



HAL
open science

Impact de la chirurgie bariatrique sur le métabolisme du cholestérol : identification des mécanismes moléculaires

Samuel Frey

► To cite this version:

Samuel Frey. Impact de la chirurgie bariatrique sur le métabolisme du cholestérol : identification des mécanismes moléculaires. Médecine humaine et pathologie. Nantes Université, 2023. Français. NNT : 2023NANU1022 . tel-04335943

HAL Id: tel-04335943

<https://theses.hal.science/tel-04335943v1>

Submitted on 11 Dec 2023

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.

THESE DE DOCTORAT

NANTES UNIVERSITE

ECOLE DOCTORALE N° 605

Biologie-Santé

Spécialité : Biologie Cellulaire, Biologie du Développement

Par

Samuel FREY

Impact de la chirurgie bariatrique sur le métabolisme du cholestérol : identification des mécanismes moléculaires

Thèse présentée et soutenue à Nantes, le 23 octobre 2023

Unité de recherche : L'institut du thorax. Inserm UMR 1087 / CNRS UMR 6291.

Rapporteurs avant soutenance :

Judith Aron-Wisnewsky PUPH, Sorbonne Université / Pitié Salpêtrière
René Valero PUPH, Université d'Aix-Marseille

Composition du Jury :

Président :	Eric Mirallié	PUPH, Nantes Université / CHU de Nantes
Examineurs :	Judith Aron-Wisnewsky	PUPH, Sorbonne Université / Pitié Salpêtrière
	René Valero	PUPH, Université d'Aix-Marseille
	Éric Mirallié	PUPH, Nantes Université / CHU de Nantes
	Maud Robert	PUPH, Université Lyon 1 / Hospices Civiles de Lyon
Dir. de thèse :	Claire Blanchard	PUPH, L'Institut du Thorax / CHU de Nantes
Co-dir. de thèse :	Cédric Le May	Directeur de recherche, l'Institut du Thorax

Table des matières

Remerciements.....	4
Résumé.....	12
Abstract.....	14
Liste des abbréviations.....	15
Liste des Figures et Tables.....	18
Préambule.....	20
La Chirurgie bariatrique.....	22
1 - Histoire de la chirurgie bariatrique et avènement de la chirurgie métabolique.....	22
1.1 Historique des principales interventions.....	22
1.2 La chirurgie bariatrique est une chirurgie métabolique.....	29
2 - Les principales interventions de chirurgie bariatrique.....	31
2.1 La sleeve gastrectomie.....	32
2.2 Le bypass gastrique de Roux-en-Y.....	33
2.3 La diversion bilio-pancréatique (avec duodenal switch).....	35
3 - Effets métaboliques des chirurgies bariatriques.....	36
3.1 Chirurgie bariatrique et diabète.....	37
3.1.1 Impact de la chirurgie bariatrique sur l'homéostasie glucidique.....	37
3.1.2 Mécanismes envisagés de l'amélioration de l'homéostasie glucidique après chirurgie bariatrique.....	40
3.2 Chirurgie bariatrique et dyslipidémies.....	42
3.2.1 La dyslipidémie du sujet obèse.....	42
3.2.2 Impact de la chirurgie bariatrique sur la dyslipidémie.....	46
3.3 Chirurgie bariatrique et développement de la plaque d'athérome / mortalité cardiovasculaire.....	51
3.4 Chirurgie bariatrique et stéatose hépatique non alcoolique (NAFLD).....	54
4 - Indications de la chirurgie bariatrique en France.....	58
5 - Apports des modèles animaux en chirurgie bariatrique.....	60
Le SADI-S proposé comme une nouvelle intervention.....	66
1 - Le SADI-S, évolution de la BPD-DS.....	66
2 - Technique opératoire du SADI-S.....	68
3 - Résultats du SADI-S.....	69
2.1 Effets du SADI-S sur la perte de poids.....	69
2.2 Complications post-opératoires du SADI-S.....	72
2.2.1 Complications post-opératoires précoces (< 30 jours).....	72
2.2.2 Complications tardives.....	74

2.3 Résultats métaboliques du SADI-S.....	76
2.3.1 SADI-S et homéostasie glucidique	76
2.3.2 SADI-S et dyslipidémie	79
2.4 Comparaison des résultats du SADI-S et du RYGB	82
Le métabolisme du cholestérol	88
1 - Structure, fonctions et régulation du cholestérol dans l'organisme	88
2 - Apport du cholestérol dans l'organisme	90
2.1 Biosynthèse endogène	90
2.2 Apports exogènes et absorption intestinale	92
3 - Le transport du cholestérol dans l'organisme	96
3.1 Généralités sur les lipoprotéines	96
3.2 La voie endogène	99
3.2.1 Transport et captation du cholestérol par les tissus périphériques.....	99
3.2.2 Le récepteur au LDL et PCSK9, deux acteurs centraux du métabolisme du cholestérol .	101
3.3 La voie exogène	106
3.4 Le transport inverse du cholestérol	107
4 - Les voies d'épuration du cholestérol	109
4.1 L'épuration biliaire du cholestérol et le rôle des acides biliaires	109
4.1.1 Modes d'épuration biliaire du cholestérol.....	109
4.1.2. Synthèse et transport des acides biliaires	111
4.1.3 Les acides biliaires en tant que médiateurs métaboliques, et la voie FXR	114
4.2 L'excrétion transintestinale du cholestérol (TICE)	115
4.2.1 Le TICE est actif chez l'homme et la souris	115
4.1.2 Les acteurs moléculaires impliqués dans le TICE	118
Mécanismes envisagés des chirurgies bariatriques malabsorptives conduisant à l'amélioration du métabolisme du cholestérol.....	121
1 - Perte de poids, amélioration de l'insulinorésistance et du métabolisme des triglycérides	121
2 - Réduction de l'absorption intestinale du cholestérol	122
3 - Synthèse endogène.....	125
4 - Augmentation du HDL-C et du transport inverse du cholestérol.....	126
5 - Augmentation de l'épuration.....	128
6 - PCSK9 et le LDLR intestinal : Deux cibles moléculaires pouvant exercer un rôle dans les effets hypocholestérolémiants des chirurgies malabsorptives.....	130
Objectifs	135
Articles originaux	137
Article n°1 – L'effet hypocholestérolémiant du bypass gastrique de Roux-en-Y est réduit chez des souris porteuses d'une déficience spécifiquement intestinale en LDLR.....	137

<i>Article n°2 – Mise au point d’un modèle de SADI-S chez la souris</i>	<i>166</i>
<i>Article n°3 – Le SADI-S améliore l’homéostasie lipidique et glucidique chez la souris Ob/Ob</i>	<i>191</i>
<i>Article n°4 – Le SADI-S réduit le développement de l’athérosclérose chez des souris mâles LDLR^{-/-}</i>	<i>233</i>
Discussion - Perspectives.....	251
Conclusion.....	269
References	270
Publications.....	306
Prix et subventions	307

Remerciements

Aux membres du jury

A Monsieur le président : Pr Eric Mirallié

Je vous remercie sincèrement pour la confiance que vous m'accordez et pour votre accompagnement quasi quotidien sur la voie universitaire. Au-delà de notre passion commune et de nos réflexions interminables sur la recherche en chirurgie, votre humilité et votre bienveillance font de vous un modèle pour moi. Je suis honoré d'être votre élève, et ferai de mon mieux pour rester à la hauteur de vos attentes. J'attends également le prochain steak house avec impatience.

Aux rapporteurs :

Le Pr Judith Aron-Wisnewsky

Vous m'avez fait l'honneur de juger ce travail, et pour cela je vous prie d'accepter mes sincères remerciements.

Le Pr René Valéro

Je tiens à vous exprimer ma profonde gratitude pour avoir accepté de juger ce travail.

Aux co-directeurs

Au Pr Claire Blanchard

Claire, il y a quelques années, tu as remarqué mon intérêt pour la recherche et tu m'as proposé d'effectuer ma thèse de sciences à ta suite sur ce sujet. Tu n'as pas baissé les bras devant les difficultés rencontrées pour trouver un financement pour la première année. C'est en très grande partie grâce à toi que j'ai pu réaliser ce travail, et pour cela je te remercie très sincèrement. J'ai une profonde estime pour ton travail et un grand respect pour ton parcours. Je serai très heureux de continuer à travailler avec toi à l'avenir, peut-être même arrivera-tu un jour à me faire porter une chemise colorée ?

Au Dr Cédric Le May

Cédric, il y a trois ans, tu as accepté de me donner ce sujet de thèse, et tu as pris de ton temps pour écrire des demandes de financement, avant même de me connaître. Cette confiance, tu me l'as accordée tout au long de ce travail : tu as su être présent lorsque j'en avais besoin, mais aussi me laisser l'autonomie qui m'est nécessaire pour avancer dans de bonnes conditions. J'ai pris un vrai plaisir à travailler sous ta direction avisée et bienveillante. Bien que tu n'aies pas réussi à me transmettre ta passion pour Apple, tu a renforcé celle que j'ai pour la recherche, ce pour quoi je te remercie très sincèrement.

Au Pr Maud Robert

Je suis honoré que vous ayez accepté de faire partie du jury de ma thèse. Soyez assuré de mon profond respect.

Aux membres de mon comité de suivi de thèse :**Au Pr Laurent Brunaud**

Je vous remercie pour vos conseils lors des CSI, qui ont apporté à la réflexion autour de ce travail. Par ailleurs, c'est un plaisir pour moi d'échanger avec vous lors des différents congrès autour de la chirurgie endocrinienne et du parcours universitaire en général.

Au Pr Samy Hadjadj

Je te remercie pour tes commentaires et tes conseils avisés tout au long de ce travail qui ont grandement facilité sa réalisation. Merci pour ta disponibilité et ta bienveillance tout au long de ma thèse.

A toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à ce travail

Et particulièrement :

Au Pr Bertrand Cariou et au Pr David Jacobi pour l'avoir accueilli dans l'équipe.

Monsieur Cariou, je vous remercie très sincèrement pour la confiance que vous m'avez accordé avant même de me connaître. Je vous remercie également pour votre soutien répété sur la voie universitaire, et vos commentaires avisés sur les publications, quel qu'en soit le sujet. J'ai pour vous un profond respect et j'admire votre capacité à gérer mille travaux en même temps. J'espère à l'avenir poursuivre nos travaux communs (il reste beaucoup de publis CoHPT !).

A Audrey

A toi qui m'a formé à la chirurgie chez la souris et m'a beaucoup aidé lors de la réalisation des protocoles, ce travail te doit énormément. Des longues journées à l'animalerie aux rédactions de saisines, travailler avec toi est un vrai plaisir (entre rigolade et râpages ;)).

A mes co-thésards :

Victoria

Vic, je ne te remercierai jamais assez pour tous tes remerciements. Merci pour ta gentillesse, toi qui a toujours été prête à me prêter main forte sans discuter quand j'en avais besoin. Merci pour ton écoute attentive quand ça a été nécessaire. Merci pour ton aide sur les ELISA PCSK9 qu'au final je n'ai jamais fait sans toi. Merci pour les sham du début de la thèse (paix à leur âme). Merci pour le vortex. Merci pour le repose pieds. Merci pour les fous rires à longueur de journée. Merci pour ton côté décalé qui es si attachant. Merci d'avoir supporté mes âneries pendant trois années entières. Merci pour tout, sauf si je finis en prison ! Je suis très heureux de ton post doc à Ottawa, et te souhaite une très belle vie là bas.

Thibaud

A mon gourmet et néanmoins estimé collègue. Un plaisir à la fois scientifique et gastronomique ! Merci d'avoir répondu présent quand j'en avais besoin tout au long de cette thèse, tes conseils et ton aide m'ont été très précieux. La mise au point de notre protocole de

dosage lipidiques dans le foie fait partie de mes grandes fiertés. J'ai hate de poursuivre notre tour de France de la gastronomie (surtout l'étape Lyonnaise) !

A Clément

J'ai été très heureux de ton aide précieuse pendant cette dernière année. Merci pour ton investissement pour ce projet, pour le gros travail à l'animalerie et pour ton aide sur les week-ends, toujours dans la bonne humeur ! J'ai hate de travailler avec toi en chirurgie !

A Simon

Même si tu n'es pas vraiment un fin gourmet, je suis très heureux d'avoir fait ta connaissance. Tu es toujours disponible pour discuter de choses sérieuses, ou moins sérieuses. Je te remercie pour tous ces gadgets bienveillants que tu as pu m'offrir tout au long de ma thèse.

A Xavier

Pour tes conseils avisés lors des lab meetings et sur le papier qui m'ont beaucoup aidés, et également pour cette ironie dont tu as le secret qui me fais tant rire.

A Antoine

Je suis très heureux de t'avoir rencontré. J'apprécie beaucoup nos discussions très éclairantes, qu'elles soient scientifiques ou non !

A Mikael

Merci pour ta patience malgré le fait que je sois un vrai chat noir avec les machines !! J'ai dû couter un peu d'argent, j'essaierai de me rattraper en te payant une ou deux bières. Merci également pour tes précieux conseils lors de ce projet.

A Matthieu Wargny

C'est toujours un plaisir de travailler avec toi. Ta rigueur scientifique t'honore et ton aide est toujours précieuse lors de la construction des articles. J'espère à l'avenir que nous continuerons à saucissonner ensemble !!

A Lucie Arnaud

Merci pour toutes ces qPCR, si rapides et efficaces !!

A Stéphanie et à Mathilde

Merci infiniment pour le temps que vous m'avez accordé à de multiples reprises et la réponse à toutes mes questions existentielles en GC-MS, pour les manip de LC-MS, et pour votre patience et votre bienveillance malgré des péripéties incroyables lors de ces manip !

Et l'ensemble de l'équipe IV de l'U1087 : Soazig, Amélie, Giliane, Amandine, Arsenio, Lucie V, Zoé, Enora, Marie, Maud, Sarra, Daniel, Murielle, Chloé, Charlène, Albane, Aurore, An, Lise

Merci à vous tous pour les excellents moments, scientifiques ou non, passés à vos côtés.

Sans oublier l'ensemble du personnel de l'animalerie, Julien Drochon et Marie Liabeuf pour leur aide précieuse au déroulement des manip d'expérimentation animale.

A Agnès Tessier et Agnès Hivonnais

Pour leur aide et leurs conseils au sein de l'animalerie.

Au Dr Richard Redon

Merci de m'avoir permis de pouvoir réaliser ce travail de thèse au sein de l'institut du Thorax.

A l'ensemble de l'équipe de chirurgie digestive

Au Dr Cécile Caillard (pour ces nombreux cocktails à Cassis), **au Pr** (je prends un peu d'avance) **Emilie Duchalais** (pour toutes ces discussions éclairantes et tes précieux conseils), **au Dr Juliette Podevin** (pour ces gardes bien remplies et ces 800 g de riz), **au Dr Sylvie Metairie** (pour ta bienveillance et tes conseils), **au Dr Nicolas Regenet** (pour cette superbe revue écrite ensemble), **au Dr Marie De Montrichard** (pour les crêpes au ketchup !), **au Dr Farouk Drissi** (j'te le dis tout de suite mon bon Farouk !), **au Dr Maxime Gérard** (pour ces résultats sur l'os qu'on finira bien par passer !), **au Dr Louise Lallemand** (pour cette biblio express sur la « *gastric intussusception*»), **au Dr Romain Lesourd** (pour ta pédagogie), **au Dr Arnaud Girardot** (pour cette grande réflexion : doit-on opérer cette TIAC ?), **au Dr John-William Dubart** (pour Top Knife que j'ai dévoré), **au Dr Cyprien Martin** (pour ces naan fromages qui nous ont permis de rester en vie lors de ces gardes mouvementées) :

Je suis heureux d'apprendre la chirurgie à vos côtés, et vous suis très reconnaissant pour votre pédagogie.

A Nelly Renaud-Moreau

Pour ton aide précieuse pour ces nombreux protocoles, toujours dans la bonne humeur !

A mes parents

A ma mère

A toi qui est là, toujours. Avec qui tout peut être partagé, sans retenue et sans jugements. Tu es un soutien inébranlable, dans les bons et les mauvais moments. Je ne pourrais jamais assez te remercier pour la gentillesse et la douceur dont tu fais preuve, mais également pour ta force de caractère et ta fermeté lorsqu'elle est nécessaire. Je suis fier d'être ton fils.

A mon père

A toi qui a toujours été mon modèle, qui m'a donné le goût de la parole en publique. Tu es toujours là, avec ta présence rassurante, pour me porter secours quand j'en ai besoin. Les choses paraissent toujours plus faciles après une discussion avec toi, et ta clareté d'esprit remarquable ainsi que ta capacité à hiérarchiser et simplifier les situations difficiles me sont toujours d'une grande aide. Merci d'être là.

A tous les deux, votre fierté à mon égard est un moteur essentiel de mes réussites. L'éducation que vous m'avez apportée, votre soutien et votre tolérance au cours des années m'ont permis d'avancer. C'est en grande partie grâce à vous que j'en suis arrivé là. Merci.

A Mélissa

A ma coéquipière, ma chérie, ma meilleure amie. Tu es un véritable soutien au quotidien et les moments passés avec toi sont un refuge. Je te remercie pour cette « petite vie » que nous partageons ensemble, dont je chérie chaque adorable détail. J'admire ta remarquable force de caractère, ta capacité à faire front sans jamais te plaindre, mais aussi ta douceur, ta simplicité, ta curiosité et ton ouverture d'esprit. Je ne te remercierai jamais assez pour ta tolérance concernant le parcours que j'ai choisis, tout en m'aidant à garder les pieds sur terre.

A mes amis

A mes amis angevins : Pascal, Arthur, Clément, Simon, Paul, Bienvenu, Guillaume, Alexandra, Louis, Mélanie, Coline, Benjamin, Clarisse, Cyrille, Jennifer, Lina, Marie-Alix, Théo.

Pour notre précieuse amitié qui reste si forte malgré les années et la distance. Merci à vous pour votre soutien toutes ces années, pour vos délirs et ces week-ends de folie.

A Tom, Jane, Gille et Marine

Merci à vous pour ces Motocs, ces bières et ces restos !

A Antoine LQ

Que je n'oublie pas

A Manon et Thomas

En souvenir de mon meilleur semestre

En vrac

A l'As du tacos et au chef pour ces merveilleux repas qui ont ravi mes papilles tout au long de l'année. **A Planet tacos** pour ce gratinage inoubliable. **A New School Tacos** pour ce magnifique supplément cornichons. **A Fusilli del Tacos** pour cette explosion de saveurs.

A FP pour son efficacité, sa gentillesse et sa son intérêt pour les bouchons en plastique.

A CCLB qui s'est brûlé les ailes

Aux éditeurs qui se trompent de bouton

Résumé

L'obésité est un problème majeur de santé publique qui concerne environ 20% de la population mondiale. Elle s'associe à de nombreuses comorbidités, dont le diabète et la dyslipidémie. La chirurgie bariatrique, dont les techniques sont en constante évolution, est un traitement efficace par l'obtention d'une perte de poids maintenue dans le temps et d'effets métaboliques bénéfiques. L'objectif de ce travail était l'étude des mécanismes qui sous-tendent les effets bénéfiques des chirurgies bariatriques sur le métabolisme du cholestérol.

Dans un premier temps, nous avons étudié le rôle d'un acteur central du métabolisme du cholestérol, le récepteur au lipoprotéines de faible densité (LDLR) intestinal, sur les effets hypocholestérolémiant du bypass gastrique de Roux-en-Y (RYGB), qui est la chirurgie de référence. Dans ce travail, nous avons mis en évidence que chez la souris, une déficience spécifiquement intestinale en LDLR s'accompagnait d'une diminution de l'effet hypocholestérolémiant du RYGB en rapport avec une absorption intestinale accrue du cholestérol et une modification de l'excrétion fécale des acides biliaires.

Dans un second temps, nous avons mis au point pour la première fois chez la souris un modèle de Single anastomosis Duodeno-ileal Bypass with Sleeve gastrectomy (SADI-S), qui est une chirurgie décrite récemment ayant un fort impact métabolique. Ce modèle permet une perte de poids maintenue dans le temps. La comparaison du SADI-S et du RYGB sur un modèle de souris Ob/Ob montrait une perte de poids et un bénéfice métabolique supérieurs après SADI-S. L'important effet hypocholestérolémiant du SADI-S était associé à une réduction de l'absorption intestinale du cholestérol et à une épuration accrue du cholestérol plasmatique.

Enfin, des résultats préliminaires encourageants suggèrent que la prévention de l'hypercholestérolémie induite par un régime riche en cholestérol après SADI-S chez des souris déficientes pour le LDLR prédisposées à l'athérosclérose est associée à une réduction de la progression de la plaque d'athérome chez les souris mâles.

Mots clés : chirurgie bariatrique, obésité, dyslipidémie, cholestérol

Abstract

Obesity is a major public health issue which concerns approximately 20% of the population worldwide. It is associated with multiple comorbidities including diabetes and dyslipidemia. Bariatric surgeries, which constantly evolve, have emerged as an efficient therapy, allowing content weight loss and metabolic benefits. This work aimed to decipher the molecular mechanisms involved in the hypocholesterolemic effects of bariatric surgeries.

In a first time, we studied the role of a major actor of the cholesterol metabolism, the intestinal low-density lipoprotein receptor (LDLR), on the hypocholesterolemic effects of the Roux-en-Y gastric bypass (RYGB), which is the gold standard procedure. We showed that, in mice, the intestinal LDLR deficiency was associated with a reduced hypocholesterolemic effect after RYGB related to a higher intestinal cholesterol absorption and altered fecal bile acids excretion.

In a second time, we developed, for the first time in mice, the Single anastomosis Duodeno-ileal Bypass with Sleeve gastrectomy (SADI-S), a recently described procedure with a high metabolic impact. This model allowed durable weight loss. The comparison between SADI-S and RYGB in Ob/Ob mice showed that the former induced a higher weight loss and metabolic benefits. The strong hypocholesterolemic impact of SADI-S was associated with decreased intestinal cholesterol absorption and an increased plasma cholesterol excretion.

Finally, promising preliminary results suggest that the prevention of hypercholesterolemia induced by a cholesterol-enriched diet in mice carrying a LDLR deficiency (prone to develop atherosclerosis) is associated with a reduced progression of the atherosclerotic plaques in male mice.

Keywords: bariatric surgeries, obesity, dyslipidemia, cholesterol

Liste des abréviations

- ABC** : Adenosine triphosphate Binding Cassette
- ACAT** : Acyl-coenzyme A :cholestérol acyltransférase
- acétyl CoA** : Acétyl coenzyme A
- AG** : Anneau gastrique
- Apo -** : Apolipoprotéine
- ASA** : Société Américaine d'Anesthésie
- BAAT** : A:aminoacide N-acyltransférases
- BPD** : Dérivation bilio-pancréatique
- BPD-DS** : Dérivation bilio-pancréatique avec switch duodéal
- BSEP** : Pompe d'export des acides biliaires
- CA** : Acide cholique
- CDCA** : Acide chénodésoxycholique
- CETP** : Protéine de transfert des esters de cholestérol
- CYP7A1** : Cytochrome P450 7A1
- CYP7B1** : Oxystérol 7 α -hydroxylase
- CYP8B1** : cyrochrome P450 12 α -hydroxylase
- DCA** : Acide désoxycholique
- DIO** : Diet induced obesity
- EWL** : Perte d'excès de poids
- FGF19** : Fibroblast growth factor
- FXR** : Récepteur nucléaire farnésoïde X
- GIP** : Gastric inhibitory polypeptide
- GLP-1** : Glucagon-like peptide 1
- GLUT1** : Glucose transporter 1
- HbA1c** : Hémoglobine glyquée
- HCA** : Acide hyocolique
- HDCA** : Acide hydésoxycolique

HDL : Lipoprotéines de haute densité

HDL-C : High-Density Lipoprotein cholesterol

HMCA : Acide 4-Hydroxy-3-methoxycinnamique

HMG : Hydroxy-méthyl-glutarate

HMG-CoA réductase : Hydroxyméthylglutaryl-CoA réductase

HNF4 α : Facteur Nucléaire Hépatocytaire 4 α

HOMA : Homeostatic assessment index

IC95% : Intervalle de confiance à 95%

IMC : indice de masse corporelle

LCA : Acide lithodésoxycholique

LDL : Lipoprotéines de faible densité

LDL-C : Low-density Lipoprotein cholesterol

LDLR : Récepteur au LDL

Lp(a) : lipoprotéine(a)

LPL : Lipoprotéine lipase

LRH-1 : Liver Related Homologue-1

LRP : LDL receptor-related protein

LXR : Récepteur nucléaire des oxystérols

MCA : Acide muricholique

MTP : Protéine microsomale de transfert des triglycérides

NAFL : Non-alcoholic fatty liver

NAFLD : Non-alcoholic fatty liver disease

NASH : Non-alcoholic steato-hepatitis

NPC1L1 : Niemann-Pick C1-like 1 protein

OAGB : Bypass gastrique en oméga

OMS : Organisation Mondiale de la santé

PCSK9 : Proprotéine convertase subtilisine/kexine de type 9

POSCH : Program on the Surgical Control of the Hyperlipidemias

PYY : Peptide YY

q-PCR : PCR quantitative

RYGB : Bypass gastrique de Roux-en-Y

SADI-S : Single-Anastomosis Duodeno-Ileal bypass avec Sleeve gastrectomy

SG : Sleeve gastrectomie

SGLT1 : Cotransporteur sodium-glucose 1

SHP : Small Inhibitory Peptide

SOAT : Stérol O-acyltransférases

SOS : Swedish Obese Subjects

SR-BI : Scavenger receptor B-I

SREBP : Sterol Regulatory Element Binding Protein

TICE : Excrétion transintestinale du cholestérol

UDCA : Acide ursodésocolique

VLDL : Lipoprotéines de très faible densité

Liste des Figures et Tables

Figures

Figure 1. A) Première description du bypass gastrique d'après Mason et Ito, B) puis du bypass de Roux-en-Y selon Griffen. Tirés de Mason EE, Ito C, *Ann Surg* 1969 et de Griffen et al. *Ann Surg*, 1977.

Figure 2. Dérivation bilio-pancréatique, image tirée du Buchwald's Atlas of Metabolic & Bariatric Surgical Techniques and Procedures.

Figure 3. Frise chronologique résumant la première publication des principales procédures de chirurgies bariatriques discutées dans ce manuscrit.

Figure 4. Evolution du poids corporel total chez chez sujets contrôles ou opérés. D'après Sjöström et al. *J Intern Med*, 2012.

Figure 5. Procédure de sleeve gastrectomie

Figure 6. Bypass gastrique de Roux-en-Y standard actuel, modifié d'après Buchwald's Atlas of Metabolic & Bariatric Surgical Techniques and Procedures.

Figure 7. Dérivation bilio-pancréatique avec duodenal switch, modifié d'après Buchwald's Atlas of Metabolic & Bariatric Surgical Techniques and Procedures.

Figure 8. Physiopathologie de la dyslipidémie dans l'obésité. Tiré de Piché et al. *Med Clin Exp*, 2021.

Figure 9. Evolution des concentrations de lipides circulants après RYGB (A), BPD (B), SG (C) et AG (D) pour un changement d'une unité d'IMC. TC : Cholestérol total, TG : Triglycérides. D'après Hasan et al. *J Endocrinol Metab*, 2020.

Figure 10. (A) Estimation de Kaplan-Meier de la survie après chirurgie bariatrique comparée à une population contrôle atteinte d'obésité et à la population de référence Suisse dans l'étude SOS, et estimation de la survie à 40 ans. (B) Mortalité après chirurgie bariatrique (bleu) versus sujets non traités (rouge) dans la méta-analyse de Syn et al.

Figure 11. Spectre de la stéatose hépatique non alcoolique, d'après Cariou et al. *Diabetes Obes Metab*. 2021.

Figure 12. RYGB modifié chez la souris, d'après Blanchard et al. *Int J Obes*, 2018.

Figure 13. Description du SADI-S telle que proposée initialement par Sánchez-Pernaute, tiré de Sánchez-Pernaute et al. *Obes Surg*, 2007.

Figure 14. Montage final du SADI-S. Adapté de Frey et al. *J Vis Exp*, 2023.

Figure 15. Opacification digestive haute montrant une distension de l'anse biliaire (afferent limb) et une faible opacification de l'anse commune (efferent limb) témoignant d'un syndrome de l'anse afférente. Tirée de Surve et al. *Surg Obes Relat Dis*, 2016.

Figure 16. Taux d'échec des différentes procédures de chirurgie bariatrique. D'après Surve et al. *Surg Obes Relat Dis*, 2020.

Figure 17. Structure du cholestérol.

Figure 18. Vue synthétique des voies d'apport, transport et d'élimination du cholestérol dans l'organisme

Figure 19. Biosynthèse endogène du cholestérol

Figure 20. Acteurs impliqués dans l'absorption intestinale du cholestérol

Figure 21. Structure générale des lipoprotéines (Servier Medical Art)

Figure 22. Résumé de la voie endogène du transport du cholestérol dans l'organisme

Figure 23. Rôle et régulation du LDLR

Figure 23. Résumé des étapes de la synthèse des acides biliaires et des acteurs impliqués chez l'homme et la souris. D'après Li et Dawson, *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2019 (261)

Figure 24. Régulation du TICE et principaux acteurs impliqués aux pôles basolatéral et apical de l'entérocyte. D'après Garçon et al. *Curr Atherosclerosis Rep*, 2021 (279).

Figure 25. Mesure de la concentration plasmatique (cpm) de cholestérol marqué ingéré après exclusion iléale distale chez l'homme. Tiré de Buchwald, *Circulation*, 1964 (96).

Figure 26. Impact du RYGB chez la souris sur (A) l'excrétion fécale, (B) l'absorption intestinale, (C) l'excrétion transintestinale et (C) l'excrétion biliaire du cholestérol. D'après Blanchard et al. *Int J Obes*, 2018 (155)

Figure 27. Aspect de la muqueuse intestinale après RYGB chez le rat. Sh : Sham, Rx : Anse alimentaire, BP : Anse biliaire, Com : Anse commune. D'après Stearns et al. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2009 (302).

Figure 28. Résumé des conséquences fonctionnelles, adaptatives et métaboliques d'une déficience spécifiquement intestinale en LDLR après RYGB.

Figure 29. Comparaison des effets du SADI-S et du RYGB chez des souris C57Bl6 après 12 semaines de régime High Fat.

Tables

Table 1. Etudes randomisées chirurgie versus mesures hygiéno-diététiques chez les patients diabétiques.

Table 2. Etudes randomisées chirurgie versus mesures hygiéno-diététiques chez les patients diabétiques rapportant les résultats sur les concentrations de lipides circulants.

Table 3. Revue des grandes séries de SADI-S en tant que première intervention (une étude par centre) avec impact de la chirurgie sur le poids corporel

Table 4. Impact du SADI-S sur le l'homéostasie glucidique dans les grandes séries publiées (une étude par centre).

Table 5. Impact du SADI-S sur le métabolisme lipidique dans les grandes séries publiées (une étude par centre).

Table 6. Résultat des études comparant bypass gastrique et SADI-S.

Préambule

L'obésité est définie par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) comme une accumulation excessive de graisses qui peut altérer la santé qui se traduit par un indice de masse corporelle (IMC) (poids kg/ taille en m²) supérieur ou égale à 30 kg/m². Il s'agit d'un problème majeur de santé publique. Elle favorise la survenue de maladies métaboliques (parmi lesquelles le diabète de type 2, la dyslipidémie, la stéatose hépatique non alcoolique (NAFLD)), cardiovasculaires (hypertension artérielle, maladie coronarienne, accidents vasculaires cérébraux), ostéoarticulaires (arthrose), respiratoire (syndrome d'apnée-hypopnée, syndrome d'apnée du sommeil), neurodégénératives ainsi que le risque de développer certains cancers. A travers cette myriade de comorbidités, l'obésité est associée à une mortalité plus élevée (1).

Bien que les risques associés à cette condition paraissent aujourd'hui évidents et largement étudiés, l'obésité reste néanmoins un phénomène endémique en pleine expansion à l'échelle mondiale (2). En France, la dernière étude nationale de la Ligue contre l'Obésité en 2020 (étude Obépi-Roche) rapporte que 17.0% de la population présentait une obésité (contre 10.1% en 2000), et 2.0% une obésité « massive » définie par un IMC supérieur à 40 kg/m² (contre 0.4% en 2000).

L'obésité pose un problème complexe. Elle résulte d'une balance énergétique positive dont les origines sont multifactorielles : génétiques, environnementales, socio-économiques. Ainsi, sa prise en charge, qui est une des priorités de l'OMS, nécessite impérativement une approche globale, pluridisciplinaire et sur le long terme. Dans tous les cas, cette prise en charge associe conseils diététiques, activité physique, prise en charge d'éventuels troubles du comportement alimentaire, et traitement des comorbidités associées. Si l'arsenal

thérapeutique à disposition est resté longtemps vide de solution efficace, on assiste actuellement à une (r)évolution comme en témoignent les récents résultats plus qu'encourageants des traitements médicamenteux ciblant les hormones incrélines (3–5). Parmi ces différents traitements à disposition, la chirurgie bariatrique apparaît comme un traitement efficace de l'obésité et de ses complications.

Le présent travail se concentrera sur l'aspect chirurgical de la prise en charge de l'obésité. Il a pour objet principal l'étude de l'impact des chirurgies bariatriques sur les comorbidités métaboliques associées à l'obésité, en particulier sur le métabolisme du cholestérol. Dans une première partie, nous discuterons l'origine et l'impact métaboliques des principales chirurgies bariatriques utilisées aujourd'hui. Dans une deuxième partie, nous détaillerons les connaissances actuelles concernant une nouvelle chirurgie encore à l'étude, le Single Anastomosis Duodeno-ileal Bypass with Sleeve gastrectomy (SADI-S). Nous aborderons ensuite les principales étapes du métabolisme du cholestérol. Nous détaillerons alors les impacts connus ou suspectés des chirurgies bariatriques sur le métabolisme du cholestérol. Les résultats de ce travail de thèse seront ensuite présentés sous la forme de quatre articles originaux qui ont pour point commun la vocation d'apporter des connaissances nouvelles sur les mécanismes mis en jeu par les chirurgies bariatriques pour améliorer le métabolisme lipidique.

La Chirurgie bariatrique

Etant donné la prévalence croissante de l'obésité dans le monde, il n'est pas surprenant que la chirurgie bariatrique soit aujourd'hui en pleine expansion. Le nombre d'actes réalisés chaque année augmente, au point qu'on estime en France une multiplication par 20 du nombre annuel d'interventions entre 1997 et 2016 (étude de la Direction de la recherche, des études de l'évaluation et des statistiques (6)). L'objectif de ce chapitre est d'apporter une vue générale de la chirurgie bariatrique, à travers son histoire, la description des principales interventions réalisées actuellement et ses résultats attendus en particulier sur le plan métabolique.

1 - Histoire de la chirurgie bariatrique et avènement de la chirurgie métabolique

1.1 Historique des principales interventions

La chirurgie bariatrique est caractérisée par une constante évolution des techniques pratiquées. Ainsi, plus d'une cinquantaine d'opérations ont été décrites à ce jour. Nous détaillerons dans cette partie, à travers une description non exhaustive, l'apparition et l'évolution des techniques qui ont conduit à la mise au point des principales interventions réalisées aujourd'hui et qui font l'objet de l'étude de ce manuscrit.

Initialement, l'observation que la réduction de la longueur de l'intestin (et donc la malabsorption associée) conduit à une perte de poids a conduit à la mise au point des premières interventions de chirurgie bariatrique. Ainsi, la chirurgie de l'obésité est née dans les années 50 dans le Minnesota, aux Etats Unis, par la réalisation d'un bypass jéjuno-iléal chez un patient obèse par le Dr R.L. Varco (dont le rapport n'a jamais été publié) (7). Cette

intervention consistait en l'exclusion de la majorité de l'intestin grêle, la réalisation d'une anastomose jéjuno-iléale, et le drainage de l'intestin exclu dans le colon par la réalisation d'une iléo-caecostomie. Dans les deux décennies qui ont suivies, les procédures majoritairement réalisées étaient les shunts jéjuno-coliques (avec différents montages chirurgicaux) qui conduisaient à une perte de poids importante (8–10), et à la suite desquelles Payne et al. avaient observés dès 1963 une amélioration de la tolérance au glucose et une résolution de l'hypercholestérolémie (10). Cependant, ces interventions se compliquaient fréquemment de diarrhées, de douleurs abdominales chroniques, de troubles hydroélectrolytiques et d'une dysfonction hépatique qui accompagnaient la perte de poids. Un deuxième temps opératoire avec rétablissement de la continuité digestive était la norme lorsque le poids de forme était atteint. L'observation d'une reprise pondérale chez la totalité des patients remis en continuité a par la suite fait abandonner ces techniques.

Ainsi, le bypass jéjuno-iléal qui avait été décrit initialement a à nouveau suscité un regain d'intérêt. Après plusieurs tentatives d'optimisation de la longueur des anses anastomosées, deux propositions alternatives ont été proposées : J. H. Payne et L. T. DeWind ont décrit en 1969 le « 14 to 4 inches » (35 cm de jéjunum anastomosés avec 10 cm d'iléon) (11), et H. Büchwald et R.L. Varco proposaient en 1971 le « length-specified 40 to 4 cm » (12). Si le bypass jéjuno-iléal a été la première intervention bariatrique qui a permis une perte de poids durable, elle se compliquait en revanche de pullulations microbiennes, de troubles hydro-électrolytiques, de dénutritions majeures, de calculs rénaux et d'insuffisance hépatique, qui ont conduit à l'abandon de cette technique.

En 1966, après avoir observé que les patients ayant eu une gastrectomie maintenaient une perte de poids constante par une réduction des apports alimentaires, Mason et Ito

décrivaient la technique du bypass gastrique (13). Dans la description initiale de la technique, l'estomac était sectionné afin de confectionner une poche gastrique (10% de la taille de l'estomac) qui était anastomosée avec une anse jéjunale en oméga montée en situation trans-mésocolique (**Figure 1A**). En 1977, Griffen et al., devant des vomissements bilieux et une difficulté technique à réaliser l'anastomose gastro-jéjunale en dessous du plan de l'ouverture du mésocolon, ont proposé une technique alternative pour la réalisation du bypass gastrique qui implique la transection du jéjunum, l'anastomose de l'anse jéjunale distale avec l'estomac (cette anse étant montée en situation trans-mésocolique) et la réalisation d'une anastomose jéjuno-jéjunale de l'anse proximale 30 cm en aval de la gastro-jéjunostomie (**Figure 1B**) (14). Ce montage chirurgical, encore utilisé aujourd'hui, porte le nom de bypass gastrique de Roux-en-Y (RYGB), d'après le chirurgien suisse César Roux qui l'avait imaginé. Cette étude était également la première à comparer deux groupes de patients randomisés entre un bras RYGB et un bras bypass jéjuno-iléal, et avait montré plus de complications à long terme dans le second bras (diarrhées, maladie lithiasique rénale et vésiculaires et aggravation de la stéatose hépatique dans 75% des cas) (14). Ainsi, gagnant en popularité, le RYGB est devenu et reste encore à ce jour l'intervention bariatrique de référence.

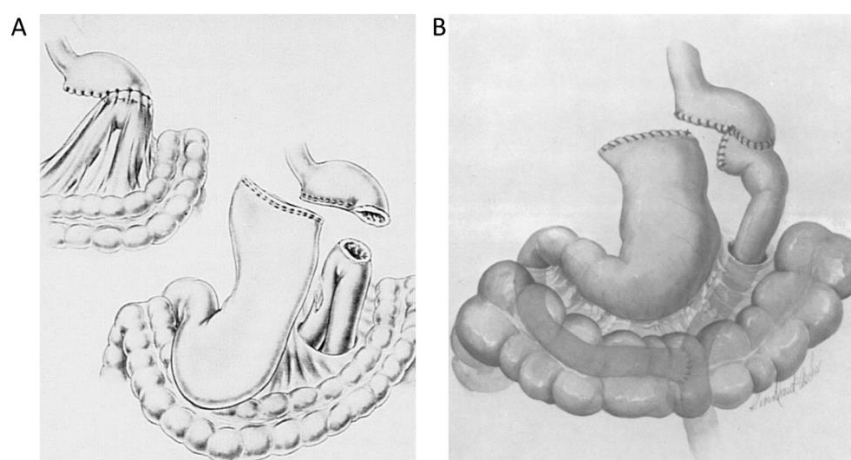


Figure 1. A) Première description du bypass gastrique d'après Mason et Ito, B) puis du bypass de Roux-en-Y selon Griffen. Tirés de Mason EE, Ito C, *Ann Surg* 1969 (13) et de Griffen et al. *Ann Surg*, 1977 (14).

Pour note, une procédure de bypass gastrique simplifiée par réalisation d'une anastomose gastro-jéjunale unique après réalisation d'une petite poche gastrique a été proposée plus récemment, en 2001, par R. Rutledge (15) : le mini bypass ou bypass en omega (OAGB). Sa simplicité de réalisation et sa réversibilité l'ont initialement rendu populaire, cependant une étude randomisée récente comparant OAGB avec une anse de 200 cm versus RYGB, qui montrait en particulier 21.4% de complications nutritionnelles sévères après mini bypass (aucune après RYGB) (16), a conduit la HAS à conclure qu'elle ne représentait pas, aujourd'hui, une alternative pertinente au RYGB.

En 1979, avec pour objectif d'obtenir une perte de poids comparable au bypass jéuno-iléal mais en réduisant les complications et les diarrhées, Scopinaro a proposé une technique qui permettait d'une part une malabsorption sélective, et d'autre part d'éviter les pullulations microbiennes dues à la stagnation de l'intestin bypassé. Après des expériences préliminaires chez le chien (17), il décrit la diversion bilio-pancréatique (BPD), qui consiste en une gastrectomie partielle, une transection du jéjunum 20 cm en aval du ligament de Treitz avec anastomose de l'anse distale et de l'estomac restant, ainsi que d'une anastomose de l'anse proximale à l'iléon 50 cm en amont de la valvule iléo-caecale (18) (**Figure 2**). Plus tard, afin de préserver le pylore pour réduire le risque d'ulcère marginal et de conserver l'innervation vagale, la gastrectomie a été abandonnée (remplacée par une gastrectomie en manchon, ou sleeve gastrectomie (SG)) et une anastomose duodéno-iléale, sur le principe du duodenal switch proposé par De Meester et al. (19), a été ajouté (20,21). La BPD avec duodéal switch (BPD-DS) reste aujourd'hui une alternative possible au RYGB.

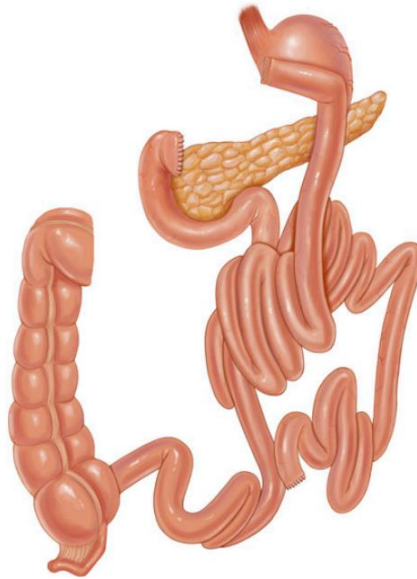


Figure 2. Dérivation bilio-pancréatique, image tirée du Buchwald's Atlas of Metabolic & Bariatric Surgical Techniques and Procedures (22)

Les techniques précédemment décrites ont en commun d'induire une perte de poids par la mise en jeu d'un mécanisme qualifié de « malabsorptif », qui était initialement au cœur de la réflexion autour de ce type de chirurgie, réduisant la surface d'absorption, limitant la digestion et l'absorption des aliments digérés. On note cependant dans les chirurgies les plus récentes, en particulier le RYGB et la BPD-DS discutées plus haut, l'ajout d'une restriction gastrique par la réduction de la taille de l'estomac. Ce mécanisme dit « restrictif » a pour objectif d'induire une satiété plus précoce lors de la distension de l'estomac lors du repas et de retarder la vidange gastrique. Ainsi, la réduction des complications après chirurgies associant restriction et malabsorption par rapport aux chirurgies purement malabsorptives ont ainsi conduit à l'abandon de ces dernières (23). C'est dans une idée de simplification des procédures et de réduction des complications qu'ont par la suite été proposées des chirurgies qui ne mettent en jeu qu'un mécanisme restrictif, dites « purement restrictives », même s'il apparaît aujourd'hui que leurs effets dépassent la seule augmentation de la satiété par simple

effet mécanique (modifications des sécrétions hormonales ou encore de la perméabilité intestinale (24)). Ainsi, la distinction entre « restriction » et « malabsorption » est un raccourci utile pour la comparaison de ces procédures, mais manque de justesse.

Partant à nouveau de l'observation qui les avait conduit à proposer la confection d'une petite poche gastrique lors de la première description du bypass gastrique en 1966 (13), c'est-à-dire celle d'une perte de poids maintenue dans le temps chez les patients qui avaient eu une gastrectomie, K.J. Printen et E.E Mason ont décrit en 1973 une gastroplastie par division horizontale de l'estomac de la petite à la grande courbure, n'autorisant le passage des aliments d'une poche gastrique à l'autre qu'à travers un petit canal gastrique (1 à 1.5 cm) (25). Bien que cette technique ait été rapidement abandonnée car elle n'entraînait pas une perte de poids suffisante, elle a néanmoins conduit plusieurs auteurs à proposer des techniques basées sur le même principe. Une des plus notables est la gastroplastie verticale calibrée proposée par E. Mason en 1982, qui consistait en une section verticale de l'estomac à partir de l'angle de His et la mise en place d'un anneau inextensible calibrant un orifice permettant la communication entre les deux parties de l'estomac (26). Bien que cette technique soit finalement tombée en désuétude à cause de reprise de poids tardive, elle a suscité dans les années 80 un intérêt qui l'a conduit à concurrencer le RYGB.

Toujours avec l'idée de limiter la morbidité et de respecter l'anatomie, L. Kuzmak a proposé en 1983 l'anneau gastrique (AG), comme un cerclage de l'estomac afin d'en réduire le volume, tout en étant réversible (27). Ce cerclage a rapidement évolué vers un anneau ajustable par l'injection percutanée d'eau stérile, et la position de l'anneau a été optimisée par son passage à travers la pars flacida du petit omentum pour éviter son déplacement avec dilatation de la poche gastrique au-dessus de l'anneau (ou « slippage ») (28). Cette technique

a bénéficié d'un engouement important ces dernières décennies, et reste aujourd'hui indiquée dans la prise en charge de l'obésité.

Une des étapes de la BPD-DS discutée plus haut est la confection d'une gastrectomie en manchon, ou « sleeve gastrectomie » (SG), qui consiste en une résection longitudinale du fundus gastrique associée à une antrectomie partielle, calibrées par un tube gastrique (21). Afin de limiter la morbi-mortalité péri-opératoire chez les patients ayant un IMC > 60kg/m², M. Gagner et J.P Regan avaient proposé au début des années 2000 que la BPD-DS et le RYGB soit réalisée en deux temps, dont le premier était une SG seule (29). De façon remarquable, ce protocole permettait une perte de poids significative après SG, et de conclure que cette intervention seule pouvait être proposée en l'absence de second temps impliquant un mécanisme malabsorptif (30). L'intérêt majeur de cette procédure repose sur la rapidité de sa réalisation et l'absence d'anastomose digestive, et elle a été reconnue en 2009 comme une procédure à part entière (30). Depuis, la SG est devenue l'intervention la plus réalisée en France.

Ainsi, la chirurgie bariatrique s'est construite sur l'amélioration progressive des procédures en prenant en compte les inconvénients des techniques précédentes, avec de nombreuses tentatives et propositions d'interventions dont certaines ont perduré et d'autres ont disparues (**Figure 3**). Aujourd'hui, les plus pratiquées restent la SG et le RYGB, dans une moindre mesure la BPD-DS et l'AG. Les trois premières seront discutées plus en détail par la suite. D'autres interventions, qui n'ont pas été détaillées dans ce chapitre, sont également à l'étude et/ou réalisées dans la pratique courante, parmi lesquelles on peut citer l'interposition iléale (31), la SG avec bipartition du transit (32), ou encore le SADI-S (single anastomosis duodeno-ileal bypass with sleeve gastrectomy), qui est une évolution de la BPD-DS qui fera

l'objet d'un chapitre spécifique (33). Sur le plan technique, il faut évidemment souligner l'apport de la chirurgie laparoscopique apparue dans les années 90 qui a été une évolution majeure notamment dans la prévention de la morbidité péri-opératoire, notamment pariétale et respiratoire. Depuis la première pose d'AG coelioscopique en 1993 réalisée par M. Belachew, la voie coelioscopique est devenue la référence pour la pratique de ces interventions. Il faut également citer le développement récent de techniques endoscopiques comme l'endosleeve ou le ballonnet intragastrique (34).

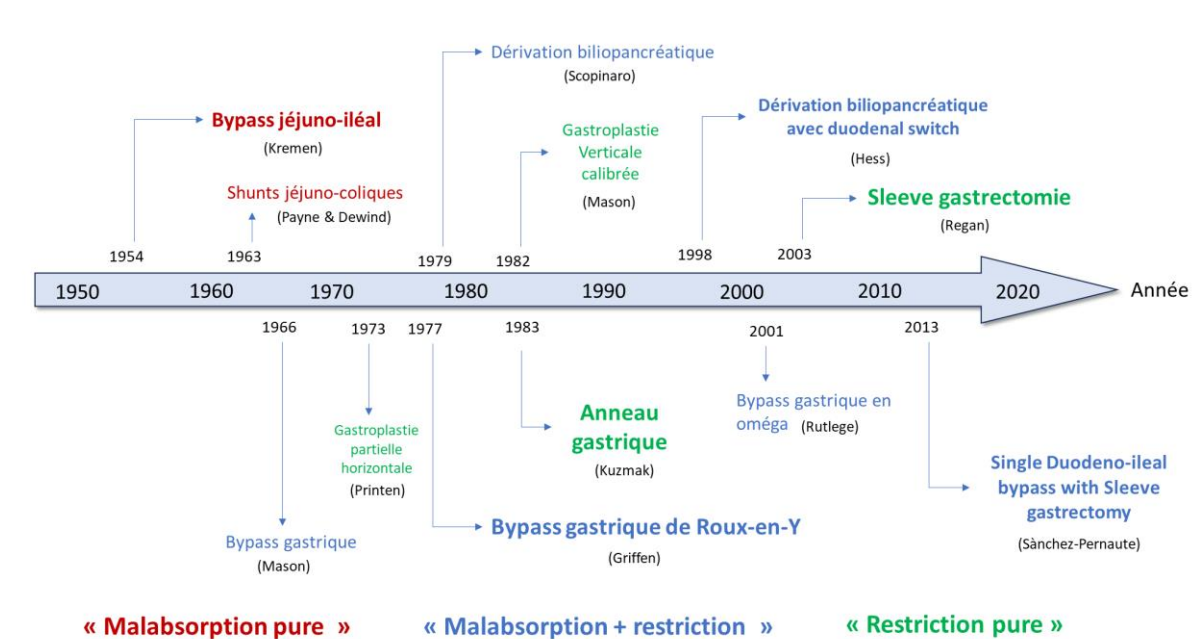


Figure 3. Frise chronologique résumant la première publication des principales procédures de chirurgies bariatriques décrites dans ce manuscrit.

