in obese mice. Endocrinology *153*, 2234–2244.

Ng, M., Fleming, T., Robinson, M., Thomson, B., Graetz, N., Margono, C., Mullany, E.C., Biryukov, S., Abbafati, C., Abera, S.F., et al. (2014). Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. Lancet *384*, 766–781.

Nogueiras, R., Romero-Picó, A., Vazquez, M.J., Novelle, M.G., López, M., and Diéguez, C. (2012). The Opioid System and Food Intake: Homeostatic and Hedonic Mechanisms. Obes. Facts *5*, 196–207.

Nuttall, F.Q., and Gannon, M.C. (2004). Metabolic response of people with type 2 diabetes to a high protein diet. Nutr. Metab. *1*, 6.

Nuttall, F.Q., Gannon, M.C., Wald, J.L., and Ahmed, M. (1985). Plasma glucose and insulin profiles in normal subjects ingesting diets of varying carbohydrate, fat, and protein content. J. Am. Coll. Nutr. *4*, 437–450.

Odstrcil, E.A., Martinez, J.G., Santa Ana, C.A., Xue, B., Schneider, R.E., Steffer, K.J., Porter, J.L., Asplin, J., Kuhn, J.A., and Fordtran, J.S. (2010). The contribution of malabsorption to the reduction in net energy absorption after long-limb Roux-en-Y gastric bypass. Am. J. Clin. Nutr. *92*, 704–713.

Olbers, T., Björkman, S., Lindroos, A., Maleckas, A., Lönn, L., Sjöström, L., and Lönroth, H. (2006). Body composition, dietary intake, and energy expenditure after laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass and laparoscopic vertical banded gastroplasty: a randomized clinical trial. Ann. Surg. *244*, 715–722.

Owen, M.R., Doran, E., and Halestrap, A.P. (2000). Evidence that metformin exerts its anti-diabetic effects through inhibition of complex 1 of the mitochondrial respiratory chain. Biochem. J. *348 Pt 3*, 607–614.

Paik, K.Y., Kim, W., Song, K.-H., Kwon, H.S., Kim, M.K., and Kim, E. (2012). The preliminary clinical experience with laparoscopic duodenojejunal bypass for treatment of type 2 diabetes mellitus in non-morbidly obese patients: the 1-year result in a single institute. Surg. Endosc. *26*, 3287–3292.

Paranjape, S.A., Chan, O., Zhu, W., Acharya, N.K., Rogers, A.M., Hajnal, A., and Sherwin, R.S. (2013). Improvement in hepatic insulin sensitivity after Roux-en-Y gastric bypass in a rat model of obesity is partially mediated via hypothalamic insulin action. Diabetologia *56*, 2055–2058.

Parikh, M., Issa, R., McCrillis, A., Saunders, J.K., Ude-Welcome, A., and Gagner, M. (2013). Surgical strategies that may decrease leak after laparoscopic sleeve gastrectomy: a systematic review and meta-analysis of 9991 cases. Ann. Surg. *257*, 231–237.

Patel, R.T., Shukla, A.P., Ahn, S.M., Moreira, M., and Rubino, F. (2014). Surgical control of obesity and diabetes: the role of intestinal vs. gastric mechanisms in the regulation of body weight and glucose homeostasis. Obes. Silver Spring Md *22*, 159–169.

Patti, M.E., McMahon, G., Mun, E.C., Bitton, A., Holst, J.J., Goldsmith, J., Hanto, D.W., Callery, M., Arky, R., Nose, V., et al. (2005). Severe hypoglycaemia post-gastric bypass requiring partial pancreatectomy: evidence for inappropriate insulin secretion and pancreatic islet hyperplasia. Diabetologia *48*, 2236–2240.

Patti, M.-E., Houten, S.M., Bianco, A.C., Bernier, R., Larsen, P.R., Holst, J.J., Badman, M.K., Maratos-Flier, E., Mun, E.C., Pihlajamaki, J., et al. (2009). Serum bile acids are higher in humans with prior gastric bypass: potential contribution to improved glucose and lipid metabolism. Obes. Silver Spring Md *17*, 1671–1677.

Payne, J.H., and DeWind, L.T. (1969). Surgical treatment of obesity. Am. J. Surg. *118*, 141–147.

Payne, J.H., DeWind, L., Schwab, C.E., and Kern, W.H. (1973). Surgical treatment of morbid obesity. Sixteen years of experience. Arch. Surg. Chic. Ill 1960 *106*, 432–437.

Penhoat, A., Mutel, E., Amigo-Correig, M., Pillot, B., Stefanutti, A., Rajas, F., and Mithieux, G. (2011). Protein-induced satiety is abolished in the absence of intestinal gluconeogenesis. Physiol. Behav. *105*, 89–93.

Peraldi, P., Xu, M., and Spiegelman, B.M. (1997). Thiazolidinediones block tumor necrosis factor-alpha-induced inhibition of insulin signaling. J. Clin. Invest. *100*, 1863–1869.

Pillot, B., Soty, M., Gautier-Stein, A., Zitoun, C., and Mithieux, G. (2009). Protein feeding promotes redistribution of endogenous glucose production to the kidney and potentiates its suppression by insulin. Endocrinology *150*, 616–624.

Plum, L., Ahmed, L., Febres, G., Bessler, M., Inabnet, W., Kunreuther, E., McMahon, D.J., and Korner, J. (2011). Comparison of glucostatic parameters after hypocaloric diet or bariatric surgery and equivalent weight loss. Obes. Silver Spring Md *19*, 2149–2157.

Pories, W.J., Swanson, M.S., MacDonald, K.G., Long, S.B., Morris, P.G., Brown, B.M., Barakat, H.A., deRamon, R.A., Israel, G., and Dolezal, J.M. (1995). Who would have thought it? An operation proves to be the most effective therapy for adult-onset diabetes mellitus. Ann. Surg. *222*, 339–350; discussion 350–352.

Prawitt, J., Caron, S., and Staels, B. (2011). Bile acid metabolism and the pathogenesis of type 2 diabetes. Curr. Diab. Rep. *11*, 160–166.

Rajas, F., Bruni, N., Montano, S., Zitoun, C., and Mithieux, G. (1999). The glucose-6 phosphatase gene is expressed in human and rat small intestine: regulation of expression in fasted and diabetic rats. Gastroenterology *117*, 132–139.

Rajas, F., Croset, M., Zitoun, C., Montano, S., and Mithieux, G. (2000). Induction of PEPCK gene expression in insulinopenia in rat small intestine. Diabetes *49*, 1165–1168.

Rajas, F., Jourdan-Pineau, H., Stefanutti, A., Mrad, E.A., Iynedjian, P.B., and Mithieux, G. (2007). Immunocytochemical localization of glucose 6-phosphatase and cytosolic phosphoenolpyruvate carboxykinase in gluconeogenic tissues reveals unsuspected metabolic zonation. Histochem. Cell Biol. *127*, 555–565.

Ramos, A.C., Galvão Neto, M.P., de Souza, Y.M., Galvão, M., Murakami, A.H., Silva, A.C., Canseco, E.G., Santamaría, R., and Zambrano, T.A. (2009). Laparoscopic duodenal-jejunal exclusion in the treatment of type 2 diabetes mellitus in patients with BMI<30 kg/m2 (LBMI). Obes. Surg. *19*, 307–312.

Razquin, C., Marti, A., and Martinez, J.A. (2011). Evidences on three relevant obesogenes: MC4R, FTO and PPARγ. Approaches for personalized nutrition. Mol. Nutr. Food Res. *55*, 136–149.

Rizzello, M., Abbatini, F., Casella, G., Alessandri, G., Fantini, A., Leonetti, F., and Basso, N. (2010). Early postoperative insulin-resistance changes after sleeve gastrectomy. Obes. Surg. *20*, 50–55.

Rodieux, F., Giusti, V., D'Alessio, D.A., Suter, M., and Tappy, L. (2008). Effects of gastric bypass and gastric banding on glucose kinetics and gut hormone release. Obes. Silver Spring Md *16*, 298–305.

Le Roux, C.W., Aylwin, S.J.B., Batterham, R.L., Borg, C.M., Coyle, F., Prasad, V., Shurey, S., Ghatei, M.A., Patel, A.G., and Bloom, S.R. (2006). Gut hormone profiles following bariatric surgery favor an anorectic state, facilitate weight loss, and improve metabolic parameters. Ann. Surg. *243*, 108–114.

Le Roux, C.W., Borg, C., Wallis, K., Vincent, R.P., Bueter, M., Goodlad, R., Ghatei, M.A., Patel, A., Bloom, S.R., and Aylwin, S.J.B. (2010). Gut hypertrophy after gastric bypass is associated with increased glucagon-like peptide 2 and intestinal crypt cell proliferation. Ann. Surg. *252*, 50–56.

Le Roux, C.W., Bueter, M., Theis, N., Werling, M., Ashrafian, H., Löwenstein, C., Athanasiou, T., Bloom, S.R., Spector, A.C., Olbers, T., et al. (2011). Gastric bypass reduces fat intake and preference. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. *301*, R1057–R1066.

Rubino, F. (2013). From bariatric to metabolic surgery: definition of a new discipline and implications for clinical practice. Curr. Atheroscler. Rep. *15*, 369.

Rubino, F., and Marescaux, J. (2004). Effect of duodenal-jejunal exclusion in a non-obese animal model of type 2 diabetes: a new perspective for an old disease. Ann. Surg. *239*, 1–11.

Rubino, F., Schauer, P.R., Kaplan, L.M., and Cummings, D.E. (2010). Metabolic surgery to treat type 2 diabetes: clinical outcomes and mechanisms of action. Annu. Rev. Med. *61*, 393–411.

Saeidi, N., Meoli, L., Nestoridi, E., Gupta, N.K., Kvas, S., Kucharczyk, J., Bonab, A.A., Fischman, A.J., Yarmush, M.L., and Stylopoulos, N. (2013). Reprogramming of intestinal glucose metabolism and glycemic control in rats after gastric bypass. Science *341*, 406–410.

Saeidi, N., Nestoridi, E., Kucharczyk, J., Uygun, M.K., Yarmush, M.L., and Stylopoulos, N. (2012). Sleeve gastrectomy and Roux-en-Y gastric bypass exhibit differential effects on food preferences, nutrient absorption and energy expenditure in obese rats. Int. J. Obes. 2005 *36*, 1396–1402.

Sarwer, D.B., von Sydow Green, A., Vetter, M.L., and Wadden, T.A. (2009). Behavior therapy for obesity: where are we now? Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes Obes. *16*, 347–352.

Schauer, P.R., Burguera, B., Ikramuddin, S., Cottam, D., Gourash, W., Hamad, G., Eid, G.M., Mattar, S., Ramanathan, R., Barinas-Mitchel, E., et al. (2003). Effect of laparoscopic Roux-en Y gastric bypass on type 2 diabetes mellitus. Ann. Surg. *238*, 467–484; discussion 84–85.

Schneck, A.-S., Iannelli, A., Patouraux, S., Rousseau, D., Bonnafous, S., Bailly-Maitre, B., Le Thuc, O., Rovere, C., Panaia-Ferrari, P., Anty, R., et al. (2014). Effects of sleeve gastrectomy in high fat diet-induced obese mice: respective role of reduced caloric intake, white adipose tissue inflammation and changes in adipose tissue and ectopic fat depots. Surg. Endosc. *28*, 592–602.

Schultes, B., Ernst, B., Wilms, B., Thurnheer, M., and Hallschmid, M. (2010). Hedonic hunger is increased in severely obese patients and is reduced after gastric bypass surgery. Am. J. Clin. Nutr. *92*, 277–283.

Scopinaro, N., Gianetta, E., Civalleri, D., Bonalumi, U., and Bachi, V. (1979). Bilio-pancreatic bypass for obesity: II. Initial experience in man. Br. J. Surg. *66*, 618–620.

Segula, D. (2014). Complications of obesity in adults: a short review of the literature. Malawi Med. J. J. Med. Assoc. Malawi *26*, 20–24.

Seino, S. (2012). Cell signalling in insulin secretion: the molecular targets of ATP, cAMP and sulfonylurea. Diabetologia *55*, 2096–2108.

Selassie, M., and Sinha, A.C. (2011). The epidemiology and aetiology of obesity: a global challenge. Best Pract. Res. Clin. Anaesthesiol. *25*, 1–9.

Service, G.J., Thompson, G.B., Service, F.J., Andrews, J.C., Collazo-Clavell, M.L., and Lloyd, R.V. (2005). Hyperinsulinemic hypoglycemia with nesidioblastosis after gastric-bypass surgery. N. Engl. J. Med. *353*, 249–254.

Seyfried, F., Lannoo, M., Gsell, W., Tremoleda, J.L., Bueter, M., Olbers, T., Jurowich, C., Germer, C.-T., and le Roux, C.W. (2012). Roux-en-Y gastric bypass in mice--surgical technique and characterisation. Obes. Surg. *22*, 1117–1125.

Seyfried, F., Li, J.V., Miras, A.D., Cluny, N.L., Lannoo, M., Fenske, W.K., Sharkey, K.A., Nicholson, J.K., le Roux, C.W., and Holmes, E. (2013). Urinary phenotyping indicates weight loss-independent metabolic effects of Roux-en-Y gastric bypass in mice. J. Proteome Res. *12*, 1245–1253.

Seyfried, F., le Roux, C.W., and Bueter, M. (2011). Lessons learned from gastric bypass operations in rats. Obes. Facts *4 Suppl 1*, 3–12.

Shaw, R.J., Lamia, K.A., Vasquez, D., Koo, S.-H., Bardeesy, N., Depinho, R.A., Montminy, M., and Cantley, L.C. (2005). The kinase LKB1 mediates glucose homeostasis in liver and therapeutic effects of metformin. Science *310*, 1642–1646.

Shin, A.C., Zheng, H., Pistell, P.J., and Berthoud, H.-R. (2011). Roux-en-Y gastric bypass surgery changes food reward in rats. Int. J. Obes. 2005 *35*, 642–651.

Shin, A.C., Zheng, H., and Berthoud, H.-R. (2012). Vagal innervation of the hepatic portal vein and liver is not necessary for Roux-en-Y gastric bypass surgery-induced hypophagia, weight loss, and hypermetabolism. Ann. Surg. *255*, 294–301.