1.2 La chirurgie bariatrique est une chirurgie métabolique

Le tout premier objectif de la chirurgie bariatrique a été la perte de poids. La SOS (Swedish Obese Subjects) study, qui est une large étude prospective contrôlée comparant chirurgie bariatrique et traitement médical chez des patients appariés, montrait avec un suivi à long terme une perte de poids significative induite par la chirurgie avec un recul supérieur à 10 ans

(Figure 4) (35). La perte de poids attendue en fonction de la procédure réalisée sera décrite dans les chapitres suivants.

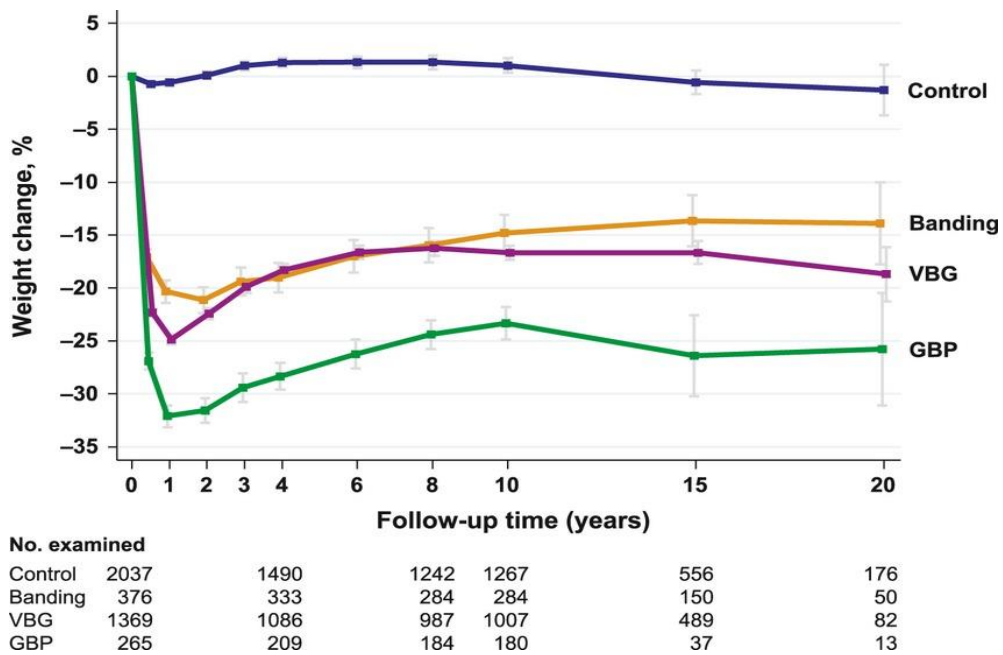


Figure 4. Evolution du poids corporel total chez chez sujets contrôles ou opérés (Banding : anneau gastrique, VBG : Gastrectomie verticale calibrée, GBP : Bypass gastrique).
D'après Sjöström et al. *J Intern Med*, 2012 (35).

Cependant, au-delà de la perte de poids seule, les premières publications soulignaient déjà l'impact de ces chirurgies sur les comorbidités associées à l'obésité, et notamment leurs conséquences métaboliques. En effet, il est fait mention très tôt de l'importance des comorbidités dans la décision chirurgicale à une époque où les indications n'étaient pas encore codifiées (36). Au-delà de la perte de poids, les chirurgies bariatriques s'accompagnent d'effets plus ou moins important sur les métabolismes des glucides, des lipides, et par extension sur les complications cardiovasculaires. Cette observation à conduit à désigner ces chirurgies par le terme « chirurgies métaboliques », notamment au centre des recommandations récentes (37).

Le concept de chirurgie métabolique est loin d'être nouveau, puisqu'il avait été défini dès 1978 par H. Büchwald et R.L. Varco comme « la manipulation opératoire d'un organe normal ou d'un système d'organes pour obtenir un résultat biologique afin d'améliorer l'état de santé » (38). Il s'agit d'une dénomination générale qui dépasse le cadre de la chirurgie bariatrique, bien que celle-ci en constitue un aspect majeur. H. Büchwald défend d'ailleurs l'idée que la chirurgie bariatrique est une chirurgie métabolique par essence (39), et qu'il serait faux de la considérer indépendamment de ses conséquences métabolique, ou de penser qu'elle a évolué vers ce concept. Néanmoins, les travaux récents se focalisant sur les aspects mécanistiques des résultats de ces chirurgies sur les comorbidités associées, notamment une méta-analyse de H. Büchwald publiée dans le JAMA en 2004, incluant 134 études (22094 patients), qui mettait en avant les bénéfices de la chirurgie bariatrique sur les comorbidités (40), ont attiré la lumière sur cet aspect de cette chirurgie. On parle notamment dès 2010 du traitement chirurgical du diabète (41). Depuis 2016 en particulier, la chirurgie métabolique fait partie de la prise en charge du diabète chez les patients ayant un IMC supérieur ou égal à 30 kg/m² (42).

2 – Les principales interventions de chirurgie bariatrique

L'objectif de ce chapitre est de détailler les modifications anatomiques induites, les principaux résultats attendus et/ou observés en termes de perte de poids et les complications fréquentes des chirurgies qui seront étudiées et/ou détaillées dans la suite du manuscrit : la SG, le RYGB et la BPD-DS. L'impact métabolique de ces chirurgies sera détaillé au sein d'un chapitre spécifique. L'AG, bien qu'encore très largement réalisé dans la pratique courante, ne sera pas discuté.

2.1 La sleeve gastrectomie

La SG est une technique qui consiste en la résection verticale des 2/3 de l'estomac en incluant la grande courbure et le fundus (volume final restant 150 à 200 mL) (**Figure 5**). Si elle se base sur le principe d'une restriction pure, avec pour but l'augmentation de la satiété par la réduction du volume gastrique, on sait aujourd'hui que la SG s'accompagne également de modifications significatives des sécrétions hormonales, notamment une diminution de la sécrétion de ghréline impliquée dans la satiété (par l'ablation du fundus qui contient les cellules P et D1 sécrétant cette hormone) (43). Il s'agit de l'intervention de bariatrique la plus pratiquée en France, notamment du fait, comme détaillé plus haut, de la rapidité de sa réalisation, d'une plus grande facilité technique en comparaison du RYGB, et de la possibilité d'en faire le premier temps d'une intervention possédant également une composante malabsorptive en cas de reprise de poids.

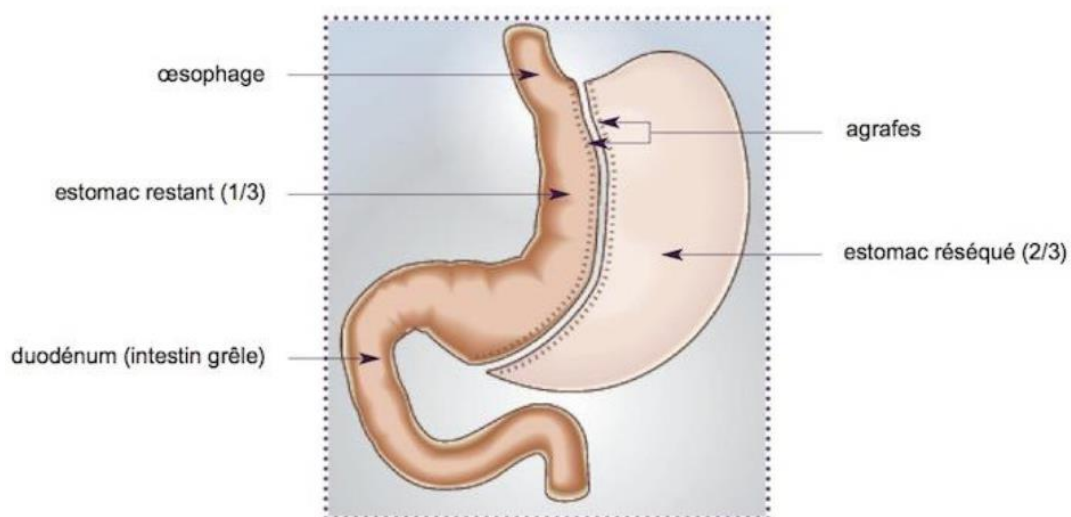


Figure 5. Procédure de sleeve gastrectomie

Malgré le nombre élevé de procédures réalisées, peu de données à long terme sont en réalité disponibles concernant les résultats de la SG. La perte d'excès de poids à 5 ans se situe entre 49 et 61 % (44,45) . Notamment, une méta-analyse récente de 2019 n'identifiait que deux essais (163 patients) avec un suivi supérieure à 10 ans après SG (46). Dans cette étude, la SG s'accompagnait d'une perte d'excès de poids de 58.3%. Le taux de complications de la SG se situe autour de 5%, et est dominé par la fistule gastrique, l'hémorragie sur la rangée d'agrafes, plus rarement par la sténose du manchon gastrique qui résulte d'une malfaçon chirurgicale. Sur le long terme, une proportion significative (20% à 5 ans) de patients présentent également un reflux gastro-œsophagien de novo ou une aggravation d'un reflux préexistant après SG (47,48). Une fibroscopie de contrôle est préconisé à 5 ans selon les recommandations des diverses sociétés savantes.

2.2 Le bypass gastrique de Roux-en-Y

Depuis sa première description en 1977 (14) et sa première réalisation sous coelioscopie (49), le RYGB a subi plusieurs optimisations avant de devenir le gold standard actuel en chirurgie bariatrique. La réalisation du RYGB implique la confection d'une petite poche gastrique (20 mL), qui assure une composante restrictive. Sa réalisation actuelle repose sur la technique décrite par Torres, qui préconise la fabrication de cette petite poche sur la petite courbure qui est moins à risque de distension et mieux vascularisée (50). Ensuite, après transection du jéjunum, la continuité digestive est rétablie par la réalisation de deux anastomoses : une anastomose gastro-jéjunale (entre la petite poche gastrique et la partie distale du jéjunum) et une anastomose jéjuno-jéjunale. L'anatomie ainsi obtenue, dit montage chirurgical « en Y », définit trois anses fonctionnelles : une anse biliaire (duodénum et jéjunum

exclu jusqu'à l'anastomose jéjuno-jéjunale) au sein de laquelle circulent les sécrétions bilio-pancréatiques, une anse alimentaire (entre les deux anastomoses) au sein de laquelle circule l'alimentation, et une anse commune (entre l'anastomose jéjuno-jéjunale et la jonction iléo-caecale) où a lieu la majorité de l'absorption (**Figure 6**). Dans le RYGB standard actuel, l'anse biliaire mesure 50 cm et l'anse alimentaire 150 cm (51). L'anse commune n'est habituellement pas mesurée.

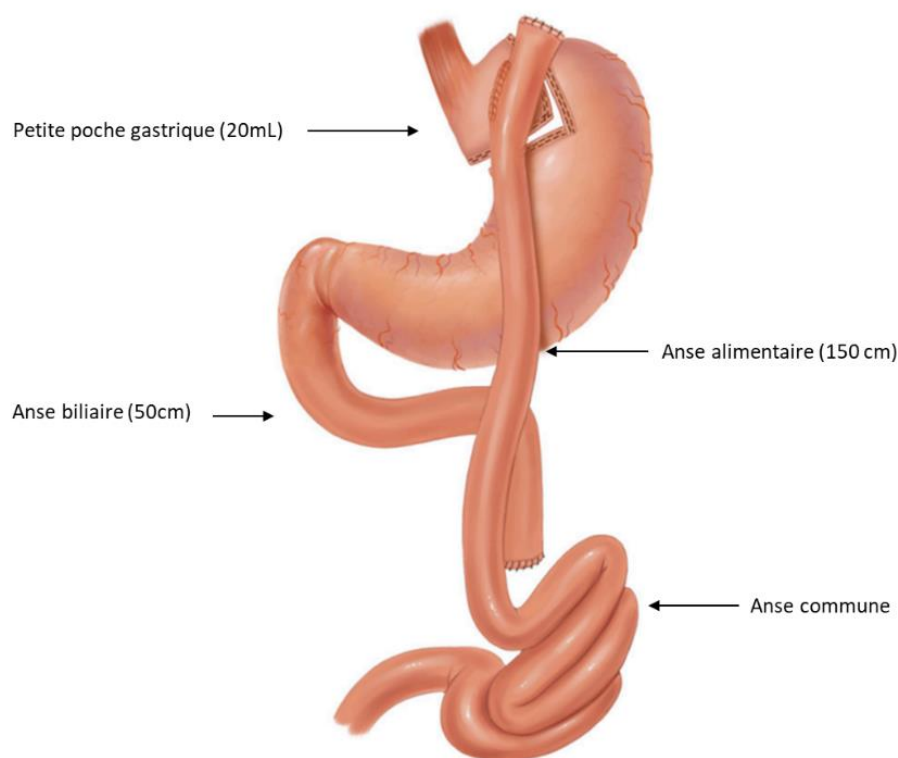


Figure 6. Bypass gastrique de Roux-en-Y standard actuel, modifié d'après Buchwald's Atlas of Metabolic & Bariatric Surgical Techniques and Procedures (22).

Actuellement, il s'agit de la procédure de chirurgie bariatrique dont les effets à long terme ont été les plus étudiés. La SOS study montrait une perte de poids de $25 \pm 11\%$ à 10 ans après RYGB (35). Globalement, le risque de complications nécessitant une réintervention se situe

autour de 1.5% (52). Les complications les plus fréquentes sont les fistules (0.5%), les sténoses anastomotiques (1.9%), les saignements (1.8%) et les hernies internes (1.1%).

2.3 La diversion bilio-pancréatique (avec duodenal switch)

La BPD-DS décrite par Hess et Marceau, variante de la BPD initialement décrite par Scopinaro (18), implique la réalisation d'une SG, puis la confection d'un montage en Y avec conservation du pylore permettant la confection d'une anse alimentaire mesurant 250 cm et d'une anse commune courte de 100 cm (**Figure 7**). L'anse biliaire n'est pas mesurée.

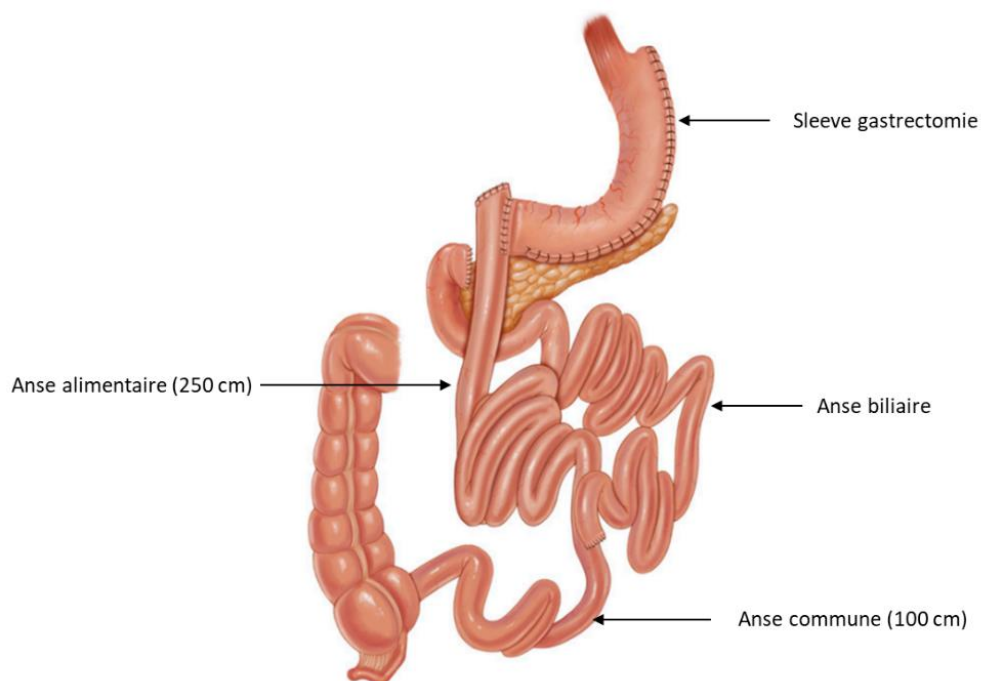


Figure 7. Dérivation bilio-pancréatique avec duodenal switch, modifié d'après Buchwald's Atlas of Metabolic & Bariatric Surgical Techniques and Procedures (22).

Du fait de ses propriétés malabsorptives majeures, la BPD-DS est considérée comme la procédure la plus efficace en termes de perte de poids et de résolution des comorbidités.

En particulier, était associée à une perte d'excès de poids de 74.1% en moyenne à 10 ans dans une méta-analyse incluant 5074 patients (versus 56.7% après bypass gastrique incluant RYGB et OAGB, n=9386) (46). Cependant, en plus d'une difficulté technique importante, cette technique s'accompagne d'un risque non négligeable de dénutrition protéique avoisinant les 40% à 10 ans nécessitant un suivi méticuleux sur le long terme (53), pouvant conduire à la nécessité d'allonger la longueur de l'anse commune (54), ce qui a été rapporté dans 4.1% des cas à 10 ans dans une étude rétrospective de 100 patients (53). Bien que restant une alternative possible au RYGB, la BPD-DS est actuellement très peu réalisée (<1% dans le monde en 2013 (55)).

3 - Effets métaboliques des chirurgie bariatriques

Comme il a déjà été évoqué plus haut, l'obésité s'accompagne d'une multitude de comorbidités. La chirurgie bariatrique exerce un impact bénéfique significatif sur le syndrome d'apnée du sommeil, les complications rénales, ostéoarticulaires ou encore le risque de cancer (40,56). En particulier, un tiers des patients en situation d'obésité présentent un syndrome métabolique (ou syndrome X) (57), qui associe à un tour de taille augmenté au moins deux des paramètres suivants : hypertriglycémie, un taux de High-Density Lipoprotein cholesterol (HDL-C) bas, hypertension artérielle et hyperglycémie à jeun ou diabète de type 2. Dans les chapitres suivants, nous nous attacherons à décrire l'impact de ces chirurgies sur les troubles métaboliques associés à l'obésité que sont les anomalies des métabolismes glucidiques et lipidiques, le développement de la plaque d'athérome et la stéato-hépatite non alcoolique.

3.1 Chirurgie bariatrique et diabète

3.1.1 Impact de la chirurgie bariatrique sur l'homéostasie glucidique

Obésité et diabète de type 2, défini par une hyperglycémie chronique objectivée par une glycémie à jeun supérieure à 1.26 g/L (7mmol/L) sur deux dosages successifs, sont deux pathologies très liées. La dernière étude Obépi-Roche de 2020 rapporte qu'en France, 20% des patients présentant une obésité déclarent prendre au moins un traitement antidiabétique. Il est bien connu que le diabète est un facteur de risque cardiovasculaire majeur favorisant l'athérosclérose et est responsable de nombreuses complications microvasculaires (rétiniennes, nerveuses et rénales). La dysrégulation de la glycémie observée dans le diabète peut résulter d'un ou des deux mécanismes suivants : l'insulinorésistance, c'est-à-dire la diminution de l'action hypoglycémiante de l'insuline sur ses tissus cibles (majoritairement le tissu adipeux, le foie et le muscle) ; et/ou le défaut de production d'insuline par le pancréas endocrine. Les liens entre obésité et diabète sont complexes, dont l'insulinorésistance, qui précède le diabète de type 2, est un aspect central. Elle résulte notamment de la libération d'acides gras libres par le tissu adipeux, en particulier viscéral, ce qui entraîne une inhibition de la cascade de signalisation du récepteur à l'insuline, et réduit la sécrétion d'insuline en entraînant une dysfonction des cellules bêta du pancréas (58). La sécrétion de facteurs pro-inflammatoires par le tissu adipeux joue également un rôle dans l'installation de l'insulinorésistance. Les incrétines, hormones insulinosensibilisatrices produites par l'intestin, sont également diminuées chez les sujets obèses (58).

La rémission du diabète est un objectif majeur de la chirurgie bariatrique, depuis la découverte à la fin des années 80 que le bypass gastrique s'accompagnait d'une amélioration du métabolisme glucidique. Après deux premiers rapports publiés en 1987 et 1992 où ils

rapportaient un contrôle du diabète avec une amélioration de l'insulinémie à jeun et de l'hémoglobine glyquée dans les suites d'une variante du RYGB (le « Greenville gastric bypass ») (59,60), Pories et al. publiaient en 1995 une amélioration des niveaux glycémiques et l'arrêt des médicaments anti-diabétiques dans les 24 heures après RYGB (61). Scopinaro, dans sa série de 2241 BPD publiée en 1998 relatait un taux de rémission du diabète de 100% après chirurgie (62). Depuis, de très nombreuses études ont rapporté un effet bénéfique des chirurgies bariatriques sur le métabolisme glucidique.

Les résultats des analyses prédéfinies des principales études randomisées dont le critère de jugement principal était la rémission du diabète après chirurgie bariatrique (incluant RYGB) versus traitement médical sont résumés en **Table 1**. Ces études rapportent un taux de rémission du diabète entre 16 et 75% 1 à 2 ans après RYGB contre 0 à 6% avec traitement médical seul, avec cependant une grande hétérogénéité de définition de la rémission (notamment de la distinction entre rémission complète et partielle) (63–68). Cette observation s'accompagne d'une diminution de l'HbA1c, ainsi qu'une baisse de l'insulinémie à jeun et de l'Homeostasis Assessment index (HOMA-IR) qui est un proxy de l'insulinorésistance. Les chirurgies purement restrictives (AG et SG) s'accompagnaient d'un taux de rémission d'environ 20%, tandis que la BPD s'accompagnait d'un taux de rémission avoisinant 95% (63,67,68). Bien qu'il ait été décrit qu'une rechute du diabète après RYGB puisse être observée dans 1/3 des cas après les 5 premières années (69), la supériorité de la chirurgie sur le traitement médical pour la rémission du diabète est maintenue à 5 ans (66).

Auteur	Année	Groupes	Suivi (années)	Taux de rémission du diabète (%)		Evolution entre pré- et post-opératoire (% de baseline)				
				Rémission complète	Rémission partielle	Glycémie (mg/dL)	HbA1c (%)	Insuline (pmol/L)	HOMA-IR	
Schauer (67)	2012	RYGB n = 50	1	42 p<0.001	-	-94 p = 0.001	-2.9 p<0.001	-	-	
		SG n = 50		27 p<0.001		-67 p = 0.02	-2.9 p<0.001			
		MHD/TM n = 50		0		-35	-1.4			
Mingrone (68)	2012	RYGB n = 19	2	75%	-	-37.81 ± 33.75 %**	-25.18 ± 20.89 %**	-	-	
		BPD n = 19		95%		-56.23 ± 10.01 %**	-43.01 ± 9.64 %**			
		MHD/TM n = 18		0% p<0.001		-14.37 ± 11.93 %** p<0.001	-8.39 ± 9.93 %** p<0.001			
Halperin (65)	2014	RYGB n = 22	1	58	-	-47 %**	-2 %**	-	-	
		MHD/TM n = 21		16 p=0.03		0 %**p<0.001	0 %** p=0.008			
Ikramuddin (66)	2016	RYGB n = 60	2	25	-	-103.6	-3.1	-	-	
		MHD/TM n = 59		0 p<0.0001		0 p<0.0001	-45.5 p<0.0001			-1.2 p<0.0001
Cummings (64)	2016	RYGB n = 23	1	60	-	-*	-16.9 %**	-73.8 %**	-76.0 %**	
		MHD/TM n = 20		5.9 p=0.002		5.9	-5.4 % p=0.04	28.3 % p<0.001		28.2 % p=0.011
Courcoulas (63)	2020	RYGB n = 24	1	16.7	-	-79.7 (-110 ; -49.4) p=0.0021	-2.30 (-3.12 ; -1.48) p=0.0002	-	-	
		AG n = 22		22.7		27.3	-53.3 (-85.2 ; -21.5) p=0.045			-1.50 (-1.88 ; -0.22) NS
		MHD/TM n = 23		0		0	-7.20 (-41.5 ; 27.06)			-0.06 (-0.93 ; 0.81)

Table 1. Etudes randomisées chirurgie versus mesures hygiéno-diététiques chez les patients diabétiques.

RYGB : Bypass gastrique de Roux-en-Y, SG : Sleeve gastrectomie, AG : Anneau gastrique, MHD/TM : Mesures hygiéno-diététiques et traitement médical optimal, BPD : Dérivation bilio-pancréatique. * Absence de variation significative après chirurgie (valeurs non détaillées). ** pourcentage de variation à partir de la valeur pré-opératoire

3.1.2 Mécanismes envisagés de l'amélioration de l'homéostasie glucidique après chirurgie bariatrique

Les résultats des études randomisées précédemment citées sont globalement en accord avec ceux d'une large méta-analyse de Büchwald et al. publiée en 2009 incluant 621 études (135 246 patients), qui montrait que le taux de rémission du diabète suivait un gradient fonction de la perte de poids induite par la chirurgie (BPD-DS > RYGB > gastroplastie verticale > AG) (70). Dans cette étude, la résolution du diabète était significativement associée à la variation d'IMC après chirurgie. Ces résultats laissent penser que la perte de poids est un mécanisme conduisant à l'amélioration du diabète. Ainsi, l'insulinorésistance s'améliorait de manière comparable après RYGB et AG pour la même perte de poids (20%) dans une étude de Bradley et al. (71). On observe également une amélioration similaire de l'insulinorésistance après RYGB et régime hypocalorique seul pour une même perte de poids (72).

Cependant, l'observation d'une amélioration de la glycémie dans les premières 24 heures après RYGB (61) laisse penser que d'autres mécanismes sont mis en jeu, au-delà de la seule perte de poids. En ce sens, plusieurs études randomisées ne sont pas parvenues à montrer une association significative entre la perte de poids et la rémission du diabète (64,68). En plus des effets de la restriction calorique à court terme, qui notamment réduit le contenu hépatique en lipides et améliore ses capacités de captation et de stockage du glucose (voir *chapitre 3.4 Chirurgie bariatrique et stéatose hépatique non alcoolique (NAFLD)*), deux principales hypothèses, non mutuellement exclusives, ont été proposées pour expliquer cette amélioration rapide après chirurgies malabsorptives. L'arrivée plus rapide des aliments dans l'intestin distal après chirurgie stimule la sécrétion des hormones incrétines dont le glucagon-

like peptide 1 (GLP-1), le peptide gastric inhibitory polypeptide (GIP) et le peptide YY (PYY), qui sont insulinosensibilisatrices, ce qui a donné lieu à l'hypothèse du « hindgut ». En effet, la concentration plasmatique post-prandiale de ces hormones augmente dès les premiers jours après RYGB (73), ce qui réduit l'insulinorésistance et améliore la sécrétion d'insuline. La seconde hypothèse, dite du « foregut », est que l'exclusion de l'intestin proximal (duodénum et jéjunum proximal) réduit la mise en place d'un signal, encore non identifié, qui favorise l'insulinorésistance. En ce sens, l'étude de rats ayant eu un bypass duodéno-jéjunal (qui exclue l'intestin proximal) ou une gastrojéjunostomie (qui accélère l'arrivée des aliments dans l'intestin distal sans exclure l'intestin proximal) montre que la première intervention s'accompagne d'une amélioration plus importante de la tolérance au glucose (74).

D'autre part, l'anatomie particulière qui résulte du montage chirurgical du RYGB en particulier exerce un impact sur les voies d'utilisation du glucose et son trafic à travers la muqueuse intestinale. Chez le mini porc, il a été montré que la séparation des aliments et de la bile dans les anses alimentaires et biliaires du RYGB, influence l'absorption intestinale du glucose *via* le cotransporteur sodium-glucose 1 (SGLT1) au pôle apical de l'entérocyte, qui permet l'internalisation du glucose luminal en présence de sodium (75). Ainsi, l'absorption est grandement réduite dans l'anse biliaire (riche en sodium mais pauvre en glucose) et alimentaire (qui transporte le glucose alimentaire mais pauvre en sodium), et n'a lieu que dans l'anse commune. De plus, des études chez le rongeur suggèrent qu'il existe une reprogrammation du métabolisme du glucose orientée vers sa captation et son utilisation au sein de la muqueuse de l'anse alimentaire pour répondre à une demande énergétique accrue due à des remaniements hypertrophiques de la muqueuse (76), notamment *via* une augmentation de l'expression entérocytaire du transporteur glucose transporter 1 (GLUT1)

(77,78). L'inhibition de GLUT1 par un inhibiteur spécifique réduit les effets bénéfiques du RYGB chez le rat (79). Cette augmentation de la captation du glucose dans l'anse alimentaire a également été observée chez l'homme après injection de ^{18}F -fluorodesoxyglucose (78). Kwon et al. ont également décrit une augmentation de l'excrétion du glucose plasmatique dans la lumière intestinale (prédominant dans l'anse commune) dépendante de GLUT1 chez le rat après RYGB, après injection intraveineuse de glucose marqué (79).

D'autres mécanismes, impliquant des modifications du microbiote intestinal après chirurgie bariatrique et des acides biliaires en tant que molécules porteuses de signal, sont également impliquées dans les effets bénéfiques de chirurgies bariatriques sur l'homéostasie glucidique (80).

3.2 Chirurgie bariatrique et dyslipidémies

3.2.1 La dyslipidémie du sujet obèse

La dyslipidémie est une comorbidité fréquente chez les patients en situation d'obésité, puisque environ 60% d'entre eux présenteraient un bilan lipidique anormal (40). Le profil type, chez ces patients, associe une élévation de la triglycéridémie à jeun et post-prandiale, une baisse du HDL-C et d'une élévation modérée du Low-Density lipoprotein cholesterol (LDL-C) avec en particulier les lipoprotéines de faible densité (LDL) petites et denses qui sont associées à un risque athérogène plus élevé (81).

Ces anomalies sont le produit de la combinaison de plusieurs mécanismes, qui impliquent en particulier le tissu adipeux et le foie, et au centre desquels on retrouve

notamment une augmentation de la concentration des lipoprotéines riches en triglycérides : les chylomicrons qui transportent les lipides issus de l'alimentation, les lipoprotéines de très faible densités (VLDL) synthétisés par le foie, et leurs remnants qui sont issus de leur catabolisme.

Des études cinétiques réalisées chez des patients obèses (82,83) ont montré que l'augmentation de la concentration plasmatique de VLDL riches en triglycérides résultait à la fois d'une augmentation de leur production hépatique et aussi d'une réduction de leur clairance. L'augmentation de la production hépatique de ces VLDL riches en triglycérides dans l'obésité est corrélée à la masse grasse et à la concentration hépatique de lipides (82). L'augmentation de la concentration hépatique en lipide observée dans l'obésité (voir chapitre **3.4 Chirurgie bariatrique et stéatose hépatique non alcoolique (NAFLD)**) résulte d'une augmentation de l'apport d'acides gras au foie par différentes voies :

- D'une part, on observe en cas d'obésité une augmentation de la concentration plasmatique d'acides gras non estérifiés relargués par le tissu adipeux (84). Bien que le relargage d'acides gras non estérifiés par unité de masse grasse soit réduit, la quantité absolue d'acides gras non estérifiés est plus élevée (85). Ce phénomène, qui à la fois favorise et est aggravé par l'insulinorésistance, s'accompagne d'une réduction de la clairance de ces acides gras non estérifiés (84).

- D'autre part, l'obésité s'associe à une stimulation de la lipogenèse hépatique et à une augmentation de la captation hépatique des chylomicrons transportant une quantité élevée de lipides issus de l'alimentation (81,86). En particulier, une étude comparant des patients maigres et atteints d'obésité utilisant des acides gras marqués montrait chez les sujets obèses

une réduction du stockage au sein du tissu adipeux des triglycérides issus de l'alimentation (transportés par les chylomicrons) et une augmentation de leur captation par le foie (87), apportant ainsi un substrat pour la synthèse de VLDL.

A l'inverse, la réduction de l'expression dans le tissu adipeux viscéral et le muscle squelettique de la lipoprotéine lipase (LPL), qui est l'enzyme qui hydrolyse les triglycérides des VLDL et des chylomicrons (détaillée dans le chapitre **3.2.1 Transport et captation du cholestérol par les tissus périphériques** de la partie **Métabolisme du cholestérol**), réduit la clairance de ces lipoprotéines riches en triglycérides (88,89). Le catabolisme des remnants de lipoprotéines riches en triglycérides est également fortement altéré en situation d'obésité par l'augmentation des concentrations d'apolipoprotéine C-III (Apo C-III), qui est un inhibiteur de la LPL (83).

Dans la circulation sanguine, ces VLDL riches en triglycérides dont la concentration est augmentée interagissent avec les autres lipoprotéines par le biais d'échanges de lipides via une enzyme appelée protéine de transfert des esters de cholestérol (CETP pour *cholesteryl ester transfer protein*), dont l'activité s'élève dans l'obésité (90). L'augmentation de ces échanges avec les LDL enrichie ces derniers en triglycérides, favorisant leur lipolyse par une autre enzyme, la lipase hépatique, produisant des LDL petites et denses. Ce changement qualitatif des LDL est en particulier observé lorsque la triglycéridémie dépasse 100 mg/dL (91).

De la même manière, l'enrichissement des lipoprotéines de haute densité (HDL) en triglycérides après interaction avec ces VLDL via la CETP et leur conversion en HDL de petites tailles après lipolyse par la lipase hépatique augmente leur catabolisme, expliquant la baisse du HDL-C (90,92), et altère le transport inverse du cholestérol de la périphérie vers le foie (voie

qui sera détaillée dans le chapitre **3.4 Le transport inverse du cholestérol** de la partie **Métabolisme du cholestérol**). En particulier, l'obésité s'associe à un profil de sous-populations de HDL associé à un risque cardiovasculaire accru (pré β -1) (93). Ces mécanismes sont résumés dans la **Figure 8**.

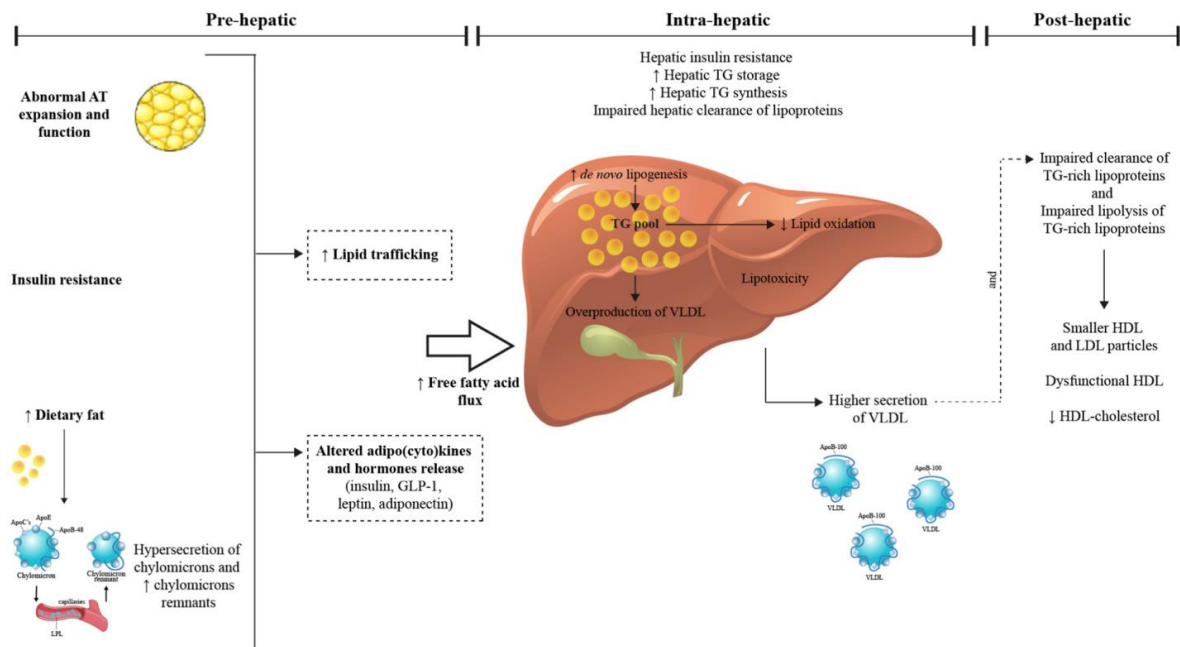


Figure 8. Physiopathologie de la dyslipidémie dans l'obésité. Tiré de Piché et al. *Med Clin Exp*, 2021 (81)

Ce profil lipidique a pour conséquence une augmentation du risque cardiovasculaire chez les patients obèses, de par l'hypertriglycéridémie, mais aussi les perturbations du métabolisme du cholestérol. Outre la baisse du HDL-C, les LDL petites et denses enrichies en triglycérides ont une demi-vie plasmatique plus longue, sont plus susceptibles d'être oxydées et sont associées à un risque cardiovasculaire particulièrement élevé puisqu'elles sont plus facilement stockées dans l'espace sous-intimal des vaisseaux et ainsi sont hautement athérogènes (94). Dans une méta-analyse incluant 21 études de cohortes (302 296 patients), un ajustement du risque relatif de mortalité cardiovasculaire chez les patients obèses sur la

cholestérolémie et l'hypertension montrait que ces deux paramètres expliquaient 45% de leur excès de mortalité cardiovasculaire (95).

3.2.2 Impact de la chirurgie bariatrique sur la dyslipidémie

Historiquement, le cholestérol plasmatique a été la première cible métabolique de la chirurgie par manipulation du tube digestif. Dans les années 60, avant l'avènement des statines, les premières études qui décrivaient la réalisation de la chirurgie bariatrique décrivaient une réduction de la cholestérolémie après shunt jéjuno-coliques (8,9). En 1964, H. Büchwald rapportait l'impact d'une exclusion iléale distale (exclusion des 200 derniers centimètres de l'intestin) sur l'absorption de cholestérol (96). Dans cette étude, qui rapporte initialement ces résultats sur modèle animal (lapin, porc) puis sur une série de 7 patients, l'exclusion de l'iléon distal réduisait l'absorption intestinale de cholestérol marqué administré *per os*, résultant en une diminution de la cholestérolémie (-26% chez l'homme). En 1990, l'étude POSCH (*Program on the Surgical Control of the Hyperlipidemias*) permettait de faire le lien entre l'amélioration du métabolisme lipidique (réduction du LDL-C et augmentation du HDL-C) après cette chirurgie et réduction de la progression de l'athérosclérose (97). Cette étude randomisée multicentrique, incluant des patients hypercholestérolémiques et ayant un antécédant d'infarctus myocardique, comparait 421 patients opérés et 417 patients traités par mesures hygiéno-diététiques seules. Elle mettait en évidence sur 10 ans de suivi que la réduction significative de la cholestérolémie après chirurgie était corrélée à une réduction significative des événements coronariens fatals et non-fatals de 35% [IC95% 9.1 ; 52.8], d'angor instable et de maladies vasculaires périphériques (97).

Par la suite, il a été largement démontré que les chirurgies bariatriques, dont le bypass iléal est l'ancêtre, ont un impact bénéfique sur le métabolisme lipidique. L'étude SOS a été la première large étude à démontrer une amélioration des paramètres lipidiques après chirurgie bariatrique en 1999 en comparant prospectivement 767 patients opérés d'une chirurgie bariatrique (534 SG et 42 RYGB) avec 712 contrôles appariés (98). Dans cette étude, après 2 ans de suivi, la triglycéridémie et la cholestérolémie totale diminuaient significativement par rapport au groupe contrôle et la concentration de HDL-C augmentait significativement. Particulièrement, l'incidence de l'hypertriglycéridémie diminuait de 10 fois par rapport au groupe contrôle, bien le taux de patients hypercholestérolémiques ne variait pas significativement (98). Ces résultats étaient maintenus à 10 ans (99).

Depuis, de nombreuses études observationnelles, et plusieurs méta-analyses (40,100,101), ont supportés ces résultats prometteurs, en rapportant notamment un taux de rémission d'une dyslipidémie préexistante dans 60 à 70% des cas. De façon notable, dans les études randomisées entre chirurgie et prise en charge non chirurgicale (mesures hygiéno-diététiques et traitement médical optimal), toutes réalisées chez des patients diabétiques, cette amélioration apparaissait prédominer sur la triglycéridémie et le HDL-C, alors que les effets sur la cholestérolémie totale et le LDL-C semblaient plus modestes (63–67,102,103). Pour note, l'étude de Mingrone et al. montrait néanmoins une normalisation de la cholestérolémie totale chez 100% des patients opérés d'un RYGB et d'une BPD versus 27.3% avec traitement médical adapté ($p < 0.001$ pour chaque comparaison) (68). Les résultats de ces études sont résumés dans la **Table 2**.

Auteur	Année	Groupes	Suivi (années)	Evolution entre pré- et post-opératoire			
				Cholestérol total (mg/dL)	LDL-C (mg/dL)	HDL-C (mg/dL)	Triglycéridémie (mg/dL)
Schauer (67)	2012	RYGB n = 50	1	- *	- *	+28.5 ± 22.7% p=0.001	-44 [rang -64 ; -16] % p=0.002
		SG n = 50				+28.4 ± 21.9% p=0.001	-42 [-56 ; 0] % p=0.08
		MHD/TM n = 50				+11.3 ± 25.7	-14 [-40 ; 3] %
Mingrone (68)	2012	RYGB n = 19	2	-6.83 ± 27.03 %	-17.21 ± 36.2 %	+29.66 ± 18.21 %	-21.17 ± 41.23 %
		BPD n = 19		-49.25 ± 11.52 %	-64.63 ± 15.93 %	+12.98 ± 20.66 %	-56.79 ± 16.70 %
		MHD/TM n = 18		-16.82 ± 11.60 % p<0.001	-20.31 ± 15.24 % p<0.001	+6.03 ± 6.25 % p<0.001	-18.28 ± 7.84 % p<0.001
Ikramuddin (102)	2013	RYGB n = 60	1	-29	-20	+9	-67
		MHD/TM n = 60		-27 NS	-16 NS	0 p<0.001	-151 p<0.001
Liang (103)	2013	RYGB n = 31	1	-80.4	-72.3	+12.3	-158.4
		MHD/TM n = 36		-16.2	-11.6	-27.1	+8.8
Halperin (65)	2014	RYGB n = 22	1	-3.2 [rang -17.7 ; 11.3]	-5.4 [rang -17.8 ; 6.9]	+10.2 [rang 6.7 ; 13.6]	-47 [rang -63 ; -30]
		MHD/TM n = 21		+8.3 [-7.0 ; 23.5] NS	+8.6 [-4.5 – 21.6] NS	+0.4 [-3.3 ; 4.0] p<0.001	-5 [-23 ; -12] p=0.02
Ikramuddin (66)	2016	RYGB n = 60	2	-27.1	-19.3	+7.7	-79.6
		MHD/TM n = 59		-15.5 p=0.042	-15.4 NS	0 p=0.002	-17.7 p<0.0001
Cummings (64)	2016	RYGB n = 23	1	- *	- *	+15.46	-53.4
		MHD/TM n = 20				+3.87 p=0.08	-70.8 NS
Courcoulas (63)	2020	RYGB n = 20	5	-11.3 ± 7.91	-9.43 ± 8.28	+17.70 ± 2.76	-78.0 ± 13.74
		AG n = 21		-7.05 ± 7.06	-7.62 ± 9.51	+11.16 ± 2.57	-44.2 ± 13.14
		MHD/TM n = 20		-16.7 ± 8.24 p=0.009	-19.3 ± 8.25 P=0.040	+ 6.54 ± 2.94 P=0.0007	-9.33 ± 14.75 P=0.0017

Table 2. Etudes randomisées chirurgie versus mesures hygiéno-diététiques chez les patients diabétiques rapportant les résultats sur les concentrations de lipides circulants. RYGB : Bypass gastrique de Roux-en-Y, SG : Sleeve gastrectomie, AG : Anneau gastrique, MHD/TM : Mesures hygiéno-diététiques et traitement médical optimal, BPD : Dérivation bilio-pancréatique. * Absence de variation significative après chirurgie (valeurs non détaillées).

Cependant, il est important de noter que le nombre de patients inclus dans ces essais randomisés était limité, et que pour aucun d'entre eux la concentration en lipides circulants ne constituait l'objectif principal, ce qui limite ces résultats. Dans une méta-analyse récente incluant les résultats de 178 études randomisées ou non (25 189 patients), le RYGB montrait une réduction significative de la cholestérolémie (-29.2 mg/dL [IC95% -32.9 ; -25.5], 66 études, n=7394 patients) à 1 an de la chirurgie par rapport à des sujets non opérés (-9.6 mg/dL [IC95% -16.5 ; -2.7], 13 études n = 558 patients) (104). Cette amélioration s'accompagnait également d'une réduction significative du LDL-C, de la triglycéridémie, et d'une augmentation du HDL-C par rapport aux patients non opérés après RYGB. La BPD montrait également des résultats significatifs. A l'inverse, les effets étaient plus modérés après chirurgie purement restrictive (SG et AG). Une autre méta-analyse, publiée en 2020, n'incluait que des essais randomisés (73 au total) pour évaluer les effets de mesures hygiéno-diététiques, pharmacologiques et chirurgicales sur la perte de poids et le bilan lipidique (105). Les résultats observés après différentes chirurgies sont résumés en **Figure 9**. De façon intéressante, cette méta-analyse confirme les observations précédentes concernant un effet bénéfique de ces interventions sur la triglycéridémie et le HDL-C, et montre également, en accord avec l'étude précédente, que seules les chirurgies mettant en jeu un mécanisme malabsorptif (RYGB et BPD) étaient associées à une baisse significative de la cholestérolémie totale et le LDL-C en comparaison des procédures purement restrictives (SG et AG).

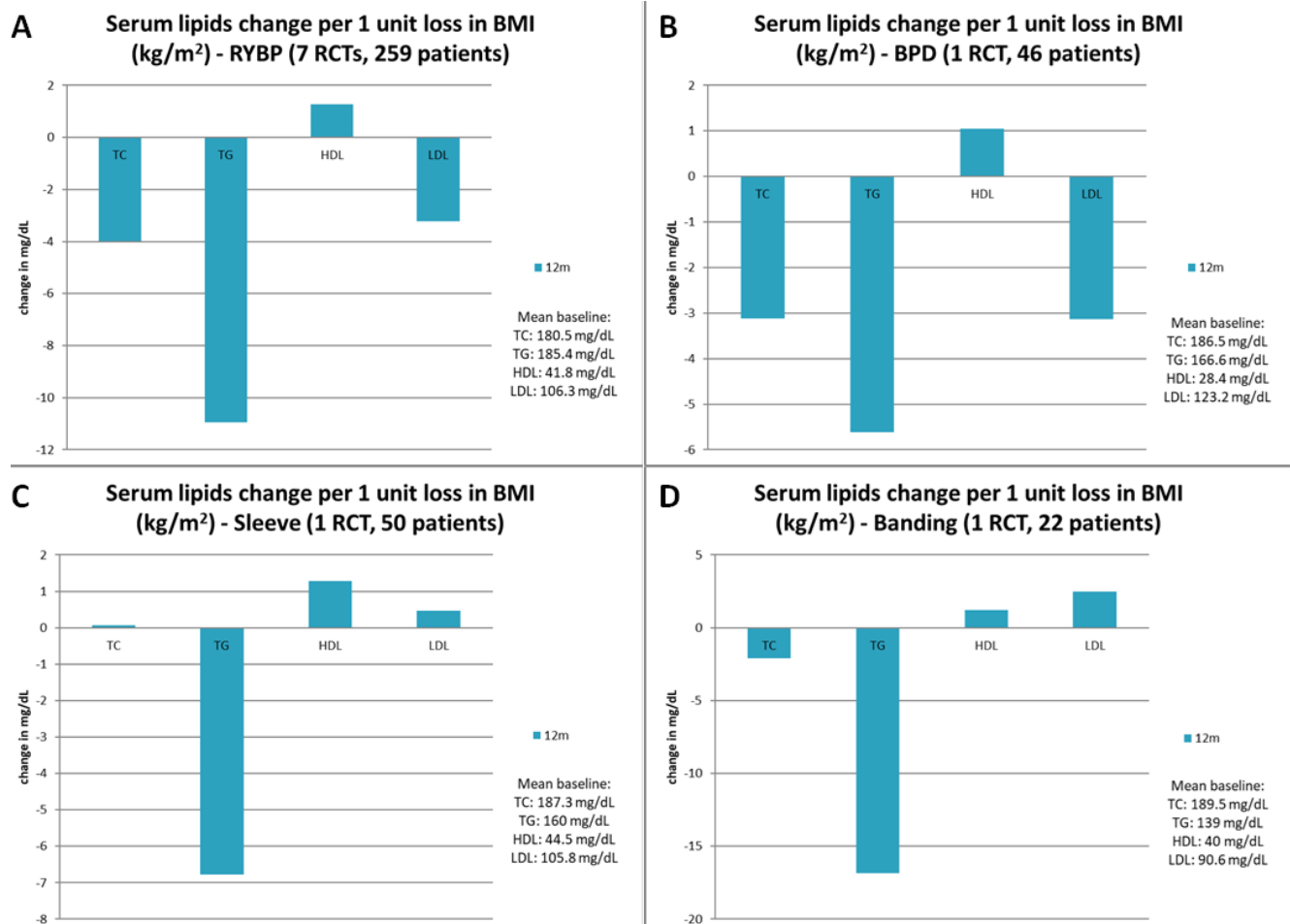


Figure 9. Evolution des concentrations de lipides circulants après RYGB (A), BPD (B), SG (C) et AG (D) pour un changement d'une unité d'IMC. TC : Cholestérol total, TG : Triglycérides. D'après Hasan et al. *J Endocrinol Metab*, 2020 (105).