Silecchia, G., Boru, C., Pecchia, A., Rizzello, M., Casella, G., Leonetti, F., and Basso, N. (2006). Effectiveness of laparoscopic sleeve gastrectomy (first stage of biliopancreatic diversion with duodenal switch) on co-morbidities in super-obese high-risk patients. Obes. Surg. *16*, 1138–1144.

Simonen, M., Dali-Youcef, N., Kaminska, D., Venesmaa, S., Käkelä, P., Pääkkönen, M., Hallikainen, M., Kolehmainen, M., Uusitupa, M., Moilanen, L., et al. (2012). Conjugated bile acids associate with altered rates of glucose and lipid oxidation after Roux-en-Y gastric bypass. Obes. Surg. *22*, 1473–1480.

Simpson, K.A., Martin, N.M., and Bloom, S.R. (2009). Hypothalamic regulation of food intake and clinical therapeutic applications. Arq. Bras. Endocrinol. Metabol. *53*, 120–128.

Singh, D., Laya, A.-S., Clarkston, W.-K., and Allen, M.-J. (2009). Jejunoileal bypass: a surgery of the past and a review of its complications. World J. Gastroenterol. WJG *15*, 2277–2279.

Sjöström, L. (2013). Review of the key results from the Swedish Obese Subjects (SOS) trial - a prospective controlled intervention study of bariatric surgery. J. Intern. Med. *273*, 219–234.

Sjostrom, L., Rissanen, A., Andersen, T., Boldrin, M., Golay, A., Koppeschaar, H., Krempf, M., and European Multicenter Orlistat Study Group (2000). [Randomized placebo-controlled trial of orlistat for weight loss and prevention of weight regain in obese patients]. Ter. Arkhiv *72*, 50–54.

Sjöström, L., Lindroos, A.-K., Peltonen, M., Torgerson, J., Bouchard, C., Carlsson, B., Dahlgren, S., Larsson, B., Narbro, K., Sjöström, C.D., et al. (2004). Lifestyle, diabetes, and cardiovascular risk factors 10 years after bariatric surgery. N. Engl. J. Med. *351*, 2683–2693.

Sloop, K.W., Showalter, A.D., Cox, A.L., Cao, J.X.C., Siesky, A.M., Zhang, H.Y., Irizarry, A.R., Murray, S.F., Booten, S.L., Finger, E.A., et al. (2007). Specific reduction of hepatic glucose 6-phosphate transporter-1 ameliorates diabetes while avoiding complications of glycogen storage disease. J. Biol. Chem. *282*, 19113–19121.

Speck, M., Cho, Y.M., Asadi, A., Rubino, F., and Kieffer, T.J. (2011). Duodenal-jejunal bypass protects GK rats from {beta}-cell loss and aggravation of hyperglycemia and increases enteroendocrine cells coexpressing GIP and GLP-1. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. *300*, E923–E932.

Stearns, A.T., Balakrishnan, A., and Tavakkolizadeh, A. (2009). Impact of Roux-en-Y gastric bypass surgery on rat intestinal glucose transport. Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. *297*, G950–G957.

Stefater, M.A., Wilson-Pérez, H.E., Chambers, A.P., Sandoval, D.A., and Seeley, R.J. (2012). All bariatric surgeries are not created equal: insights from mechanistic comparisons. Endocr. Rev. *33*, 595–622.

Sternini, C., Patierno, S., Selmer, I.-S., and Kirchgessner, A. (2004). The opioid system in the gastrointestinal tract. Neurogastroenterol. Motil. Off. J. Eur. Gastrointest. Motil. Soc. *16 Suppl 2*, 3–16.

Strader, A.D., Vahl, T.P., Jandacek, R.J., Woods, S.C., D'Alessio, D.A., and Seeley, R.J. (2005). Weight loss through ileal transposition is accompanied by increased ileal hormone secretion and synthesis in rats. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. *288*, E447–E453.

Stümpel, F., Burcelin, R., Jungermann, K., and Thorens, B. (2001). Normal kinetics of intestinal glucose absorption in the absence of GLUT2: evidence for a transport pathway requiring glucose phosphorylation and transfer into the endoplasmic reticulum. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. *98*, 11330–11335.

Stylopoulos, N., Hoppin, A.G., and Kaplan, L.M. (2009). Roux-en-Y gastric bypass enhances energy expenditure and extends lifespan in diet-induced obese rats. Obes. Silver Spring Md *17*, 1839–1847.

Sun, D., Wang, K., Yan, Z., Zhang, G., Liu, S., Liu, F., Hu, C., and Hu, S. (2013). Duodenal-jejunal bypass surgery up-regulates the expression of the hepatic insulin signaling proteins and the key regulatory enzymes of intestinal gluconeogenesis in diabetic Goto-Kakizaki rats. Obes. Surg. *23*, 1734–1742.

Sun, Y., Liu, S., Ferguson, S., Wang, L., Klepcyk, P., Yun, J.S., and Friedman, J.E. (2002). Phosphoenolpyruvate carboxykinase overexpression selectively attenuates insulin signaling and hepatic insulin sensitivity in transgenic mice. J. Biol. Chem. *277*, 23301–23307.

Suter, M., Calmes, J.-M., Paroz, A., and Giusti, V. (2007). A new questionnaire for quick assessment of food tolerance after bariatric surgery. Obes. Surg. *17*, 2–8.

Swenson, B.R., Saalwachter Schulman, A., Edwards, M.J., Gross, M.P., Hedrick, T.L., Weltman, A.L., Northrup, C.J., Schirmer, B.D., and Sawyer, R.G. (2007). The effect of a low-carbohydrate, high-protein diet on post laparoscopic gastric bypass weight loss: a prospective randomized trial. J. Surg. Res. *142*, 308–313.

Tabarin, A., Diz-Chaves, Y., Chaves, Y.D., Carmona, M. del C., Catargi, B., Zorrilla, E.P., Roberts, A.J., Coscina, D.V., Rousset, S., Redonnet, A., et al. (2005). Resistance to diet-induced obesity in mu-opioid receptor-deficient mice: evidence for a "thrifty gene." Diabetes *54*, 3510–3516.

Taqi, E., Wallace, L.E., de Heuvel, E., Chelikani, P.K., Zheng, H., Berthoud, H.-R., Holst, J.J., and Sigalet, D.L. (2010). The influence of nutrients, biliary-pancreatic secretions, and systemic trophic hormones on intestinal adaptation in a Roux-en-Y bypass model. J. Pediatr. Surg. *45*, 987–995.

Thaler, J.P., and Cummings, D.E. (2009). Minireview: Hormonal and metabolic mechanisms of diabetes remission after gastrointestinal surgery. Endocrinology *150*, 2518–2525.

Thivel, D., Brakonieki, K., Duche, P., Morio, B., Béatrice, M., Boirie, Y., Yves, B., and Laferrère, B. (2013). Surgical weight loss: impact on energy expenditure. Obes. Surg. *23*, 255–266.

Thomas, J.R., and Marcus, E. (2008). High and low fat food selection with reported frequency intolerance following Roux-en-Y gastric bypass. Obes. Surg. *18*, 282–287.

Tichansky, D.S., Glatt, A.R., Madan, A.K., Harper, J., Tokita, K., and Boughter, J.D. (2011). Decrease in sweet taste in rats after gastric bypass surgery. Surg. Endosc. *25*, 1176–1181.

Tremaroli, V., and Bäckhed, F. (2012). Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. Nature *489*, 242–249.

Trinh, K.Y., O'Doherty, R.M., Anderson, P., Lange, A.J., and Newgard, C.B. (1998). Perturbation of fuel homeostasis caused by overexpression of the glucose-6-phosphatase catalytic subunit in liver of normal rats. J. Biol. Chem. *273*, 31615–31620.

Troy, S., Soty, M., Ribeiro, L., Laval, L., Migrenne, S., Fioramonti, X., Pillot, B., Fauveau, V., Aubert, R., Viollet, B., et al. (2008). Intestinal gluconeogenesis is a key factor for early metabolic changes after gastric bypass but not after gastric lap-band in mice. Cell Metab. *8*, 201–211.

Turnbaugh, P.J., Ley, R.E., Mahowald, M.A., Magrini, V., Mardis, E.R., and Gordon, J.I. (2006). An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. Nature *444*, 1027–1031.

Tymitz, K., Engel, A., McDonough, S., Hendy, M.P., and Kerlakian, G. (2011). Changes in ghrelin levels following bariatric surgery: review of the literature. Obes. Surg. *21*, 125–130.

Ullmer, C., Alvarez Sanchez, R., Sprecher, U., Raab, S., Mattei, P., Dehmlow, H., Sewing, S., Iglesias, A., Beauchamp, J., and Conde-Knape, K. (2013). Systemic bile acid sensing by G protein-coupled bile acid receptor 1 (GPBAR1) promotes PYY and GLP-1 release. Br. J. Pharmacol. *169*, 671–684.

Ullrich, J., Ernst, B., Wilms, B., Thurnheer, M., and Schultes, B. (2013). Roux-en Y gastric bypass surgery reduces hedonic hunger and improves dietary habits in severely obese subjects. Obes. Surg. *23*, 50–55.

De Vadder, F., Kovatcheva-Datchary, P., Goncalves, D., Vinera, J., Zitoun, C., Duchampt, A., Bäckhed, F., and Mithieux, G. (2014). Microbiota-generated metabolites promote metabolic benefits via gut-brain neural circuits. Cell *156*, 84–96.

Veldhorst, M., Smeets, A., Soenen, S., Hochstenbach-Waelen, A., Hursel, R., Diepvens, K., Lejeune, M., Luscombe-Marsh, N., and Westerterp-Plantenga, M. (2008). Protein-induced satiety: effects and mechanisms of different proteins. Physiol. Behav. *94*, 300–307.

Verbeek, J., Lannoo, M., Pirinen, E., Ryu, D., Spincemaille, P., Vander Elst, I., Windmolders, P., Thevissen, K., Cammue, B.P.A., van Pelt, J., et al. (2014). Roux-en-y gastric bypass attenuates hepatic mitochondrial dysfunction in mice with non-alcoholic steatohepatitis. Gut.

Verspohl, E.J. (2009). Novel therapeutics for type 2 diabetes: incretin hormone mimetics (glucagon-like peptide-1 receptor agonists) and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors. Pharmacol. Ther. *124*, 113–138.

Vetter, M.L., Amaro, A., and Volger, S. (2014). Nutritional management of type 2 diabetes mellitus and obesity and pharmacologic therapies to facilitate weight loss. Postgrad. Med. *126*, 139–152.

Wang, T.T., Hu, S.Y., Gao, H.D., Zhang, G.Y., Liu, C.Z., Feng, J.B., and Frezza, E.E. (2008). Ileal transposition controls diabetes as well as modified duodenal jejunal bypass with better lipid lowering in a nonobese rat model of type II diabetes by increasing GLP-1. Ann. Surg. *247*, 968–975.

Weigle, D.S., Breen, P.A., Matthys, C.C., Callahan, H.S., Meeuws, K.E., Burden, V.R., and Purnell, J.Q. (2005). A high-protein diet induces sustained reductions in appetite, ad libitum caloric intake, and body weight despite compensatory changes in diurnal plasma leptin and ghrelin concentrations. Am. J. Clin. Nutr. *82*, 41–48.

De Weijer, B.A., Aarts, E., Janssen, I.M.C., Berends, F.J., van de Laar, A., Kaasjager, K., Ackermans, M.T., Fliers, E., and Serlie, M.J. (2013). Hepatic and peripheral insulin sensitivity do not improve 2 weeks after bariatric surgery. Obes. Silver Spring Md *21*, 1143–1147.

Werling, M., Olbers, T., Fändriks, L., Bueter, M., Lönroth, H., Stenlöf, K., and le Roux, C.W. (2013). Increased postprandial energy expenditure may explain superior long term weight loss after Roux-en-Y gastric bypass compared to vertical banded gastroplasty. PloS One *8*, e60280.

Wickremesekera, K., Miller, G., Naotunne, T.D., Knowles, G., and Stubbs, R.S. (2005). Loss of insulin resistance after Roux-en-Y gastric bypass surgery: a time course study. Obes. Surg. *15*, 474–481.

Woods, M., Lan, Z., Li, J., Wheeler, M.B., Wang, H., and Wang, R. (2011). Antidiabetic effects of duodenojejunal bypass in an experimental model of diabetes induced by a high-fat diet. Br. J. Surg. *98*, 686–696.

Wright, S.M., and Aronne, L.J. (2012). Causes of obesity. Abdom. Imaging *37*, 730–732.

Yan, S., Sun, F., Li, Z., Xiang, J., Ding, Y., Lu, Z., Tian, Y., Chen, H., Zhang, J., Wang, Y., et al. (2013). Reduction of intestinal electrogenic glucose absorption after duodenojejunal bypass in a mouse model. Obes. Surg. *23*, 1361–1369.

Ye, J., Hao, Z., Mumphrey, M.B., Townsend, R.L., Patterson, L.M., Stylopoulos, N., Münzberg, H., Morrison, C.D., Drucker, D.J., and Berthoud, H.-R. (2014). GLP-1 receptor signaling is not required for reduced body weight after RYGB in rodents. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. *306*, R352–R362.

Yin, D.P., Gao, Q., Ma, L.L., Yan, W., Williams, P.E., McGuinness, O.P., Wasserman, D.H., and Abumrad, N.N. (2011). Assessment of different bariatric surgeries in the treatment of obesity and insulin resistance in mice. Ann. Surg. *254*, 73–82.

Yip, S., Plank, L.D., and Murphy, R. (2013). Gastric bypass and sleeve gastrectomy for type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis of outcomes. Obes. Surg. *23*, 1994–2003.

Zechner, J.F., Mirshahi, U.L., Satapati, S., Berglund, E.D., Rossi, J., Scott, M.M., Still, C.D., Gerhard, G.S., Burgess, S.C., Mirshahi, T., et al. (2013). Weight-independent effects of roux-en-Y gastric bypass on glucose homeostasis via melanocortin-4 receptors in mice and humans. Gastroenterology *144*, 580–590.e7.

Zhang, H., DiBaise, J.K., Zuccolo, A., Kudrna, D., Braidotti, M., Yu, Y., Parameswaran, P., Crowell, M.D., Wing, R., Rittmann, B.E., et al. (2009). Human gut microbiota in obesity and after gastric bypass. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. *106*, 2365–2370.