Par ailleurs, plusieurs études se sont également attachées à l'étude de la concentration plasmatique de lipoprotéine(a) (Lp(a)). La Lp(a) est composée d'une particule de LDL associée à une apolipoprotéine(a), qui est associée au développement de la plaque d'athérome (106). Des études réalisées sur un faible nombre de patients suggèrent une diminution de la concentration plasmatique de Lp(a) 1 à 12 mois après gastroplastie verticale, SG ou RYGB (107–109). Ces résultats étaient également retrouvés dans une méta-analyse incluant 13

études (1551 patients) (*standardized morbidity ratio* -0.438 [IC95% -0.702, -0.174]), néanmoins avec une hétérogénéité importante entre les études (110).

Il apparaît donc que les chirurgies bariatriques exercent un effet bénéfique sur la dyslipidémie, dont le mécanisme dépend du type de procédure réalisée. L'identification des mécanismes mis en jeu lors de ces chirurgies malabsorptive, auxquelles l'amélioration de la cholestérolémie et du LDL-C semble être spécifique, pourrait permettre d'adapter au mieux le type de chirurgie au profil métabolique du patient, et pourrait également conduire à la mise au point de nouveaux traitements pour la prise en charge des dyslipidémies. Les mécanismes suspectés feront l'objet d'un chapitre spécifique. **L'objectif principal de ce projet de thèse est d'apporter une meilleure compréhension de ces mécanismes.**

3.3 Chirurgie bariatrique et développement de la plaque d'athérome / mortalité cardiovasculaire

La chirurgie bariatrique exerce donc un effet bénéfique sur deux facteurs de risques cardiovasculaires majeurs que sont la dyslipidémie et le diabète. On sait également que l'hypertension artérielle, qui est un autre facteur de risque cardiovasculaire modifiable, s'améliore après chirurgie chez environ 60% des patients (40). Au-delà des seuls facteurs de risques, il semble important de savoir si ces observations ont des conséquences sur le développement de la plaque d'athérome, et *in fine* sur la mortalité cardiovasculaire.

Depuis la démonstration dans les années 90 que l'amélioration du profil lipidique après exclusion iléale distale s'accompagnait d'une réduction du nombre d'évènements coronariens et de maladies vasculaires périphériques dans l'étude POSCH (97), plusieurs études se sont attachées à explorer l'impact de la chirurgie bariatrique sur la plaque d'athérome. Réalisées chez l'homme, elles utilisent des marqueurs indirects infraclinique d'athérosclérose et de dysfonction endothéliale pour évaluer la plaque (111). Ainsi, les mesures de l'épaisseur intima-media en échographie (112,113), de la rigidité artérielle (114) et de la vasodilatation médiée par le flux/l'azote (115,116) avant et après chirurgie suggèrent un impact bénéfique de la chirurgie, en particulier du RYGB, sur le développement de la plaque d'athérome. De façon intéressante, ces effets sont observables précocement, dès la première année après la chirurgie. Néanmoins, aucune mesure directe de la plaque d'athérome n'a à ce jour été réalisée après chirurgie bariatrique.

La chirurgie bariatrique s'accompagne également d'une réduction du nombre d'évènements cardiovasculaires. Dans une étude rétrospective incluant 5301 patients diabétiques ayant eu une chirurgie bariatrique comparés avec une population contrôle (appariée 3 :1 sur âge, sexe, IMC initial, HbA1c et insulinothérapie), Fisher et al. montraient que l'incidence des évènements cardiovasculaires (première apparition d'une maladie coronarienne ou évènement cérébrovasculaire) à 7 ans était significativement plus faible après chirurgie (3.2% vs. 6.2%, $p < 0.001$) (117). De la même manière, dans une méta-analyse incluant 4 études (17 262 patients opérés et 27 726 contrôles non opérés), la chirurgie s'accompagnait d'une réduction du risque d'infarctus du myocarde (odds ratio 0.58 [IC95% 0.45 – 0.74]) et d'accidents vasculaires cérébraux (odds ratio 0.49 [IC95% 0.35 – 0.75]) (118).

Enfin, la chirurgie bariatrique améliore la survie de façon significative, notamment par la diminution de la mortalité cardiovasculaire. L'étude SOS, qui est une étude prospective observationnelle comparant 2007 patients opérés avec 2040 contrôles avec une durée médiane de suivi supérieure à 20 ans, montrait une réduction de la mortalité toute cause (hazard ratio 0.77 [IC95% 0.68 – 0.87]) et une espérance de vie plus longue de 2.4 ans [IC95% 1.2 – 3.5] après chirurgie (**Figure 10A**) (119). L'espérance de vie après chirurgie n'atteignait cependant pas celle de la population générale, puisqu'elle restait plus courte de 5.5 ans [IC95% 3.4 – 7.6] que celle d'une population Suisse de référence. La mortalité spécifiquement cardiovasculaire était également significativement réduite après chirurgie dans cette étude (hazard ratio 0.70 [IC95% 0.57 – 0.85]) (119). Une large méta-analyse récente incluant 17 études comparatives (174 772 patients) confirmait ces résultats en montrant une mortalité globale à long terme réduite après chirurgie (**Figure 10B**) avec une espérance de vie 6.1 [IC95% 5.2 – 6.9] ans plus longue chez les patients opérés (120). Dans cette étude, les patients qui avaient un diabète initialement étaient ceux qui tiraient le plus de bénéfice de la chirurgie en termes de survie (hazard ratio 0.41 [IC95% 0.37 – 0.45]).

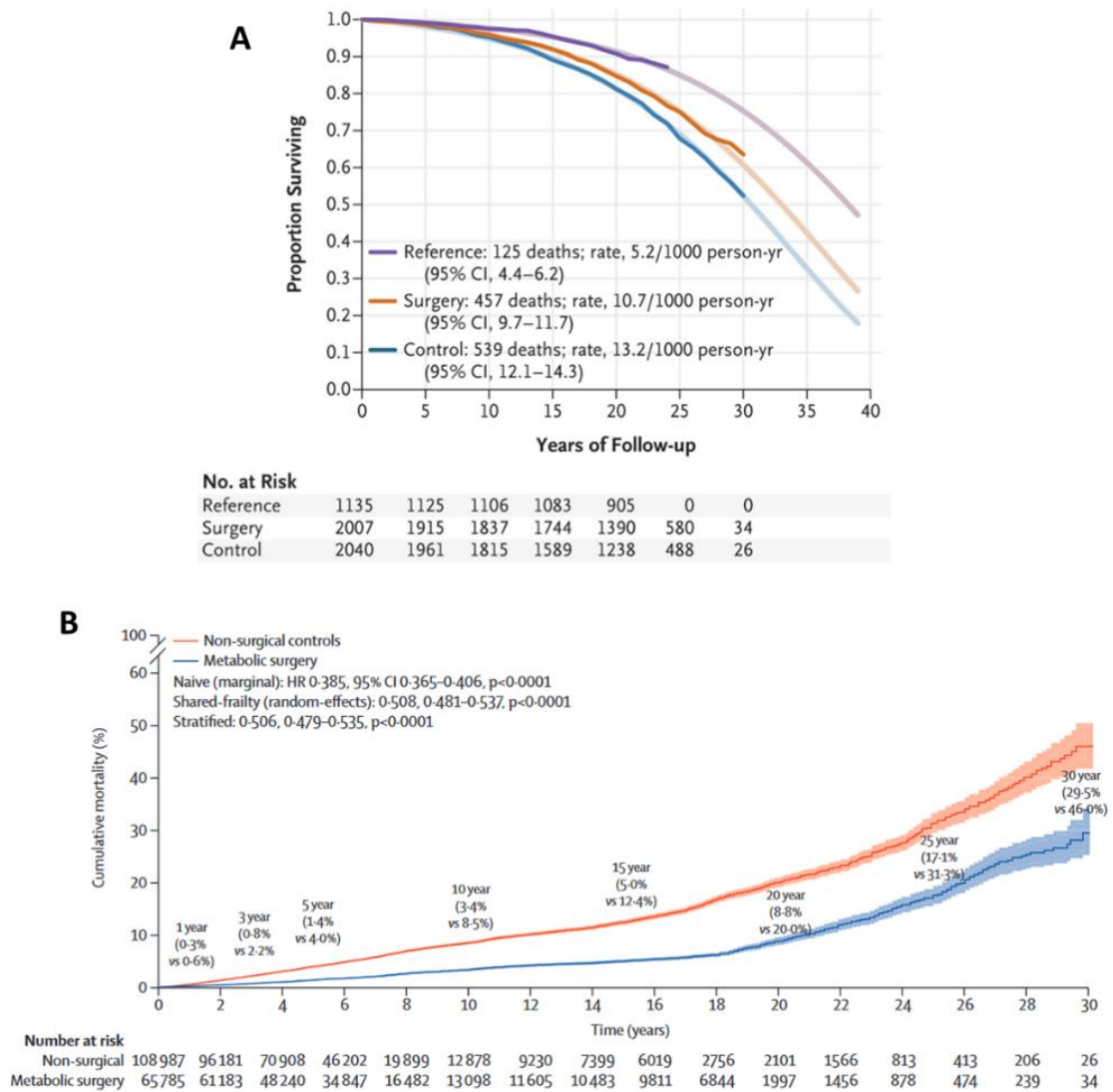


Figure 10. (A) Estimation de Kaplan-Meier de la survie après chirurgie bariatrique (orange) comparée à une population contrôle atteinte d’obésité (bleu) et à la population de référence Suisse (violet) dans l’étude SOS (119), et estimation de la survie à 40 ans. (B) Mortalité après chirurgie bariatrique (bleu) versus sujets non traités (rouge) dans la méta-analyse de Syn et al. (120)

3.4 Chirurgie bariatrique et stéatose hépatique non alcoolique (NAFLD)

La stéatose hépatique non alcoolique (NAFLD pour « *non-alcoholic fatty liver disease* ») est une pathologie hépatique caractérisée par une accumulation lipidique intra hépatocytaire. Elle est définie histologiquement par la présence d’une stéatose occupant plus de 5% des

hépatocytes, associée à des facteurs de risques métaboliques (principalement obésité et diabète de type 2) en l'absence d'une consommation excessive d'alcool (≥ 30 g par jour chez l'homme et ≥ 20 g par jour chez la femme) ou d'autres pathologies hépatiques (121). La NAFLD est un terme générique qui regroupe un ensemble d'entités clinico-pathologiques qui suivent une évolution séquentielle. Elles peuvent être classées en deux principaux sous-groupes de sévérité distincte : la stéatose simple (NAFL pour « *non-alcoholic fatty liver* »), qui n'est pas associée à une souffrance hépatocytaire ni à de la fibrose, et la stéato-hépatite non-alcoolique (NASH pour « *non-alcoholic steato-hepatitis* »), qui s'accompagne d'une souffrance hépatocytaire et/ou, classiquement, de fibrose (**Figure 11**) (121). La NASH elle-même regroupe plusieurs états de sévérité incluant la fibrose, la cirrhose et le carcinome hépatocellulaire.

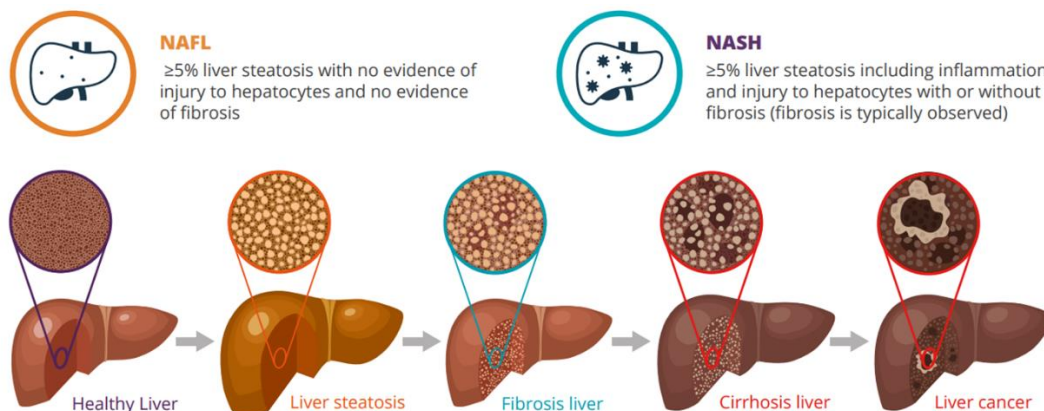


Figure 11. Spectre de la stéatose hépatique non alcoolique, d'après Cariou et al. *Diabetes Obes Metab.* 2021 (122).

La NAFLD est aujourd'hui la cause la plus fréquente de pathologies hépatiques chroniques dans le monde. Il s'agit d'une pathologie multifactorielle, au sein desquels l'insulinorésistance et l'obésité occupent une place importante. Quarante-vingt à 90% des patients en situation d'obésité présentent une NAFLD (25-30% dans la population générale)

(123). Celle-ci a également été décrite comme plus sévère chez les patients obèses (124). L'obésité joue à la fois un rôle dans la promotion de la stéatose, mais également de sa progression vers la NASH. Brièvement, la lipotoxicité et la glucotoxicité, notamment favorisées par un régime riche en lipides et en glucides, jouent un rôle central dans le développement de la stéatose et de la NASH, impliquant des altérations mitochondriales, un stress du réticulum endoplasmique et un stress oxydant (125). Lorsque les capacités de stockage du tissu adipeux sont dépassées, comme cela peut être le cas dans l'obésité, les hépatocytes ont la capacité de stocker les lipides, principalement sous forme de triglycérides. Ainsi, les acides gras libres circulants issus de l'alimentation et relargués par le tissu adipeux insulino-résistant sont stockés sous la forme de dépôts ectopiques dans les tissus périphériques, dont le foie, activant des signaux inflammatoires qui induisent une lipotoxicité. L'induction de cette stéatose hépatique favorise ainsi l'inflammation, qui s'accompagne d'une infiltration hépatique de cellules inflammatoires principalement macrophagiques, responsables du processus de fibrose (126). En situation d'obésité, les processus normaux de régénération tissulaire hépatique sont défaillants, favorisant ainsi l'aggravation de la fibrose (123). La balance entre les adipokines, hormones sécrétées par les adipocytes dont la leptine et l'adiponectine, et les cytokines sécrétées par les cellules inflammatoires qui infiltrent le tissu adipeux sont également impliquées dans la genèse de la NAFLD liée à l'obésité. Cette balance est responsable d'un secrétome plus stéatogène, inflammatoire et fibrogénique (123).

Ainsi, étant donné sa fréquence et sa sévérité, la HAS recommande le dépistage de la stéatose chez toute personne en situation d'obésité. L'imagerie, notamment l'échographie, et certains scores (cliniques et biomarqueurs) sont des outils de dépistage efficace, cependant,

par définition, l'analyse histologique d'une biopsie hépatique reste la méthode diagnostic de référence de la NAFLD (122). L'activité de la NAFLD est habituellement définie par le score NAS (pour « *NAFLD activity score* »), qui prend compte l'étendu de la stéatose, de l'inflammation lobulaire et le ballooning des cellules ; et la fibrose par un score semi quantitatif de F0 (absence de fibrose) à F4 (cirrhose) (127).

La perte de poids s'accompagne d'une amélioration de la NAFLD. Ainsi, la stéatose s'améliore dès la perte de 3% du poids du corps, l'inflammation dès 5% et la fibrose dès 10% (128). Plusieurs études se sont donc intéressées à l'impact de la chirurgie bariatrique sur la NAFLD, et ont démontré que la chirurgie bariatrique était associée à une résolution de la stéatose et de la NASH chez la majorité des patients. Dans une large étude rétrospective de 2942 patients opérés ayant une NAFLD (appariés à 5884 patients ayant une NAFLD non opérée), le risque de développer une cirrhose était réduit après chirurgie (hasard ratio 0.31 [IC95% 0.19 – 0.52]) (129). En particulier, une cohorte Lilloise de 381 patients opérés (ayant une biopsie hépatique en per-opératoire, puis à 1 et 5 ans de la chirurgie) montrait une diminution du nombre de patients avec stéatose (de 37.4% à 16%) et avec NASH (de 27.4% à 14.2%) à 5 ans de la chirurgie (130). Dans cette étude, une légère mais significative augmentation de la fibrose (95.7% des patients gardent un score < F1) avait été observée. Plus tard, sur la même cohorte, une autre étude avait pour critère de jugement principal la résolution de la NASH sans aggravation de la fibrose à 5 ans de la chirurgie (64 patients avec biopsie per-opératoire, 1 et à 5 ans). Dans cette étude, le critère de jugement principal était atteint chez 84.4% des patients [IC95% 73.1 – 92.2%], 90.6% [IC95% 80.72 – 96.5] amélioraient leur score NAS, et 70% [IC95% 56.6 – 81.6] amélioraient leur fibrose (131). La comparaison de

l'AG et du RYGB dans une autre étude portant sur la même cohorte montrait que ce dernier réduisait le nombre de patients avec une NAFLD sévère et améliorait le score NAS de manière significativement plus importante (132). Un profil d'insulinorésistance réfractaire à la chirurgie est associé à la persistance de la stéatose à 5 ans (130), et un IMC réduit de moins de 5% était associé à une absence de résolution de la NASH (131). Au-delà des effets des chirurgies bariatriques sur le poids et l'insulinorésistance, les mécanismes suspectés de l'amélioration de la NAFLD après chirurgie bariatrique incluent également une amélioration de l'inflammation du tissu adipeux et une modification des acides biliaires (133).

4 – Indications de la chirurgie bariatrique en France

Nous venons de décrire l'impact des chirurgies bariatriques sur le poids corporel ainsi que sur les comorbidités, en particulier métabolique. Il apparaît donc que la chirurgie s'accompagne d'un réel bénéfice, qui doit cependant toujours être mis en balance avec les risques encourus par un geste chirurgical réalisé chez une population de patients à risque du fait des comorbidités associées. Dans cette optique, une bonne sélection des patients, une information claire et une préparation optimale sont nécessaires.

En France, au moment de l'écriture de ce manuscrit, les recommandations pour la prise en charge chirurgicale de l'obésité ont été publiées par la Haute Autorité de Santé (HAS) pour la dernière fois en 2009, et devraient très prochainement être remises à jour. Ces recommandations se basent sur un niveau de preuve intermédiaire/faible (avant 2009).

Il convient de rappeler à nouveau que la chirurgie bariatrique ne se conçoit que dans le cadre d'une prise en charge globale de l'obésité, au sein d'un projet personnalisé pour le patient, et être réalisée au sein d'une équipe pluridisciplinaire. La chirurgie est proposée en seconde intention après échec d'un traitement médical bien conduit pendant 6 à 12 mois (absence de perte de poids ou échec de maintien de la perte de poids), qui repose sur les conseils diététiques (avec prise en charge d'éventuels troubles du comportement alimentaire), l'activité physique et le traitement des comorbidités associées. Elle doit faire l'objet d'une décision collégiale après discussion en réunion de concertation pluridisciplinaire, toujours chez un patient informé des modalités et des conséquences de la chirurgie et conscient de la nécessité d'un suivi médical et chirurgical à long terme. Elle est envisagée chez un patient ayant un risque opératoire acceptable, et ayant un IMC ≥ 40 kg/m², ou bien avec un IMC ≥ 35 kg/m² associé à au moins une comorbidité susceptible d'être améliorée après la chirurgie (hypertension artérielle, syndrome d'apnées hypopnées obstructives du sommeil et autres troubles respiratoires sévères, désordres métaboliques sévères en particulier diabète de type 2, maladies ostéo-articulaires invalidantes, NAFLD).

Pour note, les recommandations récentes des sociétés savantes telles que la Société Américaine pour la Chirurgie Métabolique et Bariatrique (ASMBS) et la Fédération Internationale pour la Chirurgie de l'Obésité et des Troubles Métaboliques (IFSO) publiées en novembre 2022 proposent un élargissement des critères opératoires, avec pour limite un IMC ≥ 35 kg/m² (en présence ou non de comorbidités), un IMC > 30 kg/m² en présence d'un diabète de type 2, et éventuellement un IMC compris entre 30 et 34.9 en cas d'échec d'une prise en charge médicale bien conduite (37). Il apparait donc que l'aspect métabolique de la chirurgie

bariatrique puisse être amené à occuper une place de plus en plus importante dans les années à venir. Egalement, la place de la chirurgie par rapport aux traitements médicaux de l'obésité ciblant les hormones incrélines, pour lesquels les résultats sont particulièrement prometteurs (3–5), sera à déterminer.

5 – Apports des modèles animaux en chirurgie bariatrique

La recherche d'une perte de poids maintenue et d'une amélioration satisfaisante des comorbidités de l'obésité conduisent à une évolution constante du panel d'interventions proposé en chirurgie bariatrique. Cette recherche constante d'innovation rend la chirurgie bariatrique/métabolique indissociable de la notion de chirurgie expérimentale, au sein de laquelle les modèles animaux occupent une place centrale. Dès 1954, à la naissance de la chirurgie bariatrique, Kremen et al. avaient observé que chez le chien, l'exclusion de 50 à 70% de la longueur du grêle conduisait à une perte de poids sans altération du statut nutritionnel (134). La discussion qui suit cet article présentée la même année devant l'American Surgical Association à Cleveland rapporte qu'il avait été souligné à l'époque par l'auditoire que cette étude sur modèle animal apportait les fondations expérimentales nécessaires au concept de chirurgie bariatrique (134), quelques années avant les premières publications chez l'homme. Depuis, l'utilisation de modèles animaux pour la mise au point de nouvelles techniques ou bien pour mieux comprendre les conséquences physiologiques et métaboliques des techniques existantes a largement contribué au succès de ces interventions.

Historiquement, les premiers modèles ont essentiellement été mis au point chez les grands animaux, en particulier pour des raisons techniques et de transposition direct à l'homme. Le chien est le premier modèle à avoir été utilisé en chirurgie bariatrique dans le

cadre du bypass jéjuno-iléal (134), puis par Scopinaro pour la mise au point de la BPD (17). Avant le développement de son application clinique chez l'homme par Kuzmak, Wilkinson et Peloso avaient également décrit pour la première fois la pose d'AG chez le chien (135). Aujourd'hui, le modèle porcin a cependant surpassé le chien dans son utilisation en chirurgie bariatrique. Le miniporc, en particulier, du fait de son anatomie et de sa physiologie digestive proches de l'homme, est considéré comme un modèle de choix pour l'étude des maladies métaboliques (136) tout en maintenant un poids de 35-40 kg permettant sa manipulation. Le miniporc est aujourd'hui couramment utilisé pour l'étude des chirurgies bariatriques (75,131), et permet également la réalisation de chirurgies sous laparoscopie (137).

Bien qu'ils constituent des modèles facilement transposables à l'homme, l'utilisation de grands animaux est associée à un coût élevé, et souffre également d'une acceptabilité variable de la part du grand public. Ces contraintes ont conduit au développement de modèles de chirurgies bariatriques chez le rongeur qui sont aujourd'hui les plus utilisés en particulier depuis le début des années 2000 (138). Le rat et la souris ont l'avantage de permettre la réalisation d'expériences chez un nombre significatif d'animaux à moindre coût et permettent l'étude des effets de la chirurgie bariatrique à une échelle cellulaire, moléculaire et génétique. Un apport majeur de ces modèles est également la possibilité de comparer les effets de la chirurgie avec ceux d'une restriction calorique équivalente (un groupe dit « pair-fed » dont on contrôle les apports alimentaires qui sont équivalents à ceux du groupe opéré), la comparaison étant limitée en pratique clinique puisque l'évaluation des apports est déclarative (139). Cependant l'utilisation de ces modèles est limitée sur le plan technique par la nécessité de mise en place de techniques microchirurgicales, en particulier chez la souris.

Leur régime non omnivore, une dépense énergétique supérieure à l'homme chez la souris, ou encore un métabolisme des acides biliaires propre font partie des différences entre le rongeur et l'humain qui sont des limites de ces modèles.

Malgré ces limitations, de nombreuses transpositions des interventions bariatriques ont été proposées chez le rat (78,140–143) qui induisent une perte de poids mimant celle observée chez l'humain, et ont été d'un apport significatif pour l'étude de l'impact métabolique des chirurgies bariatriques (138). Bien que techniquement plus difficiles à réaliser, des interventions de chirurgies bariatriques ont également été adaptées chez la souris. En effet, ce modèle murin présente notamment l'intérêt d'une malléabilité génétique particulière qui en fait un modèle expérimental de choix. La sur- ou la sous-expression d'acteurs moléculaires dont on suspecte qu'ils peuvent jouer un rôle dans les effets induits par la chirurgie permet de vérifier cette hypothèse. Par exemple, le rôle de la voie du récepteur nucléaire farnésioïde X (FXR) dans les effets observés après SG a pu être mis en évidence grâce à l'utilisation d'un modèle déficient pour FXR (144). La description de nombreux modèles d'obésité, génétiques ou induits par des régimes, permet également de remplir les conditions nécessaires à l'étude de l'impact des chirurgies bariatriques. Parmi eux, on peut citer la souris Ob/Ob qui présente une déficience en leptine résultant d'une mutation naturelle, conduisant à une prise alimentaire exagérée qui induit une obésité précoce et marquée avec une insulino-résistance (145). D'autre part, lorsqu'elles sont nourries *ad libitum* avec un régime riche en graisse (régime « high fat ») les souris de la souche C57Bl6/J présentent une obésité associée à des désordres métaboliques (modèle dit « DIO » pour « *diet-induced obesity* ») (146).

Parmi les techniques transposées chez la souris, la SG est la plus couramment utilisée, et est d'une difficulté technique modérée. Plusieurs méthodes de réduction de la taille de l'estomac ont été décrites, avec utilisation de clips (147) ou d'une suture continue (148–151), avec ou sans calibration de la taille de l'estomac restant. Il s'agit d'une intervention courte qui est associée à une mortalité nulle ou quasi nulle. De façon intéressante, cette intervention chez la souris DIO est associée à une modification des comportements de prise alimentaire généralement sans réduction de la quantité journalière d'ingestas et induit une perte de poids faible et transitoire (148).

La réalisation du RYGB chez la souris pose des difficultés techniques plus importantes que la SG, du fait de la nécessité de la réalisation d'anastomoses digestives manuelles. Néanmoins plusieurs modèles ont également été décrits avec des techniques variables reproduisant les bénéfices observés en clinique en termes de perte de poids et de bénéfices métaboliques (148,149,152,153). En particulier, la confection d'une petite poche gastrique est inconstante, puisqu'elle a été associée à une mortalité élevée (151). C'est pourquoi il a été proposé soit une exclusion complète de l'estomac (avec réalisation d'une anastomose œso-jéjunale) (151), soit une anastomose gastro-jéjunale avec ligature du pylore sans confection de petite poche (148). C'est cette dernière technique qui est utilisée au laboratoire (**Figure 12**). A noter qu'une étude récente comparant des souris DIO opérées d'un RYGB avec ou sans confection d'une petite poche gastrique concluait à l'absence de différence entre les deux chirurgies en termes de perte de poids et de tolérance au glucose, avec néanmoins plus de complications (obstruction anastomotique) en cas de confection d'une petite poche gastrique (154). Ces

différentes interventions sont globalement associées à une mortalité qui se situe généralement autour de 30%.



Figure 12. RYGB modifié chez la souris, d'après Blanchard et al. *Int J Obes*, 2018 (155)

Au-delà de l'apprentissage rigoureux nécessaire au succès de ces chirurgies et à la survie des animaux, il faut noter l'importance du contrôle des conditions péri-opératoires (anesthésie, contrôles thermiques, suppléments pour pallier à la malabsorption) dont dépendent de manière significative les résultats de ces expériences. Enfin, il faut également citer que d'autres chirurgies, notamment l'AG et la BPD, ont également été décrites chez la souris, la dernière étant associée à une mortalité élevée par malnutrition (151).

Ainsi, au sein d'une prise en charge globale et avec la prise en compte de son rapport bénéfique/risque, la chirurgie bariatrique apparaît comme un traitement efficace de l'obésité et de ses complications. Les bénéfices métaboliques observés, qui pour la plupart sont en partie indépendants de la seule perte de poids, en deviennent un aspect central, en témoigne un élargissement des indications opératoires recommandé par plusieurs sociétés savantes.

Puisque ces résultats bénéfiques sur le poids, le diabète, la dyslipidémie ou encore la NAFLD sont variables selon la technique étudiée, les procédures de chirurgies bariatrique sont en constante évolution. La compréhension des mécanismes qui sous-tendent ces améliorations semble alors indispensable pour poursuivre la recherche de la ou des procédures les mieux adaptées à chaque profil métabolique et adapter au mieux les indications opératoires. En l'absence de modèle intégré *ex vivo* ou *in silico* permettant d'appréhender les effets de ces procédures, leur transposition chez l'animal, en gardant à l'esprit les limites de ces modèles, reste un aspect majeur de ces chirurgies.

Le SADI-S proposé comme une nouvelle intervention

Parmi les techniques de chirurgie bariatrique récentes, le Single-Anastomosis Duodeno-Ileal bypass avec Sleeve gastrectomie (SADI-S) est considéré comme une chirurgie prometteuse. Il s'agit d'un modèle de chirurgie construite sur l'évolution d'une technique plus ancienne avec pour but de minimiser les risques et optimiser les bénéfices attendus, et dont les mécanismes sont encore peu compris et qui est encore à l'étude. Dans ce chapitre, nous détaillerons son origine, son anatomie et ses résultats attendus.

1 – Le SADI-S, évolution de la BPD-DS

Comme décrit dans le Chapitre 2.3 *La diversion bilio-pancréatique (avec duodenal switch)*, la BPD-DS est la technique qui conduit à la perte de poids et au taux de rémission des comorbidités les plus importants. Cependant, deux aspects limitent grandement sa réalisation : la difficulté technique de cette intervention et le risque important de malnutrition.

Les mécanismes de la malnutrition dont peut être responsable la BPD-DS sont inhérents à son anatomie, et ont été résumés par Scopinaro (156). Les protéines et l'amidon sont absorbés dans l'anse alimentaire et dans l'anse commune, alors que l'absorption de graisse, qui requiert les acides biliaires, n'opère que dans l'anse commune. La BPD s'accompagne ainsi d'un seuil d'absorption maximale des graisses et de l'amidon (40 g/j et 225 g/j respectivement pour une anse alimentaire de 200 cm et une anse commune de 50 cm selon Scopinaro (156)). Au contraire, l'absorption protéique reste proportionnelle à la prise

alimentaire (70% d'absorption avec les longueurs standards). Le risque de malnutrition peut donc résulter d'un apport protéique insuffisant ou d'une absorption protéique insuffisante par unité de surface intestinale en cas d'anse alimentaire et/ou commune trop courte. La solution est alors d'allonger la taille de l'anse commune aux dépens de l'anse biliaire afin d'augmenter la longueur de grêle impliquée dans l'absorption protéique (156). Dans une étude de 2016 comparant 36 patients ayant eu une BPD-DS avec une anse commune mesurant 200 cm avec 36 patients dont l'anse biliaire mesurait 100 cm suggérait, pour un taux de rémission des comorbidités similaires, une réduction de l'incidence des malnutritions protéiques sévères avec une anse de 200 cm (11 versus 19%), bien que cette différence n'était pas statistiquement significative (157). La nécessité d'une supplémentation en vitamine A et D était en revanche significativement moins fréquente avec l'allongement de l'anse commune.

Le SADI-S (single anastomosis duodeno-ileal bypass with sleeve gastrectomy), a été proposé pour la première fois par Sánchez-Pernaute, Torres et al. en 2007 (33) comme une évolution de la BPD-DS (**Figure 13**). Le principe de cette intervention se base sur les observations décrites précédemment : la nécessité de simplifier la BPD-DS par un montage chirurgical moins complexe, et d'allonger l'anse commune afin de réduire la malnutrition tout en conservant une perte de poids importante et un taux élevé de rémission des comorbidités. L'objectif initial de cette procédure était ainsi de réduire le temps opératoire et simplifier la chirurgie pour diminuer l'incidence des complications post-opératoires. En comparaison de la BPD-DS, le SADI-S a été suggéré comme induisant une perte de poids et un taux de résolution des comorbidités comparable en réduisant les complications post-opératoire et sans augmenter le risque de malnutrition (158,159). Dans certains cas, le SADI-S peut être proposé

comme une seconde intervention chez les patients en échec de perte pondérale après SG. Cependant, dans ce manuscrit, nous nous contenterons de discuter le SADI-S en tant qu'intervention initiale.

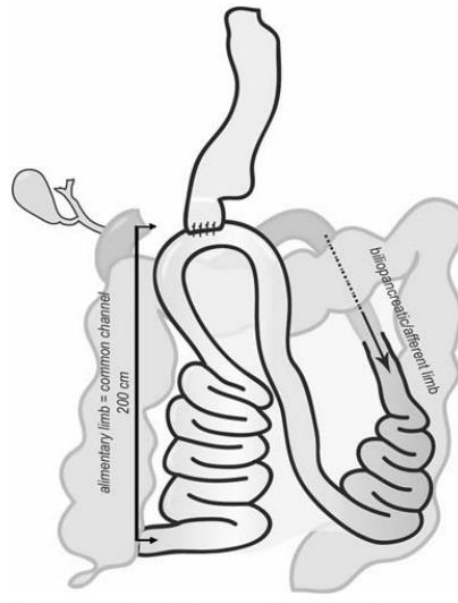


Figure 13. Description du SADI-S telle que proposée initialement par Sánchez-Pernaute, tiré de Sánchez-Pernaute et al. *Obes Surg*, 2007 (33)

2 – Technique opératoire du SADI-S

Le SADI-S se caractérise par la réalisation d'un switch duodéal sous la forme d'une anastomose duodéno-iléale permettant la fabrication d'une longue anse biliaire et d'une anse commune courte. L'anse commune, dans la description initiale de la technique, mesurait 200 cm (33,160). Elle a par la suite été allongée à 250 cm par les mêmes auteurs pour limiter la malabsorption (161), puis à 300 cm (162). Une sleeve gastrectomie (calibrée à 54 French (33) ou 42 French (162) ou 46 French (159) selon les auteurs) est également réalisée afin d'assurer

une composante restrictive. Le montage final est présenté en **Figure 14**. Dans une étude observationnelle américaine incluant 437 patients ayant un SADI-S sous laparoscopie, le temps opératoire moyen était de 67.9 ± 16.8 min (163). Au total, la durée d'hospitalisation moyenne après SADI-S était de 2.8 ± 2.7 jours (1.6 à 5.0 jours) dans une revue systématique récente (164).

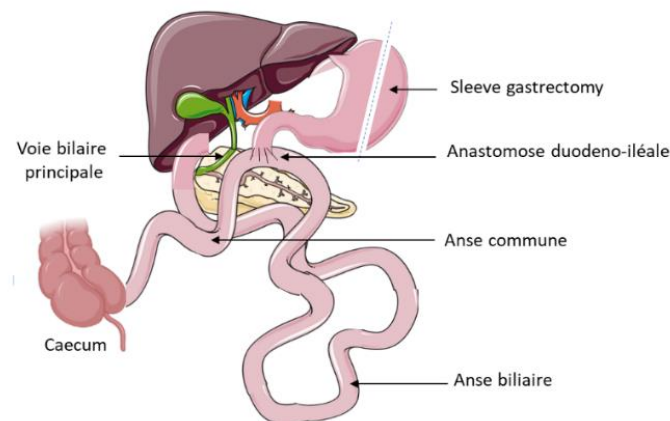


Figure 14. Montage final du SADI-S. Adapté de Frey et al. J Vis Exp, 2023 (165)

3 – Résultats du SADI-S

2.1 Effets du SADI-S sur la perte de poids

Le SADI-S s'accompagne d'une perte de poids maintenue sur le long terme. La **Table 3** présente les grandes séries de SADI-S réalisé en tant que première intervention publiées à ce jour (une publication par centre) ainsi que leurs résultats en termes de perte de poids. Pour note, ces études étaient exclusivement observationnelles, avec un suivi qui varie entre un et dix ans. La majorité des études présentait les résultats en perte de poids total, qui se situait entre 34 et 57.1% à moyen terme (1 à 6 ans) (166,167). Le suivi le plus long, à 10 ans, a été

rapporté par Sánchez-Pernaute et al. dans leur dernière étude (168), et montrait une perte de poids totale de 34.4%. De manière intéressante, deux études Taiwanaïses rapportaient une perte de poids total plus faible (22.5 et 17.6%, respectivement (169,170)), cependant l'IMC de départ, autour de 30 kg/m², était moins élevé que dans les autres études. La perte d'excès de poids, y compris pour ces deux études, se situait entre 58.6 et 85%. Les échecs, rapportés par seulement deux études, se situaient entre 11 et 13% (168,171).

Auteur	Pays	Année	Design	Nombre de patients opérés	Suivi (années)	IMC pré-op (kg/m ²)	IMC post-op (kg/m ²)	Perte de poids total (%)	Perte d'excès de poids (%)	Echecs (%)
Nelson (172)	USA/Brésil	2016	Rétrospective	69	1	-	-	-	61.6 ± 12.0	-
Mitzman (173)	USA	2016	Prospective multicentrique	123	1	Variation : -19.2 ± 0.5		38.8 ± 0.7	72.3 ± 1.7	-
Moon (167)	USA	2017	Rétrospective	140	2	-	-	44.7	74.3	-
Ser (169)	Taiwan	2018	Rétrospective	148	5	34.2 ± 5.9	27.1 ± 4.9	22.5	58.6	-
Hanipah (170)	Taiwan	2019	Prospective observationnelle	163 (diabétiques)	2	30.2 ± 5.1	22.9 ± 5.6	17.6 ± 7.8	78.5	-
Finno (174)	Espagne	2020	Prospective observationnelle	181	2	50.8 ± 6.4	31.6 ± 4.7	37.5 ± 9.6	74.7 ± 17.1	-
Surve (171)	USA	2020	Rétrospective	750	6	50 ± 12.6	30.5 ± 6.7	36.2 ± 10.8	80.7 ± 27.9	13
Yashkov (166)	Russie	2021	Rétrospective	226 (révision 5.9%)	5	-	-	34	65	-
Pereira (175)	Portugal	2021	Prospective observationnelle	83	2	50	32	40	-	-
Ozmen (176)	Turquie	2021	Rétrospective	60	1	49 (41-59)	-	-	81 (53-86)	-
Sánchez-Pernaute (168)	Espagne	2022	Prospective observationnelle	164	10	45.8	28.9	34.4	80.4	11.6
Gebelli (177)	Espagne	2022	Prospective observationnelle multicentrique	44	5	52.4	33.3	36.0	68.6	-
Pennestri (178)	Italie	2022	Rétrospective	121 (24 révisions)	Médiane 31 mois	52.3 (48.8 – 57.1)	29.0 (25.1-35.7)	57.1 (43.3-71.3)	79.8 (55.2-91.5)	-
Lind (179)	USA	2022	Rétrospective	240	2	-	-	36.9	67.1	-

Table 3. Revue des grandes séries de SADI-S en tant que première intervention (une étude par centre) avec impact de la chirurgie sur le poids corporel

2.2 Complications post-opératoires du SADI-S

Un élément du rationnel qui a conduit à la proposition du SADI-S comme une nouvelle intervention était la réduction attendue du taux de complications post-opératoire, d'une part en réduisant le temps d'opération, et d'autre part par une simplification du montage anatomique qui ne nécessite qu'une seule anastomose digestive.

2.2.1 Complications post-opératoires précoces (< 30 jours)

Dans son dernier rapport, l'équipe de Torres et al. à qui revient la description initiale de la technique et montre l'exemple d'une équipe entraînée, rapportait chez 164 patients un taux de complications chirurgicales de 6% (10/164) après SADI-S, incluant une fistule gastrique, deux fistules anastomotiques, une perforation du grêle, trois hémopéritoines, deux éviscération sur un orifice de trocart et un abcès intra-abdominal ayant conduit à une consultation aux urgences après la sortie d'hospitalisation (168). Cinq patients avaient été repris au bloc opératoire (3%), et un avait reçu un traitement endoscopique. Au moins une complication médicale avait été observée chez 1.8% des patients (3/164). Ces résultats sont en accord avec ceux de l'équipe américaine de Cottam et al. qui rapportaient 7.8% de complications post-opératoires précoces sur une série de 750 patients (180), la complication la plus fréquente étant les nausées/vomissements. Dans une méta-analyse récente incluant 16 études (3319 patients), le SADI-S réduisait le taux de complications post-opératoires précoces (odds ratio 0.69, $p = 0.06$) en comparaison des autres chirurgies malabsorptives (181). Au totale, on estime la mortalité précoce après SADI-S autour de 0.1% (164,180).

Une des complications spécifiques du SADI-S est le remplissage de l'anse afférente, ou syndrome de l'anse afférente, qui consiste en une distension de l'anse biliaire (afférente à l'anastomose), comme montré en **Figure 15** après ingestion de produit de contraste, responsable de nausées et douleurs abdominales (182). Cette complication résulte d'un obstacle d'un écoulement de la bile à travers l'anastomose, soit du fait d'une sténose anastomotique, soit d'une mauvaise position d'une des anses par rapport à la suture (qui peut être secondaire à des remaniements fibreux post-opératoires) qui réalise alors un coude gênant la vidange de l'anse biliaire. Sa correction impose une reprise chirurgicale pour lever l'obstacle (182).

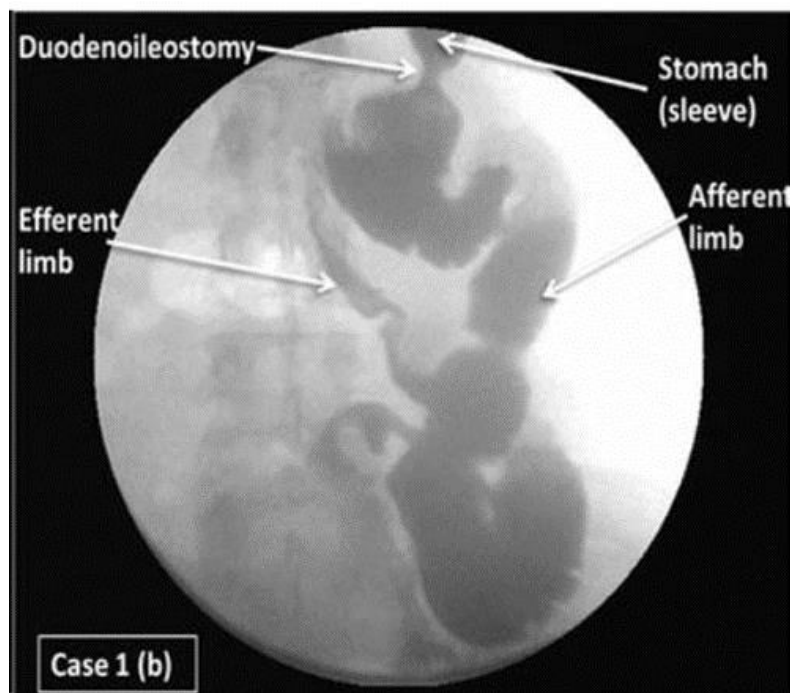


Figure 15. Opacification digestive haute montrant une distension de l'anse biliaire (afferent limb) et une faible opacification de l'anse commune (efferent limb) témoignant d'un syndrome de l'anse afférente. Tirée de Surve et al. *Surg Obes Relat Dis*, 2016 (182).

2.2.2 Complications tardives

La complication à long terme la plus fréquente retrouvée dans la littérature après SADI-S est la diarrhée, rapportée par 1 à 2% des patients (162,164,171). Il ne semble pas surprenant qu'une anse commune courte puisse favoriser l'existence d'une diarrhée, bien que le nombre de mouvements intestinaux soit peu augmenté après SADI-S (2.1 à 2.5 par jours (158,162)), ce qui suggère une diarrhée d'origine malabsorptive (voir plus bas) plutôt que motrice. Aucune mesure directe du transit n'a cependant été réalisée à ce jour chez des patients après SADI-S pour confirmer cette hypothèse. L'existence de cette diarrhée huileuse semble être directement liée à la longueur de l'anse commune, puisque son allongement à 300 cm (au lieu des 200 cm décrits initialement) réduisait considérablement cette complication dans une étude de Cottam et al. (183). Il apparaissait que le seul patient dans cette étude à présenter cette complication avait eu une erreur de mesure de l'anse (160 cm), dont la correction (allongement à 450 cm) avait fait disparaître les symptômes.

Les autres complications chirurgicales à long terme décrites après SADI-S (infections cicatricielles, fistules anastomotiques, lâchage du moignon duodéal, abcès) étaient chacune présentées par moins de 1% des patients dans une méta-analyse récente incluant 14 études (1086 patients) (164). La préservation du pylore et des 4 premiers centimètres du duodénum réduit théoriquement le reflux biliaire, qui est une complication commune du RYGB. En effet, une étude incluant 1328 patients rapportait une fréquence de reflux de 0.1% après SADI-S (184). Un seul cas de hernie interne a été décrit (185), le risque vasculaire étant minime puisque les procédures en oméga ne nécessitent pas d'ouverture du mésentère, et l'espace

est alors large. Au total, un taux ré-opérations à long terme de 5.3%, et une mortalité à long terme de 0.4% ont été décrits (164).

Une des préoccupations majeures après SADI-S, qui limite l'utilisation de la BPD-DS, est naturellement le risque de malnutrition. La connaissance du risque de malnutrition dans la littérature est limitée par le fait que peu rapportent le statut nutritionnel pré-opératoire. Globalement, l'étude de la littérature suggère un taux de dénutrition protéique après SADI-S situé entre 8 et 34% (162,163,183,186,187), avec un taux de dénutrition clinique décrit allant jusqu'à 8% (160). Dans la série de Torres et al., 4.3% des patients étaient réopérés pour dénutrition sévère. Une étude rétrospective récente avec un recul de 4 ans montrait que la protéinémie et l'albuminémie diminuaient de manière importante la première année avec un nadir à 12 mois, suivi d'une remontée avec une stabilisation (187). Par ailleurs, les déficiences les plus fréquemment observées à 5 ans concernaient les vitamines A et D, calcium, le sélénium et le zinc (168,188), bien qu'elles étaient grandement améliorées après un suivi de 10 ans (168). Ces observations soulignent l'importance d'une supplémentation prolongée. Cependant l'interprétation de ces résultats est difficile puisque le risque de malnutrition apparaît proportionnel à la longueur de l'anse commune, et que la plupart des séries incluent à la fois des patients opérés avec une anse commune courte (200 cm comme décrit initialement), et des patients opérés plus récemment ayant une anse commune plus longue. Une étude rétrospective récente avec un recul de cinq ans comparant 17 SADI-S dont l'anse commune mesurait moins de 250 cm avec 12 SADI-S dont l'anse commune mesurait plus de 250 cm montrait une réduction des malabsorptions sévères avec la 2^e technique sans impact sur les bénéfices métaboliques (189). Surve et al. rapportent ainsi un taux nul de dénutrition clinique en réalisant une anse commune mesurant 300 cm (188).

En cas de malabsorption sévères, qui résulte souvent d'une mauvaise mesure de l'anse commune, il est possible d'allonger la longueur de cette dernière. Certains ont également proposé la conversion du SADI-S en techniques moins malabsorptive, (bypass duodéno-jéjunal avec sleeve gastrectomie ou bypass gastrique), qui pourrait résoudre les symptômes liés à la malabsorption au prix d'un risque de reprise pondérale (190).

2.3 Résultats métaboliques du SADI-S

2.3.1 SADI-S et homéostasie glucidique

Les données de la littérature rapportent un taux de rémission du diabète de type 2 après SADI-S se situant entre 38.0 et 93.4% (**Table 4**). A noter, seule l'étude de Hanipa et al. rapportait un taux de rémission inférieur à 50%, bien que la glycémie à jeun et l'hémoglobine glyquée (HbA1c) moyennes étaient significativement diminuées après chirurgie (170). Pour note, il s'agit également de l'étude dans laquelle le SADI-S entraînait la perte de poids la moins importante en relation avec un IMC pré-opératoire plus bas (**Table 3**). Lorsque ces résultats sont rapportés, le SADI-S était accompagné d'une diminution de la glycémie et de l'insulinémie à jeun moyennes, de l'HbA1c moyenne ainsi que de l'index HOMA-IR, suggérant une amélioration de l'insulino-sensibilité, avec un suivi entre 1 et 6 ans.