Zheng, H., Shin, A.C., Lenard, N.R., Townsend, R.L., Patterson, L.M., Sigalet, D.L., and Berthoud, H.-R. (2009). Meal patterns, satiety, and food choice in a rat model of Roux-en-Y gastric bypass surgery. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. *297*, R1273–R1282.

Zhou, Y., and Rui, L. (2013). Leptin signaling and leptin resistance. Front. Med. *7*, 207–222.

Zioudrou, C., Streaty, R.A., and Klee, W.A. (1979). Opioid peptides derived from food proteins. The exorphins. J. Biol. Chem. *254*, 2446–2449.

Zuberi, A.R., Townsend, L., Patterson, L., Zheng, H., and Berthoud, H.-R. (2008). Increased adiposity on normal diet, but decreased susceptibility to diet-induced obesity in mu-opioid receptor-deficient mice. Eur. J. Pharmacol. *585*, 14–23.

TRAVAUX PERSONNELS

PUBLICATIONS

Goncalves D., Barataud A., De Vadder F., Vinera J., Zitoun C., Duchampt A., and Mithieux G. (2014). Bile routing modification recapitulates the key features of gastric bypass in rat.
Annals of Surgery, acceptée le 22 novembre 2014.

Barataud A., Goncalves D., Vinera J., Zitoun C., Duchampt A., Gautier-Stein A., and Mithieux G. (2014). Role of dietary protein sensing in the metabolic benefits of duodenal-jejunal bypass in the mouse.
Soumission prévue en novembre 2014

Barataud A., Vinera J., Goncalves D., Zitoun C., Duchampt A., Gautier-Stein A., and Mithieux G. (2014). Modifications of endogenous glucose production and food intake after duodenal-jejunal bypass in the mouse.
En préparation

COMMUNICATIONS

✓ ORALE

Barataud A., Goncalves D., Vinera J., De Vadder F., Zitoun C., Duchampt A., and Mithieux G. Rôle des récepteurs mu-opioïdes dans les améliorations métaboliques après by-pass gastrique.
Congrès de la Société Française d'Endocrinologie ; Paris (France) ; Octobre 2013

✓ AFFICHÉE ET DISCUTÉE

Barataud A., Goncalves D., Vinera J., Zitoun C., Duchampt A., and Mithieux G. (2013). Rôle de la néoglucogenèse intestinale dans l'amélioration de l'homéostasie glucidique après by-pass gastrique
Congès de la Société Francophone du Diabète ; Paris (France) ; Mars 2014

ANNEXES

ANNEXE 1

BILE ROUTING MODIFICATION RECAPITULATES THE KEY FEATURES OF GASTRIC BYPASS IN RAT

Daisy Goncalves, Aude Barataud, Filipe De Vadder, Jennifer Vinera, Carine Zitoun, Adeline Duchampt and Gilles Mithieux.

Annals of Surgery (accepted on November 2014)

BILE ROUTING MODIFICATION RECAPITULATES THE KEY FEATURES OF GASTRIC BYPASS IN RAT

Daisy Goncalves[1-3], Aude Barataud[1-3], Filipe De Vadder[1-3], Jennifer Vinera[1-3], Carine Zitoun[1-3], Adeline Duchampt[1-3] and Gilles Mithieux[1-3].

[1] Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, U855, Lyon, F-69008, France

[2] Université de Lyon, Lyon, F-69008, France

[3] Université Lyon 1, Villeurbanne, F-69622, France

Address for correspondence:

Dr Gilles Mithieux

Inserm U855, Faculté de Médecine Laennec

7-11 rue Guillaume Paradin, 69372 Lyon cedex 08 France

Tel: +33 4 78 77 87 88/Fax: +33 4 78 77 87 62

E-mail: gilles.mithieux@univ-lyon1.fr

Sources of support :

« Agence Nationale de la Recherche » (ANR11-BSV1-016-01) and « Société Francophone du Diabète » (exceptional funding 2012).

Number of figures and tables:

6 figures + 2 supplemental figures + 1 supplementary table

MINI-ABSTRACT

We performed bile diversions matching the modified biliary flow occurring after gastric bypass (GBP) in rats. Our results strongly suggest that the only modification of bile routing mimics the main metabolic benefits of GBP: 1) improved glucose control, 2) decreased food intake because of disinterest in high calorie food.

STRUCTURED ABSTRACT

Objective: To evaluate the role of bile routing modification on the beneficial effects of gastric bypass surgery on glucose and energy metabolism.

Summary background data: Gastric bypass surgery (GBP) promotes early improvements in glucose and energy homeostasis in obese diabetic patients. A suggested mechanism associates a decrease in hepatic glucose production (HGP) to an enhanced intestinal gluconeogenesis (IGN). Moreover, plasma bile acids are elevated after GBP and bile acids are inhibitors of gluconeogenesis.

Methods: In male Sprague-Dawley rats, we performed bile diversions from the bile duct to the mid-jejunum or the mid-ileum to match the modified bile delivery in the gut occurring in GBP. Body weight, food intake, glucose tolerance, insulin sensitivity and food preference were analyzed. The expression of gluconeogenesis genes was evaluated in both the liver and the intestine.

Results: Bile diversions mimicking GBP promote an increase in plasma bile acids and a marked improvement in glucose control. Bile bioavailability modification is causal since a bile acid sequestrant suppresses the beneficial effects of bile diversions on glucose control. In agreement with the inhibitory role of bile acids on gluconeogenesis, bile diversions promote a blunting in HGP, whereas IGN is increased in the gut segments devoid of bile. In rats fed a

high fat-high sucrose diet, bile diversions improve glucose control and dramatically decrease food intake due to an acquired disinterest in fatty food.

Conclusion: This study shows that bile routing modification is a key mechanistic feature in the beneficial outcomes of GBP.

INTRODUCTION

The last decades have seen an alarming worldwide increase in the prevalence of obesity and its associated diseases, particularly type 2 diabetes, which currently affects hundreds of millions of people. Gastric bypass surgery (GBP) has emerged as an effective treatment for morbid obese diabetic patients since it provokes a rapid diabetes remission, before any weight loss has occurred (1,2). Patients also report a loss of hunger sensation and a disinterest in fatty food, likely helpful to the later loss of body weight (3–5). However, the mechanisms by which GBP induces these beneficial effects on glucose homeostasis and food behavior remain largely unclear.

Among the disorders characteristic of type 2 diabetes, an increase in hepatic glucose production (HGP) is considered to be a major cause of insulin resistance and hyperglycemia (6,7). Diverging from this dogma, intestinal gluconeogenesis (IGN) has been shown to induce beneficial effects on glucose and energy homeostasis. Indeed, glucose released by IGN is detected by a portal glucose sensor (8) that initiates a gut-brain neural circuit inducing satiety (9,10) and an increased inhibition of HGP by insulin (11). In models of GBP, an induction of IGN with in parallel a decrease in HGP has been reported in rodents (12–14) and humans (15–17). Even if these opposite regulations could both explain the improvements in energy and glucose metabolism observed after GBP, the underlying regulatory mechanisms remain to be understood.

Bile acids (BA) have emerged as key metabolic regulators, which might account for several anti-diabetic effects. Indeed, BA regulate insulin secretion in β-cells (18–20) and increase energy expenditure in the brown-adipose tissue and skeletal muscle (21). Interestingly, they have also been reported to inhibit gluconeogenesis either directly (22) or through the activation of farnesoid X receptor (FXR)/small heterodimer partner (SHP) pathway (23,24). Thus, an attractive hypothesis to explain the benefits of GBP is related to the blood versus intestinal bioavailability of bile after the surgery. Indeed, plasma BA are elevated after surgery (25–28), whereas the alimentary limb is devoid of bile. Moreover, the benefits of GBP are lost when the bile bioavailability is restored in the digestive tract (29). Thus, BA might exert a double beneficial role after GBP: decreasing HGP due to elevated plasma BA and increasing IGN through their absence in the alimentary limb.

To test the role of the modification of bile routing in the benefits of GBP, we performed bile diversions in the mid-jejunum or mid-ileum in rats to mimic the modified bile delivery in the gut that occurs in GBP (Fig. 1a). First, we tested whether the only modification of bile routing could reproduce the increase in plasma BA observed after GBP. Secondly, we assessed the role of bile in the opposite regulation of gluconeogenesis gene expression taking place in the liver and the intestine after GBP and the involvement of the FXR/SHP pathway in these regulations. Thirdly, we considered the implication of the bile routing modification in the metabolic improvements in GBP by evaluating glucose homeostasis in lean and obese rats. Finally, an unexpected observation led us to highlight a considerable role of bile bioavailability in the change of food preference occurring after GBP.

METHODS

Animals

All procedures were performed in accordance with the principles and guidelines established by the European Convention for the Protection of Laboratory Animals. Our regional animal care committee approved all experiments. Male Sprague-Dawley rats (Charles River Laboratories, France), weighing about 250-275g, were housed in a climate-control room (22 ± 2°C), subjected to a 12 hour light/dark cycle, with free access to water and standard (A04 - SAFE, France), HFHS (36.1% fat, 35% carbohydrates, 19.8% proteins – INRA, France) or cholestyramine-enriched diet (incorporated into A04 at 5% (wt/wt) - Sigma). Studies on obese rats were performed after 8 weeks of HFHS feeding.

Surgical procedures

Rats were anesthetized with 2% isoflurane. The extremity of a catheter (PE10, Fine-Bore Polyethylene Tubing, Smiths Medical) was inserted in the bile duct, upstream of pancreatic ducts, pushed towards the liver on 1 cm and secured with thread and biological glue. According to the group studied, the other extremity of the catheter (SIL-C30, Phymep - for intestine re-insertion) was re-inserted into the mid-jejunum (about 15-20 cm downstream the pylorus), the mid-ileum (about 15-20 cm upstream of the caecum) or in a mesenteric vein, and fixed with thread (only for intestinal re-insertion) and biological glue (Fig. 1a and S1a). For portal denervation, a gauze compress moistened with 80 µl of a capsaicin solution (10 mg/mL in saline, DMSO and Tween at a ratio of 8:1:1 vol/vol/vol) was applied around the portal vein for 15 min during the mid-jejunum bile diversion. A sham-operated group, which only underwent a laparotomy, was studied in parallel.

Body weight, food intake and food preference

After surgery, rats were individually housed with food and water *ad libitum*. Body weight and food intake were monitored daily during 15 days. To evaluate food preference, a choice between standard and HFHS diet was offered in the period of 11 to 15 day after surgery.

Insulin and glucose tolerance tests

Seven days after surgery, rats were fasted 6 hours and received an intraperitoneal injection of insulin (0.5 U/kg body weight). A glucose test tolerance (1 g/kg body weight) was performed on rats fasted for 16 hours, 10 days after surgery. Blood was withdrawn from the tail vein at indicated times for glucose and/or insulin assessment. Blood glucose was measured using an Accu-Chek Go glucometer (Roche Diagnostics) and insulin was quantified using an ELISA kit (Mercodia).

Tissue sampling and metabolic studies

Thirteen days after surgery, 6 hours-fasted rats were euthanized by pentobarbital intraperitoneal injection. The intestine was rapidly sampled as previously described (30). The liver was removed and frozen using tongs previously chilled in liquid N_2. Blood was withdrawn from the heart and collected in EDTA. Total bile acid was assessed using Diazyme kit. G6Pase activity was assayed under maximal velocity conditions. Proteins were immunoblotted using antibodies against G6PC (31), FXR (1/500 Abcam), β-actin (1/1,000 Cell Signaling) and GAPDH (1/10,000 Cell Signaling). Total RNAs were isolated from tissues with TRIzol reagent (Invitrogen). Reverse transcription and real-time PCR were performed using sequence-specific primers described in supplementary table 1.

RESULTS

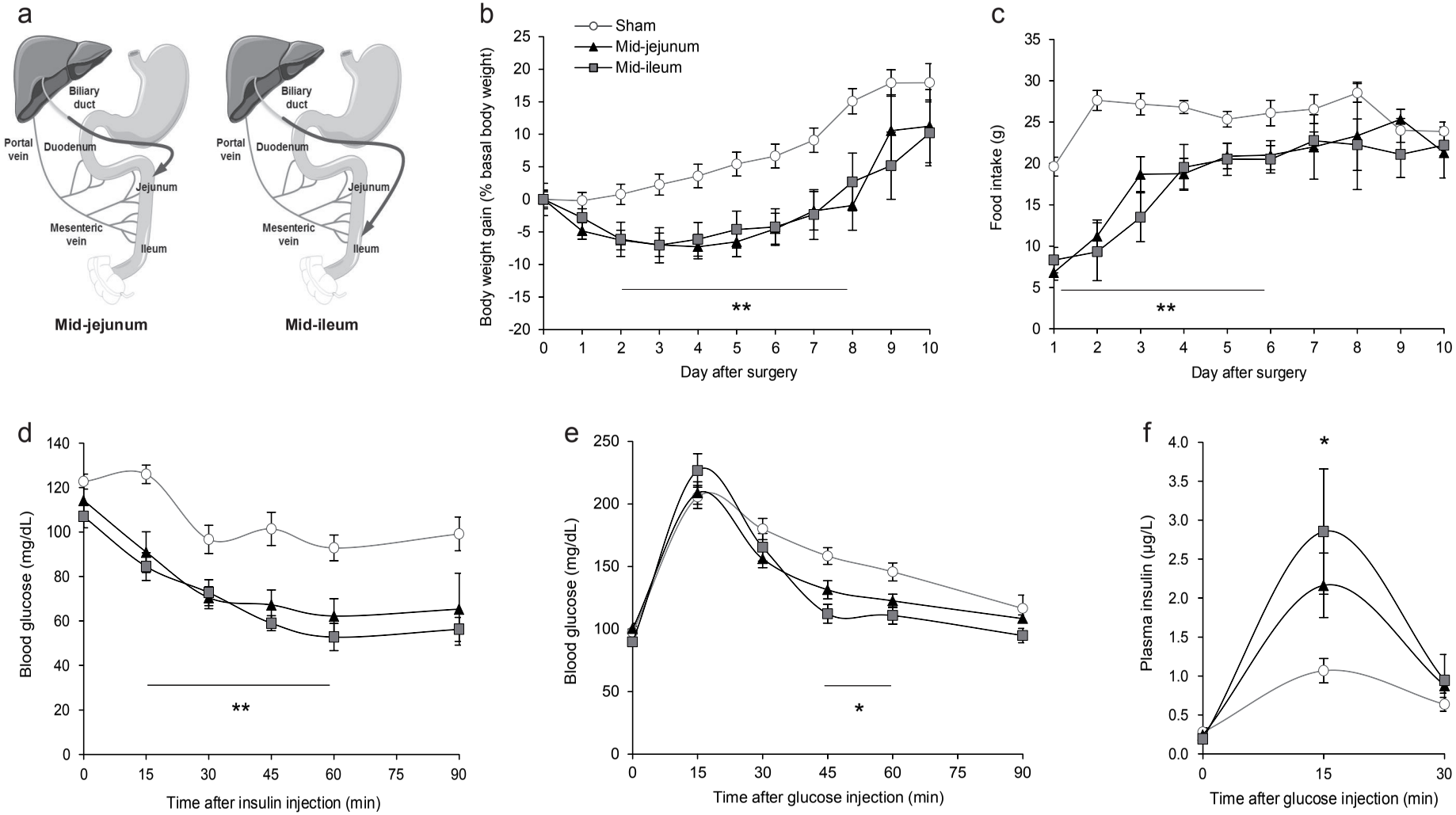


Figure 1: Effects of bile diversions on body weight, food intake and glucose homeostasis in standard-fed rats.
(**a**) Schematic representations of bile diversions. (**b**) Evolution of body weight and (**c**) daily food intake of rats after bile diversion in the mid-jejunum, in the mid-ileum or sham-operated rats fed a standard diet. (**d**) Insulin and (**e**) glucose tolerance tests were performed respectively 7 and 10 days after surgery. (**f**) Insulin plasma levels were determined during the glucose tolerance test. Data are expressed as mean ± SEM; n=4-22 rats per group; *p<0.05, **p<0.01 *vs* sham-operated group (One-way ANOVA followed by Tukey's post-hoc test).

Bile diversions improve glucose homeostasis in lean rats.

We first studied the metabolic effects of bile diversions in rats fed a standard diet. First, bile-diverted rats showed a moderate decrease in body weight consecutive to surgery. However, this was transient since they recovered their basal body weight from the 8th day and exhibited no difference with sham-operated rats 9 days after surgery (Fig. 1b). Food intake in bile-diverted rats was transiently reduced during the first 6 days after surgery and then re-increased to reach a plateau of daily food intake not different from sham-operated rats (Fig. 1c). Insulin and glucose tolerance tests were performed at a time where there was no more difference in body weight and food intake among the groups. Insulin tolerance was significantly enhanced in bile-diverted rats compared with sham-operated rats (Fig. 1d). Similarly, bile-diverted rats exhibited an improvement in glucose tolerance (Fig. 1e). This was associated to an increase in insulin secretion, which could be involved in the improvement in glucose tolerance (Fig. 1f).

Blood and intestinal changes in bile bioavailability are responsible for glucose metabolism improvements after bile diversions.

To determine if the only modification of bile routing could reproduce the increase in plasma BA observed after GBP, we measured BA concentration in the peripheral blood circulation 13 days after bile diversions. Interestingly, when bile was derived either in the mid-jejunum or in the mid-ileum, a rise in plasma BA concentration was observed (Fig. 2a). This was in line with the enhancement in insulin secretion observed in bile-diverted rats (Fig. 1f), since BA are known as activators of insulin secretion (18–20).

To assess the causal role of the change in blood and intestinal bile bioavailability in the improvement in glucose metabolism observed after bile diversions, we submitted mid-

Figure 2

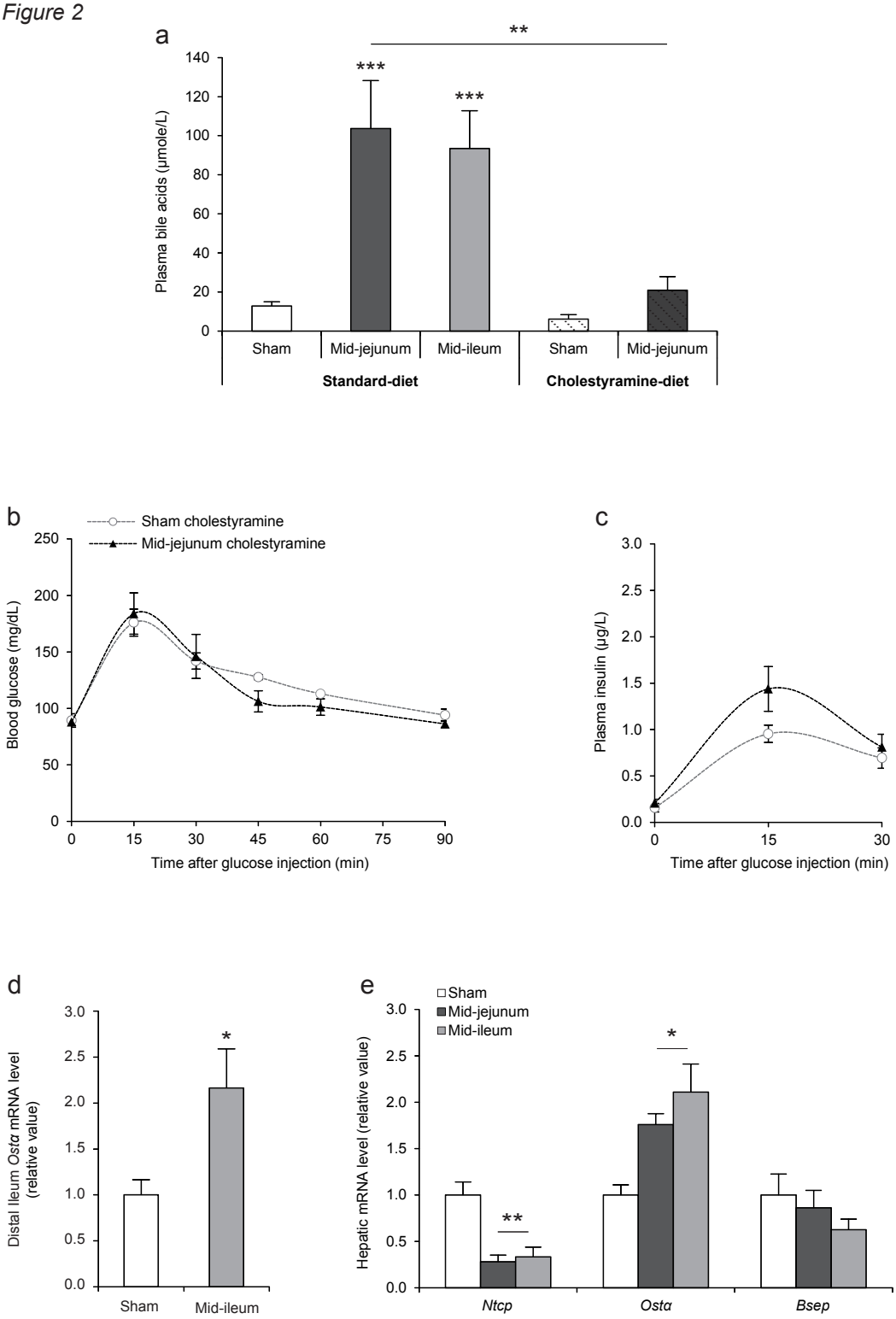


Figure 2: Implication of changes in bile-availability on glucose metabolism improvements and enterohepatic circulation after bile diversions.

(a) Plasma bile acids were quantified 13 days after bile diversions in rats fed a standard or cholestyramine-enriched diet. (b) Evolution of glucose and (c) insulin plasma levels during a glucose tolerance test performed 10 days after surgery in rats fed a cholestyramine-enriched diet. (d) Relative mRNA level of the α-subunit of the organic solute transporter (Ostα) in the distal ileum of mid-ileum bile diverted rats. (e) Hepatic mRNA level of sodium-taurocholate cotransporting polypeptide (Ntcp), Ostα and bile salt export pump (Bsep). The mRNA levels are expressed as a ratio relative to the ribosomal protein l19 (Rpl19) mRNA level. Data are expressed as mean + or ± SEM; n=4-17 rats per group; *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 vs sham-operated rats fed a standard diet (One and two-way ANOVA followed by respectively Tukey's and Bonferroni post-hoc tests for (a), t test for (b) and (c), one-way ANOVA followed by Tukey's post-hoc test for (d) and (e)).

jejunum bile-diverted rats to a cholestyramine-enriched diet. Cholestyramine binds bile acids within the gastrointestinal tract and prevents their reabsorption. As expected, no increase in plasma BA was observed in mid-jejunum bile-diverted rats fed a cholestyramine-enriched diet (Fig. 2a). Interestingly, bile-diverted rats exhibited no improvement in glucose tolerance and insulin secretion compared to sham-operated rats fed a cholestyramine-enriched diet (Fig. 2b-c). These data highlight a causal role of plasma BA and modified bile bioavailability in the metabolic improvements associated to bile diversions.

An increase in the enterohepatic circulation of BA is frequently proposed to explain the elevated plasma BA after GBP (26,32). To test this hypothesis, we evaluated the expression of BA transporters at the site of bile re-insertion in the intestine and in the liver of bile-diverted rats fed a standard-diet. First, the mRNA level of the α-subunit of the organic solute transporter (OSTα), responsible for BA import from enterocytes to blood, was increased in the portion of gut where the bile bioavailability was restored in bile-diverted rats (Fig. 2d). In the liver, the mRNA expression of sodium-taurocholate co-transporting polypeptide (NTCP), responsible for hepatic BA import from portal blood was drastically reduced, whereas that of OSTα, which accounts for the bile transport from hepatocytes to systemic circulation, was significantly up-regulated for the two diversions. However, no difference in mRNA abundance of bile salt export pump (BSEP), responsible for BA secretion into the bile duct, was observed among the groups (Fig. 2e). These data suggest an induction of BA reabsorption in the ileum with an opposite decrease of reabsorption in the liver after bile diversion, which could both account for the increase in the plasma BA concentration observed.

Figure 3

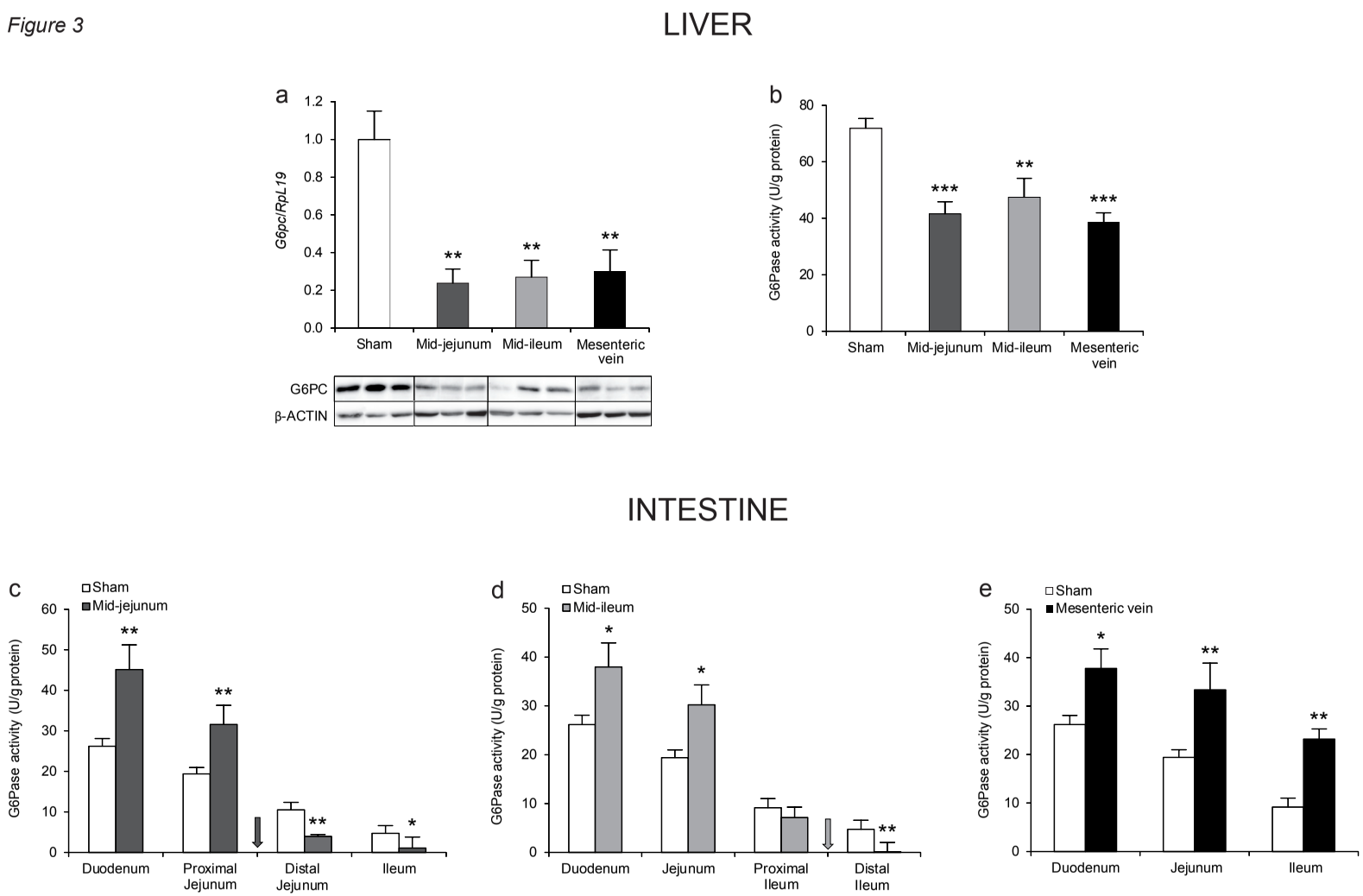


Figure 3: Regulation of endogenous glucose production in bile-diverted rats.
(a) Relative mRNA level and western blot of the catalytic subunit of glucose-6-phospotase (G6PC) and (b) activity of glucose-6-phosphatas (G6Pase) in the liver. (c) Intestinal G6Pase activity of rats with bile diversion in the mid-jejunum, (d) in the mid-ileum and (e) in a mesenteric vein. The site of bile reinsertion is indicated by a grey arrow for the mid-jejunum and the mid-ileum bile diversions. Data were obtained 13 days after bile diversions in standard-fed rats at the post absorptive state and are expressed as mean + SEM; n=5-7 rats per group; *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 vs sham-operated group (One-way ANOVA followed by Tukey's post-hoc test for the liver analyzes and t test for the studies in the intestine).