Auteur	Nombre de patients opérés	Suivi (années)	Proportion à l'inclusion DT2	Rémission DT2	Glycémie à jeun (mg/dL)		Insulinémie à jeun (mU/L)		HbA1c (%)		HOMA-IR	
					Pré-op	Post-op	Pré-op	Post-op	Pré-op	Post-op	Pré-op	Post-op
Surve (171)	750	6	40%	77% (+19.3% améliorés)	118 ± 56	93.8 ± 33.4	38.3 ± 70.6	12.5 ± 32	6.5 ± 4.8	5.2 ± 0.8	-	-
Moon (167)	140	2	27.9%	76.9%	-	-	-	-	6.6 ± 1.5	5.1 ± 0.4 (p<0.0001)	-	-
Nelson (172)	69	1	26.1%	50% (+33.3% améliorés)	-	-	-	-	-	-	-	-
Torres (158)	97	3	91.5%	75.8%	97.6 ± 8.6	82.4 ± 14.1	25.4 ± 4.5	5.3 ± 2.9	7.5 ± 1.7	5.2 ± 0.2	8.6 ± 5.5	1.6 ± 0.7
Gebelli (177)	44	5	-	85.7%	-	-	-	-	-	-	-	-
Pennestri (178)	121 (24 révisions)	2	11.6%	62.5 (+31.1% améliorés)	-	-	-	-	6.4 (6.1-6.4)	4.9 (6.2-7.0)	-	-
Pereira (175)	83	2	18.7%	-	106.4 ± 3.7	82.1 ± 2.0 (n=22)	21.8 ± 1.43	4.69 ± 0.5 (n=14)	5.87 ± 0.13	5.03 ± 0.15 (n=15)	-	-
Finno (174)	181	2	35.4%	85.7%	-	-	-	-	-	-	-	-
Ser (169)	148	1	79.7%	52.5% (+amélioration 26.2%)	168.5 ± 67.1	105.6 ± 23.9 (p<0.001)	-	-	8.8 ± 1.6	6.2 ± 0.9 (p<0.001)	12.8 ± 16.3	3.6 ± 10.1 (p<0.001)
Hanipah (170)	163	2	100%	38% (+16% améliorés)	174.7 ± 61	112.5 ± 60.7 (p<0.001)	-	-	8.8 ± 1.8	6.37 ± 1.97 (p<0.001)	-	-
Yashkov (166)	226	5	35.4%	93.4% (+6.6% améliorés)	-	-	-	-	-	-	-	-
Ozmen (176)	60	1	78%	-	155.3 (134.1-223.1)	81.4 (74.0-101.0)	16.1	6.2	8.6 (4.9-9.6)	5.1 (4.8-5.6)	6.2 ± 5.1	1.4 ± 0.9

Table 4. Impact du SADI-S sur le l'homéostasie glucidique dans les grandes séries publiées (une étude par centre). **DT2** : Diabète de type

Contrairement à la dyslipidémie, les mécanismes qui sous-tendent les effets bénéfiques du SADI-S sur l'homéostasie glucidique ont fait l'objet d'études, et plusieurs mécanismes ont été proposés.

L'anse commune courte du SADI-S pourrait être associée à une réduction de l'absorption intestinale du glucose. Cette hypothèse est supportée par l'observation que chez des patients non diabétiques, la tolérance au glucose était légèrement mais significativement moins améliorée après SADI-S (9 patients) qu'après BPD-DS (9 patients) dont l'anse commune est plus courte, pour une perte de poids, un HOMA-IR (reflétant l'insulino-sensibilité) et un HOMA-B (reflétant la fonction des cellules β du pancréas) comparables (175). De plus, comme proposé par Sánchez-Pernaute et al., le court-circuit du duodénum et du jéjunum, inhérent au montage chirurgical du SADI-S, pourrait réduire d'autant plus l'absorption intestinale du glucose, dont les transporteurs impliqués dans l'absorption sont majoritairement localisés dans le jéjunum (168). Cependant, aucune étude fonctionnelle ne démontre à ce jour l'importance de la réduction de l'absorption intestinale sur les améliorations observées.

Plusieurs arguments plaident également en faveur d'une amélioration de l'insulino-sensibilité après SADI-S. En effet, plusieurs études chez l'homme (158,169) et chez le rat (191) montraient que l'HOMA-IR était significativement diminué après SADI-S. Chez 9 patients ayant eu un SADI-S, Sessa et al. ont montré une amélioration des résultats d'un test de tolérance oral au glucose après chirurgie (moyenne 8.3 ± 3.6 mois) par rapport au test pré-opératoire (192). De manière intéressante cette amélioration de la tolérance au glucose s'accompagnait d'une disparition de l'augmentation de la sécrétion d'insuline pendant ce test, ce qui pourrait suggérer une amélioration de l'insulino-sensibilité après chirurgie, bien qu'une part

significative de la réduction de l'absorption intestinale ne soit pas exclue. Cette amélioration semblait indépendante de la perte de poids puisqu'elle était observée dès 2 mois après chirurgie, donc avant la survenue d'une perte de poids significative. Chez des rats rendus diabétiques par administration de streptozotocine (qui détruit les cellules β du pancréas), le SADI-S améliorait l'HOMA-B, et pourrait donc également améliorer la fonction des cellules β (191).

L'exposition des nutriments dans l'intestin distal de manière très précoce dans le SADI-S pourrait également réguler les hormones incrétines (hypothèse du « hindgut »). Cependant, l'effet du SADI-S sur la sécrétion des incrétines et en particulier du GLP-1 reste controversée et a très peu été étudiée. En effet, chez le rat diabétique (modèle streptozotocine), une augmentation de la concentration plasmatique de GLP-1 à l'état basal (193) ou une absence de variation à l'état basal et lors d'un test de tolérance orale au glucose (191) ont été rapportées par rapport à un groupe Sham. Chez l'homme, seule une comparaison avec la BPD-DS a été réalisée à ce jour, suggérant que le SADI-S (9 patients) était associé à une augmentation de la concentration plasmatique de GLP-1 supérieure à la BPD-DS (9 patients) après un repas mixé standardisé, sans différence entre les groupes à l'état basal (175). Les concentrations de GIP et de PYY n'étaient pas différentes entre les groupes dans cette étude.

2.3.2 SADI-S et dyslipidémie

Le SADI-S s'accompagne d'un effet bénéfique important sur le métabolisme lipidique, et d'un taux élevé de rémission de la dyslipidémie défini par un bilan lipidique normal en l'absence de traitement, en accord avec les recommandations (194). Comme montré en **Table**

5, ce taux de rémission se situe entre 50 et 100% sur un suivi qui s'étale entre 1 et 10 ans dans les grandes séries publiées. Le SADI-S s'accompagne en particulier d'une diminution soutenue de la triglycéridémie, de la cholestérolémie et du LDL-C plasmatique, ainsi que d'une augmentation du HDL-C dont la significativité statistique est inconstante (**Table 5**).

Cependant, les mécanismes mis en jeu qui conduisent à cet effet bénéfique majeur du SADI-S ne sont bien connus. Leur étude est un des objectifs de ce travail de thèse.

Auteur	Nombre de patients opérés	Suivi (années)	Rémission dyslipidémie (%)	Triglycéridémie (mg/dL)		Cholestérol total (mg/dL)		HDL-C (mg/dL)		LDL-C (mg/dL)	
				Pré-op	Post-op	Pré-op	Post-op	Pré-op	Post-op	Pré-op	Post-op
Surve (171)	750	6	66.4% (+25% améliorés)	170.9 ± 126.9	97.4 ± 39.2	179.2 ± 40	146.0 ± 43.6	-	-	-	-
Moon (167)	140	2	-	155 ± 110	83 ± 33 (p<0.001)	-	-	44.9 ± 11.2	52.6 ± 14.7 (NS)	106.3 ± 28.6	66.5 ± 21.3 (p<0.0001)
Nelson (172)	69	1	50% (+33.3% améliorés)	-	-	-	-	-	-	-	-
Sánchez-Pernaute (168)	164	10	72% en pré-op 53.8% à 10 ans	183 (50-799)	113 (49-362)	190 (110-313)	166 (100-264)	47.8 (23-82)	54.4 (31-92)	105.2 (35-197)	90.6 (21-172)
Gebelli (177)	44	5	73.3%	-	-	-	-	-	-	-	-
Pennestri (178)	121 (24 révisions)	2	-	109.0 (79.5-190.5)	69.5 (61.3-81.3)	-	-	-	-	-	-
Pereira (175)	83	2	-	128.7 ± 7.0	76.2 ± 9.3 (n=18)	187.9 ± 4.0	173.8 ± 8.1 (n=37)	50.8 ± 1.9	62.9 ± 5.6 (n=18)	-	-
Finno (174)	181	2	72.9%	-	-	-	-	-	-	-	-
Ser (169)	148	1	-	247.9 ± 190.2	96.7 ± 46.8 (p<0.001)	191.8 ± 41.9	179.8 ± 32.9 (p<0.001)	43.1 ± 8.8	51.0 ± 14.7 (p<0.001)	116.4 ± 31.4	105.4 ± 33.2 (p=0.082)
Hanipah (170)	163 (diabétiques)	2	96%	-	-	-	-	-	-	-	-
Ozmen (176)	60	1	100%	-	-	-	-	-	-	-	-

Table 5. Impact du SADI-S sur le métabolisme lipidique dans les grandes séries publiées (une étude par centre).

2.4 Comparaison des résultats du SADI-S et du RYGB

Bien que le RYGB soit considéré aujourd'hui comme le Gold Standard des interventions de chirurgies bariatriques, aucune étude interventionnelle n'a à ce jour directement comparé SADI-S et RYGB. Les résultats des études observationnelles publiées à ce jour sont résumées dans la **Table 6**. Toutes hormis une (195) étaient des études rétrospectives, et le suivi s'étale entre 30 jours et 5 ans après la chirurgie. D'une manière générale, le SADI-S s'accompagnait d'une perte de poids au moins équivalente (183,195) sinon supérieure au RYGB (158,180,196,197). En comparaison à l'OAGB, l'étude de Ozmen et al. montrait une perte d'excès de poids sensiblement inférieure après SADI-S, cependant l'IMC moyen avant chirurgie était significativement différent entre les groupes, ce qui limite la comparaison (49 kg/m² dans le groupe SADI-S versus 52.7 kg/m² dans le groupe OAGB, p<0.05). Aucune comparaison directe du taux d'échec à long terme (perte d'excès de poids <50%) n'a été publiée à ce jour. Cependant, les taux d'échecs à long terme discutés par Surve et al., basés sur les résultats de la littérature, vont de 14.6 à 35% après RYGB et 13 à 17% après SADI-S (188) (**Figure 16**) et pourraient donc être en faveur du SADI-S.

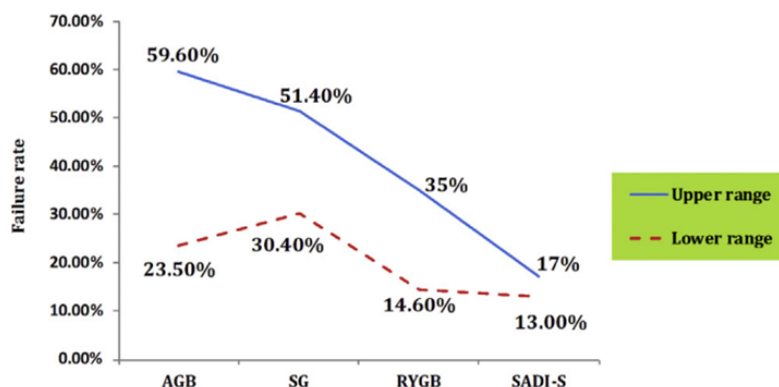


Fig. 1. Long-term failure rates with AGB, SG, RYGB, and SADI-S. Abbreviation: AGB = adjustable gastric banding; SG = sleeve gastrectomy; RYGB = Roux-en-Y gastric bypass; SADI-S = single-anastomosis duodeno-ileal bypass with sleeve gastrectomy.

Figure 16. Taux d'échec des différentes procédures de chirurgie bariatrique. D'après Surve et al. Surg Obes Relat Dis, 2020 (171).

La différence du taux de complications post-opératoires à court et long termes entre SADI-S et RYGB est plus controversée et varie entre les études. Il serait logique de penser qu'étant donné son montage chirurgical simplifié par rapport au RYGB, le taux de complications post-opératoires puisse être plus faible après SADI-S (**Table 6**). Pourtant, l'étude la plus large comparant SADI-S (501 patients) et RYGB (46874 patients) mettait en évidence un taux de complications sévères à court terme (<30 jours) non significativement différent entre les deux groupes, et un taux de reprise chirurgicale précoces (5.0% versus 2.6%, $p < 0.001$) et une mortalité (0.6 versus 0.1%, $p = 0.004$) plus élevés après SADI-S. Néanmoins, cette étude souligne également le fait que les patients opérés d'un SADI-S ont un terrain plus à risque de complications, avec un IMC supérieur, un score ASA (score de la Société Américaine d'Anesthésie qui évalue l'état physique) plus élevé et plus de comorbidités métaboliques que les patients opérés d'un RYGB (198). Lorsque les patients étaient appariés sur l'IMC et le sexe, le taux de complications précoces (3.7% versus 29.6%, $p < 0.001$) et tardives (16.7% versus

63.0%, $p=0.004$) ainsi que le taux de réopérations (4.0% versus 19.0%, $p=0.032$) étaient très significativement plus faibles après SADI-S qu'après RYGB dans une étude de Cottam et al. (183). Les autres études de ce groupe rapportaient des résultats comparables (180,196). Si le SADI-S semble associé à un taux moindre de complications post-opératoires, il est néanmoins probable que l'expérience soit un facteur majeur, bien qu'aucune étude ne le démontre à l'heure actuelle. Concernant le risque de carences vitaminiques, l'étude de Enochs et al. qui comparait 160 patients ayant eu un SADI-S avec 270 patients ayant eu un RYGB, ne montrait pas de différence significative des concentrations sanguines des vitamines A, D, E, K et B12 ni de ferritine, fer et albumine entre les deux procédures à 6, 12 et 24 mois (197).

La comparaison des effets de ces chirurgies sur la dyslipidémie a peu été rapportée à ce jour (**Table 6**). Si l'étude du Huang et al. ne montrait pas de différence significative du taux de rémission de la dyslipidémie entre SADI-S et RYGB, ces résultats concernent une population particulière de patients avec un IMC moyen avant chirurgie inférieur à 30 kg/m^2 (27.8 kg/m^2 dans le groupe RYGB versus 28.2 kg/m^2 dans le groupe SADI-S) et ne sont donc pas généralisables (195). A l'inverse, l'équipe de Torres et al. montrait un taux de rémission de la dyslipidémie plus important après SADI-S après 3 ans de suivi (83 versus 45%, $p=0.0001$) (158). Dans cette étude, le SADI-S réduisait les concentrations plasmatiques de cholestérol total, de LDL-C et de triglycérides de façon plus importante que le RYGB. En revanche la concentration plasmatique de HDL-C n'était pas modifiée après SADI-S. Au total, les données disponibles suggèrent un effet plus important du SADI-S en comparaison du RYGB sur le métabolisme lipidique.

Auteur	Année	Design	Nombre de patients	Suivi (années)	Perte de poids total (%)	Perte d'excès de poids (%)	Complications court terme (%)	Complications long terme (%)	Réopérations court terme (%)	Réopérations long terme (%)	Rémission dyslipidémie (%)	Rémission DT2 (%)
Cottam (183)	2016	Rétrospective Patients appariés	SADI-S : 54 RYGB : 54	18 mois	41% (95%CI 39.3-42.7) 39.6% (36.6-42.6) NS	-	3.7 29.6 p<0.05	16.7 63.0 p<0.05	4% 19% p=0.032	-	-	-
Huang (195)	2016	Prospective observationnelle	SADI-S : 30 RYGB : 30	1	25.9 26.6 p=0.77	-	13.3 3.3 NS	16.6 40.0 p=0.08	6.7 6.7	-	44.4 50.0 p=0.98	46.7 53.3 p=0.80
Torres (158)	2017	Rétrospective	SADI-S : 149 RYGB : 106	3	35.5+/-6.7 30.3+/-7.1 p=0.02	-	-	-	-	-	83 45 p=0.0001**	75.8 55.2 p=0.04
Cottam (196)	2018	Rétrospective	SADI-S : 341 RYGB : 457	3	-	86.1 +/- 27.5 79.9 +/- 25.1 NS	20 36*	21 59 p<0.05	2.3% 4.8% NS	5.57 13.7 P<0.05	-	93 69 p=0.004
Enochs (197)	2019	Rétrospective	SADI-S : 160 RYGB : 270	2	36.8 25.6	88.6 +/- 20.0 78.3 +/- 22.6	-	-	-	-	-	-
Ozmen (176)	2020	Rétrospective	SADI-S : 60 OAGB : 200	1	-	81 (53-86) 83.3 (69-85)	-	-	-	-	-	100 97
Surve (180)	2021	Rétrospective Patients appariés	SADI-S : 61 RYGB : 61	5	37.9 +/- 4.9 32.5 +/- 7.5 p<0.001	73.5 +/- 9.7 62.4 +/- 12.3 p<0.001	9.8 8.1 p = 1.00	19.6. 62.2 p<0.001	0 3.2 p=0.48	14.7 39.3 p=0.004	-	-
Verhoeff (198)	2022	Rétrospective	SADI-S : 501 RYGB : 46874	30 jours	-	-	10.6 8.3 NS***	-	5.0 2.6 p<0.001	-	-	-

Table 6. Résultat des études comparant bypass gastrique et SADI-S.

* Les complications classées Dindo-Clavien I-IIIa étaient significativement plus rares après SADI-S qu'après RYGB.

** Définie par LDL-C < 100 mg/dL

*** Complications sévères, définies par : complications cardiaques, pneumonies, insuffisance rénale aiguë, réopérations, réinterventions, thrombose veineuse, infection profonde, désunion de cicatrice, sepsis, intubation, fistule, saignement, coma > 24h, accident vasculaire cérébral.

Les études comparatives rapportent un taux de rémission du diabète supérieur après SADI-S (75.8 à 100%) comparé au RYGB (55.2 à 97%) (**Table 16**), hormis dans l'étude de Huang et al., ce qui peut être expliqué par les raisons citées précédemment. En particulier, sur le plan fonctionnel, l'étude du groupe de Marco Rafaelli qui comparait les résultats du test de tolérance au glucose de 9 patients après SADI-S avec 11 patients après RYGB montrait que, bien que la tolérance au glucose fut améliorée dans les deux cas, le SADI-S conduisait à un meilleur contrôle de la glycémie aux temps précoces que le RYGB, et moins d'épisodes d'hypoglycémies puisqu'il ne causait pas de réponse hyperinsulinémique (192). Cette observation a conduit les auteurs à émettre l'hypothèse que les effets du SADI-S sont liés à une restauration de la sensibilité à l'insuline et non à une majoration de l'effet incrétine comme après RYGB. En ce sens, chez le rat, Wang et al. ont montré que seul le RYGB (et non le SADI-S) augmentait la concentration plasmatique de GLP-1 lors d'un test de tolérance orale au glucose (191), bien que la tolérance au glucose ait été améliorée de la même manière dans les deux groupes dans cette étude.

Au total, le SADI-S apparaît comme une intervention prometteuse qui pourrait être proposée comme une alternative au RYGB puisqu'elle pourrait conduire à une perte de poids supérieure avec un effet métabolique plus important, en particulier chez les patients avec les IMC les plus élevés. Ainsi, la Fédération Internationale pour la Chirurgie de l'Obésité et des Maladies Métaboliques (IFSO) reconnaît dans son dernier rapport sur le SADI-S mis à jour en 2021 la perte de poids significative et les bénéfices métaboliques à moyen terme de cette

chirurgie, cependant elle souligne également le manque de données per-opératoires et sur le long terme (199).

Une étude randomisée française multicentrique, dont l'objectif principal est de démontrer la supériorité du SADI-S sur le RYGB, est en cours au moment de la rédaction de ce manuscrit (NCT03610256, (200)) et devrait apporter un rationnel scientifique plus solide à la pratique du SADI-S. D'autre part, s'il est possible que des mécanismes spécifiques soient mis en jeu suite à cette chirurgie qui pourraient expliquer cet effet métabolique important, ceux-ci sont très peu connus, et leur connaissance pourrait permettre de mieux guider les indications opératoires. Chez l'animal, seul un modèle de SADI-S chez le rat a pour l'instant été publié (201), cependant un modèle chirurgical chez la souris, qui facilite notamment l'étude de cibles moléculaires spécifiques du fait de sa malléabilité génétique, n'a encore été décrit.

L'un des objectifs de ce travail de thèse est la mise au point, pour la première fois, d'un modèle de SADI-S chez la souris, puis la comparaison avec le RYGB sur modèle murin afin d'étudier les mécanismes moléculaires mis en jeux conduisant à l'amélioration du métabolisme glucido-lipidique.

Le métabolisme du cholestérol

L'amélioration de la dyslipidémie, et en particulier du métabolisme du cholestérol, est un des résultats métaboliques attendu des chirurgies bariatriques néanmoins peu étudié. Pour comprendre ces améliorations, il est nécessaire de comprendre la régulation du cholestérol dans l'organisme. L'objectif de ce chapitre est de rappeler les principaux aspects du métabolisme du cholestérol ainsi que certains de ses principaux acteurs.

1 – Structure, fonctions et régulation du cholestérol dans l'organisme

Le cholestérol est le lipide de la famille des stérols le plus abondant dans l'organisme, présent au sein de tous les tissus animaux. Il s'agit d'une molécule polaire qui contient 27 atomes de carbone, dont la structure (**Figure 17**) est composée d'un noyau stérane (ou cyclopentano perhydro phenanthrène, comme tous les autres stérols) auquel est attachée une chaîne carbonée latérale en position C17 (constituant la partie hydrophobe), ainsi qu'une tête polaire constituée par une fonction hydroxyle (hydrophile) en position C3.

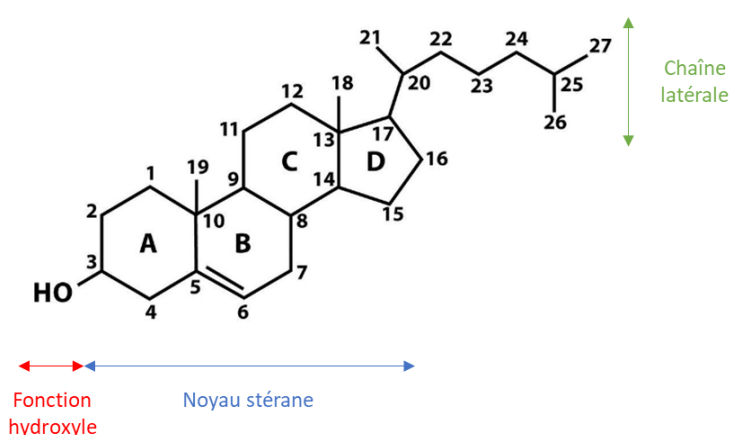


Figure 17. Structure du cholestérol. Le noyau stérane est composé de 4 cycles carbonés (notés A, B, C et D)

La fonction hydroxyle en position C3 a la capacité de former des esters avec les acides gras sous l'action d'enzymes du réticulum endoplasmique appelées Acyl-coenzyme A :cholestérol acyltransférase (ACAT, aussi appelées stérol O-acyltransférases ou SOAT) dont il existe deux isoformes (ACAT1 et ACAT2). On parle alors de cholestérol estérifié, totalement hydrophobes, par opposition au cholestérol libre.

Le cholestérol est une molécule essentielle au fonctionnement de l'organisme. Sous sa forme libre, il est un composant majeur des membranes cellulaires et des organites, dont il diminue la fluidité, en plus d'être le précurseur de nombreuses molécules comme les hormones stéroïdes et les sels biliaires. Sous sa forme estérifiée, il est essentiellement localisé dans le cytoplasme au sein de vacuoles lipidiques, ou au cœur des lipoprotéines.

La concentration du cholestérol dans le plasma résulte d'un équilibre entre les voies d'apport, de son transport plasmatique, et de ses voies d'épuration (**Figure 18**) :

- L'apport du cholestérol à l'organisme est assuré par les apports exogènes (alimentation), sa synthèse endogène et la réabsorption du cholestérol épuré par le cycle entéro-hépatique
- Le transport plasmatique est assuré par les lipoprotéines, et se divise en trois grandes voies :
 - De l'intestin vers le foie : la voie exogène (entéro-hépatique)
 - Du foie vers les tissus périphériques : la voie endogène
 - Des tissus périphériques vers le foie : la voie du transport inverse

- L'épuration du cholestérol met en jeu deux voies principales :
 - o La voie hépato-biliaire (efflux du cholestérol et synthèse d'acides biliaires)
 - o L'excrétion transintestinale du cholestérol (ou TICE)

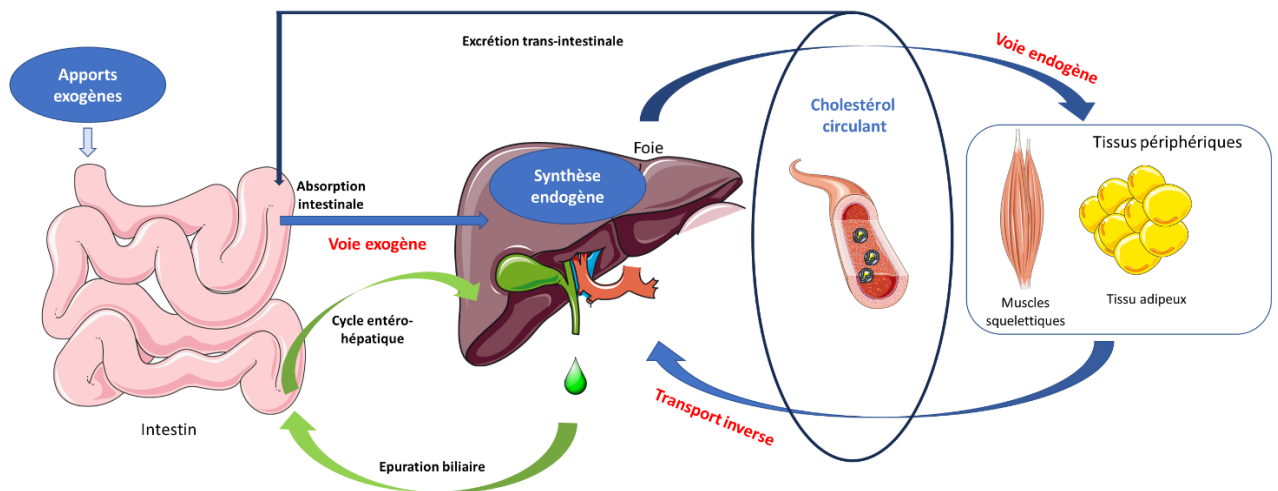


Figure 18. Vue synthétique des voies d'apport, transport et d'élimination du cholestérol dans l'organisme

L'ensemble de ces voies ainsi que les acteurs impliqués seront détaillés au sein des chapitres suivants.

2 - Apport du cholestérol dans l'organisme

2.1 Biosynthèse endogène

La synthèse endogène (**Figure 19**), qui représente environ 2/3 des apports (0.6 à 1.5 g/j), a lieu principalement dans le foie, mais aussi dans l'intestin ainsi que dans d'autres organes stéroïdo-formateurs (corticosurrénale, gonades). Les atomes de carbone de la molécule de cholestérol proviennent de trois molécules d'acétyl coenzyme A (acétyl CoA), dont la condensation conduit à la formation d'hydroxy-méthyl-glutarate (HMG). L'étape

suivante, qui est la réduction de l'HMG (couplé au coenzyme A) en mévalonate qui contient 6 atomes de carbone, est catabolisée par l'hydroxyméthylglutaryl-CoA réductase (HMG-CoA réductase). L'HMG-CoA réductase est l'enzyme limitante de la synthèse du cholestérol, et est également la cible des statines (202). Son expression et son activité sont donc des marqueurs majeurs de la synthèse du cholestérol. Par la suite, l'ajout de groupements phosphate et la perte d'un groupement carboxyle du mévalonate conduisent à la formation d'isoprène (isopentényl pyrophosphate). La condensation de deux molécules d'isoprènes activées (géranyl pyrophosphate) avec un troisième isoprène forme du farnésyl pyrophosphate, dont la condensation avec une molécule forme un composé à 30 carbones, le squalène. C'est sous l'action de la squalène cyclase que le squalène sera cyclisé et trois carbones enlevés, pour aboutir à la molécule de cholestérol. Pour note, le dosage plasmatique du lathostérol, intermédiaire de la synthèse du cholestérol, peut être utilisé en clinique comme marqueur de la synthèse du cholestérol.

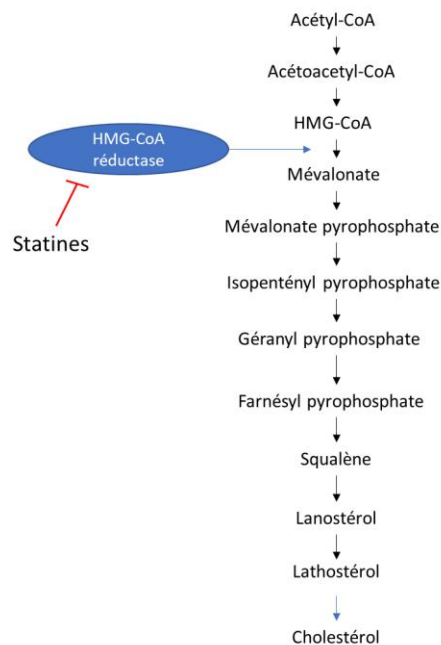


Figure 19. Biosynthèse endogène du cholestérol

Bien que toutes les cellules de l'organisme soient capable de synthétiser du cholestérol, le foie est quantitativement l'organe responsable de la majorité de la synthèse du cholestérol de l'organisme. Sa régulation fait principalement intervenir l'enzyme limitante, l'HMG-CoA réductase. Cette régulation implique un rétrocontrôle négatif de l'expression et de l'activité et une augmentation de la dégradation de l'HMG-CoA réductase par le cholestérol et les métabolites du mévalonate. En particulier, les facteurs de transcription de la famille SREBP (Sterol Regulatory Element Binding Protein) y jouent un rôle central. SREBP-2 notamment, qui est un régulateur majeur du métabolisme du cholestérol, induit l'expression de plusieurs enzymes impliquées dans la biogenèse du cholestérol, dont l'HMG-CoA réductase.

2.2 Apports exogènes et absorption intestinale

L'apport alimentaire représente environ 1/3 des apports (0.3 à 0.8 g/j), les aliments les plus riches étant le jaune d'œuf, les abats et les crustacés. Le cholestérol contenu dans l'alimentation est alors absorbé par les entérocytes, accompagné par le cholestérol contenu dans la bile (cycle entéro-hépatique, 0.8 à 1.2 g/j) et issu du renouvellement des cellules épithéliales intestinale, principalement dans le duodénum et le jéjunum proximal (203).

Dans la lumière intestinale, le cholestérol est peu soluble en solution aqueuse. Les acides biliaires, qui sont des molécules amphiphiles, permettent la solubilisation du cholestérol au sein de micelles, aux côtés des autres lipides présents dans la lumière intestinale (204). Les acides biliaires apparaissent comme des acteurs majeurs influençant

l'absorption intestinale, puisque l'absorption intestinale du cholestérol était réduite de plus de 90% chez les animaux dont le canal cholédoque était ligaturé ou déficients en cytochrome P450 7A1 (CYP7A1), enzyme limitante de la synthèse des acides biliaires (205). Des micelles riches en acides biliaires hydrophiles semblent également associées à une absorption moindre (206).

En particulier, les micelles fonctionnent comme un réservoir concentré en lipides et un transporteur du cholestérol qui facilite sa diffusion, sous forme à libre, à travers une série de couches d'eau présentes à la surface de l'entérocyte (la membrane de diffusion) (203). Après avoir traversé cette membrane aqueuse, la molécule de cholestérol entre en contact avec la membrane cellulaire de l'entérocyte, à la surface de laquelle plusieurs protéines contrôlent l'internalisation du cholestérol. Ces étapes sont résumées dans la **Figure 20**.

Les connaissances concernant les acteurs protéiques présents au pôle apical de l'entérocyte et permettant l'absorption entérocytaire du cholestérol ont suivi la découverte de l'ezetimibe, qui est une molécule hypolipémiante qui inhibe l'absorption du cholestérol luminal (207). Cette observation a ainsi conduit à la recherche de la (des) cible(s) de l'ezetimibe. La protéine Niemann-Pick C1-like 1 protein (NPC1L1) est un transporteur membranaire présent au pôle apical des entérocytes qui a été identifié comme une de ces cibles potentielles. Elle est particulièrement exprimée dans l'intestin proximal, et l'est moins dans l'iléon distal. L'étude de souris déficientes pour NPC1L1 (NPC1L1^{-/-}) a montré qu'en son absence, l'absorption intestinale du cholestérol était réduite de 69% (36), démontrant que cette protéine était l'acteur principal impliqué dans l'absorption intestinale du cholestérol. En particulier, l'utilisation d'ezetimibe chez des animaux NPC1L1^{-/-} n'a pas d'effet supplémentaire

sur l'absorption du cholestérol, montrant que l'effet de l'ezetimibe est dépendant de NPC1L1 (36).

La protéine scavenger receptor B-I (SR-BI) est une autre protéine qui est exprimée au pôle apical de l'entérocyte, qui a également été identifiée comme interagissant avec l'ezetimibe (208). Sa participation à l'absorption du cholestérol luminal a été suggérée *in vitro* par le fait que des cellules transfectées par SR-BI captaient plus le cholestérol micellaire que les cellules non transfectées, et que ce phénomène était inhibé par l'ajout d'ezetimibe (209). *In vivo*, la surexpression intestinale de SR-BI augmentait également l'absorption du cholestérol chez la souris (210). Néanmoins, l'étude de l'absorption intestinale de souris déficientes pour SR-BI (*Scarb1*^{-/-}) montrait que celle-ci n'était pas modifiée par rapport aux souris wild type, suggérant que SR-BI n'est pas essentiel à l'absorption du cholestérol (208,211), mais exercerait plutôt une action facilitatrice sur son absorption.

La protéine CD36, principalement connue pour son rôle dans l'absorption des acides gras, est également présente au pôle apical de l'entérocyte. Tout comme SR-BI, sa transfection dans des cellules *in vitro* a été montrée comme augmentant la captation du cholestérol micellaire, de façon sensible à l'ezetimibe (209). *In vivo*, si l'étude de souris déficientes pour CD36 était associée à une réduction du transport du cholestérol issu de l'alimentation par la lymphe dans une situation aiguë (dans les 6 heures après la prise orale), mais n'avait pas d'effet sur l'absorption mesurée par la méthode du dual isotope ratio (212), suggérant que son absence puisse être compensée par d'autres transporteurs. En effet, une autre équipe étudiant le même modèle (souris CD36 déficientes) a montré que la déficience en CD36 altérait l'absorption du cholestérol dans l'intestin proximal uniquement, mais que cette

déficiences étaient contrebalancées par une augmentation de l'expression de NPC1L1 dans l'intestin proximal et distal (213).

Enfin, deux protéines de la famille des Adenosine triphosphate Binding Cassette (ABC), ABCG5 et ABCG8, qui fonctionnent lorsqu'elles sont dimérisées, réguleraient négativement l'absorption intestinale du cholestérol en entraînant l'efflux du cholestérol entérocytaire dans la lumière intestinale (207). En effet, leur mutation inactivatrice responsable de la bêta-sitostérolémie augmente l'absorption intestinale du cholestérol (214). A l'inverse, leur surexpression chez la souris réduisait l'absorption intestinale du cholestérol de 50% (215).

Après internalisation par l'entérocyte, la majeure partie du cholestérol est estérifié au sein du réticulum endoplasmique par les ACAT et intégrée au sein des chylomicrons sous l'action de la protéine microsomale de transfert des triglycérides (MTP) (203). Cette activité d'estérification au sein de l'entérocyte est un des acteurs de la régulation de l'absorption intestinale, en réduisant le pool intracellulaire de cholestérol libre, augmentant ainsi son gradient de diffusion (203). En effet, l'inhibition ex vivo chez le lapin de l'ACAT intestinale réduisait l'absorption du cholestérol (216). D'autre part, la protéine adenosine triphosphate binding cassette transporter A1 (ABCA1) présente au pôle basolatéral de l'entérocyte permet un efflux d'une partie du cholestérol libre et participe ainsi à la synthèse de HDL naissantes (217).

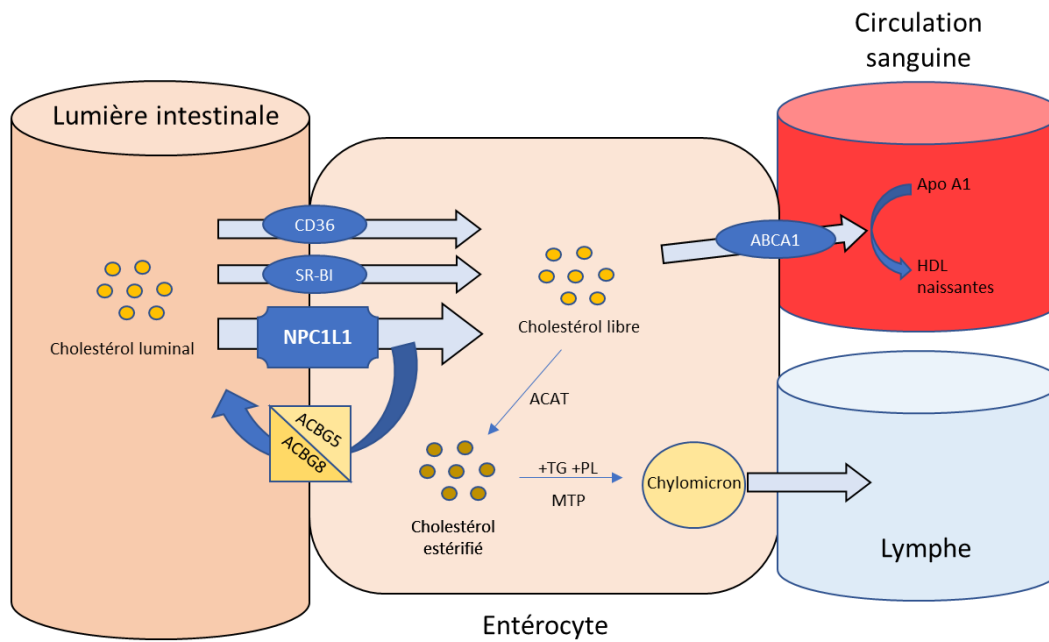


Figure 20. Acteurs impliqués dans l'absorption intestinale du cholestérol

3 - Le transport du cholestérol dans l'organisme

3.1 Généralités sur les lipoprotéines

Le transport du cholestérol dans l'organisme est assuré par des structures appelées lipoprotéines. La structure de ces macromoléculaires sphériques (**Figure 21**), composées d'un noyau lipidique apolaire (triglycérides et esters de cholestérol hydrophobes) et d'une couche superficielle de lipides polaires (phospholipides et cholestérol libre) contenant également des protéines spécifiques, les apolipoprotéines (Apo-), fait d'elles un moyen de transport efficace des lipides en milieu aqueux (sang et lympe). Les apolipoprotéines exercent à la fois un rôle de maintien de la cohésion de l'édifice, mais également un rôle fonctionnel puisqu'elles permettent l'interaction des lipoprotéines avec plusieurs récepteurs et enzymes.

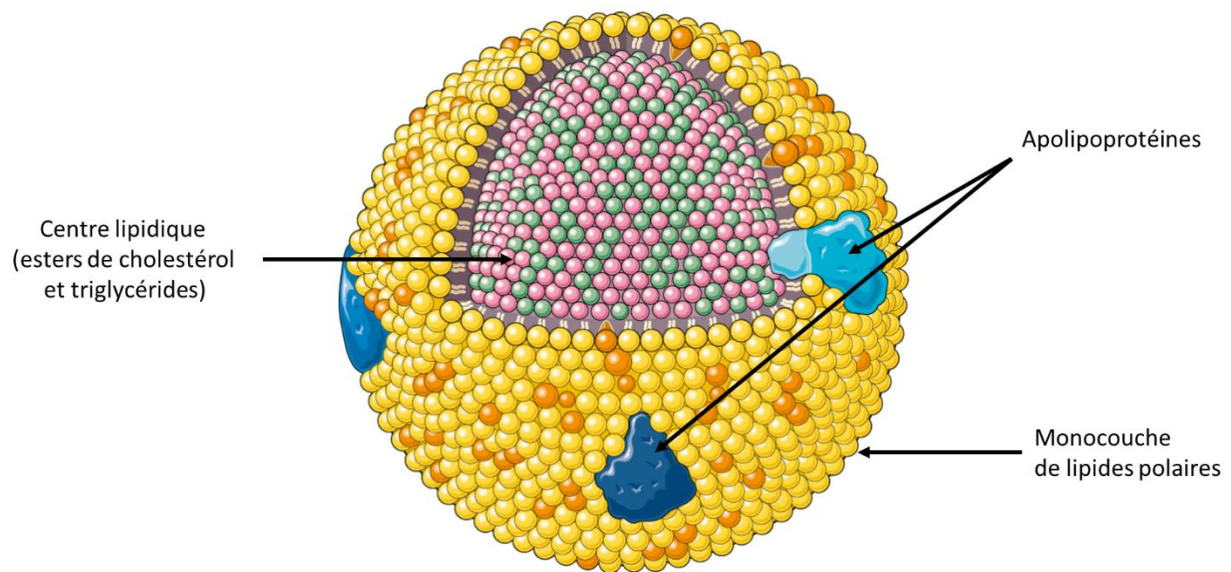


Figure 21. Structure générale des lipoprotéines (Servier Medical Art)

Selon leur densité et leur composition (en lipides et en apolipoprotéines), les lipoprotéines sont classées en plusieurs groupes qui subissent des remaniements constants lors de leur passage dans l'organisme suite à leurs interactions avec les tissus périphériques et les autres lipoprotéines.

Les principales lipoprotéines qui seront discutées dans ce manuscrit sont :

- Les chylomicrons, qui sont de larges molécules synthétisées par l'intestin et sécrétées dans la lymphe. Elles contiennent principalement des triglycérides. L'apolipoprotéine majoritaire est l'ApoB₄₈.
- Les VLDL, synthétisées par le foie, qui ont une structure proche de celle des chylomicrons, avec une composante majoritaire de triglycérides. L'apolipoprotéine

structurale centrale des VLDL est l'ApoB₁₀₀ (une molécule par lipoprotéine). On y trouve aussi de l'ApoC-II et de l'ApoE.

- Les lipoprotéines de densité intermédiaire (IDL), ou remnants des VLDL, qui sont formées suite à l'hydrolyse des triglycérides contenus dans les VLDL, induisant la formation de lipoprotéines plus petites, riches en esters de cholestérol. Elles contiennent l'ApoB₁₀₀ et l'ApoE.
- Les LDL qui proviennent de l'hydrolyse des derniers triglycérides des IDL. Elles sont majoritairement composées de cholestérol estérifié, et contiennent une unique molécule d'ApoB₁₀₀ ainsi que quelques molécules d'ApoE.
- Les lipoprotéines de forte densité HDL qui représentent un groupe hétérogène de lipoprotéines. Elles sont majoritairement composées de cholestérol, et contiennent notamment l'ApoA1 qui est leur apolipoprotéine structurale principale.

Ces différentes lipoprotéines ont pour particularité d'être associées au risque cardiovasculaire. Il est largement admis que la concentration de LDL est positivement associée au risque cardiovasculaire. Le taux de HDL, en revanche, est associé à une réduction des événements cardiovasculaires dans les études observationnelles (218), bien que le lien de causalité entre les deux ne soit pas évident dans les essais randomisés évaluant l'intérêt de l'inhibition de la CETP (qui augmente le HDL-C) (219,220). Un degré supplémentaire de complexité existe puisque le potentiel athérogène ou encore le catabolisme de chaque classe de lipoprotéines varient selon leur composition. Notamment, les LDL petites et denses, enrichies en triglycérides, ont une demi vie plasmatique allongée et ont un potentiel athérogène plus important (94). De même, les HDL de plus petite taille suite à leur lipolyse par

la lipase hépatique sont plus facilement catabolisées (90,92). Enfin, certaines sous-population de HDL, dont les HDL pré β -1 (petites particules pauvres en lipides) sont associées à une mortalité cardiovasculaire plus élevée.

3.2 La voie endogène

3.2.1 Transport et captation du cholestérol par les tissus périphériques

La voie endogène correspond au transport du cholestérol du foie vers les tissus périphériques. Une partie du cholestérol intra-hépatocytaire, issu de la synthèse et de la captation du cholestérol circulant, quitte l'hépatocyte au sein des VLDL, où le cholestérol (sous forme libre et estérifié) coexiste avec des phospholipides et une quantité abondante de triglycérides. Ces VLDL sont assemblés dans la lumière du réticulum endoplasmique en deux étapes. Tout d'abord l'ApoB₁₀₀ nouvellement traduite est partiellement lipidée grâce à l'action de la MTP, puis la molécule de VLDL primordiale ainsi produite fusionne avec les particules riches en triglycérides déjà présentes dans le cytosol (221). Les VLDL sont par la suite adressées vers l'appareil de Golgi où elles subissent plusieurs étapes de maturation, puis sont sécrétées dans la circulation générale.

Dans la circulation, les VLDL transportent ainsi les lipides du foie vers les tissus périphériques (**Figure 22**). La LPL est une enzyme synthétisée par le muscle, le cœur et le tissu adipeux, active à la surface de l'endothélium des capillaires, dont le rôle est l'hydrolyse des triglycérides des VLDL (ainsi que des chylomicrons, voir chapitre **3.3 La voie exogène**) (222). La LPL est activée par l'ApoC-II, présente à la surface des VLDL, délivrant ainsi des acides gras

libres aux tissus. D'autre part, des échanges de lipides, notamment de triglycérides et d'esters de cholestérol ont lieu entre les VLDL et les autres lipoprotéines présentes dans le plasma (HDL et LDL) grâce à l'action de la CETP, impliquée notamment dans la physiopathologie de la dyslipidémie chez le patient obèse (voir chapitre **3.1.1 La dyslipidémie du sujet obèse** de la première partie **La chirurgie bariatrique**). Cette délipidation progressive des VLDL au cours de la lipolyse, qui s'accompagne d'une perte de l'ApoC-II, conduit à la formation d'IDL, plus petites, qui contiennent l'ApoB₁₀₀ et l'ApoE (provenant d'échanges avec les HDL).

Une partie des IDL subit une clairance hépatique, par deux récepteurs : le récepteur au LDL (LDLR, qui reconnaît l'ApoB₁₀₀ et l'ApoE) et le LDL receptor-related protein (LRP, qui reconnaît l'ApoE). Les IDL restantes, dans les capillaires du foie, rencontrent la lipase hépatique qui hydrolyse les triglycérides restants, ce qui s'accompagne d'une perte d'ApoE. Cette étape conduit à la formation d'une structure riche en cholestérol et organisée autour d'une unique molécule d'ApoB₁₀₀ et de quelques molécules d'ApoE : les LDL. Les LDL transportent ainsi la majorité du cholestérol circulant. Leur régulation fait intervenir deux acteurs majeurs : le récepteur au LDL (LDLR), ainsi que son inhibiteur naturel, la proprotéine convertase subtilisine/kexine de type 9 (PCSK9).

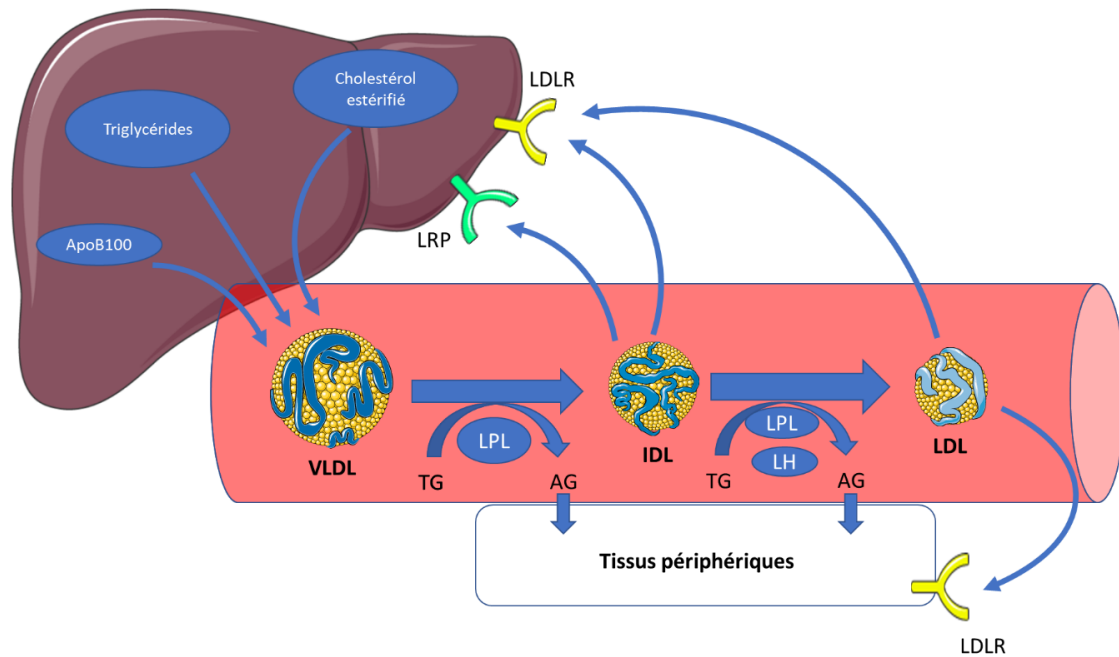


Figure 22. Résumé de la voie endogène du transport du cholestérol dans l'organisme

3.2.2 Le récepteur au LDL et PCSK9, deux acteurs centraux du métabolisme du cholestérol

Le LDLR, acteur clé du métabolisme du cholestérol, a été décrit par Goldstein et Brown dans les années 70 après qu'ils aient observés *in vitro* sur des cultures de fibroblastes que l'activité de l'HMG-CoA réductase (et donc la synthèse de cholestérol) était spécifiquement réduite lorsqu'ils étaient cultivés en présence de LDL, suggérant l'existence d'un récepteur spécifique (223,224). Leurs études suivantes ont par la suite permis de prouver l'existence de ce récepteur, en montrant que les fibroblastes en culture possédaient des sites de liaison de forte affinité pour des LDL marquée à l'iode 125 (225). Plus encore, les fibroblastes issus d'une patiente atteinte d'hypercholestérolémie familiale ne possédaient pas ce site de liaison. Il est depuis évident que le LDLR exerce un rôle clé à l'interface entre les concentrations de

cholestérol intra- et extracellulaires. En particulier, les patients ayant une mutation inactivatrice du gène du LDLR présentent une forme autosomale dominante d'hypercholestérolémie familiale avec un LDL-C très élevé et un haut risque d'évènements cardiovasculaires précoces.