Bile diversions down-regulate hepatic glucose production and induce intestinal gluconeogenesis.

A decrease in HGP and an increase in IGN are key features associated with the improvements in metabolic control in rodents (12–14) and humans (15–17). Thus, we analyzed gluconeogenesis gene expression in the liver and the intestine of bile-diverted rats fed a standard diet. First, both mRNA and protein levels of the catalytic subunit of glucose-6-phosphatase (G6PC) were markedly decreased in the liver of bile-diverted rats (Fig. 3a). Likewise, bile-diverted rats exhibited a substantial reduction of hepatic glucose-6-phosphatase (G6Pase) activity (Fig. 3b). Relatively to the mid-jejunum diversion, G6Pase activity was increased in the duodenum and in the proximal jejunum, *i.e.* the portion of gut devoid of bile. On the contrary, G6Pase activity was markedly decreased in the distal jejunum and in the ileum, i.e. the gut section where the bile bioavailability was restored (Fig. 3c). For the bile diversion in the mid-ileum, we obtained comparable results with an increase in G6Pase activity upstream of the site of bile re-insertion and a decrease downstream (Fig. 3d).

To further strengthen the causal role of bile in the above hepatic and intestinal changes in gluconeogenesis, we studied an additional model of bile diversion directly in a mesenteric vein (Fig.S1a). As expected, there was a marked increase in plasma BA, comparable to that observed in intestinal diversions (Fig.S1b). It is noteworthy that the changes in hepatic BA transporter expression were also comparable to those observed in both intestinal diversions (Fig.S1c). Similarly, there was a dramatic suppression of G6PC mRNA and protein expression (Fig.3a) and of G6Pase enzymatic activity (Fig.3b) in the liver of mesenteric vein-diverted rats. Moreover, in the absence of bile into the whole gut lumen resulting from the diversion of bile in a mesenteric vein, G6Pase activity showed a 1.5 to 2.5-fold increase in the entire

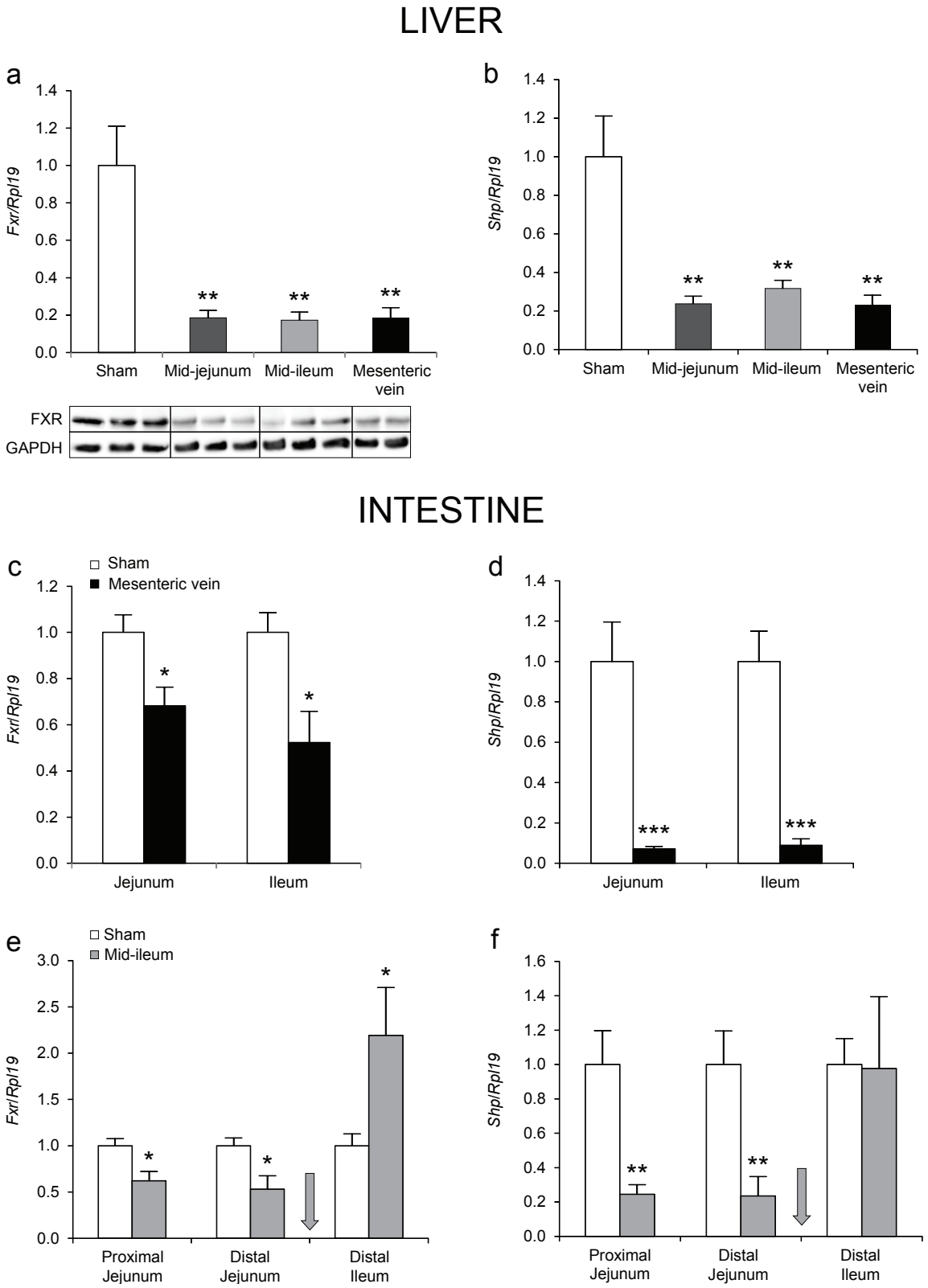


Figure 4: Hepatic and intestinal expression of FXR and SHP in bile-diverted rats.
(**a**) Relative mRNA level and western blot of FXR in the liver. (**b**) Quantification of hepatic *Shp* mRNA level. (**c-d**) Relative mRNA levels of *Fxr* and *Shp* in the intestine of rats with bile diversion in a mesenteric vein and (**e-f**) in the mid-ileum. The site of bile reinsertion is indicated by a grey arrow for the mid-ileum bile diversion. Data were obtained 13 days after surgery in standard-fed rats at the post absorptive state and are expressed as mean + SEM; n=4-7 rats per group; *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 *vs* sham-operated group (One-way ANOVA followed by Tukey's post-hoc test for the studies in the liver and *t* test for the quantification in the intestine).

intestine compared to sham-operated rats (Fig. 3e). The data strongly suggest a causal role of bile in the changes in hepatic and intestinal gluconeogenesis taking place after intestinal bile re-routing.

To determine whether IGN has a causal role in the metabolic improvements consecutive to bile diversions, we performed a specific denervation of portal nervous afferents with capsaicin in mid-jejunum bile-diverted rats. The enhancement of glucose tolerance and insulin secretion after bile diversion was maintained in capsaicin-treated rats (Fig.S2a-b). Moreover, bile-diverted rats with or without portal deafferentiation showed similar regulation of hepatic and intestinal G6Pase expression (Fig.S2c-e). These data indicate, firstly, that the metabolic improvements associated to bile diversions in the rat are independent of the phenomenon of portal glucose sensing, and secondly, that manipulation of bile enterohepatic cycling regulates hepatic gluconeogenesis gene expression independently of a gut-brain communication.

The regulation of intestinal gluconeogenesis but not hepatic glucose production depends on the FXR/SHP pathway in bile-diverted rats.

We next evaluated whether the opposite regulations of HGP and IGN subsequent to bile diversions could be mediated through FXR/SHP signaling. Indeed, BA bind to and activate FXR, inducing the transcription of its target gene SHP, itself blunting G6Pase gene transcription (23). At the hepatic level, both mRNA and protein levels of FXR were decreased for all diversions (Fig. 4a). Moreover, SHP mRNA abundance was also reduced in the liver of bile-diverted rats compared to sham-operated rats (Fig. 4b). This was not in agreement with an activation of the FXR/SHP pathway, which could account for the suppression of hepatic G6Pase gene expression. In the intestine completely devoid of bile, resulting from the bile

Figure 5

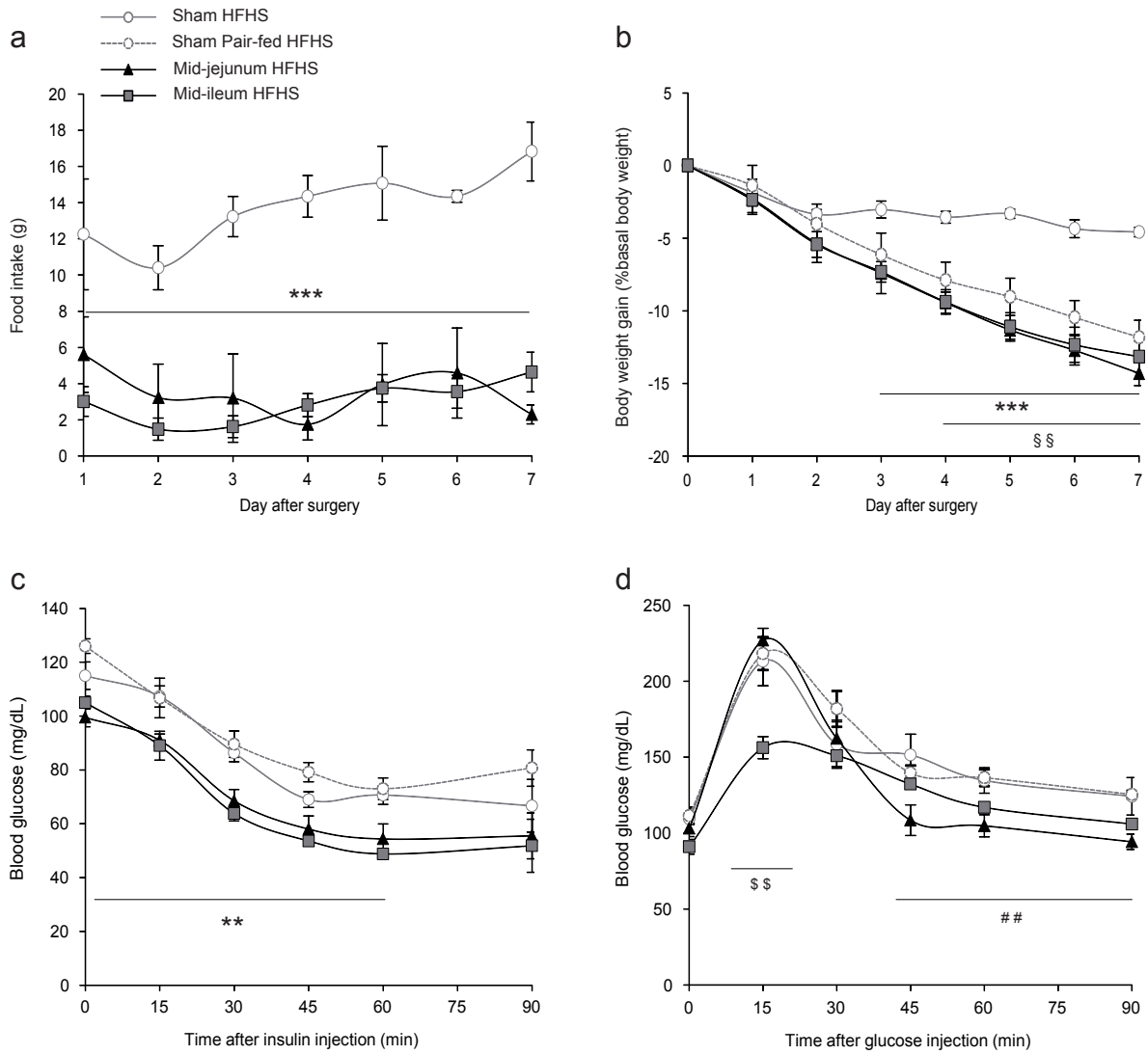


Figure 5: Metabolic effects of bile diversions in HFHS-fed rats.
(a) Evolution of daily food intake and (b) body weight of bile-diverted rats fed a HFHS diet. (c) Insulin and (d) glucose tolerance tests were performed respectively 7 and 10 days after surgery. Data are expressed as mean ± SEM; n=4-7 rats per group; **p<0.01, ***p<0.001 bile-diverted groups vs sham-operated group; §§p<0.01 sham-operated pair-fed group vs sham-operated group; $$p<0.01 vs mid-ileum group; ##p<0.01 mid-jejunum group vs sham-operated and sham-operated pair-fed groups (One-way ANOVA followed by Tukey's post-hoc test).

diversion in a mesenteric vein, we showed a down-regulation of FXR and a remarkable decrease in SHP mRNA level along the whole intestine (Fig 4c-d). For the diversion of bile in the mid-ileum, FXR and SHP mRNA were both down-regulated in the absence of bile, i.e. upstream of the site of bile re-insertion. It is noteworthy that these regulations were inversed downstream of the bile re-insertion site (Fig 4e-f). These data suggest that the modulation of IGN (increased in the absence of bile and decreased in the presence of bile) could derive from a regulation of the FXR/SHP pathway, whereas that of HGP should proceed through a mechanism independent of FXR/SHP.

Bile diversions enhance glucose homeostasis in rats fed a diet inducing obesity.

To determine whether the modification of bile routing could improve metabolic disorders associated with diet-induced obesity as GBP does, we performed bile diversions in rats fed a high-fat high-sucrose (HFHS) diet. First, unlike bile-diverted rats fed a standard diet, bile-diverted rats fed a HFHS diet showed a lasting reduction of their food intake immediately after the surgery (Fig. 5a), promoting a continuous body weight loss (Fig. 5b). In order to obviate the role of food intake decrease and body weight loss in the glucose metabolism effects of bile diversions, a group of sham-operated pair-fed with bile-diverted rats was studied in parallel. Expectedly, a similar loss of body weight was observed in bile-diverted and sham-operated pair-fed rats (Fig. 5b). However, there was no significant effect on insulin tolerance or glucose tolerance in sham-operated pair-fed rats. On the contrary, bile-diverted rats exhibited improved insulin and glucose tolerance compared to both sham-operated rats and sham-operated pair-fed rats (Fig. 5c-d). These data indicate that there is a proper effect of intestinal bile re-routing to improve glucose control under diet-induced obesity conditions, independently of food intake and body weight loss.

Figure 6

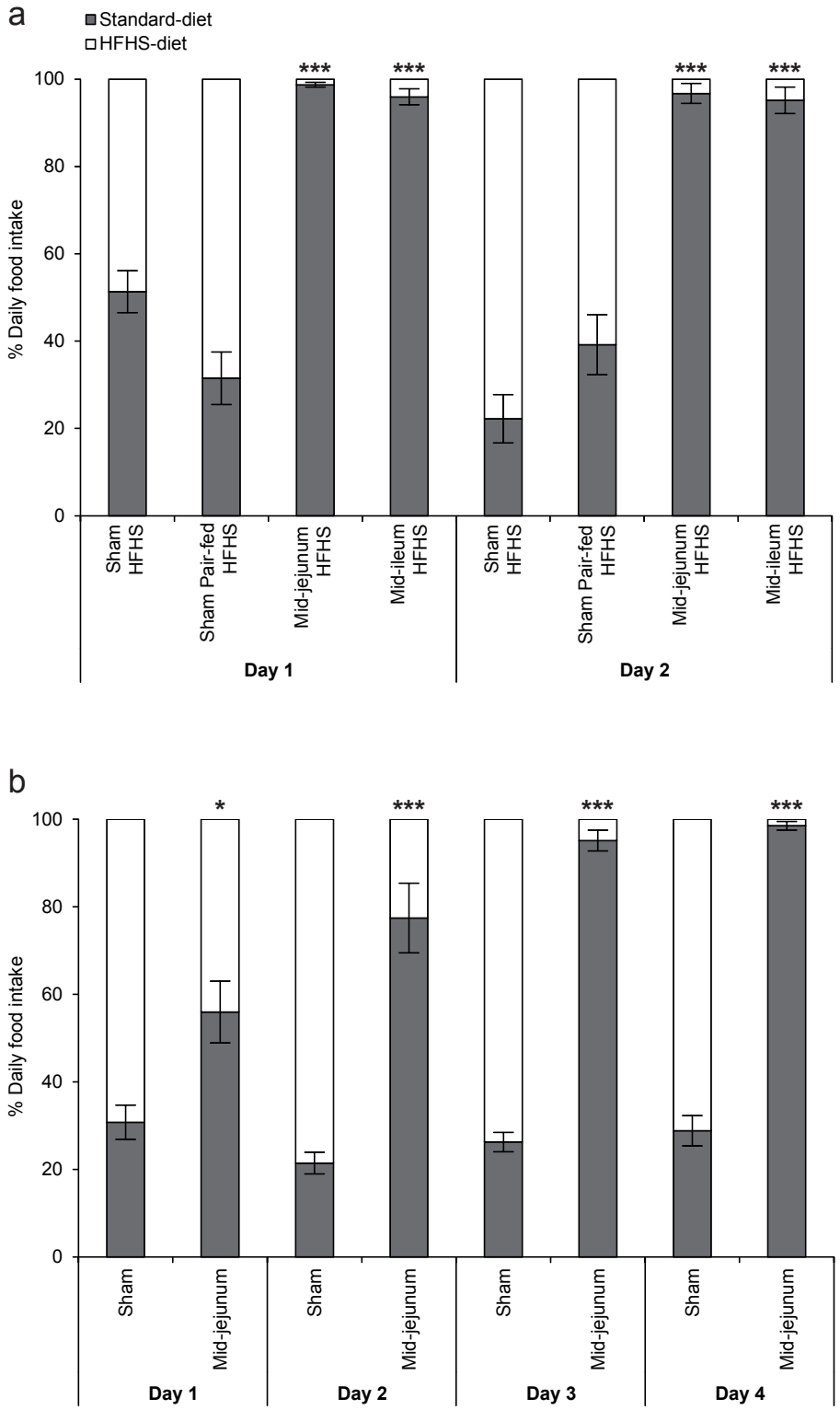


Figure 6: Food preference in bile-diverted rats.
(a) Food preference was assessed from 11 to 15 days after surgery in rats previously fed a HFHS diet or (b) a standard diet by proposing to the animal standard and HFHS diet concomitantly. Data are expressed as mean ± SEM; n=4-9 rats per group; *p<0.05, ***p<0.001 vs sham-operated group (One-way ANOVA followed by Tukey's post-hoc test for the studies in rats previously fed a HFHS diet and t test for rats previously fed a standard diet).

Bile diversions decrease appetite for fatty food.

Faced with the drastic and lasting decrease in food intake of bile-diverted rats fed a HFHS diet, compared to the moderate and transient effect in bile-diverted rats fed a standard diet, we investigated whether this would be the result of a disinterest to fatty food as previously described in GBP-patients (4). First, we proposed a choice between standard and HFHS diet to rats previously fed a HFHS diet 11 days after the bile diversion surgery. Spectacularly, bile-diverted rats ate immediately and almost exclusively the standard diet whereas the daily food ratio of sham and sham pair-fed rats was composed of 60% of HFHS diet on average (Fig. 6a). Next, we performed a reverse experiment in bile-diverted rats previously fed a standard diet. Sham-operated rats chose at a level of 70-80% the HFHS diet to compose their daily food intake, which was in line with the well-known preference for fatty food in the rat. On the contrary, once they were given a choice between standard and HFHS diet, mid-jejunum bile-diverted rats ate significantly less the HFHS diet compared to sham-operated rats. Over the next days, bile-diverted rats continued to decrease their consumption of the HFHS diet to adopt almost exclusively the standard diet from the 3rd day (Fig. 6b). These data strongly suggest that intestinal bile re-routing *per se* could be responsible for the disinterest in fatty food frequently encountered in GBP patients.

DISCUSSION

The rapid and weight-independent resolution of type 2 diabetes after GBP has urged the scientific community to better understand the physiological mechanisms underlying this procedure. Here, we performed bile diversions in rats in order to investigate the role of the bile routing modification in the metabolic improvements of GBP. As GBP, bile diversions provoke an altered bile delivery in the gut and an increase in plasma BA. Spectacularly, bile

diversions enhance glucose control independently of weight loss and food intake both in lean and obese rats. Combining mid-jejunum bile diversion with a cholestyramine-enriched diet, we show that changes in bile bioavailability in the intestine and in the blood circulation are responsible for the metabolic changes induced by bile diversions.

Given the fact that BA have emerged as positive metabolic regulators, the increase in plasma BA in the peripheral blood observed after GBP is frequently proposed to explain the anti-diabetic effects of the surgery. Our study provides new insight into the mechanisms by which GBP leads to an increase in plasma BA. Indeed, we demonstrate that the only modification of bile delivery in the gut promotes a modulation of BA transporter expression in the liver and in the intestine in favor of a BA increase in the peripheral blood. In accordance with this finding, Mencarelli *et al.* correlated an increase in plasma BA with a decrease in both NTCP expression and BA concentration in the liver after ileal transposition, a bariatric surgery based on the manipulation of BA entero-hepatic cycling (33). Thus, targeting the expression of BA transporters could be an attractive strategy to increase BA concentration in the blood and consequently potentiate the action of BA in metabolic tissues, *e.g.* in the liver.

It is noteworthy that the only modification of bile routing reproduces the beneficial effects of GBP on the hepatic function. Indeed, we show a drastic reduction of G6Pase expression in the liver of bile-diverted rats. It must be noted that these hepatic changes could account for the improvements in glucose control observed, since it has been demonstrated that inhibiting gluconeogenesis gene expression specifically in the liver is sufficient *per se* to normalize glucose control in obese and diabetic mouse (34,35). Thus, the improvements in hepatic glucose metabolism could be a major key of the GBP benefits, which could be dependent on the bile routing manipulation by itself. Besides, changes in bile routing could also improve lipid metabolism in the liver. Indeed, Kohli *et al.*, who used a similar technique

of bile diversion, showed a decrease in hepatic steatosis associated with a reduction of endoplasmic reticulum stress, both of which could concur to the improvement in hepatic metabolism and consequently systemic glucose control (36).

Owing to its beneficial effects on glucose and energy homeostasis, the activation of IGN has emerged as a potential strategy to prevent or treat metabolic diseases. Recently, IGN has been shown to be induced by dietary protein (9) and soluble fiber (37) and to account for the metabolic benefits associated with both types of nutrients, *via* a portal glucose signaling to the brain. Similarly, IGN was associated with the metabolic improvements deriving from a model of GBP in mice (12). Here, we highlight BA as direct negative regulators of IGN. Thus, in GBP, the removal of bile in the alimentary limb could result in an up-regulation of IGN in this portion. However, the capsaicin experiments in bile-diverted rats pointed out that a portal-brain communication is required neither in the systemic metabolic improvements nor in the decrease in HGP associated with bile diversions. We thus speculate that the marked inhibition of HGP is sufficient *per se* to promote the metabolic improvements associated to bile diversion, masking the putative benefits associated to the enhancement of IGN.

The regulation of hepatic glucose metabolism by BA has been suggested to be dependent on the activation of the FXR/SHP signaling (23,24). However, this is a controversial issue since a divergent study suggested, on the contrary, that the impact of BA on HGP was independent of FXR (22). In the work herein, the FXR/SHP pathway was strongly down regulated in the liver after bile diversions. It is likely that the decrease in hepatic BA reabsorption, linked to the down-regulation of NTCP and the up-regulation of OSTα, could lead to a reduction in BA content in the hepatocytes and therefore to an inhibition of the FXR/SHP signaling. This rationale is also supported by the concomitant down-regulation of the target genes of FXR and reduced BA concentration taking place in the liver after ileal transposition (33). Changes

in HGP after bile diversions in rats would thus not be dependent on an effect of BA *via* the activation of the FXR pathway. Conversely, the data herein suggest a key role of the FXR/SHP pathway in the regulation of IGN gene expression. Interestingly, IGN and portal glucose sensing were suggested to be involved in the beneficial outcomes of a model of GBP in mice (12). This could be related to the recent observation that FXR signaling was required for the benefits on glucose and energy metabolism occurring after sleeve gastrectomy, a weight-loss surgery associated with an increase in plasma BA despite it does not involve an intestinal bypassing (38), in mice (39).

A final key finding linked to bile diversion was the marked decrease in preference for fatty food. GBP patients generally adopt healthier dieting and increase their intake of vegetables, an outcome linked to their decreased appetite for high-calorie food. Different explanations involving taste detection, hedonic and reward systems have been proposed to be responsible for changes in food preference after GBP but the corresponding mechanisms are largely unclear (40–42). Our results contradict the hypothesis that altered food choices after GBP could be explained by aversive symptoms taking place after the consumption of HFHS food, like dumping syndrome or vomiting. Indeed, bile-diverted rats immediately avoid the HFHS diet, even after being exclusively fed a standard diet (Fig. 5a-6b). Therefore, we here highlight an unexpected role of bile bioavailability as a key player in the mechanisms of regulation of food preference. This warrants further studies to better understand the regulatory mechanisms behind this effect, which could lead to the development of innovative food behavior therapies to reduce body weight and combat obesity.

In conclusion, this work provides a novel understanding in the mechanisms by which GBP promotes its rapid metabolic outcomes. Our data strongly suggest that the only modification of bile routing is able to initiate the beneficial effects of GBP on both glucose control and

body weight in a context of obesity, including the disinterest in high calorie food. Implementing other recent studies (26,36,39), this study places the bile routing modification in the center of the metabolic benefits associated to GBP, which could be a first milestone toward the development of future approaches of prevention or treatment of metabolic diseases.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the members of the “Animalerie Lyon Est Conventionnelle et SPF” for animal care. We are also grateful to Dr Bart Staels and Dr Jean-Marc Vanacker for helpful advising in the course of this work. We also thank the French “Ministère de l’Enseignement Supérieur et de la Recherche (D.G., F.D.V., J.V.), the “Agence Nationale de la Recherche” (A.B.), the “Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale” (A.D., C.Z.) and the “Centre National de la Recherche Scientifique” (G.M.) for funding our positions. This work was supported by research grants from the “Agence Nationale de la Recherche” (ANR11-BSV1-016-01) and the “Société Francophone du Diabète” (exceptional funding-2012).

AUTHOR CONTRIBUTIONS

D.G. conducted and designed experiments, performed data analyses and wrote the manuscript. A.B., F.D.V. and J.V. assisted in experiments and contributed to the interpretation of data. A.D. and C.Z. assisted in surgical procedures. G.M. supervised the project and edited the manuscript.

COMPETING FINANCIAL INTERESTS

The authors declare no competing financial interests.

REFERENCES

1. Rubino F, Schauer PR, Kaplan LM, Cummings DE. Metabolic surgery to treat type 2 diabetes: clinical outcomes and mechanisms of action. Annu Rev Med. 2010;61:393–411.

2. Thaler JP, Cummings DE. Minireview: Hormonal and metabolic mechanisms of diabetes remission after gastrointestinal surgery. Endocrinology. 2009 Jun;150(6):2518–25.

3. Schultes B, Ernst B, Wilms B, Thurnheer M, Hallschmid M. Hedonic hunger is increased in severely obese patients and is reduced after gastric bypass surgery. Am J Clin Nutr. 2010 Aug;92(2):277–83.

4. Mathes CM, Spector AC. Food selection and taste changes in humans after Roux-en-Y gastric bypass surgery: a direct-measures approach. Physiol Behav. 2012 Nov 5;107(4):476–83.

5. Stefater MA, Wilson-Pérez HE, Chambers AP, Sandoval DA, Seeley RJ. All bariatric surgeries are not created equal: insights from mechanistic comparisons. Endocr Rev. 2012 Aug;33(4):595–622.

6. Trinh KY, O'Doherty RM, Anderson P, Lange AJ, Newgard CB. Perturbation of fuel homeostasis caused by overexpression of the glucose-6-phosphatase catalytic subunit in liver of normal rats. J Biol Chem. 1998 Nov 20;273(47):31615–20.