Le principal site d'expression du LDLR est l'hépatocyte, bien qu'il soit également exprimé dans de nombreux organes dont l'intestin, au pôle basolatéral des entérocytes (226). Il reconnaît l'ApoB₁₀₀ présent dans les LDL (ainsi que l'ApoE, et lie également les IDL, les VLDL et les chylomicrons), dont il permet l'internalisation par la cellule par endocytose au sein de vésicules recouvertes de clathrine (**Figure 23**). Dans l'endosome, la particule de LDL se détache du récepteur sous l'effet d'une acidification du pH. Le LDL est alors hydrolysé dans les lysosomes : le cholestérol estérifié est hydrolysé en cholestérol libre et acides gras, et l'ApoB₁₀₀ est dégradé en acides aminés. La majorité des récepteurs est recyclée et adressée à la membrane plasmique. Ainsi, la densité de LDLR présents à la surface des hépatocytes contrôle la concentration de cholestérol circulant. De même, le LDLR présents au pôle basolatéral des entérocytes, leur permettant de capter le LDL, joue un rôle clé dans l'excrétion trans-intestinale du cholestérol ou TICE (voir chapitre **4.2 L'excrétion transintestinale du cholestérol (TICE)**).

Ce processus d'internalisation du LDL par le LDLR, qui augmente la concentration intracellulaire du cholestérol, est au centre d'une régulation qui fait intervenir plusieurs acteurs. Lorsque la concentration intracellulaire de cholestérol est faible, le facteur de transcription SREBP-2 est transloqué du réticulum endoplasmique au golgi où il est activé, puis migre dans le noyau où il qui augmente en particulier l'expression du LDLR (donc la captation

du cholestérol circulant dans les LDL) et de l'HMG-CoA réductase (et donc la biosynthèse de cholestérol) (227). A l'inverse, lorsque la concentration intracellulaire de cholestérol issu de l'hydrolyse des LDL augmente, SREBP-2 reste dans le réticulum endoplasmique, ainsi l'expression du LDLR et de l'HMG-CoA réductase sont réduites. Le cholestérol libre stimule également l'activité des ACAT, permettant d'augmenter son stockage sous forme estérifié, et de limiter la toxicité qui résulte d'une accumulation de cholestérol libre. La densité de LDLR présente sur la membrane cellulaire est également régulée par un inhibiteur naturel, la protéine PCSK9.

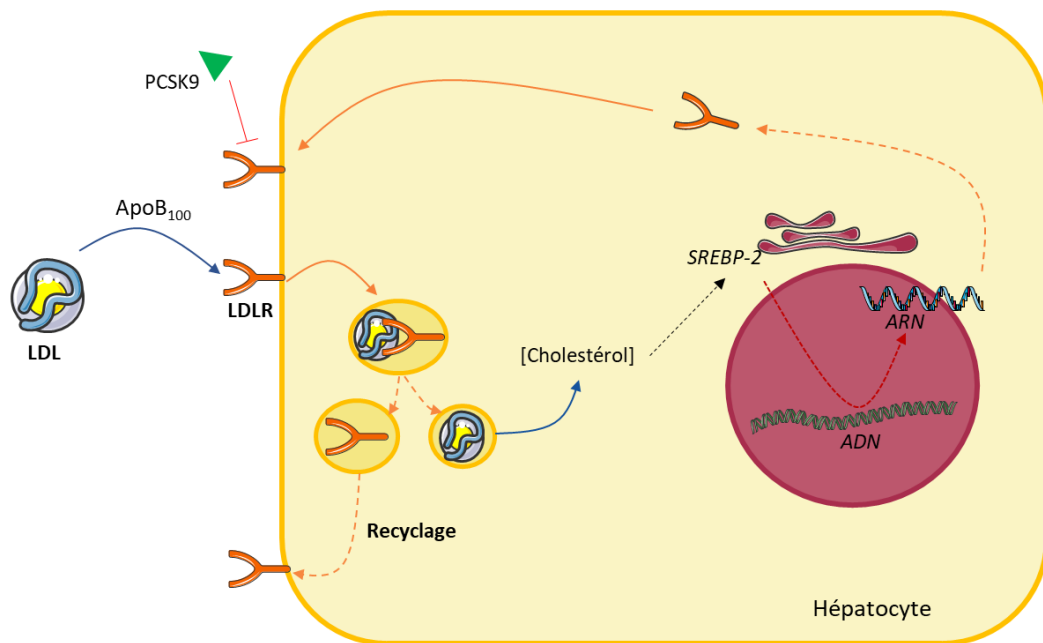


Figure 23. Rôle et régulation du LDLR

PCSK9 a été décrit en 2003 par les groupes de Catherine Boileau et Nabil Seidah (228). Il s'agit d'une protéine faisant partie de la famille des sérines protéases dont on ne connaît pas d'autre substrat qu'elle-même. Elle est très majoritairement synthétisée dans le foie, également dans l'intestin et le rein (229,230), et son expression est notamment induite par SREBP-2. Elle est initialement synthétisée sous la forme d'un précurseur appelé proPCSK9, qui subit un auto-clivage dans le réticulum endoplasmique, puis transite à la surface de la cellule. Là, PCSK9 agit alors comme un inhibiteur naturel du LDLR. On sait grâce à l'incubation *in vitro* en présence de PCSK9 de cellules transfectées avec des formes mutantes de LDLR ayant une délétion de plusieurs domaines, que celui-ci reconnaît une région spécifique située sur le domaine extracellulaire LDLR appelé epidermal growth-factor (EGF)-like repeat A (231). Cette interaction induit l'internalisation du complexe PCSK9-LDLR et les deux protéines sont ensuite dégradées dans les lysosomes (232). Dans la circulation sanguine, PCSK9 agit également à distance de son site de production à la façon d'une hormone. L'étude de souris ayant une déficience spécifiquement hépatocytaire en PCSK9 (PCSK9^{hep-/-}) a montré que les hépatocytes étaient la seule source de PCSK9 circulant (229). L'étude cinétique des LDL chez des patients ayant une mutation perte de fonction de PCSK9 a permis de montrer que l'absence de PCSK9 induisait une augmentation du catabolisme des LDL (233). Ainsi, en régulant la densité du LDLR à la surface des cellules, PCSK9 est un important régulateur de la concentration de LDL circulants.

En effet, une mutation gain de fonction du gène codant pour PCSK9 est responsable d'une hypercholestérolémie familiale autosomique dominante (228). A l'inverse, en cas de mutation inactivatrice, on observe une cholestérolémie basse et une réduction de la maladie

coronarienne (hazard ratio compris entre 0.11 [IC95% 0.02-0.81] et 0.50 [IC95% 0.32-0.79]) (234,235). De même, la déficience en PCSK9 chez la souris (souris PCSK9^{-/-}) induisait une réduction significative de la cholestérolémie et augmentait la densité du LDLR à la surface des hépatocytes (236). Ainsi, l'inhibition du PCSK9 circulant par des anticorps monoclonaux (237,238) est une stratégie thérapeutique validée pour réduire le LDL-C.

En 2008, Zaid et al. ont rapportés chez la souris qu'une déficience totale en PCSK9 induisait une réduction de la cholestérolémie de 42%, alors qu'une déficience spécifiquement hépatocytaire réduisait la cholestérolémie de 27% (229). Ainsi, un tiers du phénotype hypocholestérolémiant de la déficience en PCSK9 est expliquée par sa synthèse extra-hépatocytaire. En effet, au-delà du foie, PCSK9 exerce des fonctions pancréatiques, rénales, et en particulier intestinales où il est présent dans les entérocytes et les cellules calicielles (239). Bien qu'ils ne participent pas à la sécrétion de PCSK9 circulant (240), les entérocytes sont un site important de synthèse de PCSK9 (229,230). *In vitro*, la culture de cellules intestinales Caco-2 en présence de PCSK9 augmentait la captation du cholestérol par ces cellules, et cette observation s'accompagnait d'une augmentation de l'expression des transporteurs NPC1L1 et CD36 ainsi qu'une tendance à l'augmentation de l'expression de SR-BI (241). Cependant, *in vivo*, la suppression de PCSK9 chez la souris ne modifiait pas l'absorption intestinale (242), suggérant l'existence de mécanismes de compensation. L'étude de souris déficientes en PCSK9 spécifiquement au niveau intestinal (souris i-PCSK9^{-/-}) a montré que *in vivo*, cette déficience ne modifiait pas la cholestérolémie (243). De plus, s'il a été montré que PCSK9 régule la lipémie post-prandiale (242), cet effet semble uniquement dépendant du PCSK9 circulant d'origine hépatique (243). Le PCSK9 intestinal semble en

revanche jouer un rôle dans le TICE (244) (voir chapitre **4.2 L'excrétion transintestinale du cholestérol (TICE)**).

3.3 La voie exogène

La voie exogène correspond au transport du cholestérol de l'entérocyte, après son absorption, vers le foie et les tissus périphériques. Après absorption par l'entérocyte, la majorité du cholestérol est relargué dans le système lymphatique mésentérique au sein des chylomicrons. Les chylomicrons sont de larges lipoprotéines très riches en triglycérides. Leur synthèse est exclusivement intestinale et a essentiellement lieu en période post-prandiale : sous l'action de la MTP, les esters de cholestérols et les triglycérides sont associés à l'ApoB₄₈ dans à la surface du réticulum endoplasmique (245). Entre autres, les chylomicrons possèdent également l'ApoC-II et l'ApoA-V.

Après leur sécrétion dans la lymphe, les chylomicrons rejoignent la circulation générale via le canal thoracique. De la même manière que pour les VLDL, la LPL qui reconnaît l'ApoC-II permet l'hydrolyse des triglycérides contenus dans les chylomicrons en acide gras pour les tissus périphériques, en particulier le muscle et le tissu adipeux, à des fins de stockage ou de production d'énergie. L'ApoA-V joue également un rôle dans l'activation de la LPL. Cette hydrolyse progressive des triglycérides des chylomicrons s'accompagne d'une réduction de leur taille, et conduit donc à la formation de remnants de chylomicrons. Des échanges d'apolipoprotéines, en particulier avec les HDL, conduisent également à une modification de

leur composition, notamment par l'acquisition d'ApoE et la perte de l'ApoC-II qui limite l'hydrolyse supplémentaire de triglycérides de ces remnants par la LPL.

Les remnants de chylomicrons sont alors captés par l'hépatocytes grâce aux récepteurs qui reconnaissent l'ApoE : le LDLR et LRP. A noter que les mutations inactivatrices de l'ApoE résultent en une réduction de la clairance des chylomicrons et entraînent des dysbetalipoprotéinémies familiales qui s'accompagnent d'une élévation des concentrations de triglycérides et de cholestérol plasmatiques. Par ailleurs SR-BI pourrait également jouer un rôle dans le catabolisme hépatique de ces remnants. La déficience en SR-BI chez la souris réduit la captation hépatique de chylomicrons de 80% par rapport à des souris contrôles (246). Ce catabolisme hépatique des remnants de chylomicrons fournit au foie des acides gras et du cholestérol, qui pourront être remis en circulation sous forme de triglycérides et d'esters de cholestérol au sein des VLDL.

3.4 Le transport inverse du cholestérol

La voie du transport inverse du cholestérol décrit son transport des tissus périphériques vers le foie par les HDL (247), et constitue ainsi une voie d'élimination du cholestérol en excès, qui est donc considérée comme anti-athérogène.

L'apolipoprotéine structurale du HDL est l'ApoA-I qui est majoritairement synthétisée par les hépatocytes et les entérocytes, et est sécrétée dans la circulation. Là, l'ApoA-I est enrichie en lipides (cholestérol et phospholipides) qui proviennent de ces mêmes cellules grâce à l'action du transporteur ABCA1, formant une molécule encore faiblement lipidée

appelée HDL naissant (ou pré β HDL). D'autres tissus qui expriment ABCA1 (adipocytes et myocytes notamment) fournissent également des lipides aux HDL naissants. Cet enrichissement en lipide conduit à une maturation des HDL et à une augmentation de leur taille. Le cholestérol, initialement sous forme libre, est estérifié au sein du HDL sous l'action d'une enzyme appelée la lécithine-cholestérol-acyl-transférase (LCAT), les esters de cholestérol constituant ainsi un des composants majeurs du cœur du HDL (248).

Les tissus périphériques ainsi que les macrophages spumeux présents dans la paroi artérielle, impliqués dans la synthèse de la plaque d'athérome, transfèrent leur cholestérol en excès aux HDL circulants. L'efflux du cholestérol de ces cellules vers les HDL matures implique principalement le transporteur ATP binding cassette G1 (ABCG1). Comme détaillé précédemment, les HDL subissent également de nombreux échanges de lipides et de lipoprotéines avec les autres lipoprotéines circulantes. Les HDL obtiennent également du cholestérol et des phospholipides lors de la lipolyse des VLDL et des chylomicrons par la LPL. Les HDL sont également enrichis en triglycérides issus des lipoprotéines contenant l'ApoB sous l'action de la CETP en échange de leurs esters de cholestérol, ce qui favorise leur catabolisme par les lipases hépatiques (90,92). Pour note, la CETP est absente chez la souris.

Le cholestérol transporté par le HDL peut alors être capté par le récepteur SR-BI présent au pôle basolatéral des hépatocytes (249). L'internalisation du HDL-cholestérol par SR-BI serait associé à une augmentation du cholestérol biliaire (250), suggérant l'existence d'un « canal » spécifique entre cholestérol issu des HDL et son élimination biliaire. Cette hypothèse est supportée par des expériences *in vitro* qui ont montré qu'en présence de cholestérol, SR-BI était adressé par transcytose vers les canalicules biliaires où est synthétisée

la bile (251). Une autre voie alternative a également été décrite chez la souris, La voie FOF1 ATPase et participerait à l'internalisation du HDL-cholestérol (252).

Si le foie est décrit depuis 1968 comme étant la destination finale du cholestérol issu de la voie inverse du cholestérol, des données controversées plus récentes suggèrent que le TICE pourrait également activement contribuer à son élimination fécale (253) (voir chapitre

4.2 L'excrétion transintestinale du cholestérol (TICE).

4 – Les voies d'épuration du cholestérol

4.1 L'épuration biliaire du cholestérol et le rôle des acides biliaires

4.1.1 Modes d'épuration biliaire du cholestérol

L'épuration biliaire, qui a lieu exclusivement *via* les hépatocytes, a été considérée longtemps comme la principale voie d'élimination du cholestérol de l'organisme. La bile, qui est synthétisée par le foie, stockée dans la vésicule biliaire, et circule dans les voies biliaires jusqu'à être relarguée dans le tube digestif, est enrichie en cholestérol par deux mécanismes : une excrétion du cholestérol libre en tant que tel, ou sa conversion en acides biliaires. Ces phénomènes constituent notamment l'étape ultime du transport inverse du cholestérol.

Au pôle canaliculaire de l'hépatocyte, l'épuration du cholestérol libre dans la bile met en jeu différents transporteurs. L'hétérodimère ABCG5/G8, exprimé sur la membrane canaliculaire joue un rôle central dans ce processus. Ainsi, les patients ayant une mutation inactivatrice (béta-sitostérolémie) présentent une diminution de la sécrétion biliaire de

cholestérol (214). Chez la souris, la délétion d'ABCG5/G8 conduisait à une importante réduction de la concentration de cholestérol dans la bile (254), alors que sa surexpression augmentait la concentration biliaire de cholestérol de 5 à 6 fois (215). Le transporteur SR-BI pourrait également jouer un rôle dans le transport du cholestérol libre de l'hépatocyte vers la bile, puisque son invalidation et sa surexpression diminue et augmente, respectivement, la concentration biliaire en cholestérol (255). Chez l'homme, le transporteur NPC1L1, aussi présent au pôle canaliculaire de l'hépatocyte, joue également un rôle dans ce processus en augmentant la réabsorption du cholestérol biliaire par l'hépatocyte, et son induction chez la souris (chez laquelle il est physiologiquement absent dans l'hépatocyte) réduit la concentration biliaire du cholestérol (256). A l'inverse, son inhibition par l'ezetimibe favorise l'élimination biliaire (256). Enfin, l'excrétion biliaire de phospholipides, favorise également la solubilisation du cholestérol dans la bile. Le transporteur ABCB4 joue un rôle central pour l'excrétion des phospholipides dans la bile. Ainsi, les souris présentant une déficience totale en ABCB4 (souris ABCB4^{-/-}), qui ont une sécrétion biliaire de phospholipides effondrée, présentent également une forte diminution de l'excrétion biliaire du cholestérol (257,258). Néanmoins une sécrétion minimale de phospholipides semble suffisante puisqu'une réduction de 50% de l'excrétion biliaire de phospholipides (souris ABCB4^{+/-}) s'accompagne d'une sécrétion biliaire de cholestérol non modifiée (257).

La conversion du cholestérol en acides biliaires représente environ 50% de l'élimination journalière du cholestérol de l'organisme (259). Les acides biliaires sont des molécules hydrosolubles aux propriétés détergentes, dérivées du cholestérol, qui dans la lumière intestinale permettent la formation des micelles et facilitent l'absorption intestinale

des lipides alimentaires et des vitamines liposolubles. Ces acides biliaires sont majoritairement réabsorbés au niveau de l'iléon terminal puis réadressés vers le foie, ce qui constitue le cycle entéro-hépatique. Ainsi, chaque molécule d'acide biliaire est utilisée plusieurs fois. On estime à 5% la proportion d'acides biliaires qui échappent à ce cycle et sont éliminés dans les fèces, ce qui constitue la voie principale d'élimination du cholestérol de l'organisme (260), et qui est compensée par la synthèse *de novo* d'acides biliaires par l'hépatocyte afin de maintenir ce pool constant.

4.1.2. Synthèse et transport des acides biliaires

La synthèse des acides biliaires met en jeu plusieurs enzymes afin de transformer le cholestérol, majoritairement hydrophobe, en molécules hydrosolubles. Cette synthèse nécessite l'hydroxylation du noyau stérol ou de la chaîne latérale, suivie de plusieurs modifications du noyau stérol et un raccourcissement de la chaîne latérale, ce qui conduit à la synthèse d'acides biliaires dits « primaires ». Le métabolisme des acides biliaires, et leur composition, diffèrent entre l'homme et le rongeur. Ces étapes, chez l'homme et la souris (qui est le modèle d'étude utilisée pour ce projet de thèse) sont résumées dans la **Figure 23**. Chez l'homme, les acides biliaires primaires incluent l'acide cholique (CA) et l'acide chénodésoxycholique (CDCA). Chez la souris, le CA, le CDCA, les acides muricholiques (α , β et γ MCA) et l'acide ursodésoxycholique (UDCA) sont les principaux acides biliaires primaires. Deux voies majoritaires sont décrites qui permettent d'effectuer ces réactions : la voie classique et la voie alternative.

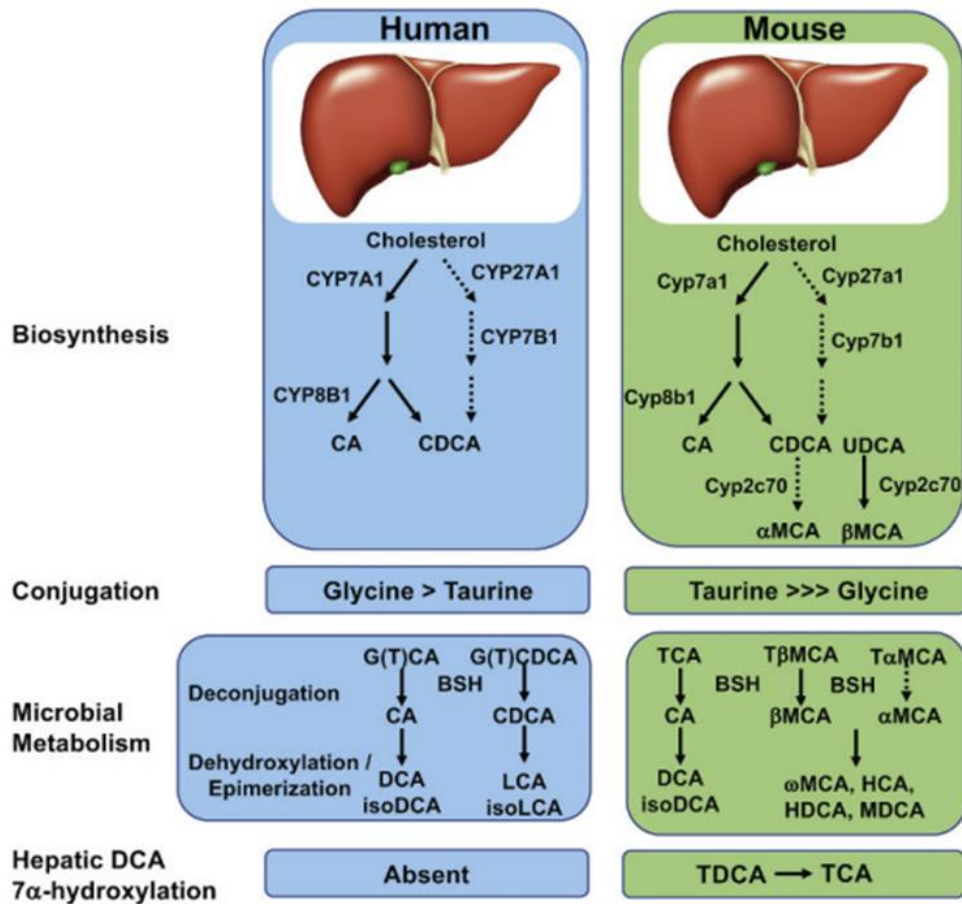


Figure 23. Résumé des étapes de la synthèse des acides biliaires et des acteurs impliqués chez l'homme et la souris. D'après Li et Dawson, *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2019 (261)

La première étape de la voie classique pour la synthèse des acides biliaires primaires met en jeu l'enzyme limitante de la synthèse des acides biliaires, le cytochrome P450 cholestérol 7 α -hydroxylase (CYP7A1), qui favorise la synthèse du CA chez l'homme et la souris (**Figure 23**). L'importance de cette enzyme est reflétée par le fait que l'étude de souris déficientes pour CYP7A1 (CYP7^{-/-}) ont une mortalité post-natale augmentée due à une malabsorption majeure des graisses (262). Une seconde enzyme, le cytochrome P450 12 α -hydroxylase (CYP8B1), contrôle la quantité de CA qui est synthétisé. Les souris déficientes en

CYP8B1 ont l'incapacité de synthétiser la CA et ont ainsi un pool d'acides biliaires plus hydrophiles (MCA et UDCA), il en résulte une réduction de l'absorption intestinale du cholestérol (263). La voie alternative, qui favorise la synthèse de CDCA chez l'homme et des MCA chez la souris (**Figure 23**), est quantitativement moins importante en condition physiologique, et a pour enzyme limitante l'oxystérol 7 α -hydroxylase (CYP7B1). Dans le foie, ces acides biliaires primaires ainsi synthétisés, en grande majorité, sont conjugués à la glycine ou la taurine sur la chaîne latérale, ce qui augmente leur hydrophilie et influence leur propriété détergentes, sous l'effet d'enzymes appelées A:aminoacide N-acyltransférases (BAAT) (260). Chez l'homme, la glycine est majoritaire, c'est l'inverse qui est observé chez la souris. Les acides biliaires primaires, sous forme libre ou conjuguée (majoritairement) sont alors transportés de l'hépatocyte vers le canal biliaire grâce à différents transporteurs, dont le principal est la pompe d'export des acides biliaires (BSEP) (260).

Après sécrétion dans le tube digestif, les acides biliaires primaires peuvent être transformés par la flore intestinale en acides biliaires secondaires : le CA est transformé en acide désoxycholique (DCA) et le CDCA en acide litodésoxycholique (LCA) chez l'homme, auxquels s'ajoutent les transformations de l' α et du β MCA en ω MCA, en acide hyocolique (HCA), hydésoxycolique (HDCA) et 4-Hydroxy-3-methoxycinnamique (HMCA). Puisqu'ils suivent le cycle entéro-hépatiques, ces acides biliaires secondaires peuvent également subir une conjugaison hépatique à la glycine ou à la taurine.

4.1.3 Les acides biliaires en tant que médiateurs métaboliques, et la voie FXR

Au-delà de leur fonction de détergents dans la lumière du tube digestif, les acides biliaires, en particulier lorsqu'ils échappent à leur captation par le foie et circulent dans le plasma, sont également considérés comme des messagers qui régulent un certain nombre de fonctions physiologiques.

En particulier, les acides biliaires sont les ligands d'un certain nombre de récepteurs membranaires, comme le récepteur TGR5 *via* lequel ils stimulent notamment la sécrétion de GLP-1, et nucléaires, dont le plus étudié est le récepteur nucléaire FXR (264), qui est impliqué dans la régulation transcriptionnelle de gènes impliqués dans le métabolisme lipidique, glucidique et énergétique. En particulier, les souris déficientes pour FXR ont une triglycéridémie et une cholestérolémie élevées (265), alors que sa stimulation par un agoniste spécifique réduit la triglycéridémie chez des souris Ob/Ob et db/db (266). Les acides biliaires hydrophobes, en particulier le CDCA, ont l'affinité la plus forte pour ce récepteur, ainsi la composition de la bile module l'importance de ses effets sur FXR, qui est principalement exprimé dans le foie et l'intestin.

FXR régule le métabolisme des acides biliaires : leur synthèse, leur sécrétion, leur absorption intestinale et leur captation par le foie (267). L'étude de souris déficientes pour FXR montre que ces animaux ont une augmentation de l'expression de CYP7A1 et CYP8B1 et donc de la synthèse des acides biliaires, ainsi qu'une altération de leur transport (265). FXR inhibe indirectement l'expression de CYP7A1 en induisant l'expression du récepteur nucléaire Small Inhibitory Peptide (SHP) qui lui-même inhibe le facteur Liver Related Homologue-1 (LRH-1) (268). SHP réduit également l'activité du Facteur Nucléaire Hépatocytaire 4 α (HNF4 α), ce

qui inhibe CYP8B1 (269). De plus, FXR régule la conjugaison des acides biliaires en induisant l'expression de BAAT notamment, et inhibe également l'expression de BSEP et donc le transport des acides biliaires de l'hépatocyte vers la bile, induit l'expression de ABCG5 et régule le transport entérocytaire et la sécrétion des acides biliaires au pôle baso-latéral des entérocytes, régulant ainsi le cycle entéro-hépatique (267).

L'une des principales cibles identifiées de FXR au niveau de l'intestin est le fibroblast growth factor (FGF) 19 chez l'homme et son équivalent FGF15 chez la souris. FGF15/19 est une hormone principalement sécrétée dans l'iléon qui exerce notamment un rôle sur la synthèse des acides biliaires, la synthèse de glycogène et la lipogenèse (270). Notamment, FGF15/19 réduit la synthèse d'acides biliaires en inhibant l'expression de CYP7A1 de façon dépendante et indépendante de SHP (271).

4.2 L'excrétion transintestinale du cholestérol (TICE)

4.2.1 *Le TICE est actif chez l'homme et la souris*

Pendant longtemps, l'épuration du cholestérol par voie biliaire était considérée comme la seule voie d'élimination, et le foie la seule destination du cholestérol issu de la voie du transport inverse. Ainsi, on considérait la quantité de cholestérol excrétée dans les fèces comme la somme du cholestérol alimentaire non absorbé, du cholestérol excrété par voie biliaire et du cholestérol issu de la desquamation des cellules épithéliales du tube digestif. Néanmoins, en 1927, Sperry avait observé une augmentation de l'excrétion fécale de cholestérol chez des chiens ayant une dérivation biliaire (272). En 1972, Pertsemliadis et al.

montraient également une augmentation de l'excrétion fécale de cholestérol chez deux chiens nourris avec un régime sans cholestérol et ayant subi une dérivation biliaire (273). Les auteurs proposaient alors l'existence d'un transfert des stérols neutres du compartiment plasmatique vers la lumière intestinale pour expliquer cette observation.

La démonstration formelle de l'existence de cette voie alternative d'élimination a été apportée chez la souris en 2007 par l'équipe A.K Groen (274). Les auteurs ont initialement démontré que l'excrétion fécale de cholestérol demeurait supérieure aux apports alimentaires malgré la suppression de son excrétion biliaire (modèles ABCG8 et ABCB4 KO). L'intestin des souris a ensuite été canulé et perfusé avec une solution riche en accepteurs de cholestérol après ligature de la voie biliaire principale, et une injection intraveineuse de cholestérol marqué au carbone 14 a été réalisé. La mesure de la radioactivité du perfusat récolté confirmait alors l'excrétion du cholestérol plasmatique marqué dans la lumière intestinale, et ce phénomène prédominait dans l'intestin proximal (274). Cette nouvelle voie a été intitulée TICE pour « *TransIntestinal Cholesterol Efflux* ». Plus tard, il a été montré que le TICE était la voie principale d'élimination du cholestérol de l'organisme chez la souris (fond génétique C57Bl6/J) puisqu'il est responsable de 33% de l'excrétion fécale du cholestérol (33% desquamation des cellules épithéliales, 16% de cholestérol alimentaire non absorbé, 17% d'élimination biliaire) (275).

Chez l'homme, l'existence d'une telle voie d'épuration du cholestérol plasmatique vers la lumière intestinale a longtemps été critiquée. Cependant, des 2013, une étude de laboratoire sur des explants jéjunaux humains montés sur des chambres de Ussing a démontré *ex vivo* qu'un mécanisme actif (*i.e* O₂ dépendant) d'excrétion du cholestérol du compartiment

basolatéral vers le compartiment apical à travers les entérocytes humains existait (244). C'est en 2019 que notre équipe a pu démontrer pour la première fois l'existence du TICE chez l'homme (276). Dans cette étude, une injection intraveineuse de cholestérol marqué (D₇-cholestérol) a été réalisée chez deux patients présentant une obstruction biliaire complète par un cholangiocarcinome et ayant eu une dérivation biliaire externe. Chez ces patients, il était constaté une excrétion fécale de D₇-cholestérol 48 et 72 heures après l'injection intraveineuse malgré l'obstruction biliaire complète, confirmant le passage du cholestérol du plasma vers la lumière intestinale indépendamment de l'élimination biliaire (276). Grâce à l'utilisation de différents isotopes stables du cholestérol, Jakuli et al. ont montré que le TICE était responsable de 35% de l'excrétion du cholestérol chez l'homme (277).

Des données suggèrent également que le TICE pourrait contribuer au transport inverse du cholestérol. Ainsi, le transport inverse du cholestérol contenu dans les macrophages était maintenu chez des souris présentant un défaut d'élimination biliaire du cholestérol de façon constitutive (surexpression hépatique de NPC1L1) et aigue (dérivation biliaire chirurgicale) dans une étude de 2010, suggérant que la voie d'élimination biliaire pourrait ne pas être pas la seule à être impliquée dans la transport inverse (253). Néanmoins, l'année suivante, une autre étude suggérait à l'inverse que le TICE ne compensait que peu ou pas l'inhibition de la voie hépatobiliaire chez la souris pour l'élimination du cholestérol par la voie du transport inverse (258). Dans cette étude, les auteurs constataient une absence ou une très faible excrétion fécale de cholestérol marqué contenu dans des macrophages injectés en intrapéritonéal chez les souris ayant une ligature de la voie biliaire et chez les souris ayant une déficience en ABCB4 (avec une sécrétion biliaire de cholestérol virtuellement absente) (258).

Afin de pallier à l'absence de micelles de phospholipides et d'acides biliaires (accepteurs de cholestérol) dans la lumière intestinale qui limite l'étude du TICE en condition physiologique dans ces modèles, de Boer et al. ont réalisé une étude chez des rats ayant un échange de leur flux biliaires, permettant d'évaluer la part du TICE et de l'élimination biliaire dans le transport inverse du cholestérol des macrophages (278). Après injection de macrophages marqués, ces auteurs ont pu montrer que le TICE et l'élimination biliaire étaient responsable de 37% et 63% respectivement du transport inverse du cholestérol contenu dans les macrophages.

4.1.2 Les acteurs moléculaires impliqués dans le TICE

Le mécanisme d'action du TICE reste à ce jour très mal exploré. La première étape du TICE est la captation du cholestérol au pôle basolatéral de l'entérocyte. Notre équipe a précédemment pu montrer *ex vivo* que les HDL et les LDL sont susceptibles de fournir du cholestérol pour cette voie d'élimination (244). Le seul acteur moléculaire identifié, situé au pôle basolatéral et impliqué dans cette étape précoce du TICE est le LDLR. La surexpression du LDLR induite par une déficience totale en PCSK9 (souris PCSK9^{-/-}) était associée à une augmentation du TICE de 62% (244). Chez ces mêmes souris, l'inhibition du LDLR par de la PCSK9 recombinante réduisait le TICE de 35%, ce phénomène étant LDLR-dépendant puisqu'il n'était pas reproduit chez des souris déficientes en LDLR (LDLR^{-/-}) (244). Si le LDLR apparaît ainsi comme un acteur majeur du TICE, sa déficience constitutionnelle n'impacte pas négativement cette voie puisque les souris LDLR^{-/-} avaient un TICE 40% plus élevé que les souris PCSK9^{-/-} (244). Cette observation soulève la question d'une compensation par d'autres

transporteurs présents au pôle basolatéral de l'entérocyte, incluant SR-BI et LRP, dont le rôle dans le TICE reste controversé (279) ou non exploré. Notamment, chez la souris, l'activité du TICE est corrélée au niveau d'expression génique et protéiques de SR-BI dans l'intestin, cependant les souris déficientes en SR-BI n'ont pas d'altération du TICE (280). De plus, la surexpression de SR-BI dans l'intestin ne s'accompagnait pas de modification du TICE chez des souris surexprimant également NPC1L1 (éliminant préférentiellement le cholestérol par la voie du TICE) dans une autre étude (281).

Plusieurs acteurs présents au pôle apical de l'entérocyte jouent également un rôle dans le TICE. L'hétérodimère ABCG5/G8, dont l'action sur l'efflux entérocytaire du cholestérol a été évoqué précédemment (chapitre **2.2 Apports exogènes et absorption intestinale**), en est un transporteur clé. En effet, l'étude de modèles déficients montrait que le TICE était réduit de 60% chez les souris ABCG8 KO en présence d'ezetimibe (qui stimule le TICE, voir plus bas) (277), et de 40% chez des souris ABCG5 KO (275). Néanmoins, la persistance d'un TICE actif chez ces souris suggère l'action d'au moins un autre transporteur. Parmi les candidats potentiels, le transporteur ATP-binding cassette transporter B1 (ABCB1) dont il existe deux isoformes (ABCB1A et ABCB1B) peut transporter le cholestérol de la couche endoplasmique vers la couche exoplasmique de la membrane (282). L'étude de souris déficientes pour ABCB1 (ABCB1a/b^{-/-}) ayant reçu une injection intraveineuse de cholestérol marqué montrait que le TICE était réduit de 26.5% par rapport à des souris contrôle, et l'inhibition pharmacologique *ex vivo* de ce transporteur diminuait le TICE de 50 à 64% (244), confirmant son rôle dans l'excrétion au pôle apical de l'entérocyte dans le TICE. Une fois excrété au pôle apical de l'entérocyte, le cholestérol peut être réabsorbé par le transporteur NPC1L1, et il existe ainsi

une balance constante entre excrétion et réabsorption. Plusieurs études ont montré que le traitement par ezetimibe stimule fortement le TICE (277,283,284). L'ensemble de ces mécanismes est résumé dans la **Figure 24**.

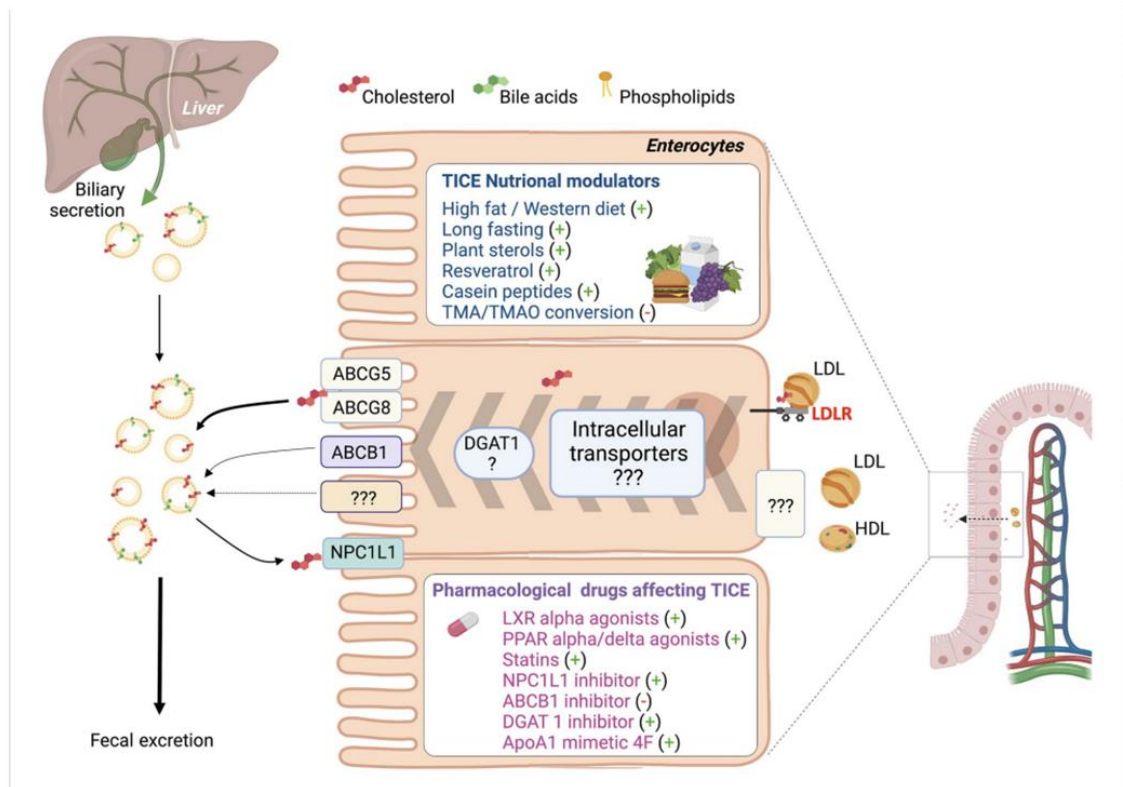


Fig. 1 Schematic representation of the current knowledge regarding the molecular determinants and regulators of the TICE pathway. The figure was created with BioRender.com

Figure 24. Régulation du TICE et principaux acteurs impliqués aux pôles basolatéral et apical de l'entérocyte. D'après Garçon et al. *Curr Atherosclerosis Rep*, 2021 (279).

Mécanismes envisagés des chirurgies bariatriques malabsorptives

conduisant à l'amélioration du métabolisme du cholestérol

L'impact des chirurgies bariatriques sur le métabolisme du cholestérol se joue à plusieurs niveaux et semble mettre en jeu plusieurs acteurs. Dans ce chapitre seront détaillées les effets connus ou suspectés des chirurgies bariatriques ayant une composante malabsorptive sur les différents aspects du métabolisme du cholestérol.

1 - Perte de poids, amélioration de l'insulinorésistance et du métabolisme des triglycérides

L'existence d'une relation dose-réponse entre perte de poids induite suite à la mise en place de règles hygiéno-diététiques seules et l'amélioration des paramètres lipidiques place la perte de poids en elle-même comme un déterminant majeur de cette amélioration (285). Les recommandations de l'American College of Cardiology et de l'American Heart Association rapportent en effet qu'une réduction du poids par mesures hygiéno-diététiques de 3 kg s'associe à une réduction de la triglycéridémie de 15 mg/dL ; une perte de 5-8 kg s'associe à une réduction du LDL-C de 5 mg/dL et une augmentation du HDL-C de 2 à 3 mg/dL (285). Notamment, la baisse du LDL-C est corrélée à la réduction de la masse grasse après RYGB (93).

Il ne semble pas surprenant qu'en reversant les effets néfastes de l'obésité sur le métabolisme lipidiques, les chirurgies bariatriques puissent exercer un impact positif sur le métabolisme du cholestérol. Ainsi, l'amélioration de l'insulino-résistance et la baisse de la

triglycéridémie après chirurgie, mécanismes majeurs qui conduisent à la dyslipidémie chez les patients obèses, sont associés à un effet bénéfique sur le métabolisme du cholestérol (81). Notamment, la réduction de la concentration plasmatique des VLDL observée après chirurgie bariatrique (286) réduit l'enrichissement des LDL et des HDL en triglycérides.

Cependant, dans une étude rétrospective, le RYGB améliorait le LDL-C et le HDL-C plus fortement que la SG et l'AG chez des patients appariés sur la perte d'excès de poids, l'âge, le sexe et l'IMC initial (287). Dans la méta-analyse d'essais randomisés de Hasan et al. discutée précédemment (105), la baisse du cholestérol plasmatique total et du LDL-C par kilogramme de poids perdu ou pour une baisse d'une unité d'IMC étaient spécifiques au RYGB et à la BPD et n'étaient pas observées après chirurgies purement restrictives, bien que la baisse de la triglycéridémie ait été comparable entre les chirurgies. **Cette observation nous pousse à penser que d'autres mécanismes, spécifiques des chirurgies malabsorptives, sont mis en jeu, au-delà de la seule perte de poids.**

2 - Réduction de l'absorption intestinale du cholestérol

L'importance de la réduction de l'absorption intestinale du cholestérol est suggérée par la relation apparente entre la longueur de l'intestin shunté et la baisse de la cholestérolémie (BPD > SADI-S > RYGB > procédures purement restrictives) (40,105). Cette hypothèse est renforcée par l'observation que la concentration plasmatique de LDL-C après un même repas mixé était diminuée uniquement après RYGB et non après SG dans une petite étude prospective (10 SG versus 9 RYGB) (288).

La réduction de l'absorption intestinale du cholestérol après chirurgies malabsorptives a été mise en évidence dès les années 60 par les expériences de H. Büchwald après exclusion iléale distale, qui montrait chez le lapin, le porc et une série de 7 patients une réduction de la concentration plasmatique de cholestérol marqué administré *per os* (96). Les résultats de cette expérience historique sont présentés en **Figure 25**.

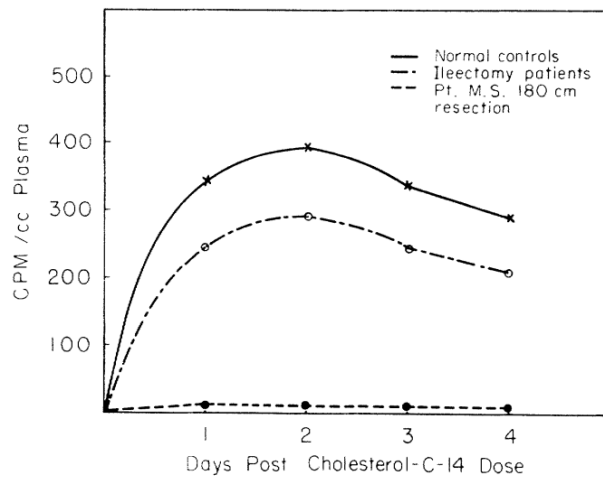


Figure 3

Human subjects. CPM/ml. of plasma, comparison of patients following ileectomy (average resection 96 cm.) with age- and sex-matched controls. The absorption curve of patient M.S., with a 180-cm. resection, plotted separately as well.

Figure 25. Mesure de la concentration plasmatique (cpm) de cholestérol marqué ingéré après exclusion iléale distale chez l'homme. Tiré de Buchwald, *Circulation*, 1964 (96).

Par la suite, d'autres études ont confirmé cette observation dans les suites de chirurgies malabsorptives modernes. Dans une étude prospective comparant 29 patients ayant eu un RYGB et 26 patients ayant eu un AG, Pihlajamäki et al. ont mesuré des marqueurs plasmatiques de l'absorption intestinale du cholestérol (les phytostérols campesterol, sitosterol, avenasterol, et cholestanol) avant et après chirurgie (289). Dans cette étude, les ratios campesterol et sitosterol sur cholestérol étaient significativement diminués de 16% et 28% respectivement après RYGB, et n'étaient pas significativement modifiés après AG,

évoquant une réduction de l'absorption intestinale du cholestérol propre au RYGB. La corrélation entre la baisse de la sitostérolémie et celle du cholestérol plasmatique suggérait le rôle de la diminution de l'absorption intestinale du cholestérol dans la baisse de la cholestérolémie observée après RYGB. De manière intéressante, la réduction de l'absorption intestinale du cholestérol n'était pas significativement associée à l'existence d'une carence nutritionnelle (fer, vitamine B12, vitamine D, magnésium). Une seconde étude prospective incluant 10 patients ayant eu une BPD et 10 patients ayant eu un AG montrait également que les concentrations plasmatiques de sitostérol et campestérol étaient significativement diminuées 6 mois après BPD uniquement (-50% et -30%, respectivement) (290). A ce jour, la seule mesure directe de l'absorption intestinale du cholestérol après chirurgie malabsorptive a été réalisée dans notre laboratoire sur modèle murin. Dans cette étude, des souris rendues obèses par régime hyperlipidique opérées d'une RYGB gavées avec une solution de D₅-cholestérol avaient une réduction de l'absorption de $40.8 \pm 6.3\%$ par rapport à des souris contrôles (Sham) (155).

Etant donné le montage anatomique propre aux chirurgies malabsorptives, l'observation d'une réduction de l'absorption intestinale du cholestérol ne semble pas surprenante. En effet, en retardant la rencontre des lipides issus de l'alimentation avec les sels biliaires et en réduisant la surface de contact avec la muqueuse intestinale, il semble clair que le RYGB et la BPD altèrent la formation des micelles et réduisent ainsi l'absorption du cholestérol luminal. Ainsi, une anse commune plus courte (comme dans la BPD-DS) serait associée à une absorption moindre. Nous nous attendons ainsi à un effet fort du SADI-S sur

l'absorption intestinal du cholestérol pour les mêmes raisons, bien que cela n'ait pas à ce jour été étudié.

Cependant, au-delà de ce simple effet mécanique, il a également été montré que ces chirurgies s'associaient à des modifications d'expression de gènes impliqués dans l'absorption du cholestérol. Dans l'étude de Blanchard et al., les expressions des ARN messagers de CD36 et SRBI étaient réduites après RYGB (155), or on sait que les souris déficientes pour CD36 ont une réduction du transport lymphatique du cholestérol alimentaire et ainsi une absorption moindre (212). D'autres ont suggéré que les expressions de récepteur nucléaire des oxystérols (LXR) et FXR, impliqués dans la régulation de l'absorption intestinale (291), étaient modifiées après chirurgie bariatrique (292). Enfin, une augmentation de la concentration (292) et des modifications qualitatives des acides biliaires tendant vers un profil plus hydrophile (155) associé à une répression de l'absorption (293), pourraient également réguler ce phénomène.

3 - Synthèse endogène

L'impact de la chirurgie bariatrique sur la synthèse endogène du cholestérol est plus controversé. D'une part, après SG, l'équipe a montré une diminution de l'expression de l'HMG-CoA réductase chez la souris, et en l'absence de modification de l'absorption, ce mécanisme pourrait être mis en lien avec la diminution transitoire de la cholestérolémie observée après cette chirurgie (155). Dans l'étude de Meoli et al., l'expression génique et protéique de l'HMG-CoA réductase était significativement augmentée chez l'homme après RYGB spécifiquement dans l'intestin (294). Cependant, les concentrations plasmatiques des

précurseurs du cholestérol (cholesténol, desmostérol, et lathostérol) étaient significativement diminuées chez l'homme un an après SG (-21%, -16% et -27%, respectivement) et après RYGB (-12%, -18% et -28%, respectivement) dans une autre étude rétrospective (289). L'étude de Benetti et al. a mis en évidence quand à elle que le lathostérol plasmatique était significativement augmenté 6 mois après BPD suggérant une biosynthèse accrue, ce qui a été interprété comme un mécanisme compensatoire de l'importante malabsorption (290). Ces résultats contradictoires ne permettent donc pas aujourd'hui d'affirmer si la synthèse endogène de cholestérol est modifiée après chirurgie bariatrique.

4 - Augmentation du HDL-C et du transport inverse du cholestérol

Une augmentation du HDL-C après chirurgie bariatrique a été rapporté par de nombreuses études. Contrairement au cholestérol total et au LDL-C, la SG et le RYGB semblent exercer un effet comparable sur la concentration de HDL-C plasmatique (105,295).

La perte de poids induite par la chirurgie, notamment en améliorant le métabolisme des triglycérides et l'insulino-résistance, permet la correction des anomalies du métabolisme des HDL décrit dans le chapitre **3.1.1 La dyslipidémie du sujet obèse** (première partie **La chirurgie bariatrique**), réduisant notamment le catabolisme des HDL. Néanmoins, plusieurs autres mécanismes, en lien ou non avec la perte de poids, sont également suspectés.

La perte de poids modifie le profil d'expression de gènes clés du métabolisme des HDL. En particulier, l'activité de la LPL diminue précocement lors d'une perte de poids rapide, puis augmente lorsque cette perte de poids se stabilise (296), ce qui explique en partie que la

variation post-opératoire de HDL-C se fait en deux temps : une diminution précoce suivie d'une augmentation à un an de la chirurgie (93).

La variation du HDL-C s'accompagne d'une modification de la composition des HDL. Dans une étude prospective incluant 19 patientes ayant un RYGB et 19 patientes maigres, les auteurs se sont attachés à étudier l'évolution du HDL-C et de la composition des HDL dans les 12 mois suivant la chirurgie (93). Si l'obésité s'accompagnait d'une augmentation de la sous population de HDL pré β -1 pauvres en lipides, plus petites et prônes au catabolisme, la chirurgie s'accompagnait d'une augmentation des sous-populations de HDL volumineuses α -1 et α -2. Cette observation s'accompagnait d'une diminution de l'activité de la CETP (réduisant les échanges entre le cholestérol des HDL et les triglycérides des VLDL), vraisemblablement résultant d'une diminution de la concentration de son substrat, le VLDL, puisque la masse totale de CETP n'était pas modifiée. A l'inverse, l'activité de la LCAT augmentait après chirurgie, permettant de fournir du cholestérol estérifié, et conduisant à des HDL plus larges (93). Observant des résultats concordants, Aron-Winewsky et al. ont également montré que le plasma de patients opérés d'un RYGB avait une capacité plus élevée à induire l'efflux cellulaire du cholestérol *in vitro* via les voies SR-BI et ABCG1 en comparaison de contrôles obèses (297). A l'inverse, l'efflux médié par ABCA1 était diminué, indiquant une réduction de son substrat (les HDL pré β -1). En particulier, les auteurs soulignaient que le RYGB s'accompagnait d'une augmentation de la concentration des larges particules de HDL (HDL2), qui avaient une capacité accrue à médier l'efflux du cholestérol via SR-BI *in vitro* (297).