7. Clore JN, Stillman J, Sugerman H. Glucose-6-phosphatase flux in vitro is increased in type 2 diabetes. Diabetes. 2000 Jun;49(6):969–74.

8. Delaere F, Duchampt A, Mounien L, Seyer P, Duraffourd C, Zitoun C, et al. The role of sodium-coupled glucose co-transporter 3 in the satiety effect of portal glucose sensing. Mol Metab. 2012;2(1):47–53.

9. Duraffourd C, De Vadder F, Goncalves D, Delaere F, Penhoat A, Brusset B, et al. Mu-opioid receptors and dietary protein stimulate a gut-brain neural circuitry limiting food intake. Cell. 2012 Jul 20;150(2):377–88.

10. Mithieux G, Misery P, Magnan C, Pillot B, Gautier-Stein A, Bernard C, et al. Portal sensing of intestinal gluconeogenesis is a mechanistic link in the diminution of food intake induced by diet protein. Cell Metab. 2005 Nov;2(5):321–9.

11. Pillot B, Soty M, Gautier-Stein A, Zitoun C, Mithieux G. Protein feeding promotes redistribution of endogenous glucose production to the kidney and potentiates its suppression by insulin. Endocrinology. 2009 Feb;150(2):616–24.

12. Troy S, Soty M, Ribeiro L, Laval L, Migrenne S, Fioramonti X, et al. Intestinal gluconeogenesis is a key factor for early metabolic changes after gastric bypass but not after gastric lap-band in mice. Cell Metab. 2008 Sep;8(3):201–11.

13. Sun D, Wang K, Yan Z, Zhang G, Liu S, Liu F, et al. Duodenal-jejunal bypass surgery up-regulates the expression of the hepatic insulin signaling proteins and the key regulatory enzymes of intestinal gluconeogenesis in diabetic Goto-Kakizaki rats. Obes Surg. 2013 Nov;23(11):1734–42.

14. Paranjape SA, Chan O, Zhu W, Acharya NK, Rogers AM, Hajnal A, et al. Improvement in hepatic insulin sensitivity after Roux-en-Y gastric bypass in a rat model of obesity is partially mediated via hypothalamic insulin action. Diabetologia. 2013 Sep;56(9):2055–8.

15. Hayes MT, Foo J, Besic V, Tychinskaya Y, Stubbs RS. Is intestinal gluconeogenesis a key factor in the early changes in glucose homeostasis following gastric bypass? Obes Surg. 2011 Jun;21(6):759–62.

16. Mithieux G. Comment about intestinal gluconeogenesis after gastric bypass in human in relation with the paper by Hayes et al., Obes. Surg. 2011. Obes Surg. 2012 Dec;22(12):1920–1922; author reply 1923–1924.

17. Immonen H, Hannukainen JC, Iozzo P, Soinio M, Salminen P, Saunavaara V, et al. Effect of bariatric surgery on liver glucose metabolism in morbidly obese diabetic and non-diabetic patients. J Hepatol. 2014 Feb;60(2):377–83.

18. Seyer P, Vallois D, Poitry-Yamate C, Schütz F, Metref S, Tarussio D, et al. Hepatic glucose sensing is required to preserve β cell glucose competence. J Clin Invest. 2013 Apr 1;123(4):1662–76.

19. Düfer M, Hörth K, Wagner R, Schittenhelm B, Prowald S, Wagner TFJ, et al. Bile acids acutely stimulate insulin secretion of mouse β-cells via farnesoid X receptor activation and K(ATP) channel inhibition. Diabetes. 2012 Jun;61(6):1479–89.

20. Renga B, Mencarelli A, Vavassori P, Brancaleone V, Fiorucci S. The bile acid sensor FXR regulates insulin transcription and secretion. Biochim Biophys Acta. 2010 Mar;1802(3):363–72.

21. Watanabe M, Houten SM, Mataki C, Christoffolete MA, Kim BW, Sato H, et al. Bile acids induce energy expenditure by promoting intracellular thyroid hormone activation. Nature. 2006 Jan 26;439(7075):484–9.

22. De Fabiani E, Mitro N, Gilardi F, Caruso D, Galli G, Crestani M. Coordinated control of cholesterol catabolism to bile acids and of gluconeogenesis via a novel mechanism of transcription regulation linked to the fasted-to-fed cycle. J Biol Chem. 2003 Oct 3;278(40):39124–32.

23. Yamagata K, Daitoku H, Shimamoto Y, Matsuzaki H, Hirota K, Ishida J, et al. Bile acids regulate gluconeogenic gene expression via small heterodimer partner-mediated repression of hepatocyte nuclear factor 4 and Foxo1. J Biol Chem. 2004 May 28;279(22):23158–65.

24. Ma K, Saha PK, Chan L, Moore DD. Farnesoid X receptor is essential for normal glucose homeostasis. J Clin Invest. 2006 Apr;116(4):1102–9.

25. Patti M-E, Houten SM, Bianco AC, Bernier R, Larsen PR, Holst JJ, et al. Serum bile acids are higher in humans with prior gastric bypass: potential contribution to improved glucose and lipid metabolism. Obes Silver Spring Md. 2009 Sep;17(9):1671–7.

26. Pournaras DJ, Glicksman C, Vincent RP, Kuganolipava S, Alaghband-Zadeh J, Mahon D, et al. The role of bile after Roux-en-Y gastric bypass in promoting weight loss and improving glycaemic control. Endocrinology. 2012 Aug;153(8):3613–9.

27. Simonen M, Dali-Youcef N, Kaminska D, Venesmaa S, Käkelä P, Pääkkönen M, et al. Conjugated bile acids associate with altered rates of glucose and lipid oxidation after Roux-en-Y gastric bypass. Obes Surg. 2012 Sep;22(9):1473–80.

28. Kohli R, Bradley D, Setchell KD, Eagon JC, Abumrad N, Klein S. Weight loss induced by Roux-en-Y gastric bypass but not laparoscopic adjustable gastric banding increases circulating bile acids. J Clin Endocrinol Metab. 2013 Apr;98(4):E708–712.

29. Rudnicki M, Patel DG, McFadden DW, Balasubramaniam A, Nussbaum MS, Fischer JE. Proximal jejunal and biliary effects on the enteroinsular axis. Surgery. 1990 Apr;107(4):455–60.

30. Mithieux G, Bady I, Gautier A, Croset M, Rajas F, Zitoun C. Induction of control genes in intestinal gluconeogenesis is sequential during fasting and maximal in diabetes. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2004 Mar;286(3):E370–375.

31. 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 Jul;117(1):132–9.

32. Jansen PLM, van Werven J, Aarts E, Berends F, Janssen I, Stoker J, et al. Alterations of hormonally active fibroblast growth factors after Roux-en-Y gastric bypass surgery. Dig Dis Basel Switz. 2011;29(1):48–51.

33. Mencarelli A, Renga B, D'Amore C, Santorelli C, Graziosi L, Bruno A, et al. Dissociation of intestinal and hepatic activities of FXR and LXRα supports metabolic effects of terminal ileum interposition in rodents. Diabetes. 2013 Oct;62(10):3384–93.

34. Sloop KW, Showalter AD, Cox AL, Cao JXC, Siesky AM, Zhang HY, et al. Specific reduction of hepatic glucose 6-phosphate transporter-1 ameliorates diabetes while avoiding complications of glycogen storage disease. J Biol Chem. 2007 Jun 29;282(26):19113–21.

35. Gómez-Valadés AG, Méndez-Lucas A, Vidal-Alabró A, Blasco FX, Chillon M, Bartrons R, et al. Pck1 gene silencing in the liver improves glycemia control, insulin sensitivity, and dyslipidemia in db/db mice. Diabetes. 2008 Aug;57(8):2199–210.

36. Kohli R, Setchell KD, Kirby M, Myronovych A, Ryan KK, Ibrahim SH, et al. A surgical model in male obese rats uncovers protective effects of bile acids post-bariatric surgery. Endocrinology. 2013 Jul;154(7):2341–51.

37. De Vadder F, Kovatcheva-Datchary P, Goncalves D, Vinera J, Zitoun C, Duchampt A, et al. Microbiota-generated metabolites promote metabolic benefits via gut-brain neural circuits. Cell. 2014 Jan 16;156(1-2):84–96.

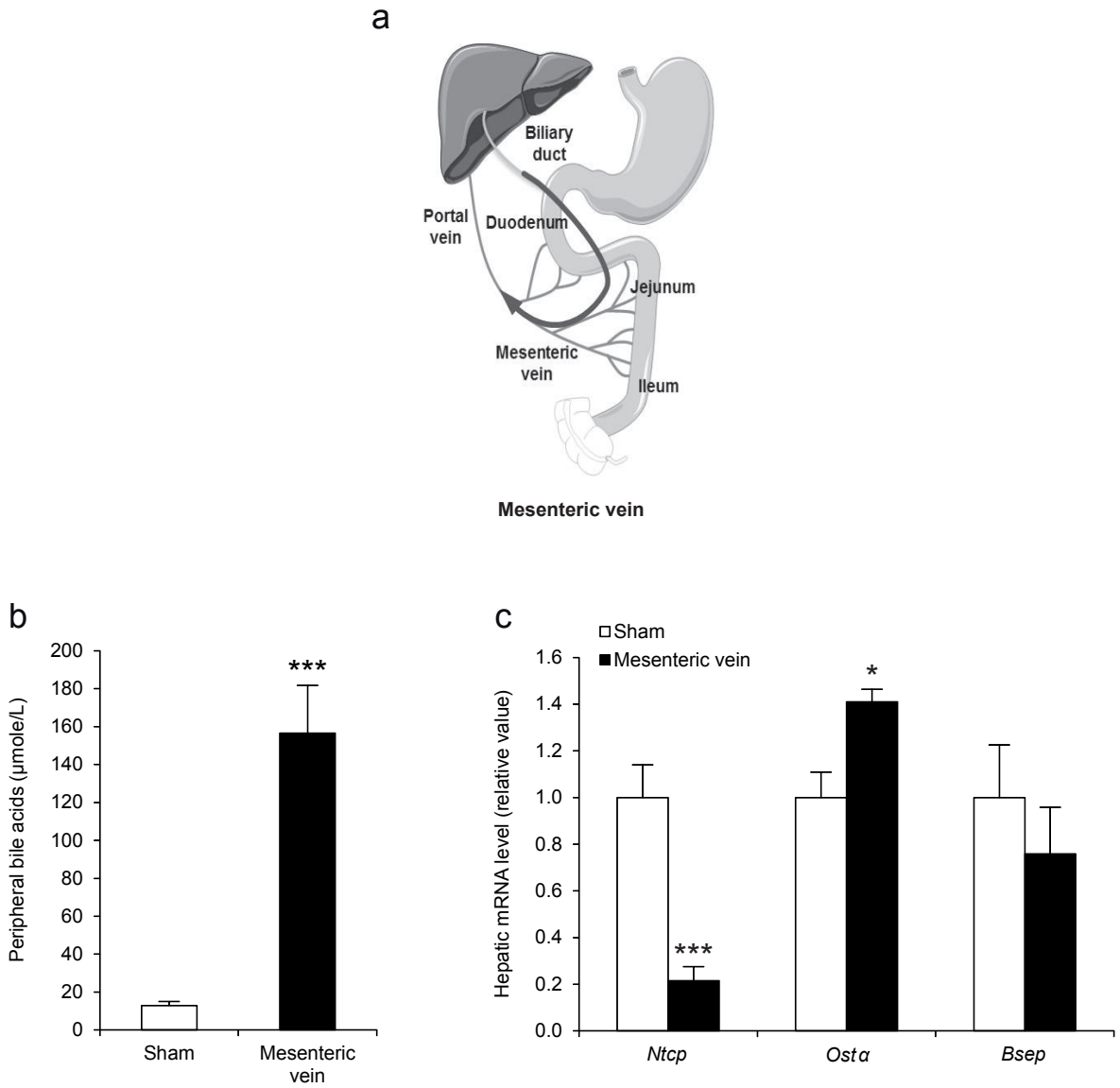
38. Myronovych A, Kirby M, Ryan KK, Zhang W, Jha P, Setchell KD, et al. Vertical sleeve gastrectomy reduces hepatic steatosis while increasing serum bile acids in a weight-loss-independent manner. Obes Silver Spring Md. 2014 Feb;22(2):390–400.