De façon intéressante, deux essais randomisés suggèrent un effet inférieur de la BDP en comparaison du RYGB sur le HDL-C (68,298). S'il a été suggéré que cette observation puisse

résulter de la malabsorption majeure induite par la BPD (81), d'autres ont proposé qu'elle suggère un rôle du jéjunum proximal qui est exclu dans la BPD (296). En particulier, les apo A-I et A-IV, composants majeurs des HDL et dont l'intestin participe significativement à la synthèse, ont été montrées comme étant augmentées après RYGB (93,297,299), bien que le lien avec la synthèse intestinale reste à prouver.

5 - Augmentation de l'épuration

Notre équipe a précédemment mis en évidence sur modèle murin que le RYGB, et non la SG, s'accompagnait également d'une augmentation de l'épuration du cholestérol plasmatique (155). Chez des souris rendues obèses par un régime riche en graisse, le RYGB s'accompagnait après 35 jours d'une augmentation de l'excrétion fécale du cholestérol de +356%. Une telle augmentation de l'excrétion fécale du cholestérol après RYGB avait déjà été observée par d'autres équipes chez l'homme et l'animal (289,300,301). Cependant, dans cette étude, cette observation ne s'accompagnait pas seulement d'une réduction de l'absorption intestinale, mais également d'une augmentation de l'épuration du cholestérol plasmatique, comme en témoignait l'augmentation de l'excrétion journalière du cholestérol deuthéré (D₇-cholestérol) injecté par voie intraveineuse. Les deux voies d'épuration du cholestérol plasmatique, la voie hépatobiliaire et le TICE, ont été mesurées. De manière intéressante, le RYGB s'accompagnait d'une augmentation de l'excrétion transintestinale du cholestérol, sans modification de l'élimination biliaire. Les résultats de cette étude sont résumés dans la **Figure 26**.

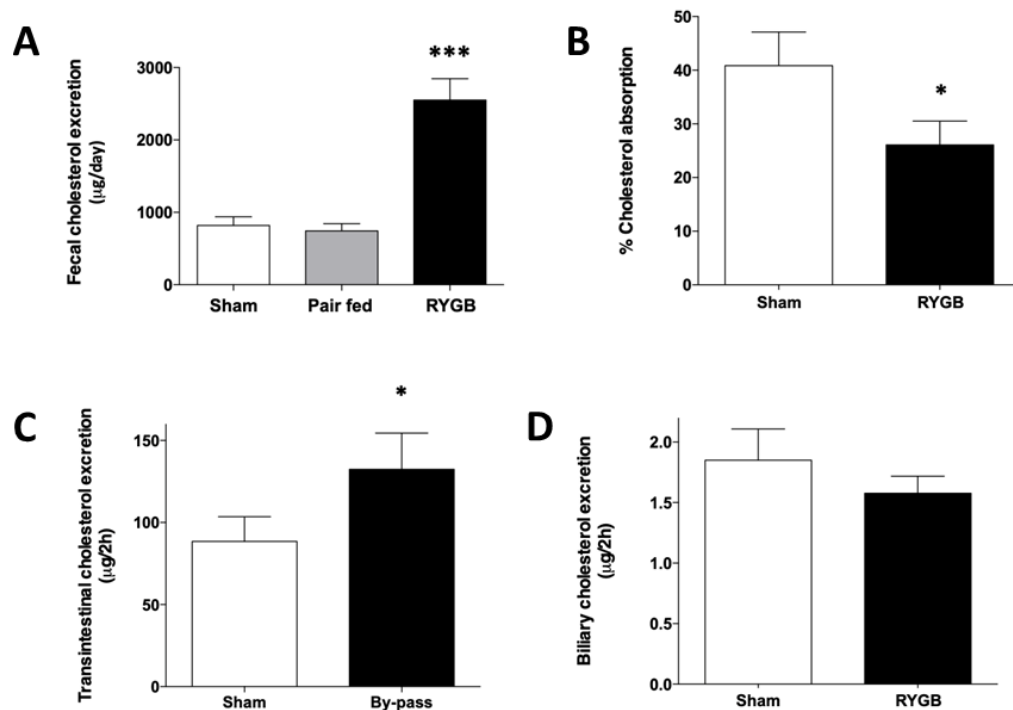


Figure 26. Impact du RYGB chez la souris sur (A) l'excrétion fécale, (B) l'absorption intestinale, (C) l'excrétion transintestinale et (C) l'excrétion biliaire du cholestérol. D'après Blanchard et al. *Int J Obes*, 2018 (155)

Cette étude est la première démontrer que les chirurgies malabsorptives pourraient exercer un effet hypocholestérolémiant par le biais d'une augmentation de l'épuration du cholestérol plasmatique, en particulier par la voie du TICE. Si l'impact clinique d'un tel phénomène chez l'homme mérite encore d'être précisé, l'identification des mécanismes mis en jeu pourrait apporter une connaissance plus poussée des effets de ces chirurgies et d'identifier de nouvelles cibles intéressantes pour la prise en charge des dyslipidémies.

6 - PCSK9 et le LDLR intestinal : Deux cibles moléculaires pouvant exercer un rôle dans les effets hypocholestérolémiants des chirurgies malabsorptives

Plusieurs études chez l'homme et l'animal ont montré que le RYGB induisait des changements morphologiques de la muqueuse intestinale sous la forme d'une hypertrophie avec allongement des villosités intestinales (**Figure 27**) (302,303). Ce remodelage pourrait avoir pour rôle de limiter la malabsorption, et est également le siège d'une reconfiguration métabolique exerçant un impact sur les métabolismes glucidique et lipidique (76).

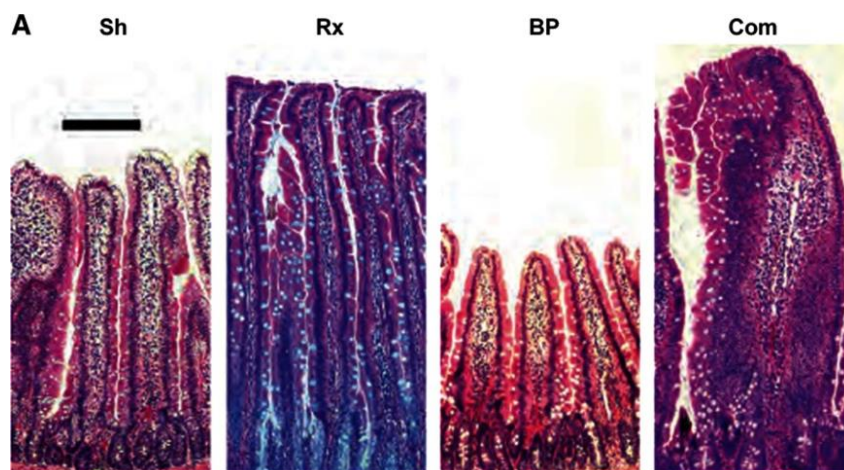


Figure 27. Aspect de la muqueuse intestinale après RYGB chez le rat. Sh : Sham, Rx : Anse alimentaire, BP : Anse biliaire, Com : Anse commune. D'après Stearns et al. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2009 (302).

Au sein de cette muqueuse intestinale remodelée, deux acteurs centraux du métabolisme du cholestérol ont été identifiés comme étant surexprimés après RYGB : PCSK9 et le LDLR intestinal.

Il apparaît clair que les chirurgies bariatriques exercent un impact sur le métabolisme de PCSK9. Tout d'abord, chez l'homme, plusieurs études s'accordent à montrer que la concentration plasmatique de PCSK9 circulant est significativement réduite après chirurgie

bariatrique. Une étude menée par le laboratoire sur 126 patients ayant eu un RYGB et 34 ayant eu une SG montrait que cette diminution n'était observée qu'après RYGB (-78% à 6 mois post-opératoire). D'autres études confirmaient ce résultat (304,305). En particulier, une méta-analyse récente montrait une diminution moyenne de -57.3 ng/mL [IC95% -88.0 ; -26.7] 6 mois après chirurgie bariatrique (incluant RYGB et BPD-DS) (306). Si ce mécanisme semble être principalement lié aux chirurgies malabsorptives, une étude sur le rat ne retrouvant également pas de modification significative de la concentration de PCSK9 circulante après SG (307), une autre étude évaluant spécifiquement les différentes formes plasmatiques de PCSK9 issues de ses modifications post-traductionnelles montrait que seule la concentration circulante du prodomaine de PCSK9 était significativement diminuée 6 mois après SG (308).

Cependant, bien que la concentration de la forme circulante de PCSK9 soit réduite, une augmentation de l'expression génique hépatique, et surtout intestinale, de PCSK9 a été suggérée. Chez la souris, notre équipe a montré une augmentation de l'expression hépatique ($\times 2.13 \pm 0.09$) ainsi qu'une forte augmentation de l'expression intestinale de PCSK9 ($\times 12.47 \pm 2.29$ dans l'anse alimentaire, $\times 2.53 \pm 0.72$ dans l'anse biliaire et $\times 13.13 \pm 0.13$ dans l'anse commune) après RYGB (155). En accord avec ces résultats, une importante induction de l'expression intestinale de PCSK9 dans l'anse alimentaire était également observée chez l'humain un an après RYGB dans une autre étude (294). Dans notre modèle murin, la concentration circulante de PCSK9 était significativement augmentée un mois après RYGB (155), dont la différence avec les études cliniques précédemment citées pourrait être liée à la durée post-opératoire : après BPD-DS, la concentration plasmatique de PCSK9 augmentait précocement, puis était suivie d'une diminution chronique dans l'étude de Boyer et al (305).

Les raisons de cette différence entre l'augmentation des expressions géniques hépatique et intestinale et la diminution de la concentration circulante de PCSK9 ne sont actuellement pas comprises. Cependant, PCSK9 pourrait être impliqué dans la prolifération cellulaire puisqu'il semble être un acteur important de la régénération hépatique (229,230). L'hypothèse pourrait être que l'augmentation de son expression intestinale puisse être impliquée dans la prolifération entérocytaire et l'hyperplasie muqueuse intestinale observée après RYGB, particulièrement dans l'anse alimentaire. Une première étude (Gérard et al. manuscrit en attente de soumission, non présenté ici) avait déjà été réalisée au laboratoire afin d'étudier les effets d'une déficience totale en PCSK9 (souris PCSK9^{-/-}) sur les adaptations observées après RYGB. Ces résultats préliminaires ne montraient pas d'impact de la déficience en PCSK9 sur la baisse de la cholestérolémie, l'épuration du cholestérol plasmatique et l'hyperplasie muqueuse intestinale après RYGB, ce qui suggère que PCSK9 n'est pas un acteur indispensable à ces mécanismes.

Le second acteur majeur du métabolisme du cholestérol sur lequel la chirurgie bariatrique a un impact est le LDLR intestinal. En comparant l'anse alimentaire de rats obèses opérés d'un RYGB avec la partie correspondante du jéjunum de rats Sham, Saeidi et al. ont montré que l'expression (d'ARN messenger et protéique) du LDLR était significativement augmentée après RYGB (76). Cette observation s'accompagnait d'une augmentation de l'expression de SREBP-2. Ces modifications d'expressions n'étaient pas visibles dans l'anse biliaire après RYGB. Plus tard, la même équipe a confirmé que cette surexpression du LDLR

(ainsi que de SREBP-2) au sein de l'anse alimentaire était également présente chez l'homme un an après RYGB (294).

Dans la même étude, Meoli et al. ont alors étudié les conséquences d'une surexpression spécifiquement intestinale du LDLR chez des souris transgéniques (hors contexte de chirurgie bariatrique). Chez les souris surexprimant le LDLR, une diminution de la cholestérolémie d'environ 50% sous régime standard était observée. Les souris transgéniques étaient également protégées de l'hypercholestérolémie lorsqu'elles étaient soumises à un régime riche en cholestérol (régime athérogénique contenant 1% de cholestérol et 0.5% d'acide cholique), et présentaient un taux de LDL-C normal. De manière intéressante, ces souris présentaient également une augmentation de l'excrétion fécale du cholestérol (294). Ensemble, ces résultats suggèrent qu'en présence d'une surexpression intestinale du LDLR, l'homéostasie du cholestérol est orientée vers sa captation au pôle basolatéral de l'entérocyte. Ce phénotype semble donc suffisant pour expliquer une réduction la concentration du cholestérol circulant. Les auteurs proposent qu'en contexte de chirurgie bariatrique, la surexpression du LDLR dans l'anse alimentaire favorise l'internalisation du cholestérol plasmatique par l'entérocyte, permettant la synthèse de membranes cellulaires et des organites nécessaires à l'hyperplasie muqueuse.

L'augmentation du LDLR intestinal pourrait alors être un des mécanismes à l'origine de la baisse de la cholestérolémie observée après RYGB. Cette hypothèse est renforcée par le fait que notre équipe a montré précédemment que le RYGB induisait préférentiellement la voie du TICE (155), dont le LDLR est un acteur majeur (244).

Etant donné son rôle central dans la régulation du métabolisme du cholestérol, la modification de l'expression du LDLR intestinal après RYGB en fait donc une cible de choix pour l'étude des mécanismes sous-tendant les effets hypocholestérolémiants des chirurgies bariatriques. Cependant, aucune étude ne démontre à ce jour de lien de causalité entre sa surexpression et les effets bénéfiques du RYGB.

Objectifs

L'objectif principal de ce travail est d'apporter une meilleure compréhension des mécanismes qui conduisent à l'amélioration du métabolisme lipidique, en particulier du cholestérol, après chirurgie bariatrique présentant une composante malabsorptive. Ces mécanismes ont été étudiés à travers quatre axes de réflexion :

1/ Comprendre le rôle du LDLR intestinal dans les effets hypocholestérolémiantes des chirurgies malabsorptives en étudiant les conséquences fonctionnelles, adaptatives et métaboliques d'une déficience spécifiquement intestinale en LDLR (souris iLDLR^{-/-}) après une telle chirurgie. Nous avons choisi pour modèle d'étude le RYGB, qui est la chirurgie de référence. Cet objectif est détaillé dans l'[article n°1](#), soumis aux co-auteurs pour relecture avant soumission au moment de l'écriture de ce manuscrit (journal visé *Journal of Lipid Research*).

2/ Transposer chez la souris, pour la première fois, une chirurgie émergente ayant un fort impact métabolique, le SADI-S, afin de permettre l'étude approfondie des mécanismes qu'elle met en jeu. La mise au point de ce modèle murin est détaillée dans l'[article n°2](#) (Frey et al. *J Vis Exp*, 2022 (165)).

3/ Comparer l'impact métabolique, en particulier glucidique, lipidique et sur la NASH, du SADI-S avec le RYGB sur un modèle de souris obèse de type Ob/Ob. Les résultats de cette étude sont présentés dans l'[article n°3](#), accepté dans le journal *Obesity* lors de l'écriture de ce manuscrit.

4/ Etudier les conséquences de l'effet hypocholestérolémiant majeur du SADI-S sur le développement de la plaque d'athérome sur un modèle de souris déficientes pour le LDLR (LDLR^{-/-}) sous régime enrichi en cholestérol. Nous présenterons les résultats préliminaires prometteurs de ces expériences dans [l'article n°4](#), qui pour des raisons d'homogénéité du manuscrit ont été rédigés sous la forme d'un *short report* (selon les recommandations aux auteurs du journal *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*) et ont vocation à être complétés (augmentation du nombre d'animaux) par les expériences en cours lors de l'écriture de ce manuscrit.

Articles originaux

Article n°1 – L'effet hypocholestérolémiant du bypass gastrique de Roux-en-Y est réduit chez des souris porteuses d'une déficience spécifiquement intestinale en LDLR

L'observation d'une surexpression du LDLR au sein de la muqueuse intestinale après RYGB (en particulier de l'anse alimentaire) chez l'homme et sur modèle murin en fait une cible moléculaire de choix pour étudier les déterminants des effets bénéfiques de cette chirurgie sur le métabolisme du cholestérol (76,294). Si la surexpression du LDLR intestinal sur souris s'accompagne d'un profil lipidique favorable, aucune étude ne démontre à ce jour son implication dans les effets hypocholestérolémiants du RYGB (294). Le rôle du LDLR intestinal dans l'hyperplasie muqueuse intestinale et dans l'induction de l'élimination du cholestérol par la voie du TICE, toutes deux observées après RYGB, a été avancé comme hypothèses pouvant expliquer une diminution de la cholestérolémie (155,294). L'objectif de cette étude était de déterminer les conséquences d'une déficience spécifiquement intestinale en LDLR sur les effets hypocholestérolémiants du RYGB.

Dans cette étude, nous avons utilisé un modèle original de souris présentant une déficience spécifiquement intestinale en LDLR (souris iLDLR^{-/-}) mis au point au laboratoire, obtenues par croisement entre des souris floxées pour le LDLR avec des souris exprimant la CRE recombinase sous le contrôle du promoteur de la villine qui est une protéine exprimée dans la muqueuse intestinale, sur un fond génétique C57Bl6. La délétion spécifiquement intestinale du LDLR obtenue chez ces souris a préalablement été validée par q-PCR. Les souris

floxées ont été utilisées comme contrôles pour cette étude (souris iLDLR^{+/+}). Des souris mâles iLDLR^{-/-} et leurs contrôles ont alors été réparties en deux groupes chirurgicaux après induction d'une obésité par un régime high fat : RYGB et laparotomie seule (groupe Sham). L'impact de la chirurgie sur la cholestérolémie et sur les étapes clés du métabolisme du cholestérol a été comparé entre ces groupes.

Cette étude démontre que la déficience en LDLR intestinale amoindrit les effets hypocholestérolémiantes du RYGB puisque les souris iLDLR^{-/-} gardaient une cholestérolémie significativement plus élevée que les souris contrôles après chirurgie, et donc confirme l'importance de cet acteur dans les effets métaboliques du RYGB. Cette observation s'accompagnait d'une altération de certaines conséquences attendues du RYGB chez les souris iLDLR^{-/-} : la baisse de l'absorption intestinale du cholestérol et l'induction de l'excrétion fécale d'acides biliaires n'étaient pas observées après RYGB chez ces souris.

La déficience en LDLR intestinal n'altérait en revanche pas l'adaptation muqueuse de l'anse alimentaire puisqu'une hyperplasie similaire était observée après RYGB chez les souris iLDLR^{-/-} et iLDLR^{+/+}. De plus, l'épuration du cholestérol plasmatique était induite de la même manière après RYGB chez les souris iLDLR^{-/-} et iLDLR^{+/+}. Cette observation suggère deux hypothèses : 1/ l'épuration du cholestérol plasmatique par la voie hépatobiliaire est favorisée en cas de défaut du TICE en l'absence du LDLR intestinal, ou bien 2/ il existe un mécanisme de compensation en cas de déficience chronique en LDLR intestinal par un transporteur inconnu. A l'avenir, les perspectives de ce projet pourraient inclure la recherche de ces transporteurs intestinaux encore inconnus par des approches sans à priori (approches « omiques ») afin

d'identifier de nouveaux acteurs moléculaires impliqués dans l'effet hypocholestérolémiant du RYGB.

The RYGB-induced hypocholesterolemia is attenuated in intestine-specific LDLR deficient mice

Short title: Role of intestinal LDLR on cholesterol homeostasis after RYGB

Funding: This work received grants from the project Nantes Excellence Trajectory (NExT) (project Bach, ref R22140NN), the *Société Française et Francophone de Chirurgie de l'Obésité et des Maladies Métaboliques* (SOFCOMM) and the fondation Genavie. SF was supported by a salary grant from Inserm (Poste d'accueil: 2021-2023).

ABSTRACT

Roux-en-Y gastric bypass (RYGB) decreases plasma cholesterol levels through decreased intestinal cholesterol absorption, increased cholesterol epuration and cholesterol storage in hyperplasic intestinal mucosa. A role of the intestinal low-density lipoprotein receptor (LDLR), a key actor of the cholesterol metabolism, has been suggested. This study aimed to assess the effects of an intestine-specific LDLR deficiency on the cholesterol metabolism after RYGB. Mice carrying an intestine-specific LDLR deficiency (iLDLR^{-/-}) were compared with control mice (iLDLR^{+/+}). After their weight overcome 40g under high fat diet, both underwent either a RYGB or a laparotomy alone (Sham), and were followed for 35 post-operative days. Body weight decreased similarly after RYGB in both groups compared with Sham (26.1±2.3% in iLDLR^{+/+} and 23.2±1.7% in iLDLR^{-/-} mice at D35). Plasma cholesterol concentration decreased significantly in both groups after RYGB compared with Sham mice (-36.1% in iLDLR^{+/+} mice and -34.9% in iLDLR^{-/-} mice at D35, p<0.001 for both). However, iLDLR^{-/-} mice had a significantly higher longitudinal plasma cholesterol concentration compared to iLDLR^{+/+} mice from day 21 after surgery (two-way ANOVA, p=0.0014). Plasma campesterol and sitosterol to cholesterol ratios, reflecting intestinal cholesterol absorption, were significantly decreased after RYGB in iLDLR^{+/+} but not in iLDLR^{-/-} mice. In addition, a two-fold fecal bile acids excretion increase occurred in iLDLR^{+/+} after RYGB but not in iLDLR^{-/-} mice. Neither plasma cholesterol epuration nor mucosal hyperplasic adaptation induced

by RYGB were impaired in iLDLR^{-/-} mice. In conclusion, the intestinal LDLR exert a significant role in the hypocholesterolemic effect of RYGB.

Keywords: Obesity, Bile acids and salts, cholesterol, dyslipidemias, intestine

ABBREVIATIONS

ABCB: ATP-binding cassette

CA: Cholic acid

CDCA: Chenodeoxycholic acid

D35: Days 35 after surgery

DCA: Deoxycholic acid

FGF15: Fibroblast growth factor 1

HDCA: Hyodeoxycholic acid

HDL-C: High density lipoprotein cholesterol

IBABP: Ileal bile acid-binding protein

IBAT: Ileal bile acid transporter

LCA: Lithocholic acid

LDL-C: Low-density lipoprotein cholesterol

LDLR: Low-density lipoprotein receptor

LRP1: Low density lipoprotein receptor-related protein 1

MCA: Muricholic acid

NPC1L1: Niemann–Pick C1-like 1

Q-PCR: Real-time quantitative PCR

RYGB: Roux-en-Y gastric bypass

SR-BI: Scavenger receptor class B type 1

SREBP-2: Sterol regulatory element-binding protein-2

TICE: Transintestinal cholesterol excretion

UDCA: Ursodeoxycholic acid

WAT: white adipose tissue

INTRODUCTION

While obesity has become a major therapeutic challenge, affecting nearly 20% of adults worldwide (1), bariatric surgeries have risen as the most efficient therapeutic tool. Beyond their effects on weight loss, these procedures have been associated with positive metabolic outcomes, at the base of the concept of “metabolic surgeries”. While diabetes is nowadays considered as their main target, leading to the concept of diabetes surgical treatment (2), initial intents of metabolic surgeries by bypassing the small intestine aimed to reduce the plasma cholesterol level (3), which was later associated with a decrease in fatal and non-fatal coronary events (4). Since then, multiple reports and meta-analyses confirmed that bariatric surgeries improve lipid homeostasis, with a 60 – 70% resolution rate of pre-existing dyslipidemia (5–7). Procedures that involve a “malabsorptive” mechanism, such as the Roux-en-Y gastric bypass (RYGB) which is the gold standard, exert the strongest impact, characterized by a reduced plasma triglycerides and low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) concentration and an increased high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) concentration (8,9). However, the mechanisms beyond this improvement are still poorly known.

The RYGB is characterized by a “Y” shaped anatomy, in which the small bowel is rearranged into an alimentary limb, a biliary limb, and a common limb. This particular anatomy drives limb-specific mechanisms associated with metabolic benefits (10), and is associated with mucosal adaptations, especially in the form of a mucosal hypertrophy within the alimentary limb (11,12). Particularly, studies on rodents and humans have shown that a key actor of the cholesterol metabolism, the LDL receptor (LDLR), is overexpressed at the basolateral site of the enterocytes in the alimentary limb after RYGB (12,13). Interestingly, authors have shown that a LDLR overexpression in transgenic mice led to decreased plasma cholesterol concentrations and an increased fecal cholesterol excretion (12). They hypothesized that the LDLR overexpression observed after RYGB could act as a “cholesterol depot”, providing the cholesterol that is needed for mucosal hyperplastic remodelling.

In a previous study, we showed in a mouse model that the hypocholesterolemic effects of RYGB was linked with an upregulated trans-intestinal cholesterol excretion (TICE) in addition to a reduced intestinal cholesterol absorption, without significant modifications of the biliary cholesterol output pathway (14). As the LDLR is a major actor involved in the TICE (15,16), taken together, these results suggest a key role of the LDLR in the effects of RYGB on the cholesterol metabolism.

This study aimed to decipher the role of the intestinal LDLR the hypocholesterolemic effect observed after RYGB. We performed RYGB in a mouse model that carry an intestine-specific LDLR deficiency and investigated its impact on the plasma cholesterol concentration and metabolism.

MATERIALS AND METHODS

Animals and surgeries

LDLR^{f/f} mice, obtained from the EMMA repository consortium, were crossed with Villin-CRE mice obtained from others (17) to obtain mice carrying an intestine-specific LDLR deficiency (iLDLR^{-/-}) with a C57Bl6 background. Through the entire study, LDLR^{f/f} mice were used as controls (iLDLR^{+/+}). Ten week-old mice were placed for 10 to 12 weeks under high-fat diet (60 Kcal% fat from Research diets, Inc. New Brunswick, USA: caseine 25.8%, L-cystine 0.4%, maltodextrin 16.5%, sucrose 9.4%, fiber 6.5%, lard 31.7%, soybean oil 3.2%, mineral 6.5%, vitamin 6.8%) and had free access to water containing an additional 20% fructose. Mice for which body weight exceeded 40 grams were then randomized on body weight and plasma glucose concentration to undergo either a RYGB or a laparotomy alone (Sham group). Therefore, four groups were analyzed: LDLR^{+/+} Sham, LDLR^{+/+} RYGB, LDLR^{-/-} Sham, and LDLR^{-/-} RYGB.

Surgeries were performed as described previously (14,18). Isoflurane was used to induce (5%, 1 L/min plus 1 L/min oxygen) and maintain (2.5%, 0.4 L/min plus 0.4 L/min oxygen) general anesthesia. For RYGB, a pylorus ligation was performed with 6/0 non absorbable cord, followed by the creation of an 8 cm biliary limb and a 6 cm alimentary limb, the remaining small bowel corresponding to the common limb, with a Y-shaped anatomy. Gastro-jejunal and jejuno-jenunal anastomoses were performed with an 8/0 non absorbable running suture. For Sham surgeries, mice underwent a laparotomy identical to RYGB, followed by gentle mobilization of the stomach and the small bowel, and were kept under anesthesia for a duration comparable with RYGB.

Post-operative follow-up

Mice were kept after surgery in individual cages with immediate access to water enriched with 20% fructose. Free access to solid high fat diet was given three days after surgery. Mice were kept in a 30° C atmosphere for 7 days to recover. Perioperative analgesia was ensured with subcutaneous

buprenorphine injections (0.1 mg/Kg) before surgery and twice a day for five days. Prokinetics (metoclopramide, 1 mg/Kg subcutaneously) and antibiotics (amoxicillin, 15 mg/Kg subcutaneously) were provided twice a day for three days. A subcutaneous daily iron supplementation (0.5 mg/Kg) and an oral vitamin supplementation (800 mg/180 mL of water including vitamin B1, B9, B12, A, D, E, K) were continued until the end of the experiment, as previously described (18). Mice were weighted weekly, and food intake was calculated by weighting the amount of solid diet that remained in the cage. Thirty-five days after surgery (D35), mice were euthanized by cervical dislocation followed by cardiac puncture under general anesthesia (ketamine plus xylazine, 80/10 mg/kg, intraperitoneal injection). Sub-cutaneous and gonadal white adipose were weighted.

Plasma cholesterol and triglycerides measurements

Blood samples were taken at the tail weekly and by cardiac puncture at D35 in EDTA-coated tubes for plasma separation. Three hours of fasting ensured homogenous gastric emptying. Plasma cholesterol and triglycerides were measured using colorimetric kits (Sobioda, Montbonnot-Saint-Martin, France) according to the manufacturer's recommendations.

Glucose homeostasis

Plasma glucose concentration was measured at the tail using an Accu-Chek® glucometer (Roche Diabetes, Meylan, France) after three hours of fasting. An oral glucose tolerance test (OGTT) was performed 21 days after surgery after six hours of fasting by gavage of 2 g/Kg of a glucose solution. Glycemia was measured before gavage, and then 15, 30, 60 and 120 minutes thereafter.

Histological analyses

After sacrifice, five millimeters intestinal samples were fixed in 4% paraformaldehyde and embedded into paraffin. In mice that underwent RYGB, samples from the alimentary limb were collected 1 cm after the gastro-jejunal anastomosis. In Sham mice, the region of the small bowel that corresponded

to the alimentary limb of RYGB was situated 9 cm from the pylorus. Five micrometers intestinal sections were stained in hematoxylin and eosin. Mucosal area was determined using NDPview2 software (Hamamatsu Photonics K.K., Shizuoka, Japan) was used for analyses.

Sterols and bile acids measurements

At day 32 after surgery, mice underwent an intravenous penile injection of labelled cholesterol (D₇-cholesterol, 0.3 mg in 100 µL intralipid) under isoflurane-induced general anesthesia. Blood was collected at the tail in EDTA-coated tubes for plasma separation two minutes and 72 hours after injection to follow labelled cholesterol plasmatic clearance. Feces were collected for three days until D35. Fecal and plasma sterols including cholesterol, D₇-cholesterol, campesterol, sitosterol, and coprostanol) were quantified by gas chromatography-mass spectrometry, as described previously (19). Bile acids were measured in feces by liquid chromatography-tandem mass spectrometry as described in (20).

mRNA expression analyses

Intestinal mucosa from each limb after RYGB and the corresponding intestinal segment in Sham mice were collected in cell recovery solutions (Discovery Labware, Inc., Bedford, USA). RNA was extracted from intestinal mucosa and liver samples using NucleoSpin RNA II kit (Macherey Nagel, Hoerd, France). Real-time quantitative PCR (Q-PCR) was performed after reverse transcription with a TaqMan 7900 Sequence Detection System (Applied Biosystems, Warrington, UK).

Statistical analyses

Data are represented as mean ± standard error of the mean. Transversal measures were compared between groups with Mann-Whitney or Kruskal-Wallis tests, and longitudinal measures with ANOVA two factors with Tuckey's test for multiple comparisons. A p-value <0.05 was deemed significant.

Graphpad Prism software version 8.0.1 (Graphpad Software, San Diego, CA, USA) was used for statistical analyses.

RESULTS

General post-operative follow-up

Control mice (iLDLR^{+/+}) and mice that carry an intestine-specific LDLR deficiency (iLDLR^{-/-}) were either subjected to RYGB or Sham surgery. Mean operating times were similar between groups (Sham iLDLR^{+/+} 69.3 ± 1.4 minutes, RYGB iLDLR^{+/+} 67.5 ± 1.4 minutes, Sham iLDLR^{-/-} 68.4 ± 1.1 minutes and RYGB iLDLR^{-/-} 66.9 ± 1.6 minutes). All mice had initial body weight higher than 40 grams, and mean body weight before surgery was comparable between groups (**Figure 1A**). After surgery, the mean body weight decreased significantly after RYGB in both iLDLR^{+/+} and iLDLR^{-/-} mice from day 7 and remained significantly lower in comparison with Sham mice along the follow-up (**Figure 1B**). At D35, the mean body weight decreased of 26.1 ± 2.3% in iLDLR^{+/+} mice and 23.2 ± 1.7% in iLDLR^{-/-} mice without significant differences between genotypes. Accordingly, RYGB significantly reduced both gonadal and sub-cutaneous white adipose tissue weights compared with Sham mice with the same proportions in iLDLR^{+/+} and iLDLR^{-/-} mice (**Figures 1C and 1D**). In accordance with our previous studies (14,18), RYGB did not significantly modified food intake (**Figure 1E**). RYGB significantly reduced longitudinal random fed glycemia in both iLDLR^{+/+} and iLDLR^{-/-} mice in comparison with Sham mice as well as glucose tolerance during OGTT (**Figure 2A and 2B**).

Intestinal LDLR deficiency lowers the impact of RYGB on plasma cholesterol concentration

Plasma cholesterol concentration was significantly decreased after RYGB in both genotypes in comparison with their respective Sham mice (-36.1% in iLDLR^{+/+} mice and -34.9% in iLDLR^{-/-} mice at D35, p<0.001 for both) (**Figure 3A**). However, iLDLR^{-/-} mice had a significantly higher longitudinal plasma cholesterol concentration compared to iLDLR^{+/+} mice from day 21 after surgery (two-way ANOVA, p=0.0014), suggesting that the of intestinal LDLR deficiency has a negative impact on the hypocholesterolemic effect of RYGB. Longitudinal plasma triglycerides concentrations were not significantly modified between conditions (**Supplemental Figure 1**).

Intestinal LDLR deficiency alters the effect of RYGB on intestinal cholesterol absorption but not plasma cholesterol euration

To assess the impact of intestinal LDLR deficiency on cholesterol homeostasis after RYGB, intestinal cholesterol absorption and plasma cholesterol euration were studied. Plasma campesterol and sitosterol to cholesterol ratios, which are proxies for intestinal cholesterol absorption, were significantly decreased after RYGB in iLDLR^{+/+} mice (**Figure 3B**). However, this change was not reproduced in iLDLR^{-/-} mice after RYGB, suggesting that RYGB did not decrease the cholesterol absorption in these mice. Of note, fecal excretion of campesterol and sitosterol, that are handled by similar intestinal transporter than cholesterol, were not altered between all conditions (*data not shown*), suggesting that these plasma ratios indeed reflected intestinal cholesterol absorption and not their accumulation in the organism.

In order to study the plasma cholesterol euration, exogenous D₇-cholesterol was injected intravenously, and its clearance and fecal elimination were followed over 72 hours. In comparison with their respective Sham mice, RYGB increased the plasma clearance of D₇-cholesterol in both genotypes (**Figure 3D and 3E**). Similarly, the mean daily fecal D₇-cholesterol excretion doubled in iLDLR^{+/+} mice ($p < 0.01$ versus Sham iLDLR^{+/+}) and iLDLR^{-/-} mice, although the latest did not reach statistical significance (**Figure 3F**), suggesting that the differences in cholesterol homeostasis observed between genotypes were not mediated by altered plasma cholesterol euration.

mRNA expression (Q-PCR) of key genes involved in the cholesterol transport through the enterocyte were measured in each functional limb. In iLDLR^{+/+} mice, LDLR mRNA was upregulated by two-fold within the alimentary and the common limb ($p = 0.048$ and 0.073 in Mann Whitney test, respectively). Both groups showed a comparable increased expression of the 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-coenzyme A (HMG-CoA) reductase, the limiting rate enzyme of cholesterol synthesis, within the alimentary limb (fold induction versus Sham mice 4.42 ± 1.19 and 5.43 ± 1.39 , $p = 0.010$ and $p = 0.041$ in Mann Whitney

test, respectively) after RYGB. Mean mRNA expressions fold changes compared to their respective Sham mice were compared between iLDLR^{+/+} and iLDLR^{-/-} mice (**Figure 4**). Compared with iLDLR^{+/+} mice, RYGB induced a significant downregulation of CD36 (biliary limb), lipoprotein receptor-related protein 1 (LRP1) and Niemann-Pick C1-like 1 (NPC1L1) (common limb) in iLDLR^{-/-} mice. A stronger increase in the mRNA expression of sterol regulatory element-binding protein-2 (SREBP-2) and HMG-CoA reductase occurred in iLDLR^{+/+} mice (common limb). We also observed a strong upregulation of genes involved in bile acids transport through the enterocyte in iLDLR^{+/+} mice after RYGB, namely ileal bile acid transporter (IBAT) and ileal bile acid-binding protein (IBABP), that was significantly lower in iLDLR^{-/-} mice.

Liver mRNA expression measurement (**Supplemental Figure 2**) showed that HMG-CoA reductase and SREBP-2 expressions, among others key actors of the cholesterol metabolism, were not significantly modified after surgery in both genotypes.

Intestinal LDLR deficiency impacts fecal bile acids excretion and composition after RYGB

RYGB was associated with a similar increase in fecal cholesterol excretion in mice from both genotypes compared with Sham surgeries (1763 ± 176 vs. 500 ± 47 µg/day in iLDLR^{+/+} mice, p<0.001; 1329 ± 145 vs. 582 ± 37 µg/day in iLDLR^{-/-} mice, p=0.016) (**Figure 5A**). Fecal coprostanol excretion was low in all mice under high-fat diet in accordance with others (21), and showed a trend toward a decrease in iLDLR^{+/+} mice after RYGB that did not reach statistical significance (**Figure 5B**).

Interestingly, Sham iLDLR^{-/-} mice displayed higher total fecal bile acids excretion than Sham iLDLR^{+/+} mice (1161 ± 170 vs. 561 ± 90 µg/day, p=0.047) (**Figure 5C**), although their bile acids composition was similar (**Figure 5D**). An increased fecal bile acid output by approximately two-fold was observed after RYGB compared to Sham surgery (p=0.062) in iLDLR^{+/+} mice only, while no change was observed in comparison with the Sham group in iLDLR^{-/-} mice (**Figure 5C**). This observation was related with a

significant increase in fecal excretion in cholic acid (CA) and β -muricholic acid (β -MCA) after RYGB in iLDLR^{+/+} mice (**Figures 5D and 5E**). While a trend for an increase in fecal CA also occurred after RYGB in iLDLR^{-/-} mice, while fecal β -MCA did not change compared with Sham surgery in this group of mice.

The impact of intestinal LDLR deficiency on plasma cholesterol after RYGB does not result from impaired intestinal mucosal adaptation

Because hypertrophic adaptation of the intestinal mucosa has been reported after RYGB within the alimentary limb in association with the increased expression of the LDLR, we specifically studied this intestinal region after RYGB in comparison with the corresponding intestinal segment in Sham mice (**Figure 5A**). Histologic analysis of intestinal mucosa revealed that mucosal area was significantly increased in both groups after RYGB compared with Sham mice (4.73 ± 0.70 vs. 2.30 ± 0.24 mm² in iLDLR^{+/+} mice, $p=0.11$; 4.60 ± 0.31 vs. 2.50 ± 0.17 in iLDLR^{-/-} mice, $p=0.045$) suggesting that RYGB was associated with alimentary limb mucosal hypertrophy regardless the presence of the LDLR (**Figure 5B**).

DISCUSSION

The present study shows that the benefic impact of RYGB on cholesterol homeostasis is impaired in mice with an intestine-specific LDLR deficiency. In control mice, RYGB was associated with a decrease in plasma cholesterol level related with a lower intestinal cholesterol absorption, a higher plasma cholesterol epuration and fecal bile acids output. Conversely, *iLDLR^{-/-}* mice had a higher intestinal cholesterol absorption and lacked bile acid output induction. These differences were not related with a significant impact of the intestinal LDLR deficiency on the intestinal mucosal adaptation after RYGB.

Since its discovery by Goldstein and Brown in the 70's (22), the LDLR is considered a major actor of the cholesterol metabolism, playing a key role in the interface between intra- and extracellular cholesterol concentrations. While mainly expressed in hepatocytes, the LDLR is also expressed at the basolateral side of the enterocyte (23) where it is implicated in the internalization of the circulating cholesterol in the plasma compartment in the enterocyte. In our study, Q-PCR mRNA expression analysis confirmed that the LDLR was up-regulated by two-fold after RYGB in control mice, especially within the alimentary limb's mucosa. This observation is in accordance with others. Previously, Seidi et al. reported a similar two-fold increase in mRNA, as well as in protein, expression of the LDLR in the alimentary limb of rats after RYGB compared to Sham rats (13). The same team showed later that this phenomenon also occurs in humans (12). Nevertheless, apart from the fact that intestinal LDLR overexpression improves cholesterol homeostasis independently from bariatric surgery (12), the impact of this LDLR upregulation after RYGB has yet never been assessed directly.

The main result of our study is that plasma cholesterol remained significantly higher after RYGB in *iLDLR^{-/-}* mice in comparison with control mice, validating the hypothesis that intestinal LDLR plays a substantial role in the hypocholesterolemic effect of RYGB. Interestingly, from 21 days after surgery, this difference appeared to be independent from weight loss, as total body weight as well as gonadal and subcutaneous adipose tissues decreased similarly between groups. It also occurred independently

from any glucose homeostasis alteration due to LDLR deficiency, as the same improvement in random fed plasma glucose level and glucose tolerance were observed after RYGB than in control mice. It seems clear that weight loss and improved insulin resistance participate to improve the cholesterol homeostasis after RYGB (24), clinical studies showing a correlation between LDL-c reduction and fat mass after surgery (25). In this line, it can be hypothesized that the initial improvement in plasma cholesterol observed in iLDLR^{-/-} mice (at day 14) in our study could result from the initial post-operative rapid body weight drop. However, the fact that, for a similar weight loss, only the procedures that involve malabsorption impact plasma total cholesterol and LDL-c concentrations, in opposition with purely restrictive procedures such as sleeve gastrectomy and gastric banding (8), proves the involvement of other mechanisms in which the intestinal LDLR can play a role.

While control mice displayed lower plasma cholesterol absorption after RYGB, estimated by well used proxies that are the plasma campesterol and sitosterol to cholesterol ratios (26), no such effect was observed in iLDLR^{-/-} mice in our study. While this observation could appear counterintuitive, as the LDLR is not expressed at the apical side of the enterocyte and is not implicated in cholesterol absorption, we can speculate that its deficiency induces compensatory mechanisms and a different equilibrium in cholesterol homeostasis, that can alter the impact of RYGB on intestinal absorption. Malabsorptive surgeries have been shown to decrease the intestinal cholesterol absorption in both mice and humans (14,27,28), a phenomenon that is proportional to the length of shunted small bowel during the surgical procedure (5,8). However, beyond a simple reduction in the surface of contact between the intestinal mucosa and the aliments, active mechanisms induced by these surgeries, including modulation of intestinal gene expression profile and bile acids composition and signaling (29), seem to modulate this effect. Change in bile composition, especially with hydrophilic bile acids that are associated with lower intestinal cholesterol absorption (30), have been observed after RYGB (14,31,32). Interestingly, in our study, fecal β -MCA, a hydrophilic bile acid, was increased after RYGB

in iLDLR^{+/+} mice while this induction was not present in iLDLR^{-/-} mice in comparison with their Sham littermate. Although Sham iLDLR^{-/-} mice present with a higher β -MCA excretion level than iLDLR^{+/+} mice, suggesting a proper equilibrium in the absence of the LDLR, the lack of β -MCA induction after RYGB could play a role in the reduced impact of this surgery on intestinal cholesterol absorption. In control mice, the stronger intestinal mRNA expression of NPC1L1, the key cholesterol transporter located at the apical side of the enterocyte, after RYGB could be interpreted as a compensatory mechanism for the strongly reduced absorption that is absent in iLDLR^{-/-} mice. While endogenous cholesterol synthesis plays an important role in the control of cholesterolemia, no impact of RYGB was observed on liver mRNA expression of HMGCoA reductase, the limiting enzyme of cholesterol synthesis.

Different impacts of RYGB on fecal bile acids excretion were observed between genotypes. While total bile acids excretion increased after RYGB in iLDLR^{+/+} mice along with an overexpression of intestinal bile acids transporters IBAT and IBABP, this effect was not present in iLDLR^{-/-} mice. Bariatric surgeries have been classically associated with an increased delivery of bile acids to distal segments of small and large intestine (33), which could participate to the benefic metabolic impact of these surgeries, involving FXR-FGF15 and TGR5 signaling pathways (34,35). Increase in both fecal CA and β -MCA, two primary bile acids, was responsible for the higher fecal excretion of total bile acids observed after RYGB in iLDLR^{+/+} mice. Accordingly, others reported that in the long term after RYGB, changes in bile acids composition mainly concerned primary bile acids CA and CDCA in humans (31).

Although lower than in control mice, the hypocholesterolemic impact of RYGB was not abolished in iLDLR^{-/-} mice, which still displayed a significant increase in fecal cholesterol output. Surprisingly, RYGB was associated with an increase in plasma cholesterol euration similar to control mice, as shown by an exogenous D₇-cholesterol excretion in feces. Plasma cholesterol euration can result from two pathways: the TICE, which is the main route of fecal cholesterol euration in mice (36), and the hepatobiliary pathway. We have previously shown that in wild type mice, TICE was upregulated after

RYGB while biliary cholesterol excretion was not modified (14). The LDLR is a major actor involved in the TICE pathway: LDLR overexpression induced by proprotein subtilisin/kexin type 9 (PCSK9, a natural LDLR inhibitor) deficiency in mice increased TICE by 62%, whereas acute LDLR inhibition by recombinant PCSK9 decrease TICE by 35% (15). The observation of a conserved plasma cholesterol epuration after RYGB despite intestinal LDLR deficiency can have two explanations. First, the decrease in TICE could be compensated by an increased biliary excretion. However, the lack of effect of RYGB on target genes expression implicated in the cholesterol epuration through bile, especially through the heterodimer ABCG5/G8 (37), plea against this hypothesis. Secondary, LDLR deficiency could be counterbalanced by one or several other transporter(s) implicated in TICE located at the basolateral side of the enterocyte (16), an hypothesis that has already been formulated following the observation that TICE is active in mice that carry a full-body LDLR deficiency (15). Among known cholesterol transporters that could have explained this result, the mRNA expression of SR-BI and LRP1 were not upregulated in *iLDLR^{-/-}* mice after RYGB, suggesting that other unknown transporters could be implicated. This strongly highlights the need for transcriptional studies to identify these actors.

An intestinal mucosal hypertrophy has been described after RYGB, especially within the alimentary limb, increasing the surface of contact between nutrients and the surface dedicated to absorption (11,12). Because intestinal LDLR overexpression induces mucosal hypertrophy, Meoli et al. hypothesized that the intestine, by increasing its cholesterol content through the LDLR, could act as a “cholesterol depot” which could mediate the hypocholesterolemic effects of RYGB (12). In this study, we showed a worst plasma cholesterol control in *iLDLR^{-/-}* despite the same level of hypertrophy than control mice, showing that 1/ the LDLR is not required in this adaptative mechanism, and 2/ intestinal hypertrophy is not sufficient to explain the benefic impact of RYGB on cholesterolemia. The increased mRNA expression of HMGCoA reductase in the alimentary limb mucosa after RYGB in *iLDLR^{-/-}* mice

suggest that cholesterol synthesis, instead of iLDLR uptake, could play a significant role in this adaptative mechanism.

CONCLUSION

In this study, mice with an intestine-specific LDLR deficiency exhibited a lower effect of RYGB on the control of plasma cholesterol level. This observation was associated with the loss of the effect of RYGB on intestinal cholesterol absorption and total amount of fecal bile acids excretion compared to control mice. However, significant plasma cholesterol epuration and intestinal mucosa proliferation still occurred in LDLR-deficient mice. Therefore, the intestinal LDLR is significantly implicated in the hypocholesterolemic effect of RYGB.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank the animal facility (UTE-IRS-UN) for its help in the setting of animal care protocols. They also thank the core facilities Corsaire, Micropicell and Therassay.