39. Ryan KK, Tremaroli V, Clemmensen C, Kovatcheva-Datchary P, Myronovych A, Karns R, et al. FXR is a molecular target for the effects of vertical sleeve gastrectomy. Nature. 2014 Mar 26;

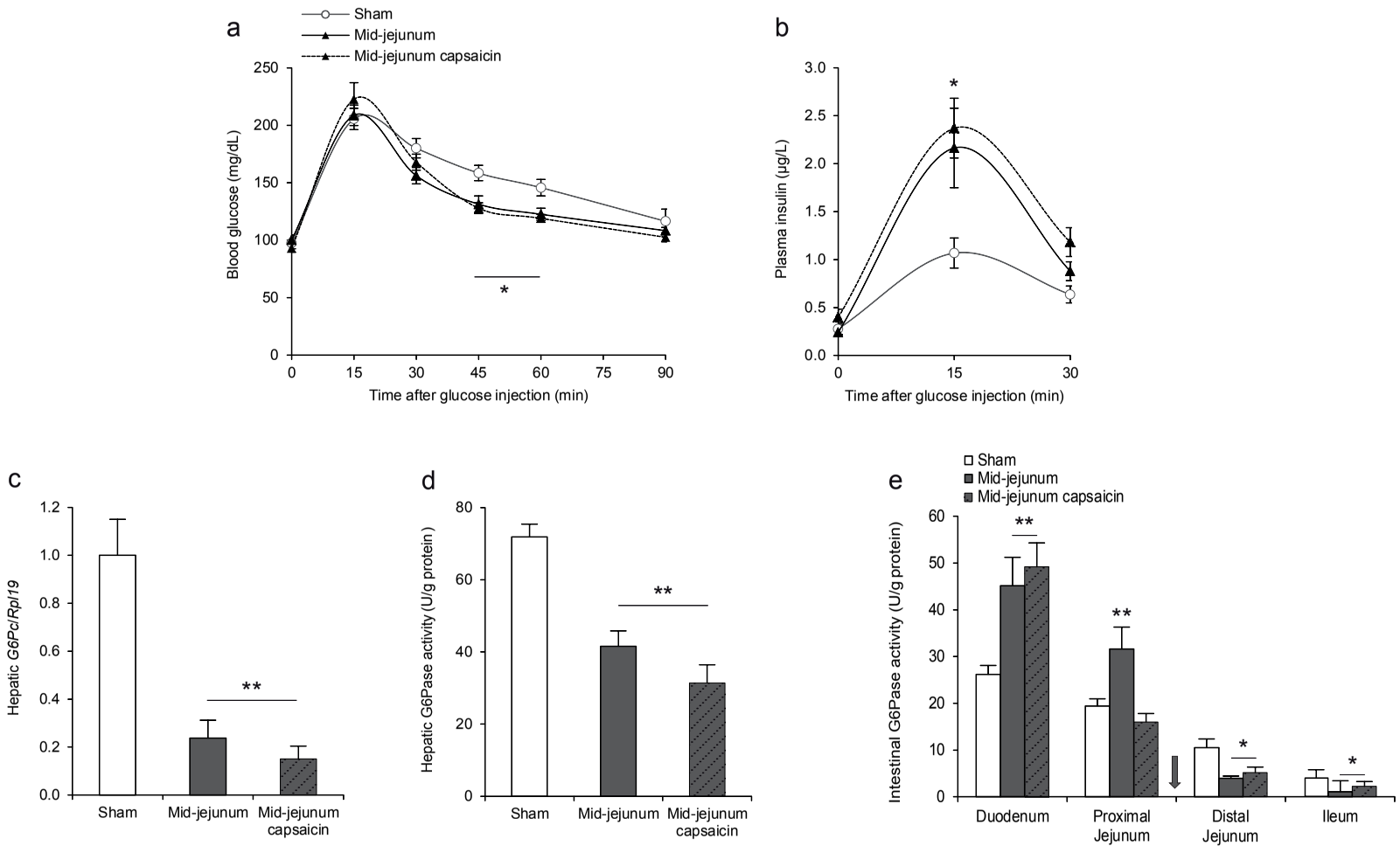
40. Miras AD, le Roux CW. Bariatric surgery and taste: novel mechanisms of weight loss. Curr Opin Gastroenterol. 2010 Mar;26(2):140–5.

41. Bueter M, Miras AD, Chichger H, Fenske W, Ghatei MA, Bloom SR, et al. Alterations of sucrose preference after Roux-en-Y gastric bypass. Physiol Behav. 2011 Oct 24;104(5):709–21.

42. Le Roux CW, Bueter M, Theis N, Werling M, Ashrafian H, Löwenstein C, et al. Gastric bypass reduces fat intake and preference. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2011 Oct;301(4):R1057–1066.



Supplemental data 1: Effect of the bile diversion in a mesenteric vein on the enterohepatic circulation. (**a**) Schematic representation of the bile diversion in a mesenteric vein. (**b**) Plasma bile acids were quantified 13 days after mesenteric vein-bile diversion in rats fed a standard diet. (**c**) Hepatic mRNA level of *Ntcp*, *Ostα* and *Bsep* are expressed as a ratio relative to the *Rpl19* mRNA level. Data are expressed as mean + SEM; n=4-6 rats per group; *p<0.05, ***p<0.001 *vs* sham-operated rats fed a standard diet (*t* test).

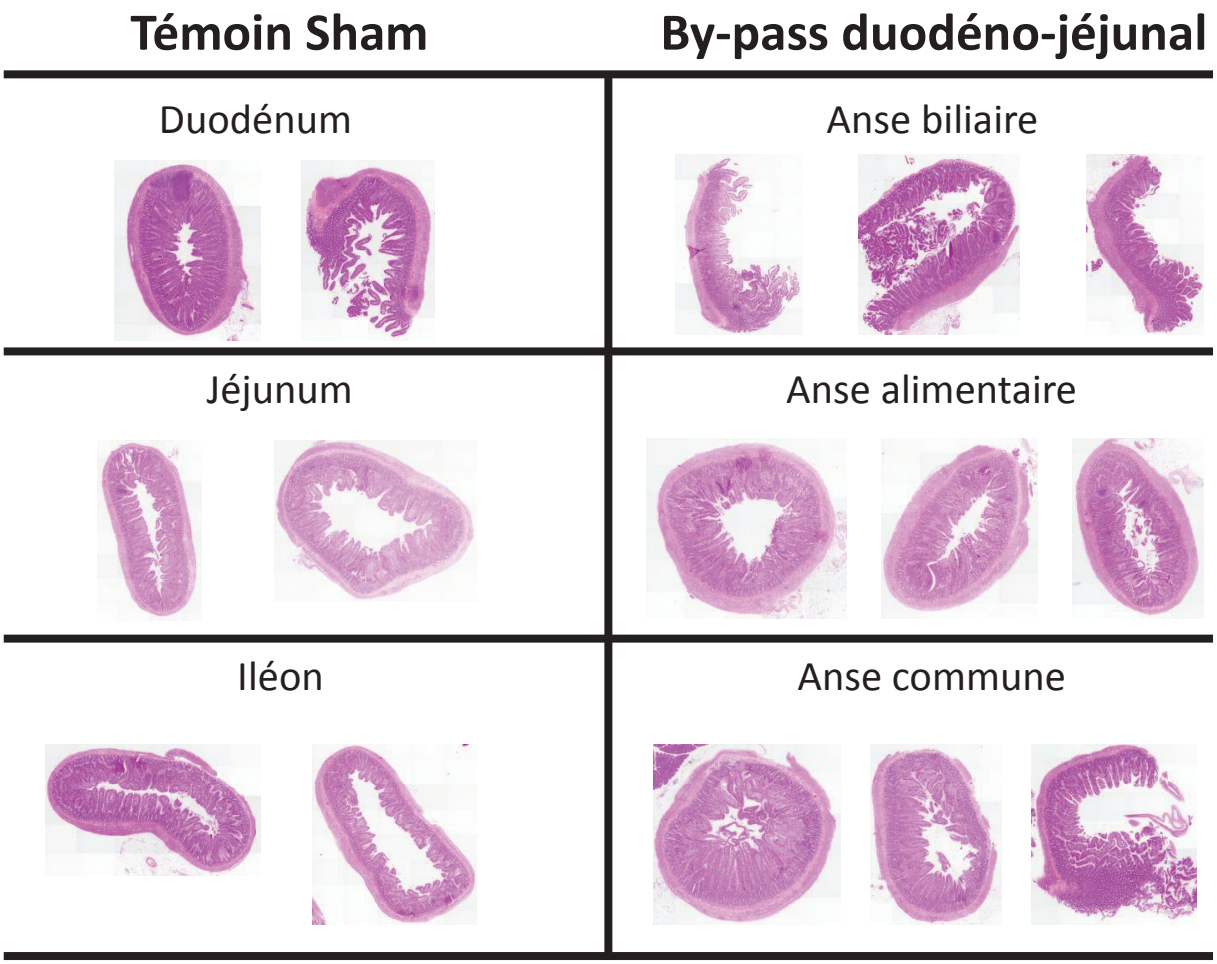


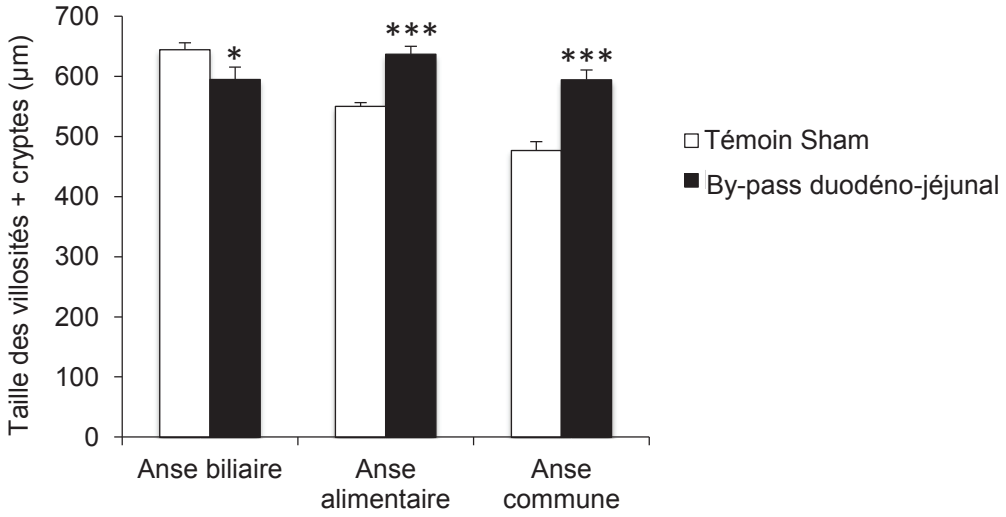
Supplemental data 2: Effects of portal deafferentiation on glucose metabolism in bile-diverted rats.

(**a**) Glucose test tolerance was performed 10 days after mid-jejunum bile diversion with or without capsaicin treatment. (**b**) Insulin plasma levels were determined during the glucose tolerance test. (**c**) Relative mRNA level of *G6pc* and (**d**) G6Pase activity in the liver. (**e**) Intestinal G6Pase activity. The site of bile reinsertion is indicated by a grey arrow for the mid-jejunum bile diversion. Data were obtained 13 days after surgeries in standard-diet fed rats at the post-absorptive state and are expressed as mean + or ± SEM; n=5-11 rats per groups; *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 *vs* sham-operated group (One-way ANOVA followed by Tukey's post-hoc test).

ANNEXE 2

MODIFICATIONS MORPHOLOGIQUES DE L'INTESTIN APRÈS BY-PASS DUODÉNO-JÉJUNAL CHEZ LE RAT NON-OBÈSE ET NON-DIABÉTIQUE.





Modifications morphologiques de l'intestin après by-pass duodéno-jéjunal chez le rat non-obèse et non-diabétique

Coupes histologiques et mesures de la longueur des villosités et des cryptes des différents segments de l'intestin après by-pass duodéno-jéjunal ou laparotomie (=Témoin Sham) chez le rat. Les coupes ont été réalisées 20 jours après la chirurgie.

n=2 rats pour le groupe by-pass duodéno-jéjunal

n=3 rats pour le groupe témoin-sham

Rôle de la néoglucogenèse intestinale et des récepteurs mu-opioïdes dans les effets bénéfiques du by-pass gastrique chez la souris

Le by-pass gastrique Roux-en-Y (BPG) est une chirurgie de l'obésité qui induit des améliorations spectaculaires de l'homéostasie glucidique indépendamment de la perte de poids. Un mécanisme proposé pour expliquer ces améliorations est une augmentation de la production intestinale de glucose (PIG) qui induit des effets bénéfiques sur l'organisme (satiété, amélioration de la sensibilité hépatique à l'insuline). Cette augmentation de la PIG, retrouvée chez la souris ayant subi un BPG simplifié, est également responsable des effets bénéfiques des régimes enrichis en protéines via l'inhibition des récepteurs mu-opioïdes (RMO) par les peptides. Nous avons donc testé l'hypothèse selon laquelle les effets bénéfiques du BPG dépendraient d'une inhibition des RMO par les protéines alimentaires et nous avons également testé le rôle causal de la PIG dans ces améliorations métaboliques.

Pour cela, nous avons réalisé un by-pass duodéno-jéjunal (BDJ), *ie* un BPG sans restriction gastrique, chez des souris sauvages (WT), des souris invalidées pour le gène du RMO ($MOR^{-/-}$) et des souris dépourvues de PIG ($I\text{-}G6pc^{-/-}$). Chez les souris obèses, Le BDJ induit une forte perte de poids (–30%), en partie expliquée par une malabsorption lipidique, ainsi qu'une amélioration des paramètres glucidiques dépendante de cette perte de poids. Au contraire, chez la souris de poids normal, le BDJ n'induit ni perte de poids ni malabsorption mais améliore la tolérance au glucose. Les effets sont les mêmes chez les souris WT, $MOR^{-/-}$ et $I\text{-}G6pc^{-/-}$ ce qui montre que les récepteurs mu-opioïdes et la PIG ne semblent pas avoir de rôle causal dans les améliorations du métabolisme énergétique et glucidique après BDJ.

Mots clés : chirurgie bariatrique, by-pass gastrique, by-pass duodéno-jéjunal, obésité, diabète de type II, récepteurs mu-opioïdes, néoglucogenèse intestinale, malabsorption.

Role of intestinal gluconeogenesis and mu-opioid receptors in the metabolic benefits of gastric bypass in mice

Roux-en-Y gastric bypass procedure (GBP) is an obesity surgery that induces dramatic glucose homeostasis improvements independently of weight loss. A proposed mechanism to explain these glucose homeostasis improvements is an increase in intestinal glucose production (IGP) that induces beneficial effects on metabolism (satiety, improved liver insulin sensitivity). This increase in IGP is found in mice that have undergone a simplified GBP and is also responsible for the beneficial effects of protein-enriched diets through the inhibition of mu-opioid receptors (MOR) by alimentary peptides. We therefore hypothesized that the beneficial effects of GBP could depend on MOR inhibition by dietary proteins and we also tested the causal role of IGP in these metabolic improvements.

For this purpose, we performed a duodenal-jejunal bypass surgery (DJB), *ie* GBP without gastric restriction, in wild-type mice (WT), in mice lacking MOR gene ($MOR^{-/-}$) and in mice lacking IGP ($I\text{-}G6pc^{-/-}$). In obese mice, DJB induced a rapid and substantial weight loss (-30%), partly explained by fat malabsorption, and weight loss-dependent improvements of glucose homeostasis. In contrast, in the non-obese mice, DJB did not induce weight loss nor malabsorption but improved glucose tolerance. Effects were similar in WT, $MOR^{-/-}$ and $I\text{-}G6pc^{-/-}$ mice showing that mu-opioid receptors and IGP did not appear to have a causal role in glucose and energy metabolism improvements after DJB.

Key words: bariatric surgery, gastric bypass, duodenal-jejunal bypass, obesity, type 2 diabetes, mu-opioid receptors, intestinal gluconeogenesis, malabsorption

---

Adresse du laboratoire : INSERM U855 – Nutrition et Cerveau
Faculté de médecine Laennec
7-11 rue Guillaume Paradin
69 372 Lyon Cedex 08