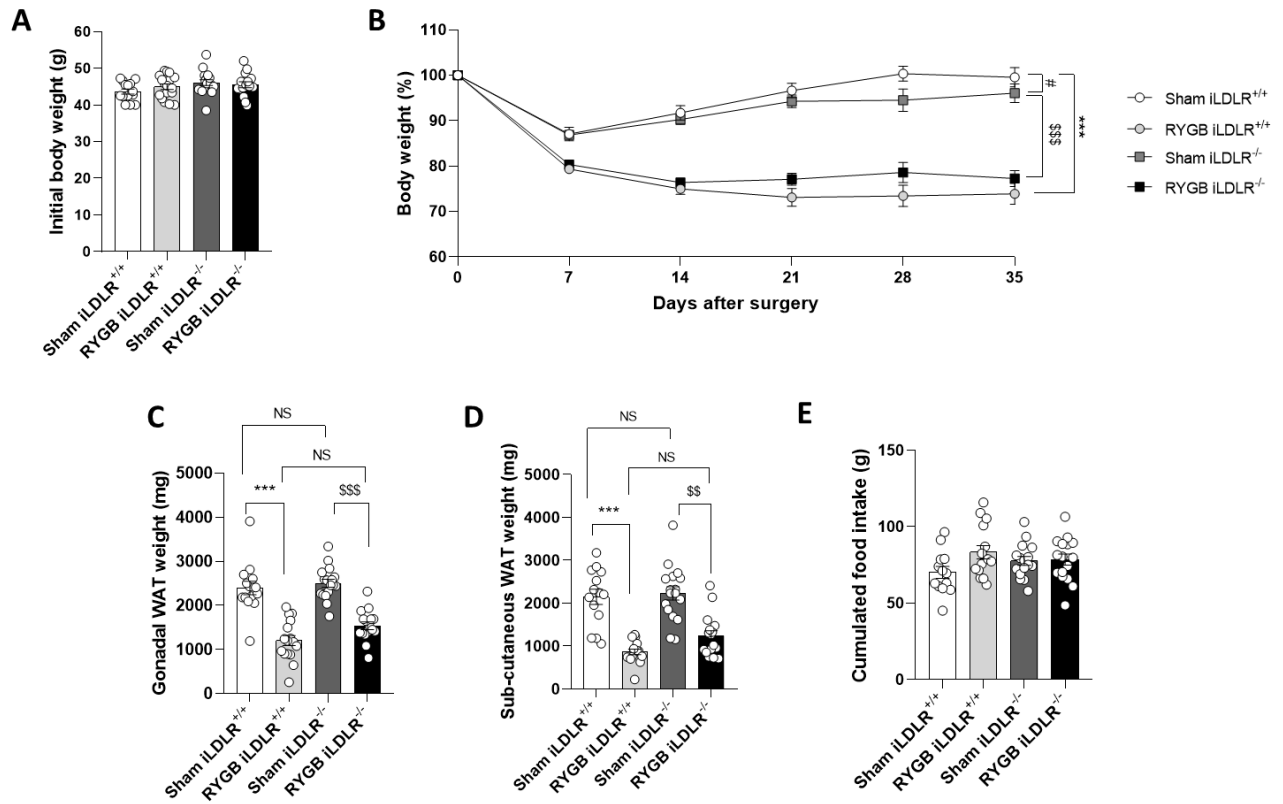
REFERENCES

1. Blüher M. Obesity: global epidemiology and pathogenesis. *Nat Rev Endocrinol.* 2019;15(5):288-298.
2. Rubino F, Kaplan LM, Schauer PR, Cummings DE; Diabetes Surgery Summit Delegates. The Diabetes Surgery Summit consensus conference: recommendations for the evaluation and use of gastrointestinal surgery to treat type 2 diabetes mellitus. *Ann Surg.* 2010;251(3):399-405.
3. Buchwald H. Lowering of cholesterol absorption and blood levels by ileal exclusion. Experimental basis and preliminary clinical report. *Circulation.* 1964;29:713-20.
4. Buchwald H, Varco RL, Matts JP, Long JM, Fitch LL, Campbell GS, Pearce MB, Yellin AE, Edmiston WA, Smink RD Jr, et al. Effect of partial ileal bypass surgery on mortality and morbidity from coronary heart disease in patients with hypercholesterolemia. Report of the Program on the Surgical Control of the Hyperlipidemias (POSCH). *N Engl J Med.* 1990;323(14):946-55.
5. Buchwald H, Avidor Y, Braunwald E, Jensen MD, Pories W, Fahrback K, Schoelles K. Bariatric surgery: a systematic review and meta-analysis. *JAMA.* 2004 ;292(14):1724-37
6. Chang SH, Stoll CR, Song J, Varela JE, Eagon CJ, Colditz GA. The effectiveness and risks of bariatric surgery: an updated systematic review and meta-analysis, 2003-2012. *JAMA Surg.* 2014;149(3):275-87.
7. Ricci C, Gaeta M, Rausa E, Asti E, Bandera F, Bonavina L. Long-term effects of bariatric surgery on type II diabetes, hypertension and hyperlipidemia: a meta-analysis and meta-regression study with 5-year follow-up. *Obes Surg.* 2015;25(3):397-405.
8. Hasan B, Nayfeh T, Alzuabi M, Wang Z, Kuchkuntla AR, Prokop LJ, Newman CB, Murad MH, Rajjo TI. Weight Loss and Serum Lipids in Overweight and Obese Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2020;105(12):dgaa673.
9. Heffron SP, Parikh A, Volodarskiy A, Ren-Fielding C, Schwartzbard A, Nicholson J, Bangalore S. Changes in Lipid Profile of Obese Patients Following Contemporary Bariatric Surgery: A Meta-Analysis. *Am J Med.* 2016;129(9):952-9.
10. Baud G, Daoudi M, Hubert T, Raverdy V, Pigeyre M, Hervieux E, Devienne M, Ghunaim M, Bonner C, Quenon A, Pigny P, Klein A, Kerr-Conte J, Gmyr V, Caiazzo R, Pattou F. Bile Diversion in Roux-en-Y Gastric Bypass Modulates Sodium-Dependent Glucose Intestinal Uptake. *Cell Metab.* 2016;23(3):547-53.
11. Stearns AT, Balakrishnan A, Tavakkolizadeh A. Impact of Roux-en-Y gastric bypass surgery on rat intestinal glucose transport. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2009;297(5):G950-7.
12. Meoli L, Ben-Zvi D, Panciotti C, Kvas S, Pizarro P, Munoz R, Stylopoulos N. Intestine-Specific Overexpression of LDLR Enhances Cholesterol Excretion and Induces Metabolic Changes in Male Mice. *Endocrinology.* 2019;160(4):744-758.
13. Saeidi N, Meoli L, Nestoridi E, Gupta NK, Kvas S, Kucharczyk J, Bonab AA, Fischman AJ, Yarmush ML, Stylopoulos N. Reprogramming of intestinal glucose metabolism and glycemic control in rats after gastric bypass. *Science.* 2013;341(6144):406-10.
14. Blanchard C, Moreau F, Ayer A, Toque L, Garçon D, Arnaud L, Borel F, Aguesse A, Croyal M, Krempf M, Prieur X, Neunlist M, Cariou B, Le May C. Roux-en-Y gastric bypass reduces plasma cholesterol in diet-induced obese mice by affecting trans-intestinal cholesterol excretion and intestinal cholesterol absorption. *Int J Obes (Lond).* 2018;42(3):552-560.
15. Le May C, Berger JM, Lespine A, Pillot B, Prieur X, Letessier E, Hussain MM, Collet X, Cariou B, Costet P. Transintestinal cholesterol excretion is an active metabolic process modulated by PCSK9 and statin involving ABCB1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2013;33(7):1484-93.
16. Garçon D, Berger JM, Cariou B, Le May C. Transintestinal cholesterol excretion in health and disease. *Curr Atheroscler Rep.* 2022;24(3):153-60.
17. el Marjou F, Janssen KP, Chang BH, Li M, Hindie V, Chan L, Louvard D, Chambon P, Metzger D, Robine S. Tissue-specific and inducible Cre-mediated recombination in the gut epithelium. *Genesis.* 2004;39(3):186-93.
18. Ayer A, Borel F, Moreau F, Prieur X, Neunlist M, Cariou B, Blanchard C, Le May C. Techniques of Sleeve Gastrectomy and Modified Roux-en-Y Gastric Bypass in Mice. *J Vis Exp.* 2017;(121):54905.
19. Blot F, Marchix J, Ejarque M, Jimenez S, Meunier A, Keime C et al. Gut microbiota remodeling and intestinal adaptation to lipid malabsorption after enteroendocrine cell loss in adult mice - Cellular and

- Molecular Gastroenterology and Hepatology. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*. In press.
20. Herbreteau A, Aubert P, Croyal M, Naveilhan P, Billon-Crossouard S, Neunlist M, Delneste Y, Couez D, Aymeric L. Late-Stage Glioma Is Associated with Deleterious Alteration of Gut Bacterial Metabolites in Mice. *Metabolites*. 2022;12(4):290.
 21. Iwamoto J, Honda A, Miyazaki T, Monma T, Ueda H, Morishita Y, Yara SI, Hirayama T, Ikegami T. Western Diet Changes Gut Microbiota and Ameliorates Liver Injury in a Mouse Model with Human-Like Bile Acid Composition. *Hepatol Commun*. 2021;5(12):2052-2067.
 22. Goldstein JL, Brown MS. Binding and degradation of low density lipoproteins by cultured human fibroblasts. Comparison of cells from a normal subject and from a patient with homozygous familial hypercholesterolemia. *J Biol Chem*. 1974;249(16):5153-62.
 23. Fong LG, Bonney E, Kosek JC, Cooper AD. Immunohistochemical localization of low density lipoprotein receptors in adrenal gland, liver, and intestine. *J Clin Invest*. 1989;84(3):847-56.
 24. Piché ME, Tardif I, Auclair A, Poirier P. Effects of bariatric surgery on lipid-lipoprotein profile. *Metabolism*. 2021;115:154441.
 25. Asztalos BF, Swarbrick MM, Schaefer EJ, Dallal GE, Horvath KV, Ai M, Stanhope KL, Austrheim-Smith I, Wolfe BM, Ali M, Havel PJ. Effects of weight loss, induced by gastric bypass surgery, on HDL remodeling in obese women. *J Lipid Res*. 2010;51(8):2405-12.
 26. Miettinen TA, Gylling H, Nissinen MJ. The role of serum non-cholesterol sterols as surrogate markers of absolute cholesterol synthesis and absorption. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2011;21(10):765-9.
 27. Pihlajamäki J, Grönlund S, Simonen M, Käkälä P, Moilanen L, Pääkkönen M, Pirinen E, Kolehmainen M, Kärjä V, Kainulainen S, Uusitupa M, Alhava E, Miettinen TA, Gylling H. Cholesterol absorption decreases after Roux-en-Y gastric bypass but not after gastric banding. *Metabolism*. 2010;59(6):866-72.
 28. Benetti A, Del Puppo M, Crosignani A, Veronelli A, Masci E, Frigè F, Micheletto G, Panizzo V, Pontiroli AE. Cholesterol metabolism after bariatric surgery in grade 3 obesity: differences between malabsorptive and restrictive procedures. *Diabetes Care*. 2013;36(6):1443-7.
 29. Mazzini GS, Khoraki J, Browning MG, Wu J, Zhou H, Price ET, Wolfe LG, Mangino MJ, Campos GM. Gastric Bypass Increases Circulating Bile Acids and Activates Hepatic Farnesoid X Receptor (FXR) but Requires Intact Peroxisome Proliferator Activator Receptor Alpha (PPARα) Signaling to Significantly Reduce Liver Fat Content. *J Gastrointest Surg*. 2021;25(4):871-879.
 30. Wang DQ, Paigen B, Carey MC. Genetic factors at the enterocyte level account for variations in intestinal cholesterol absorption efficiency among inbred strains of mice. *J Lipid Res*. 2001;42(11):1820-30.
 31. Albaugh VL, Flynn CR, Cai S, Xiao Y, Tamboli RA, Abumrad NN. Early Increases in Bile Acids Post Roux-en-Y Gastric Bypass Are Driven by Insulin-Sensitizing, Secondary Bile Acids. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015;100(9):E1225-33.
 32. Zhai H, Li Z, Peng M, Huang Z, Qin T, Chen L, Li H, Zhang H, Zhang W, Xu G. Takeda G Protein-Coupled Receptor 5-Mechanistic Target of Rapamycin Complex 1 Signaling Contributes to the Increment of Glucagon-Like Peptide-1 Production after Roux-en-Y Gastric Bypass. *EBioMedicine*. 2018;32:201-214.
 33. Flynn CR, Albaugh VL, Abumrad NN. Metabolic Effects of Bile Acids: Potential Role in Bariatric Surgery. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*. 2019;8(2):235-246.
 34. Flynn CR, Albaugh VL, Cai S, Cheung-Flynn J, Williams PE, Brucker RM, Bordenstein SR, Guo Y, Wasserman DH, Abumrad NN. Bile diversion to the distal small intestine has comparable metabolic benefits to bariatric surgery. *Nat Commun*. 2015;6:7715.
 35. Ding L, Sousa KM, Jin L, Dong B, Kim BW, Ramirez R, Xiao Z, Gu Y, Yang Q, Wang J, Yu D, Pigazzi A, Schones D, Yang L, Moore D, Wang Z, Huang W. Vertical sleeve gastrectomy activates GPBAR-1/TGR5 to sustain weight loss, improve fatty liver, and remit insulin resistance in mice. *Hepatology*. 2016;64(3):760-73.
 36. van der Veen JN, van Dijk TH, Vrans CL, van Meer H, Havinga R, Bijsterveld K, Tietge UJ, Groen AK, Kuipers F. Activation of the liver X receptor stimulates trans-intestinal excretion of plasma cholesterol. *J Biol Chem*. 2009;284(29):19211-9.
 37. Yu L, Hammer RE, Li-Hawkins J, Von Bergmann K, Lutjohann D, Cohen JC, Hobbs HH. Disruption of Abcg5 and Abcg8 in mice reveals their crucial role in biliary cholesterol secretion. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99(25):16237-42.
 38. Yin DP, Gao Q, Ma LL, Yan W, Williams PE, McGuinness OP, Wasserman DH, Abumrad NN. Assessment of different bariatric surgeries in the treatment of obesity and insulin resistance in mice. *Ann Surg*. 2011;254(1):73-82.

FIGURES

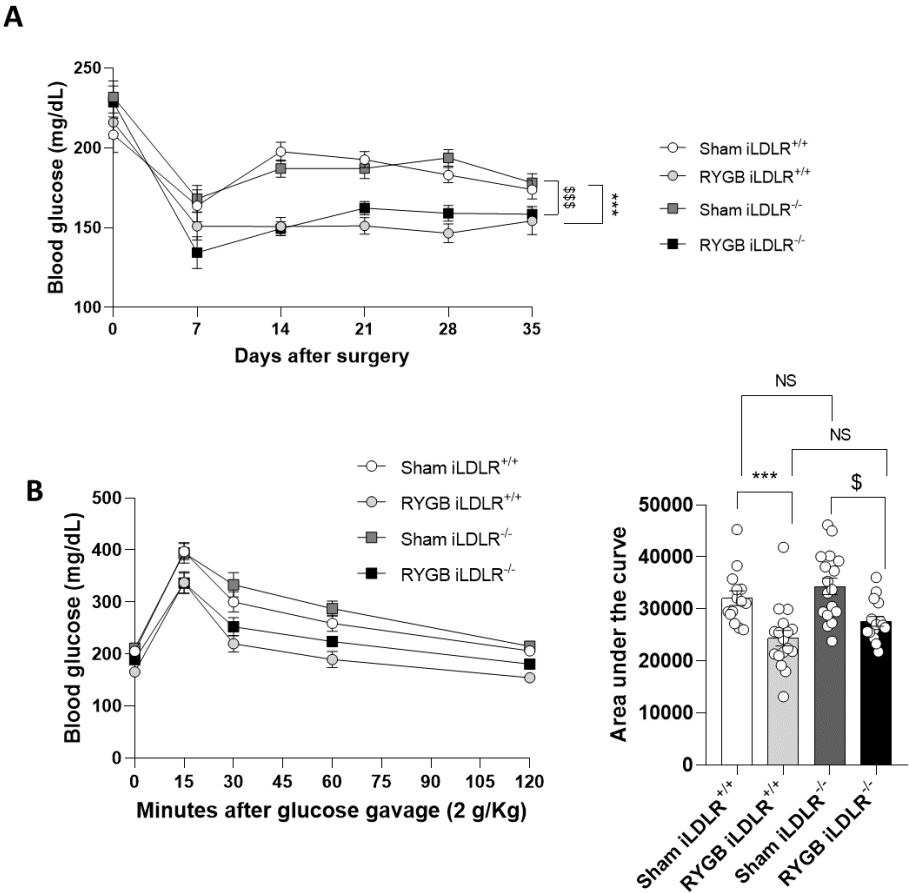
Figure 1. General post-operative outcomes



(A) Body weight before surgery, and (B) percentage of body weight change after surgery during 35 days follow-up. (C) Gonadal and (D) subcutaneous white adipose tissue at day 35 after surgery. (E) Cumulated food-intake. Comparisons were done using Kruskal-Wallis test or two ways ANOVA (Tukey's test for multiples comparisons). *** $p < 0.001$ (Sham iLDLR^{+/+} vs. RYGB iLDLR^{+/+}), \$\$ $p < 0.01$, \$\$\$ $p < 0.001$ (Sham iLDLR^{-/-} vs. RYGB iLDLR^{-/-}), # $p < 0.05$ (Sham iLDLR^{+/+} vs. Sham iLDLR^{-/-}). N = 14 to 17 mice per group.

Legend: **RYGB**: Roux-en-Y gastric bypass, **WAT**: white adipose tissue

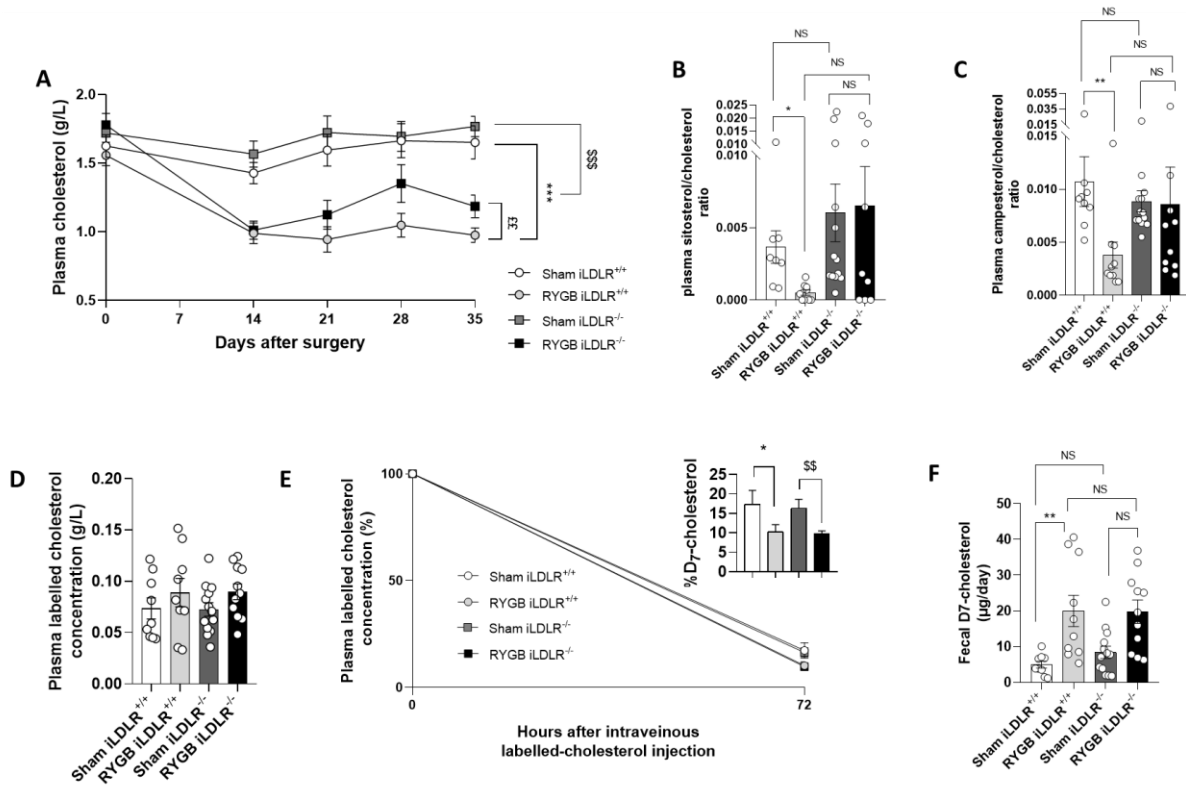
Figure 2. Glucose homeostasis assessment



(A) Post-operative random-fed glycemia longitudinal follow-up. (B) Oral glucose tolerance test after gavage of 2 g/Kg of glucose. Comparisons were done using Kruskal-Wallis test or two ways ANOVA (Tuckey’s test for multiples comparisons). ** p<0.01, *** p<0.001 (Sham iLDLR^{+/+} vs. RYGB iLDLR^{+/+}), \$ p<0.05, \$\$\$ p<0.001 (Sham iLDLR^{-/-} vs. iRYGB LDLR^{-/-}). N = 14 to 17 mice per group.

Legend: **RYGB**: Roux-en-Y gastric bypass

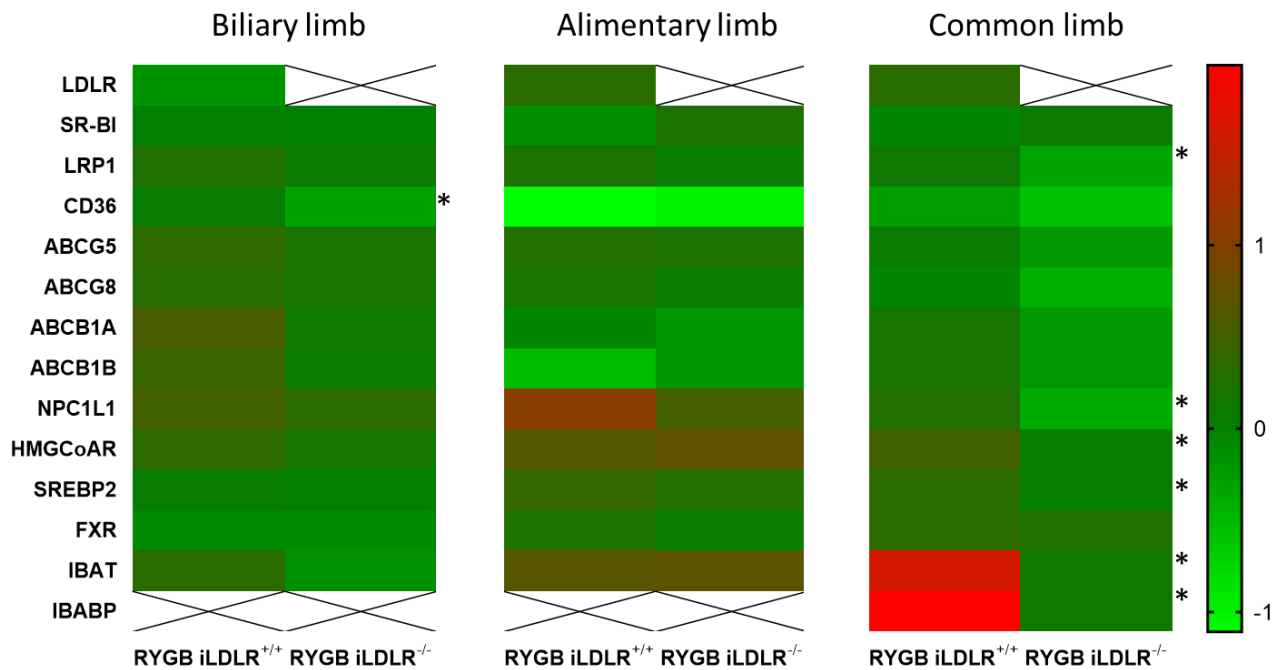
Figure 3. Plasma cholesterol concentration, intestinal cholesterol absorption and plasma cholesterol euration after RYGB



(A) Plasma cholesterol concentration. (B) Plasma sitosterol and (C) campesterol to cholesterol ratios. (D) Plasma D₇-cholesterol concentration 2 minutes after intravenous injection. (E) Plasma D₇-cholesterol concentration changes over 72 hours and percentage of residual concentration. (F) Fecal D₇-cholesterol excretion. * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001 (Sham iLDLR^{+/+} vs. RYGB iLDLR^{+/+}), \$\$\$ p<0.001, \$\$\$ p<0.001 (Sham iLDLR^{-/-} vs. RYGB iLDLR^{-/-}), ££ p<0.01 (RYGB iLDLR^{+/+} vs. RYGB iLDLR^{-/-}). N = 11 to 14 mice per group. Comparisons were done using Kruskal-Wallis test, Mann Whitney test (for panel E) or two ways ANOVA (Tuckey's test for multiples comparisons). N = 8 to 13 mice per group.

Legend: **RYGB**: Roux-en-Y gastric bypass

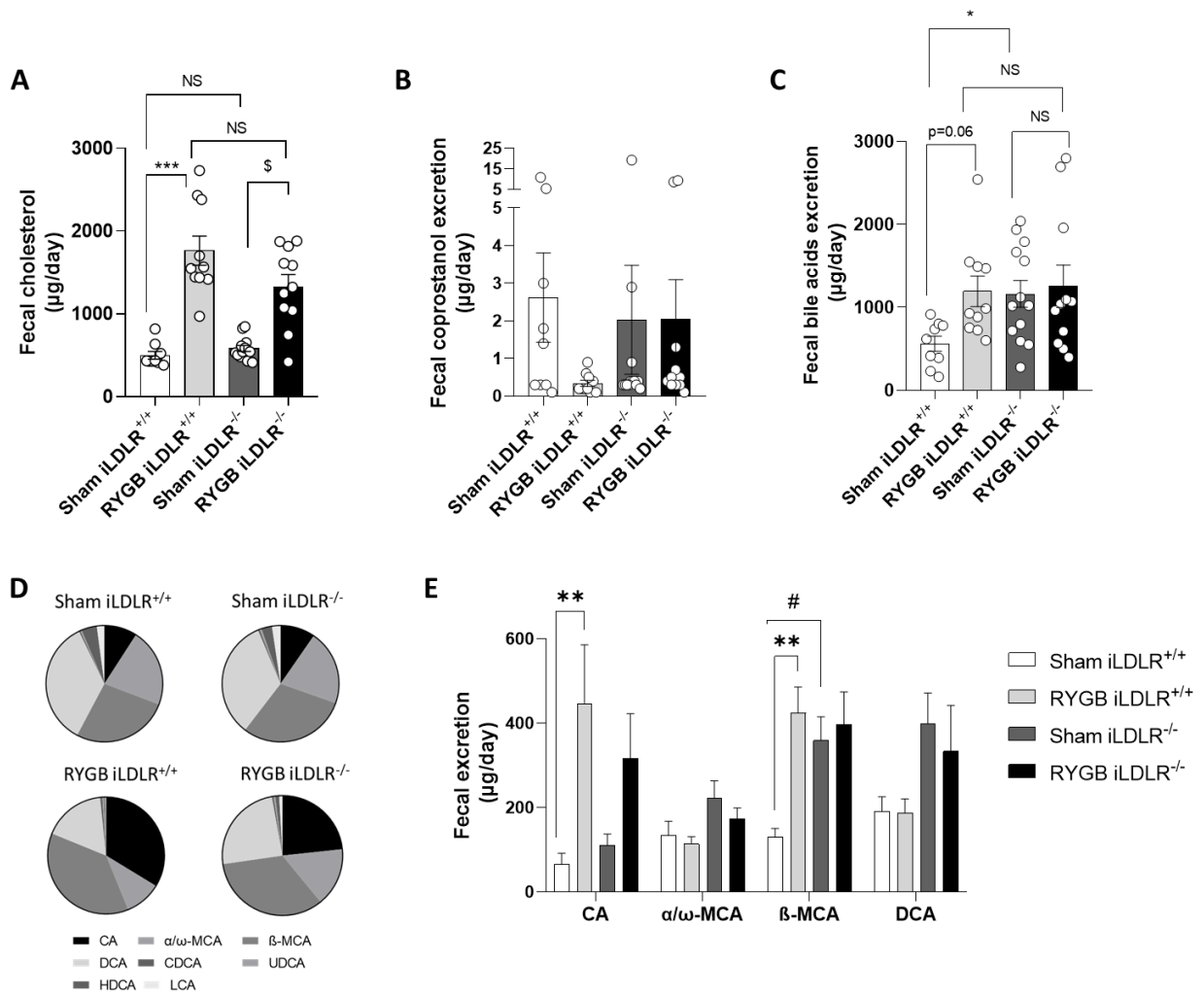
Figure 4. Intestinal mRNA expressions fold changes of key genes involved in cholesterol transport through the enterocyte after RYGB in each bowel limb



mRNA expressions are expressed as the log₁₀ transformation of mean fold changes after RYGB compared to the Sham group in each genotype. Relative expressions were measured based on the relative Δ Ct method. Cyclophilin was used as reference genes. Comparisons were done using Mann-Whitney test. * p<0.05. N = 6 to 7 mice per group.

Legend: **LDLR**: LDL receptor, **SR-BI**: Scavenger receptor class B type 1, **LRP1**: Low density lipoprotein receptor-related protein 1, **SREBP-2**: Sterol regulatory element-binding protein-2, **HMGCoAR**: 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase, **ABCB1A**: ATP-binding cassette B1A, **ABCB1B**: ATP-binding cassette B1B, **ABCG5**: ATP-binding cassette G5, **ABCG8**: ATP-binding cassette G8, **NPC1L1**: Niemann–Pick C1-like 1, **IBAT**: Ileal bile acid transporter, **IBABP**: Ileal bile acid-binding protein, **RYGB**: Roux-en-Y gastric bypass.

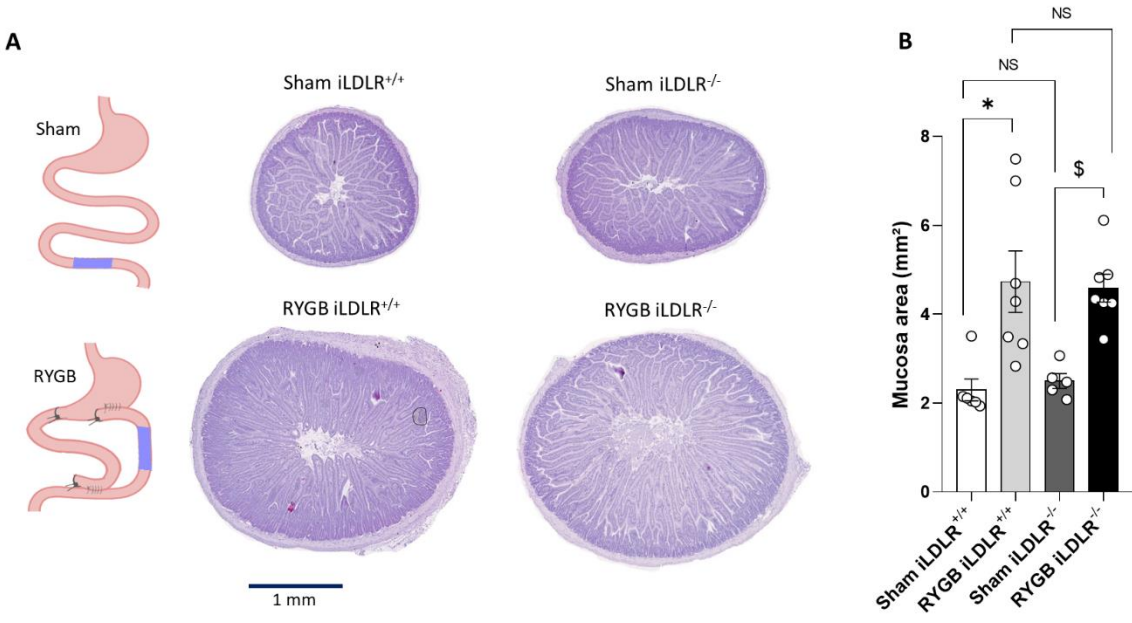
Figure 5. Fecal neutral sterols and bile acids excretion



(A) Fecal cholesterol, (B) coprostanol and (C) total bile acids excretion. (D) Relative bile acids composition. (E) Main bile acids fecal excretion. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ (Sham iLDLR^{+/+} vs. RYGB iLDLR^{+/+}), § $p < 0.05$ (Sham iLDLR^{-/-} vs. RYGB iLDLR^{-/-}), # $p < 0.05$ (Sham iLDLR^{+/+} vs. Sham iLDLR^{-/-}). Comparisons were done using Kruskal-Wallis test. N = 9 to 13 mice per group.

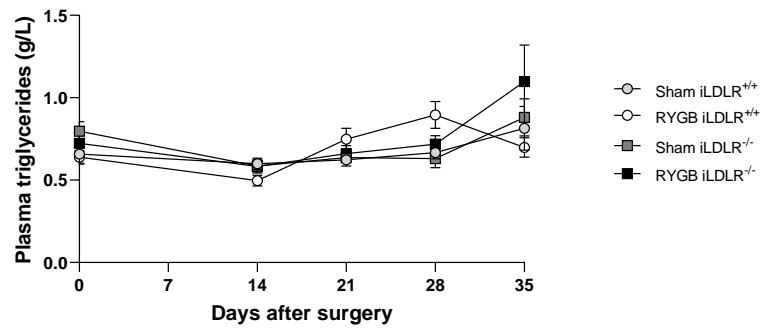
Legend: **CA**: Cholic acid, **MCA**: Muricholic acid, **DCA**: Deoxycholic acid, **CDCA**: Chenodeoxycholic acid, **UDCA**: Ursodeoxycholic acid, **HDCA**: Hyodeoxycholic acid, **LCA**: Lithocholic acid, **RYGB**: Roux-en-Y gastric bypass.

Figure 5. Alimentary limb mucosal adaptation after RYGB



(A) Representative images of transversal section of the alimentary limb and the corresponding intestinal segment in Sham mice. (B) Mucosal area. * $p < 0.05$ (Sham iLDLR^{+/+} vs. RYGB iLDLR^{+/+}), § $p < 0.05$ (Sham iLDLR^{-/-} vs. RYGB iLDLR^{-/-}). Comparisons were done using Kruskal-Wallis test. N = 5 to 7 mice per group.

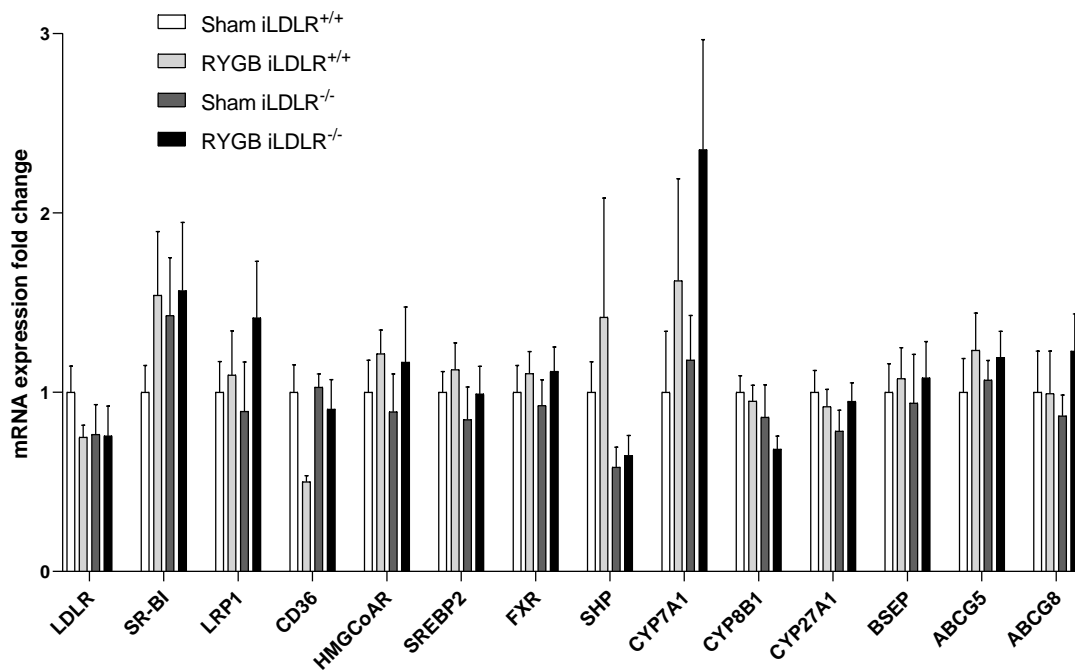
Supplemental Figure 1. Plasma triglycerides concentration



Comparisons were done using two ways ANOVA (Tuckey's test for multiples comparisons). N = 8 to 13 mice per group.

Legend: **RYGB**: Roux-en-Y gastric bypass

Supplemental Figure 2. Liver mRNA expression of key genes involved in the cholesterol metabolism



mRNA expressions are expressed based on the relative ΔC_t method, Sham iLDLR^{-/-} mice taken as the reference. Cyclophilin and glycerol-3-phosphate dehydrogenase were used as reference genes. Comparisons were done using Kruskal-Wallis test. * $p < 0.05$. N = 6 mice per group.

Legend: **LDLR**: LDL receptor, **SR-BI**: Scavenger receptor class B type 1, **LRP1**: Low density lipoprotein receptor-related protein 1, **SREBP-2**: Sterol regulatory element-binding protein-2, **HMGCoAR**: 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase, **ABCG5**: ATP-binding cassette G5, **ABCG8**: ATP-binding cassette G8, **NPC1L1**: Niemann–Pick C1-like 1, **FXR**: Farnesoid X receptor, **SHP**: Small heterodimer partner, **CYP7A1**: Cytochrome P450 7A1, **CYP8B1**: Cytochrome P450 8B1, **BSEP**: Bile Salt Export Pump, **RYGB**: Roux-en-Y gastric bypass.

Article n°2 – Mise au point d'un modèle de SADI-S chez la souris

Les données disponibles dans la littérature suggèrent que le SADI-S est une intervention prometteuse, avec un taux plus faible de complications, induit une perte de poids importante et est associée à un bénéfice métabolique fort. Nous nous sommes donc intéressés à ce modèle de chirurgie. Pour cela, nous avons mis au point, pour la première fois chez la souris, un protocole permettant de reproduire l'intervention réalisée en pratique clinique afin de permettre par la suite l'étude des mécanismes qui sous-tendent ces effets métaboliques importants.

La mise au point de ce modèle a été facilitée par l'expertise du laboratoire en chirurgie sur modèle murin, puisque le RYGB et la SG sont réalisés couramment au sein de l'équipe (24,148,155). Nous avons modifié la technique de SG utilisée habituellement au laboratoire (suture simple de l'estomac après résection du fundus) par l'application de clips chirurgicaux en titane afin de réduire le temps opératoire et limiter les saignements. D'autre part, la transposition du SADI-S chez la souris a nécessité la prise en compte des particularités anatomiques de la souris. En effet, une rotation mésentérique différente de l'homme lors de l'embryogenèse place le caecum (et donc la dernière anse grêle) à gauche de l'abdomen chez certaines lignées murines, ce qui conduit à un syndrome de l'anse afférente (comme décrit dans le chapitre **2.2.1 Complications post-opératoires précoces (< 30 jours)** du SADI-S) en cas de non prise en compte de cette particularité. Enfin, la transsection du duodénum pour la réalisation d'une anastomose duodéno-iléale termino-latérale (comme réalisée chez l'homme) étant d'une difficulté technique importante, nous avons fait le choix d'une exclusion duodénale en amont de l'abouchement de la voie biliaire principale par un fil non résorbable avec

constitution d'une anastomose latéro-latérale. Celle-ci s'est accompagnée d'un seul cas de reperméabilisation dans notre expérience (décrit dans l'article).

Cette technique nécessite un entraînement rigoureux afin de réduire le temps opératoire et améliorer la survie des animaux. Nous décrivons également les conditions péri-opératoires nécessaires à l'obtention d'une survie satisfaisante, comprenant un protocole de supplémentation vitaminique et ferrique. Le SADI-S induisait une perte de poids significative et maintenue dans le temps par rapport à un groupe de souris Sham, chez des souris mâles et femelles C57Bl6 sous régime standard. De façon surprenante, elle s'accompagnait d'une augmentation de la prise alimentaire journalière que nous avons interprété comme un mécanisme de compensation de la malabsorption induite par la chirurgie. Nous décrivons donc pour la première fois un protocole reproductible de SADI-S chez la souris qui reproduit les effets sur la perte de poids observés chez l'homme, et qui a pour vocation d'être utilisé pour l'étude de cette chirurgie.

Single-Anastomosis Duodeno-Ileal Bypass with Sleeve Gastrectomy Model in Mice

Samuel Frey^{1,2}, Audrey Ayer¹, Thibaud Sotin¹, Victoria Lorant¹, Bertrand Cariou¹, Claire Blanchard^{*,1,2}, Cédric Le May^{*,1}

¹ CHU Nantes, CNRS, INSERM, l'institut du thorax, Nantes Université des Maladies de l'Appareil Digestif, Hôtel Dieu, CHU Nantes

² Chirurgie Cancérologique, Digestive et Endocrinienne, Institut

*
These authors contributed equally

Corresponding Author

Claire Blanchard
claire.blanchard@chu-
nantes.fr

Citation

Frey, S., Ayer, A., Sotin, T., Lorant, V., Cariou, B., Blanchard, C., Le May, C. Single-Anastomosis Duodeno-Ileal Bypass with Sleeve Gastrectomy Model in Mice. *J. Vis. Exp.* (), e64610, doi:10.3791/64610 (2022).

Date Published

October 4, 2022

DOI

10.3791/64610

URL

jove.com/t/64610

Abstract

Obesity is a major health issue worldwide. As a response, bariatric surgeries have emerged to treat obesity and its related comorbidities (e.g., diabetes mellitus, dyslipidemia, non-alcoholic steatohepatitis, cardiovascular events, and cancers) through restrictive and malabsorptive mechanisms. Understanding the mechanisms by which these procedures allow such improvements often require their transposition into animals, especially in mice, because of the ease of generating genetically modified animals. Recently, the single-anastomosis duodeno-ileal bypass with sleeve gastrectomy (SADI-S) has emerged as a procedure that uses both restrictive and malabsorptive effects, which is being used as an alternative to gastric bypass in case of major obesity. Thus far, this procedure has been associated with strong metabolic improvements, which has led to a marked increase in its use in daily clinical practice. However, the mechanisms underlying these metabolic effects have been poorly studied as a result of a lack of animal models. In this article, we present a reliable and reproducible model of SADI-S in mice, with a special focus on perioperative management. The description and use of this new rodent model will be helpful for the scientific community to better understand the molecular, metabolic, and structural changes induced by the SADI-S method and to better define the surgical indications for clinical practice.

Introduction

Obesity is an emerging and endemic situation with increasing prevalence, affecting approximately 1 in 20 adults worldwide¹. Bariatric surgery has become the most effective treatment option for the affected adults in recent years, improving both weight loss and metabolic disorders^{2,3}, with variable results depending on the type of surgical procedure used.

There are two main mechanisms that are implicated in the effects of the bariatric procedures: restriction that aims to increase satiety (such as in the sleeve gastrectomy (SG) method where 80% of the stomach is removed), and malabsorption. Among the procedures that imply both restriction and malabsorption, the single anastomosis duodeno-ileal bypass with sleeve gastrectomy (SADI-S) has been proposed as an alternative to the Roux-en-Y gastric bypass (RYGB) method, in which a weight regain is observed in approximately 20% patients^{4,5}. In this technique, a sleeve gastrectomy is associated with a small bowel rearrangement, dividing it into a biliary and a short common limb (one-third of the total small bowel length) (**Figure 1A**). Technically, the SADI-S method has the advantage over the RYGB method of requiring only a single anastomosis, reducing the operation time by approximately 30%. In addition, this method preserves the pylorus, which helps to reduce the risk of peptic ulcer disease and limits anastomotic leakage. The SADI-S method is also associated with a high rate of metabolic improvement, strongly favoring its use during the last few years^{6,7}.

Since metabolic effects have become increasingly foundational to bariatric procedures, elucidating their mechanisms seems crucial. Therefore, the use of animal models for bariatric procedures is of utmost importance

to better understand their metabolic effects and the cellular and molecular pathways involved⁸. These models contributed, for example, to a better understanding of the change in food intake after SG or RYGB in a controlled environment⁹ and to the study of glucose or cholesterol fluxes through the intestinal barrier^{10,11}; this information is rarely available in clinical studies. This knowledge could help to define their optimal surgical indications. We previously described mouse models of SG and RYGB¹². However, despite its promising results in clinical practice, the SADI-S method has only been developed and described in rats^{13,14,15}. However, given its genetic malleability, the mouse model has been useful in the past to study the various metabolic effects of such procedures^{16,17,18}, and a SADI-S mouse model could be useful to evaluate effects of SADI-S despite the technical difficulty.

In this article, we describe the adaptation of the SADI-S procedure in mice (**Figure 1B**) in a reproducible manner. Special attention is given to the description of perioperative care.

Protocol

This protocol has been approved by the local French ethical committee for animal experimentation (Comité d'éthique en expérimentation animale; reference CEEA-PdL n 06).

1. Pre-operative preparation

1. Add gel diet food to the normal diet 3 days before the surgery. Fast the mice 6 h before the surgery.
2. Induce anesthesia with 5% isoflurane (1 L/min) in a dedicated chamber with oxygen (1 L/min). Inject the mice subcutaneously with buprenorphine (0.1 mg/kg), amoxicillin (15 mg/kg), metoclopramide (1 mg/kg) and iron (0.5 mg/kg).
3. Shave the first 2/3 parts of the mouse's abdomen beginning from the xiphoid process using an electric razor. Disinfect the mouse's abdomen using an iodine polyvidone solution twice.
4. Place the mouse supine on a dedicated heat pad covered with a clean underpad. Maintain anesthesia using a nose cone with 2%-2.5% isoflurane (0.4 L/min) with oxygen (0.4 L/min). Use a toe-pinch test to confirm the depth of anesthetization.
5. Cover the mouse in a sterilized plastic wrap. In order to apply hyperextension on the mouse's abdomen, fix the lower paw and use a 1 mL syringe or equivalent placed behind the mouse's back. Cut a window-sized opening as the future incision site in a sterile compress, and use it as an operating field to cover the mouse. The general installation is shown in **Figure 2A**.
6. Before the surgery, use a face mask, a scrub cap, and sterilized gloves. Use sterilized instruments for the surgery.

2. The SADI-S protocol

1. Median laparotomy

- i Under a binocular microscope (8x magnification), perform a median laparotomy with scissors by opening the abdominal skin from the xiphoid process to the middle of the abdomen. Ensure that the xiphoid process and the musculoaponeurotic layer are visible (**Figure 2B**).
- ii Open the abdominal wall along the linea alba with scissors between the abdominal muscles. Be careful not to enter the thoracic cavity (**Figure 2C**).

2. Duodenal exclusion

- i Gently mobilize the duodenum from the abdominal cavity using a moistened cotton swab to see its anterior and posterior sides. Localize the main bile duct, which is immediately visible under the binocular microscope on the posterior side of the lesser omentum and the duodenum (**Figure 3A**, black arrows).
- ii Proximally from the main bile duct, visualize an area between the duodenal arteries under the binocular microscope (**Figure 3A,B**, blue dotted circles). Penetrate this area using curved micro forceps from one side of the duodenum to the other, and perform a duodenal ligation between the arteries using a 6-0 non-absorbable suture (**Figure 3C-E**). Be careful not to ligate the branches of the duodenal arteries.

3. Sleeve gastrectomy

- i Mobilize the stomach from the abdominal cavity using a moistened cotton swab and a non-traumatic clamp. Separate the stomach from the surrounding organs using micro scissors: separate the greater omentum, cut the short gastric arteries (branch of the splenic artery) between the stomach and the spleen, and the lipoma linking the stomach to the lower part of the esophagus (**Figure 4A,B**).

- ii Using micro scissors, perform a 5 mm gastrotomy by opening the fundus and remove the residual food using a cotton swab (**Figure 4C**, arrow).
- iii Apply surgical clips (medium size, 5.6 mm) along the stomach's greater curvature to exclude approximately 80% of the stomach. Two clips are sufficient. Remove the excluded stomach by cutting it with micro scissors (**Figure 4D-G**).
- iv Anchor the surgical clips to ascertain impermeability by performing a running suture (8-0) from the beginning to the end of the stomach resection (**Figure 4H**).

4. Duodeno-ileal anastomosis

- i Under the binocular microscope, visualize the last ileal loop, which is situated just before the caecum (**Figure 5A**). Gently mobilize the small intestine outside the abdominal cavity from the last ileal loop. Dispose the small bowel, as displayed in **Figure 5B**, so that the last ileal loop is located on the left side. Using a previously sized suture cord, measure 10 cm (approximately 1/3 of the total length of the small bowel) from the last ileal loop; this will be the site of the future anastomosis.
- ii In order to ensure that the future biliary limb comes to the anastomosis site from its left side, make a large loop of the small intestine around the site of the future anastomosis. Using micro scissors, perform a 4 mm enterotomy by opening the small bowel at this point (**Figure 5C-E**).
- iii Perform a 4 mm enterotomy on the excluded part of the duodenum, immediately after the pylorus, between the stomach and the ligation performed in step 2.2.2 (**Figure 5F**). Place an absorbable 5 mm x 5 mm hemostatic collagen compress to favor homeostasis.

iv Using a non-absorbable 8-0 suture, perform a side-to-side duodeno-ileal anastomosis. Begin with the posterior side anastomosis, followed by the anterior side anastomosis (**Figure 5G-I**).

5. Abdominal closure

- i Display the small bowel in the abdominal cavity so that the biliary limb comes to the anastomosis from the superior-left side of the abdomen and the common limb falls to the lower part of the abdomen.
- ii Rehydrate the mouse with 500 μ L of 37 °C saline solution by applying it directly into the abdominal cavity using a 1 mL syringe.
- iii Close the musculoaponeurotic layer using a single 6-0 non-absorbable running suture. Close the abdominal skin using 6-0 non-absorbable separated sutures (**Figure 5J,K**).

3. General postoperative care

1. After stopping the isoflurane, let the mouse wake on the heat pad under 0.4 L/min O₂ insufflated with the nose mask. When fully awakened, which can be ensured by complete motor recuperation, place the mouse alone in a cage in a 30 °C incubator. Leave the mouse in the 30 °C incubator for 5 days (no specific condition for gas or humidity).

NOTE: The cage should be warmed beforehand.

- 2. Allow free access to water immediately after surgery. Add vitamin supplements, including vitamins B1, B9, B12, and liposoluble vitamins (A, D, E, K), to water (800 mg/180 mL of water) until the end of the protocol.
- 3. Maintain analgesia by subcutaneous buprenorphine injections (0.1 mg/kg) twice a day from day 1 to day 3, once a day afterward until day 5. Continue amoxicillin (15 mg/kg) and metoclopramide (1 mg/kg) subcutaneous

injections once a day until day 3. Provide subcutaneous injections of iron (0.5 mg/kg) once a day until the end of the protocol.

4. General measurements and euthanasia

1. Weigh the mice every day until postoperative day 5. Then weigh on day 7, and then weekly.
2. To measure daily food intake, place one mouse per cage. Place a known weight of a solid diet and measure the weight of the solid diet remaining after 24 h. Measure food intake on day 3, 4, 5, 7, and then weekly.
3. Euthanize the mice by cervical dislocation under general anesthesia (5% isoflurane (1 L/min) with oxygen (1 L/min)) with subcutaneous injection of buprenorphine (0.1 mg/kg) after cardiac left atrium incision for blood sampling (500 to 600 μ L of blood).
4. Measure the blood hemoglobin concentration using an automatic hematology analyzer requiring 20 mL of blood.

Representative Results

Learning curve

The learning curve for this model is displayed in **Figure 6**. A progressive decrease in the operating time is observed, reaching approximately 60 min of surgery after 4 weeks of intensive training (**Figure 6A**). The 5-day postoperative survival also improved with time, reaching 77% during regular practice (**Figure 6B**). The most frequent causes of mortality were anastomotic leaks and an afferent loop syndrome resulting in biliary peritonitis. We observed no death later in the first month with the technique described in this manuscript. Of note, previous experiments

performed without anchoring surgical clips with running sutures led to clip migration in two-thirds of the cases, resulting in one death by small bowel occlusion at 31 days. These results emphasize that mastering this model requires intensive training.

General parameters

Mice with a C57BL6/J background were randomly assigned to the SADI-S group (n = 9; 5 males, 4 females) and the sham control group (n = 4; 2 males, 2 females). Between the SADI-

S mice and the sham mice, the mean pre-operative weight ($27.9 \text{ g} \pm 0.98 \text{ g}$ vs. $28.5 \text{ g} \pm 2.4 \text{ g}$) and age ($14.8 \text{ weeks} \pm 7.2 \text{ weeks}$ vs. $18.7 \text{ weeks} \pm 10.3 \text{ weeks}$) were not significantly different. One mouse died after SADI-S at postoperative day 4 from an anastomotic leak and was therefore excluded from the following analysis. SADI-S mice experienced significant weight loss in comparison with the sham control mice from the fourth postoperative day: $21.7 \text{ g} \pm 1.6 \text{ g}$ versus $29.0 \text{ g} \pm 0.7 \text{ g}$ ($p = 0.0081$) (**Figure 7A**). Daily food intake (14 days) significantly increased in SADI-S mice ($4.4 \text{ g} \pm 0.1$ vs. $2.9 \text{ g} \pm 0.6 \text{ g}$ per day, $p = 0.027$) (**Figure 7B**).

Mice were sacrificed 28 days after surgery. One mouse in the SADI-S group, which did not display significant weight loss, appeared to have duodenal repermeabilization. No such event was observed in the other 7 mice. As displayed in **Figure 7C**, the hemoglobin concentration was not significantly different from the sham control mice in the SADI-S group after iron supplementation.

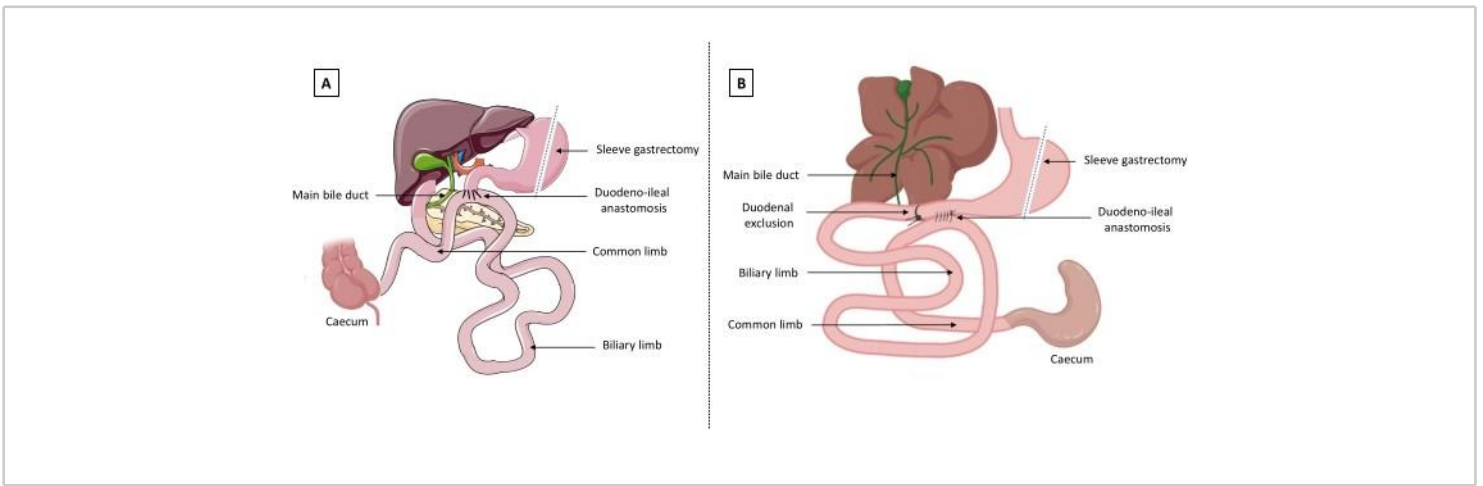


Figure 1: Representation of single anastomosis duodeno-ileal bypass with sleeve gastrectomy (SADI-S). (A) In humans, the duodenum is cut proximally from the main bile duct. A latero-terminal duodeno-ileal anastomosis is performed with the remnant duodenum, defining a biliary limb (before the anastomosis) and a common limb which measures one-third of the total length of the small bowel (after the anastomosis). (B) In mice, the duodenum is excluded by ligature proximally to the main bile duct, and a latero-lateral duodeno-ileal anastomosis is performed. [Please click here to view a larger version of this figure.](#)

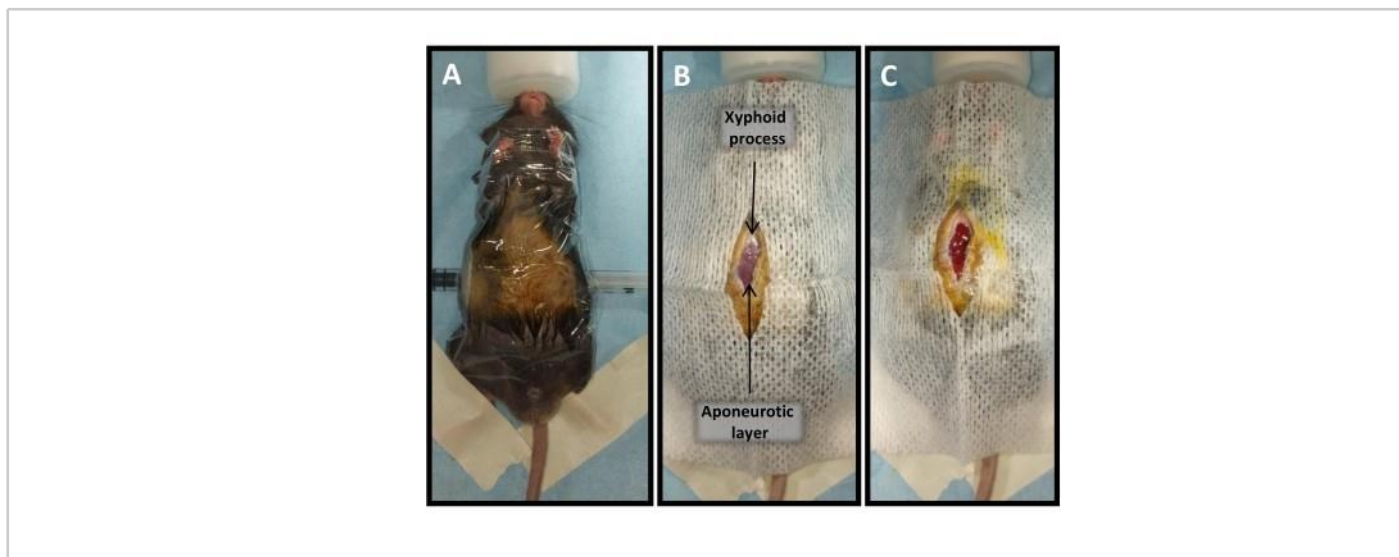


Figure 2: Mouse installation for SADI-S. (A) General installation. (B) Skin opening from the xyphoid process (sternal base) to the middle of the abdomen. (C) Musculo-aponeurotic layer and peritoneal opening.

[Please click here to view a larger version of this figure.](#)

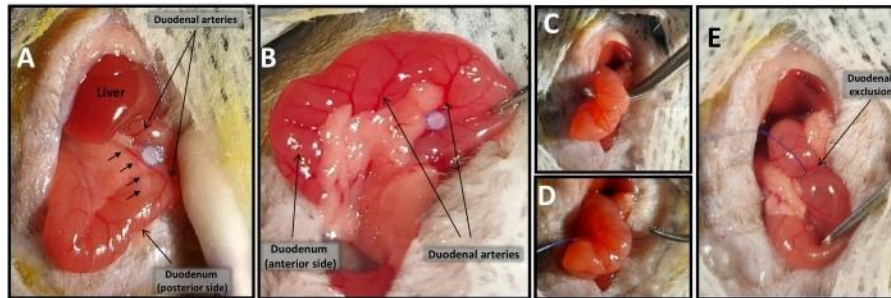


Figure 3: Duodenal exclusion. (A) Avascular window between duodenal arteries (blue dotted circle) on the posterior side of the duodenum, localized before the main bile duct (black arrows). (B) Avascular window between duodenal arteries (blue dotted circle) on the anterior side of the duodenum. (C,D) Duodenal exclusion using 6-0 non-absorbable suture. (E) Final view of excluded duodenum. [Please click here to view a larger version of this figure.](#)

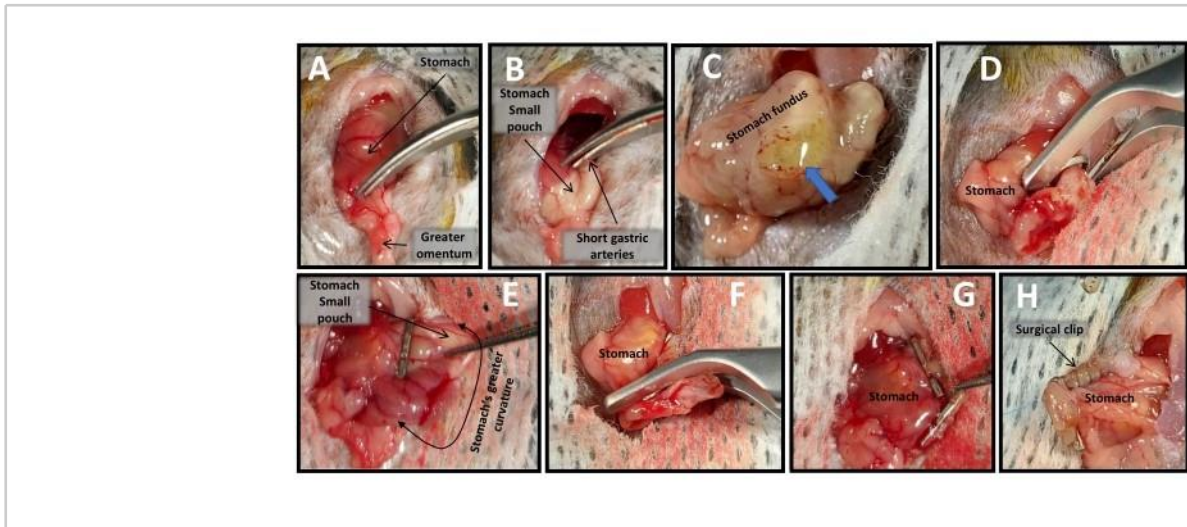


Figure 4: Sleeve gastrectomy. (A) Greater omentum removal. (B) Short incision of gastric arteries. (C) Initial gastrotomy (blue arrow). (D-G) Stomach cardiac region removal using two surgical clips. (H) Surgical clips anchoring using 6-0 nonabsorbable suture. [Please click here to view a larger version of this figure.](#)

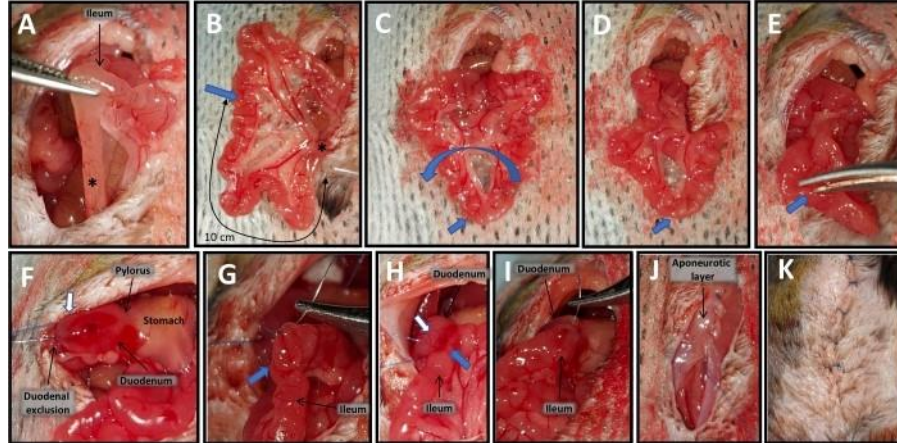


Figure 5: Duodeno-ileal anastomosis. (A) Identification of the last ileal loop (asterisk). (B) Count 10 cm (one-third of the total length of the small bowel) from the last ileal loop (asterisk) to the site of the future anastomosis (blue arrow). (C,D) Small bowel rotation around the site of the future anastomosis (blue arrow). (E) Ileal enterotomy. (F) Duodenotomy (white arrow). (G-I) Side-to-side anastomosis in two layers between the duodenotomy (white arrow) and the ileal enterotomy (blue arrow). (J) Musculo-aponeurotic layer closure. (K) Skin closure. [Please click here to view a larger version of this figure.](#)

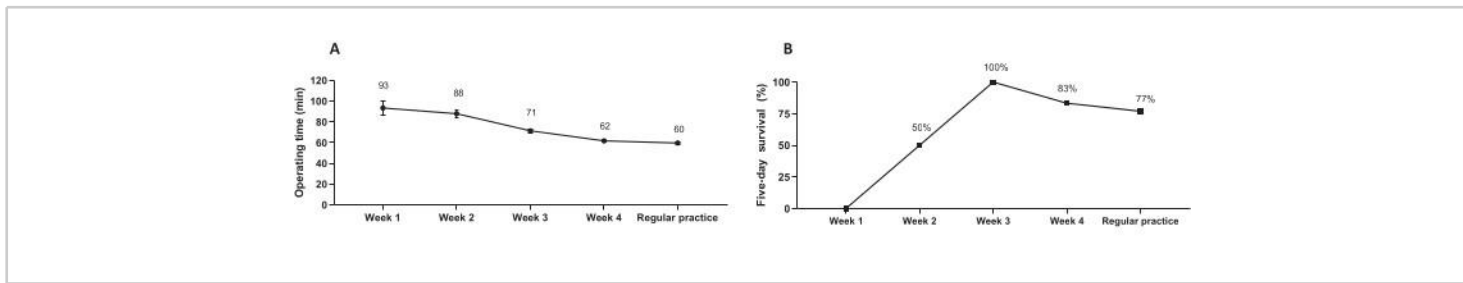


Figure 6: The SADI-S procedure learning curve. (A) The effect of training on the duration of the operation. Data are presented as the mean value \pm SEM. **(B)** The effect of training on five-day survival. Data are presented as percentages. [Please click here to view a larger version of this figure.](#)

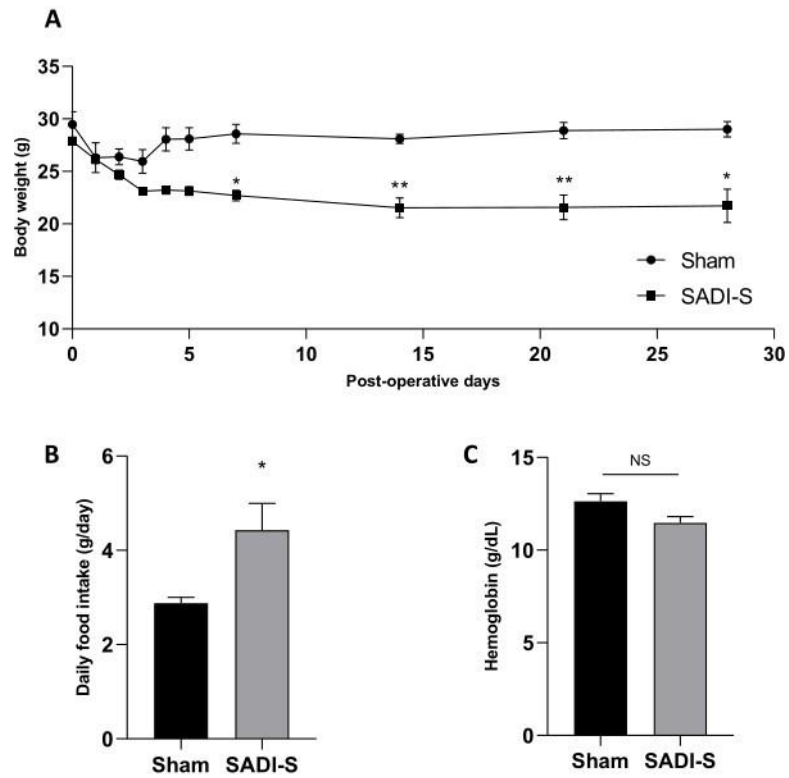


Figure 7: General parameters after SADI-S. (A) Postoperative body weight, (B) food intake measured for 24 h at day 14, and (C) blood hemoglobin concentrations were compared between SADI-S and sham control mice. Data are presented as the mean \pm SEM. Statistical comparisons were made with two-way ANOVA (with Sidak's multiple comparisons test) or Mann-Whitney non-parametric tests. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$. [Please click here to view a larger version of this figure.](#)

Discussion

Bariatric surgeries, whose techniques are constantly evolving, appear to be currently the most effective treatment for obesity and associated metabolic comorbidities^{3,19,20}. The SADI-S procedure, firstly described in 2007⁴, is a promising procedure associated with greater metabolic effects than other malabsorptive surgeries. Animal models, particularly mice that allow the rapid generation of genetically modified models, are strongly needed to fully understand the mechanisms underlying these improvements. Here we describe a reliable and reproducible model of SADI-S in mice.

The first critical step of the SADI-S procedure is the exclusion of the duodenum, allowing only the bile and pancreatic secretions to travel into the duodenum and the first two-thirds of the small intestine. In humans, the duodenum is cut, allowing end-to-side duodeno-ileal anastomosis⁴. In the rat SADI-S model described by Montana et al.¹⁵, exclusion of the duodenum by a non-absorbable suture or surgical clamp is imperfect in a few cases, resulting in duodenal repermeabilization (i.e., reintroduction of the bolus into the original digestive tract). However, a section of the duodenum followed by end-to-side anastomosis is difficult to transpose in mice, leading us to prefer duodenum

ligation. Indeed, the short length of the duodenal vessels limits the duodenal mobilization if the duodenum is completely transected, making it difficult to perform termino-lateral anastomosis. Initial experiments (data not shown) showed high mortality, even with trained and skilled experimenters. Only one case of repermeabilization has been observed in this study. Special attention must be given to the duodenal arteries during this step. Circumferential devascularization of the duodenum leads to death in all cases, but mice can be expected to recover from a small devascularized area caused by distal vessel ligation. The anatomical

variability of the duodenal vascularization in mice prevents us from describing a constant localization to perform this exclusion. However, 0.5 cm of the duodenum after the pylorus must be available to permit the end-to-side anastomosis.

Another critical step when performing the anastomosis is to display the bowel in a way that the biliary limb comes to the site of the duodeno-ileal anastomosis from the left side. Otherwise, the food will oppose the bile flow, causing the biliary limb to distend, the bile to diffuse to the abdominal cavity, and the mice to die from biliary peritonitis around postoperative day 2. This condition resembling an afferent loop syndrome²¹ can be prevented by performing a loop of the small intestine centered on the anastomosed zone of the ileum. This is necessary because, contrary to humans, the caecum is positioned on the left side of the abdomen in 80% of cases in mice²².

In humans, the common limb measures approximately 250 cm to limit malnutrition, which corresponds to approximately one-third of the total length of the small bowel²³. Prior to surgeries, we measured the total length of the small intestine of the mouse model under similar feeding conditions

(C57BL6/J under a chow diet) to determine the size of the common limb. As the small bowel length could vary between mice of different genetic backgrounds or following different feeding conditions, we strongly encourage future surgeons to perform a pilot study to measure the bowel size. The same size should be used for each mouse of the same background, as systematically exteriorizing the totality of the bowel for a complete measurement during surgery should be avoided (as there is increased risk of dehydration, hypothermia, and visceral injury).

The sleeve gastrectomy is part of the original SADI-S technique, allowing restriction in addition to malabsorption⁴. Several models of sleeve gastrectomy in mice are available in the

literature^{12,24,25,26}. The use of surgical clips instead of sutures alone allows a significant gain of time²⁴ and reduces blood loss, two necessary conditions for surgical success. Anchoring the surgical clip using a 8-0 running suture prevented intragastric clip migration in all cases in our experiment. By removing the cardiac region, this technique allows the removal of about 80% of the stomach¹². In this model, however, SADI-S was associated with overfeeding compared with the sham control mice, aiming (probably) to compensate for the malabsorption caused by bowel derivation. Other models suggested that sleeve gastrectomy in mice preferentially modified the food intake behavior instead of the absolute quantity of food ingested per day in the long term^{11,26}. This limited restrictive effect is a limitation of this model.

This protocol has a 75% survival rate. It is worth noting that the 5-day survival was a strong predictor for long-term survival, as no late death occurred during our experiment. No anastomotic stenosis was observed. However, reaching this survival rate required at least 3 weeks of intensive microsurgical training by an experimenter specialized in animal surgery; the increased survival over time correlated with a decreased operating time. Perioperative care is one of the keys to the success of this technique. A strict analgesic protocol is needed in addition to systematic antibiotic-based therapy, and alimentation must be introduced progressively, using only a gel diet for 3 days. As previously described¹², supplementation with vitamins B1, B9, B12, and liposoluble vitamins (A, D, E, K) is necessary after malabsorptive surgery, as well as iron supplementation, which prevented anemia in our experiment, but has not been described for the SADI-S model yet¹⁵.

In conclusion, SADI-S can be transposed successfully in mice, with a few modifications from its description in humans. This technique requires training and a strict perioperative protocol. Adapting this surgery to mice could allow for a better understanding of the mechanisms

underlying the strong metabolic effect of this promising procedure in comparison with former models and could help to better define its surgical indications.

Disclosures

Claire Blanchard has been paid by Medtronic to provide courses of clinical immersions.

Acknowledgments

We thank Ethicon (Johnson and Johnson surgical technologies) for kindly providing the suture cord and surgical clips. This work was supported by grants from the NEXT Talent Project, Université de Nantes, CHU de Nantes.

References

1. Flegal, K. M., Carroll, M. D., Kit, B. K., Ogden, C. L.. Prevalence of obesity and trends in the distribution of body mass index among US adults, 1999-2010. *JAMA*. **307** (5), 491-497 (2012).
2. Sjöström, L. et al. Association of bariatric surgery with long-term remission of type 2 diabetes and with microvascular and macrovascular complications. *JAMA*. **311** (22), 2297-2304 (2014).
3. Dyson, J. et al. Hepatocellular cancer: the impact of obesity, type 2 diabetes and a multidisciplinary team. *Journal of Hepatology*. **60** (1), 110-117 (2014).
4. Sánchez-Pernaute, A. et al. Proximal duodenal-ileal end-to-side bypass with sleeve gastrectomy: proposed technique. *Obesity Surgery*. **17** (12), 1614-1618 (2007).
5. Himpens, J., Verbrugghe, A., Cadière, G. B., Everaerts, W., Greve, J. W. Long-term results of laparoscopic Rouxen-Y Gastric bypass: evaluation after 9 years. *Obesity Surgery*. **22** (10), 1586-1593 (2012).

6. Sánchez-Pernaute, A. et al. Long-term results of single-anastomosis duodeno-ileal bypass with sleeve gastrectomy (SADI-S). *Obesity Surgery*. **32** (3), 682-689 (2022).
7. Shoar, S., Poliakin, L., Rubenstein, R., Saber, A. Single anastomosis duodeno-ileal switch (SADIS): A systematic review of efficacy and safety. *Obesity Surgery*. **28** (1), 104-113 (2018).
8. Rao, R. S., Rao, V., Kini, S. Animal models in bariatric surgery--a review of the surgical techniques and postsurgical physiology. *Obesity Surgery*. **20** (9), 1293-1305 (2010).
9. Lutz, T. A., Bueter, M. The use of rat and mouse models in bariatric surgery experiments. *Frontiers in Nutrition*. **3**, 25 (2016).
10. Baud, G. et al. Bile diversion in Roux-en-Y Gastric Bypass modulates sodium-dependent glucose intestinal uptake. *Cell Metabolism*. **23** (3), 547-553 (2016).
11. Blanchard, C. et al. Sleeve gastrectomy alters intestinal permeability in diet-induced obese mice. *Obesity Surgery*. **27** (10), 2590-2598 (2017).
12. Ayer, A. et al. Techniques of sleeve gastrectomy and modified Roux-en-Y Gastric Bypass in mice. *Journal of Visualized Experiments*. (121), 54905 (2017).
13. Wang, T. et al. Comparison of diabetes remission and micronutrient deficiency in a mildly obese diabetic rat model undergoing SADI-S versus RYGB. *Obesity Surgery*. **29** (4), 1174-1184 (2019).
14. Wu, W. et al. Comparison of the outcomes of single anastomosis duodeno-ileostomy with sleeve gastrectomy (SADI-S), single anastomosis sleeve ileal (SASI) bypass with sleeve gastrectomy, and sleeve gastrectomy using a rodent model with diabetes. *Obesity Surgery*. **32** (4), 1209-1215 (2022).
15. Laura, M. et al. Establishing a reproducible murine animal model of single anastomosis duodenoileal bypass with sleeve gastrectomy (SADI-S). *Obesity Surgery*. **28** (7), 2122-2125 (2018).

16. Meoli, L. et al. Intestine-specific overexpression of LDLR enhances cholesterol excretion and induces metabolic changes in male mice. *Endocrinology*. **160** (4), 744-758 (2019).
17. Abu El Haija, M. et al. Toll-like receptor 4 and myeloid differentiation factor 88 are required for gastric bypass-induced metabolic effects. *Surgery for Obesity and Related Diseases*. **17** (12), 1996-2006 (2021).
18. Kumar, S. et al. Lipocalin-type prostaglandin D2 synthase (L-PGDS) modulates beneficial metabolic effects of vertical sleeve gastrectomy. *Surgery for Obesity and Related Diseases*. **12** (8), 1523-1531 (2016).
19. Heffron, S. P. et al. Changes in lipid profile of obese patients following contemporary bariatric surgery: A meta-analysis. *The American Journal of Medicine*. **129** (9), 952-959 (2016).
20. Carswell, K. A., Belgaumkar, A. P., Amiel, S. A., Patel, A. G. A systematic review and meta-analysis of the effect of gastric bypass surgery on plasma lipid levels. *Obesity Surgery*. **26** (4), 843-855 (2016).
21. Surve, A., Zaveri, H., Cottam, D. Retrograde filling of the afferent limb as a cause of chronic nausea after single anastomosis loop duodenal switch. *Surgery for Obesity and Related Diseases*. **12** (4), e39-e42 (2016).
22. Uysal, M. et al. Caecum location in laboratory rats and mice: an anatomical and radiological study. *Laboratory Animals*. **51** (3), 245-255 (2017).
23. Sánchez-Pernaute, A. et al. Single-anastomosis duodeno-ileal bypass with sleeve gastrectomy: metabolic improvement and weight loss in first 100 patients. *Surgery for Obesity and Related Diseases*. **9** (5), 731-735 (2013).
24. Wei, J. H., Yeh, C. H., Lee, W. J., Lin, S. J., Huang, P. H. Sleeve gastrectomy in mice using surgical clips. *Journal of Visualized Experiments*. **165**, 60719 (2020).
25. Ying, L. D. et al. Technical feasibility of a murine model of sleeve gastrectomy with ileal transposition. *Obesity Surgery*. **29** (2), 593-600 (2019).

26. Bruinsma, B. G., Uygun, K., Yarmush, M. L., Saeidi, N. Surgical models of Roux-en-Y gastric bypass surgery and sleeve gastrectomy in rats and mice. *Nature Protocols*. **10** (3), 495-507 (2015).

Article n°3 – Le SADI-S améliore l'homéostasie lipidique et glucidique chez la souris Ob/Ob

Suite à la mise au point technique du modèle murin de SADI-S, notre objectif a été d'en réaliser une description phénotypique en comparaison de la chirurgie de référence, le RYGB (Frey et al. *Obesity*, In press). Nous avons choisi de mettre en avant l'impact du SADI-S sur le métabolisme des lipoprotéines, ce qui s'inscrit dans l'objectif principal de ce projet. L'impact sur le métabolisme glucidique et sur la NAFLD a également été étudié.

Le modèle murin d'obésité utilisé dans cette étude est la souris Ob/Ob. Des souris Ob/Ob mâles sous régime standard ont initialement été réparties trois groupes : SADI-S, RYGB et Sham (laparotomie seule). Lors d'une seconde expérience indépendante, un quatrième groupe a été ajouté qui recevait une quantité de nourriture identique aux souris SADI-S (groupe pair-fed) afin d'étudier les conséquences de la restriction alimentaire sur les effets du SADI-S.

Dans cette étude, le SADI-S s'accompagnait d'une perte de poids d'environ 40% qui reproduisait celle de l'homme et était significativement plus élevée qu'après RYGB. Notre modèle de SADI-S reproduisait les effets bénéfiques observés en clinique : un effet hypocholestérolémiant majeur, une amélioration de la glycémie à jeun, de la tolérance au glucose et de l'insulinorésistance, ainsi qu'une réduction spectaculaire de la stéatose hépatique. Ces améliorations étaient supérieures à celles observées après RYGB. Notre étude montre que l'hypocholestérolémie induite par le SADI-S résultait à la fois d'une réduction importante de l'absorption intestinale du cholestérol, mais aussi d'une induction de l'épuration du cholestérol plasmatique. Ces observations s'accompagnent d'une modification de l'expression génique des transporteurs impliqués dans le trafic du

cholestérol à travers l'entérocyte de façon différente entre l'anse biliaire et l'anse alimentaire. Enfin, la restriction alimentaire seule (groupe pair fed) ne reproduisait pas les effets bénéfiques du SADI-S.

Cette étude apporte donc la validation du modèle murin de SADI-S, et met en évidence des éléments nouveaux concernant les mécanismes par lesquels le SADI-S réduit la cholestérolémie. Elle plaide en faveur de la réalisation du SADI-S chez les patients présentant des comorbidités métaboliques importantes, bien que ses résultats sur le long terme méritent encore d'être étudiés. D'autres aspects mécanistiques de cette chirurgie, dépendants ou non de la perte de poids, dont la signalisation des acides biliaires, la dépense énergétique ou encore les effets sur le microbiote, pourraient être étudiées avec l'aide de ce modèle.

Single-anastomosis duodeno-ileal bypass with sleeve gastrectomy (SADI-S) improves lipid and glucose homeostasis in Ob/Ob mice

Samuel Frey^{a,b}, Audrey Ayer^a, Thibaud Sotin^a, Victoria Lorant^a, Clément Louis-Gaubert^{a,b}, Lucie Arnaud^a, Stéphanie Billon-Crossouard^{c,d}, Mikael Croyal^{a,c,d}, Xavier Prieur^a, Samy Hadjadj^a, Bertrand Cariou^a, Claire Blanchard^{a,b*} & Cédric Le May^{a,*}

^aNantes Université, CHU Nantes, CNRS, INSERM, l'institut du thorax, 44000 Nantes, France.

^bNantes Université, CHU Nantes, Chirurgie Cancérologique, Digestive et Endocrinienne, Institut des Maladies de l'Appareil Digestif, 44000 Nantes, France.

^cUniversité de Nantes, CHU Nantes, Inserm, CNRS, SFR Santé, Inserm UMS 016, CNRS UMS 3556, F-44000 Nantes, France.

^dCRNH-Ouest Mass Spectrometry Core Facility, F-44000 Nantes, France

Keywords: Bariatric surgery, bypass, dyslipidemia, diabetes

Running title: Effect of SADI-S vs. RYGB in Ob/Ob mice

Contact info: Prof. Claire Blanchard, Chirurgie Cancérologique, Digestive et Endocrinienne, Institut des Maladies de l'Appareil Digestif, Centre Hospitalier Universitaire de Nantes, Hôtel Dieu, Place Alexis Ricordeau, 44093 Nantes, France. email: claire.blanchard@chu-nantes.fr

Word count: 3998

Funding: This work was funded by the project Nantes Excellence Trajectory (NExT) (project Bach, ref R22140NN), the fondation Genavie, the *Société Française et Francophone de Chirurgie de l'Obésité et des Maladies Métaboliques* (SOFCOMM). SF was supported by a salary grant from Inserm (Poste d'accueil: 2021-2023). Material (surgical clips and surgical clamps) was offered by Ethicon (Johnson and Johnson surgical technologies).

Disclosures: The authors have no conflicts of interest to disclose concerning this work.

What is already known about this subject?

- SADI-S is an emerging bariatric surgery procedure with strong effect on body weight and metabolic comorbidities. However, few studies have compared SADI-S with Roux-en-Y gastric bypass.
- The pathophysiological mechanisms mediating the beneficial metabolic effects of SADI-S remain to be studied.

What are the new findings in your manuscript?

- By developing the SADI-S procedure in Ob/Ob mouse model, we show that it promotes a stronger effect than RYGB on body weight loss as well as greater improvement of glucose and lipid homeostasis and hepatic steatosis.
- The hypocholesterolemic effect of SADI-S is mainly mediated through a combination of a reduced intestinal cholesterol absorption and an increased plasma cholesterol catabolism.

How might your results change the direction of research or the focus of clinical practice?

- By replicating the results observed in a clinical setting, our study provides a novel and valid model of SADI-S in mice. This relevant tool offers the opportunity to explore the mechanisms underlying the strong metabolic improvement observed after SADI-S.

ABSTRACT

Objective: To compare the general and metabolic impact of single-anastomosis duodeno-ileal bypass with sleeve gastrectomy (SADI-S) with Roux-en-Y gastric bypass (RYGB) in an Ob/Ob mouse model.

Methods: Ten weeks-old male Ob/Ob mice underwent either a SADI-S, a RYGB or a laparotomy surgery (Sham group). General and metabolic parameters were assessed during a 5-week period thereafter.

Results: SADI-S induced a deeper weight loss ($-41.2\pm 3.3\%$) than RYGB ($-5.6\pm 3.5\%$, $p<0.001$) compared with Sham ($+6.3\pm 1.0\%$, $p<0.05$). A significant food restriction was observed after SADI-S only (-31% , 117.4 ± 10.3 vs. 170.2 ± 5.2 g of food at day 35 in Sham mice, $p<0.001$). Random fed glycemia and glucose tolerance were more improved after SADI-S than RYGB. SADI-S decreased plasma cholesterol concentration by 60% (0.49 ± 0.04 vs. 1.40 ± 0.10 g/L in the Sham group at day 35, $p<0.01$), significantly more than RYGB (1.04 ± 0.14 , $p=0.018$). Plasma sitosterol/cholesterol and campesterol/cholesterol ratios were decreased after SADI-S, suggesting a reduced intestinal cholesterol absorption. SADI-S increased exogenous plasma D₇-labelled cholesterol clearance and fecal elimination, also indicating an increased plasma cholesterol excretion. Studying a pair-fed group showed that calories restriction alone did not explain the beneficial impact of SADI-S.

Conclusions: SADI-S is associated with a greater improvement in lipid and glucose homeostasis than RYGB in Ob/Ob mice.

INTRODUCTION

As a response to the increasing prevalence of obesity, which nearly affects 20% of adults worldwide (1), bariatric surgeries have emerged as an efficient treatment (2). Beyond their sustained effect on weight loss (3), bariatric procedures also improve the comorbidities associated with obesity, such as type 2 diabetes (4), dyslipidemia (5), cardiovascular disease (6), and non-alcoholic steatohepatitis (NASH) (7), and long-term survival in patients living with obesity (8). These beneficial metabolic effects, from which originates the increasing expansion of "metabolic surgeries", vary according to the procedures (9).

The Roux-en-Y gastric bypass (RYGB) is currently the reference metabolic procedure due to its strong metabolic effects, especially regarding glucose homeostasis (9–11). During RYGB, a small gastric pouch is confectioned, and the bowel is rearranged into an alimentary, a biliary and a common limb in which food and biliopancreatic secretion encounter. In order to analyze the mechanisms responsible for these beneficial metabolic outcomes, we have developed these procedures in mice (12,13). Notably, we showed that RYGB is more effective than sleeve gastrectomy (SG) in lowering cholesterol in wild-type mice (13), in agreement with clinical observations (9). This cholesterol-lowering effect is partly related to an increase in fecal and in trans-intestinal cholesterol excretion (TICE) (13).

One clinical challenge is the weight regain observed during long term follow-up after RYGB, especially in patients with body mass index (BMI) upper than 50 kg/m² (14). In this context, the single-anastomosis duodeno-ileal bypass with sleeve gastrectomy (SADI-S) has emerged as an evolution of the biliopancreatic diversion (15), aiming to balance its value and drawbacks. In this novel procedure, a duodeno-ileal end-to-side anastomosis is performed after duodenal exclusion to create a 250-300 cm common limb, with an additional SG. SADI-S is believed to be efficient for the treatment of morbid obesity and its metabolic comorbidities (16), with few post-operative complications (17). Only few observational studies have directly compared SADI-S with RYGB, suggesting that SADI-S may have superior metabolic and weight efficiency (18,19). The International Federation for the Surgery of

Obesity and Metabolic Disorders (IFSO) recently highlighted these benefits, but also the need for perioperative and long-term results (20). Importantly, to date, mechanistic data concerning the metabolic impact of SADI-S are still lacking.

We recently set-up the first reproducible model of SADI-S in mice (21), which gives us the opportunity to decipher the mechanisms of action responsible for the beneficial metabolic effects. The aim of the present study was to compare the general and metabolic impact of SADI-S vs. RYGB in an Ob/Ob mouse model, with a particular focus on cholesterol metabolism.

MATERIAL AND METHODS

See Supplementary materials for detailed methods.

Animals and surgeries

In the first experiment, ten-week-old male Ob/Ob mice (Charles River, L'Arbresle, France) fed with a standard chow diet (SAFE® A04 Rosenberg, Germany) were divided into three groups after randomization on body weight and random-fed glycemia: SADI-S, RYGB and laparotomy surgery (Sham group). In the second independent experiment, we added a fourth pair-fed group (Sham surgery) of animals that received the same amount of solid diet than SADI-S mice. Surgeries were performed under anesthesia as described previously (12,13,21,22). Briefly, during SADI-S, i) a SG was performed using titanium surgical clips anchored with a nonabsorbable running suture, ii) the duodenum was ligated proximally from the main bile duct with a nonabsorbable suture, and iii) an iso-peristaltic duodeno-ileal anastomosis was performed to construct a 10 cm common limb (1/3 of the small bowel total length) (**Figure S1A**). For modified RYGB (12): a Y-shaped anatomy was constructed with a gastro-jejunal and a jejuno-jejunal anastomosis after pylorus ligation, creating a 8 cm biliary limb and a 6 cm alimentary limb (**Figure S1B**). Sham mice were kept under general anesthesia the same time as RYGB and SADI-S groups. The initial number of mice was calculated according to our pasts experiences in animal surgery (12,13). This protocol has been approved by the local ethic committee for animal experimentation (ref CEEA-PdL n°06).

Post-operative care and general measurements

Mice were kept in individual cages, with free access to water (immediately) and solid diet (from day 3), and vitamin and iron supplementation (21). Food intake was measured daily. Body weight, blood glucose, plasma cholesterol and triglycerides were measured weekly. Oral and intraperitoneal glucose tolerance tests (OGTT and IPGTT) were performed at day 21 and 29, respectively. Fasting plasma glucose and insulin were measured at day 21. Insulin resistance was assessed using Homeostasis

assessment index (HOMA-IR). At day 32, mice were injected intravenously with D₇-cholesterol (0.3mg in 100μL intralipid). Blood was harvested 2 minutes after injection and at day 35 (D35) to calculate plasma D₇-cholesterol clearance. Feces were collected during 3 days to measure fecal D₇-cholesterol excretion. Mice were euthanized at D35 after blood collection by cardiac puncture. Sub-cutaneous and gonadal white adipose tissues were weighted, liver and small intestine were weighed and immediately frozen in liquid nitrogen for mRNA expression analyses or fixed in paraformaldehyde 4% for histological analyses. Sterols (cholesterol, coprostanol, campesterol and sitosterol) and bile acids (BA) were measured in plasma, feces and/or bile harvested from the gallbladder at D35.

Statistical analyses

Data are presented as mean ± standard error to the mean (SEM). Comparisons between groups were done with Mann-Whitney, Kruskal-Wallis or ANOVA two factors with Sidak's test for multiple comparisons, when appropriate. Correlations between parameters were done using Spearman's test. A p-value <0.05 was deemed as statistically significant. Graphpad Prism software version 8.0.1 (Graphpad Software, San Diego, CA, USA) was used for statistical analyses.

RESULTS

SADI-S reduces food intake and leads to a greater weight loss than RYGB

Ob/Ob mice underwent either SADI-S or RYGB bariatric procedures, or simple laparotomy (control Sham). The mean operating time was significantly shorter for SADI-S than for RYGB (66.6 ± 1.2 vs. 80.2 ± 1.4 minutes, $p < 0.001$) (**Figure 1A**). The mean length of the common limb created during SADI-S was $33.9 \pm 1.9\%$ of the total length of the small bowel (**Figure 1B**), and $55.9 \pm 5.1\%$ in RYGB.

The cumulative food intake was significantly decreased after SADI-S compared with RYGB (117.4 ± 10.3 vs. 158.6 ± 11.1 g of food at day 35, $p < 0.05$) and Sham surgery (170.2 ± 5.2 g, $p < 0.001$) (**Figure 1C**), lowering the mean total energy intake (**Figure S2**). From comparable mean pre-operative body weights (**Figure 1D**), SADI-S induced a greater weight loss ($-41.2 \pm 3.3\%$ at D35) than RYGB ($-5.6 \pm 3.5\%$, $p < 0.05$) and Sham surgery ($+6.3 \pm 1.0\%$, $p < 0.001$) (**Figure 1E**). Accordingly, gonadal and sub-cutaneous fat pads decreased significantly only after SADI-S (**Figures 1F-1G**).

SADI-S is associated with an increased fecal production with a prolonged intestinal transit time, without intestinal mucosal adaptation

Histological analysis of intestinal mucosa showed that only RYGB induced a significant increase in villi height compared with the Sham group within the common limb ($p < 0.05$, **Figure 2A-2B**). SADI-S, but not RYGB, was associated with an increased daily feces production in comparison with Sham-operated mice (124.3 ± 11.5 vs. 68.6 ± 7.0 g per gram of food per day after RYGB, $p < 0.001$) (**Figure 2C**) and with an increased transit time (17.0 ± 3.6 vs. 3.3 ± 0.4 min per centimeters of small bowel in the Sham group, $p < 0.01$) (**Figure 2D**).

As a reflect of microbial change, we investigated metabolites of microbiota metabolism. SADI-S significantly reduced the plasma concentration of indoxyl-3-sulfate, a marker of tryptophan metabolism, compared to RYGB, and tended to decrease the coprostanol excretion compared to Sham

mice (**Figure S3A-S3B**). Furthermore, a significant increase in plasma trimethylamine N-oxide (TMAO) was also observed after SADI-S compared to Sham mice, while its precursors were not significantly modified (**Figure S3C**).

SADI-S strongly improves glucose homeostasis

From comparable pre-operative random-fed blood glucose levels SADI-S significantly lowered blood glucose level from day 7 (**Figure 3A-3B**). This improvement was sustained over time and was stronger than after RYGB (80.5 ± 7.1 vs. 153.7 ± 15.6 mg/dL at D35, $p < 0.001$). After RYGB, an initial trend for an improvement of glycemia that disappeared over time was observed. SADI-S strongly and significantly decreased fasting plasma insulin and HOMA-IR measured 21 days after surgery, suggesting an improvement in insulin resistance (**Figures 3C-3D**). Glucose tolerance improved significantly after SADI-S during OGTT and IPGTT compared with RYGB and Sham-operated mice (**Figure 3E-F**). Area under the curve during OGTT and HOMA-IR correlated significantly with the percentage of weight loss after SADI-S (Spearman correlation) (**Figure S4**).

SADI-S exerts a strong hypocholesterolemic effect by reducing intestinal cholesterol absorption and promoting plasma cholesterol excretion

At baseline, plasma cholesterol concentrations were similar between groups (**Figure 4A**). RYGB and SADI-S induced a strong and sustainable hypocholesterolemic effect over time compared with the Sham group (**Figure 4B**). Interestingly, SADI-S also resulted in a greater decrease in plasma total cholesterol concentration than RYGB (0.49 ± 0.04 vs. 1.04 ± 0.13 g/L at D35, $p = 0.018$). Both surgeries had no significant effect on plasma triglycerides concentration (**Figure 4C-4D**).

To further investigate the consequences of SADI-S on cholesterol homeostasis, we injected exogenous D₇-cholesterol intravenously, and followed its 72 hours plasma clearance and fecal elimination in SADI-

S and Sham groups. SADI-S significantly increased the plasma D₇-cholesterol clearance compared with Sham mice (remaining plasma concentration at day 3, 4.66±0.45 vs. 9.40±2.03%, p<0.05) (**Figure 4E-4F**). This finding was mirrored by a significant increase in D₇-cholesterol fecal excretion after SADI-S (5.30±0.72 vs. 1.57±0.20 µg/day, p<0.001) (**Figure 4G**), confirming that SADI-S increased plasma cholesterol excretion. In addition, both sitosterol/cholesterol and campesterol/cholesterol ratios, some proxies of intestinal cholesterol absorption, were significantly reduced after SADI-S, but not after RYGB (**Figures 4H-4I**). In accordance with this dual action of SADI-S on both the cholesterol excretion and absorption, fecal cholesterol excretion doubled after SADI-S compared with Sham mice (**Figure 4J**). The fecal energy content was significantly increased in the SADI-S group (4163±67 vs. 3582±37 Cal/g in the Sham group, p<0.01) (**Figure 4K**).

Q-PCR analysis revealed a significant down-regulation of genes involved in cholesterol uptake at the basolateral side of the enterocyte, especially the LDL receptor (LDLR), concomitantly with a decreased sterol regulatory element-binding protein-2 (SREBP-2) expression preferentially in the common limb after SADI-S (**Figure 5A-5E**). Genes involved in cholesterol efflux from the apical side of the enterocyte, namely ATP-binding cassette (ABC) G5/G8 and ABCB1A/ABCB1B, were also significantly repressed preferentially within the biliary limb after SADI-S (**Figures 5F-5I**). Finally, the expression of Niemann-Pick C1-like 1 (NPC1L1) transporter, a key regulator of intestinal cholesterol re-absorption, was strongly and significantly reduced in the biliary limb of SADI-S group (**Figure 5J**). In contrast, liver mRNA expressions analysis of key genes involved in the cholesterol metabolism showed that 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-coenzyme A (HMG-CoA) reductase and SREBP-2 expressions were not significantly modified after both surgeries (**Figure 5S**).

SADI-S impacts bile acids metabolism

Plasma and biliary BA tended to increase after RYGB, the trend was less pronounced after SADI-S (**Figures 6A-6D-6H**). BA compositions in these biological compartments were modified after SADI-S

(Figures 6B-6J). These included a significant 3-fold increase in the proportion of plasma Taurodeoxycholic acid (TDCA, Figure 6C) and in the fecal excretion of β -muricholic acid (MCA) and chenodeoxycholic acid (CDCA). α/ω MCA and deoxycholic acid (DCA) decreased significantly (Figure 6J). Overall, fecal excretion of secondary BA was strongly and significantly decreased after SADI-S (Figure S6A-S6B). Interestingly, hydrophobicity index tended to decrease in the bile (-25.4% vs. Sham mice $p=0.085$, Figure 6G) and was significantly decreased in the feces (-24.75 ± 12.01 vs. 3.85 ± 1.74 in Sham mice, $p=0.040$, Figure 6K) after SADI-S, while these differences were more modest after RYGB. Intestinal BA signaling seemed to be increased after SADI-S since mRNA expression of Fibroblast growth factor 15 (FGF15), a farnesoid X receptor (FXR)-target gene, was significantly increased within the biliary limb, while it tended to decrease in the common limb (Figure S6C).

SADI-S impacts liver steatosis

At D35, liver weight was reduced after SADI-S in comparison with Sham mice (1.3 ± 1.1 vs. 3.8 ± 1.8 g, $p<0.01$) (Figure 7A). While bariatric surgeries did not significantly impact hepatic cholesterol content (Figure 7B), there was an almost significant downward trend in hepatic triglyceride content after SADI-S compared to RYGB (8.36 ± 0.66 vs. 20.18 ± 4.08 , $p=0.071$) and Sham mice (19.09 ± 1.08 $\mu\text{g}/\text{mg}$, $p=0.085$) (Figure 7C). In accordance with these findings, histological analyses showed that fat droplets that were abundant in sham mice, revealing a macro-vesicular steatosis, almost completely disappeared 35 days after SADI-S, but not after RYGB (Figure 7D). Accordingly, PPAR γ 2 liver mRNA expression, which is known to correlate with liver steatosis, decreased after SADI-S in compared with Sham mice (Figure 7E). Among the other tested target hepatic genes, the lipogenic genes fatty acid synthase (FAS) and acetyl-CoA carboxylase (ACC) mRNA expression levels decreased after SADI-S in comparison with RYGB (-119.4%, $p=0.029$, and -82.9%, $p=0.085$, respectively). This observation was accompanied by an improvement in liver biochemistry, as shown by a significant decrease in ALT and a trend for a decrease in AST (Figure 7F).

The beneficial metabolic effects of SADI-S are not only explained by the reduced food intake

To determine whether the beneficial effects of SADI-S were mainly explained by the reduced daily food intake (**Figure 1C**), we compared the metabolic parameters between Sham, SADI-S mice and a pair-fed group (receiving a similar amount of food consumed by SADI-S mice, **Figure 8A, Figure S7**). As expected, pair-fed mice had a significant weight loss compared with Sham mice (-5.1 ± 2.4 vs. $+6.5 \pm 1.1\%$ at D35, $p < 0.01$) (**Figures 8B-8C**). The weight loss was even stronger after SADI-S ($-43.4 \pm 4.1\%$, $p < 0.001$ vs. pair-fed), validating the malabsorptive nature of the procedure. Accordingly, fat pads weights were significantly lower after SADI-S in comparison with pair-fed mice (**Figures 8D-8E**). Similarly, the food restriction in pair-fed group tended to decrease plasma cholesterol (**Figure 8F-8G**) and random fed blood glucose levels (**Figure 8H-8I**) and to improve glucose tolerance (both oral and intraperitoneal, **Figures 8J-8K**) when compared to Sham mice. However, the effects of SADI-S on these metabolic parameters were more robust and significantly different compared with the pair-fed group, demonstrating that food intake reduction observed after SADI-S cannot fully recapitulate the improvement of metabolic homeostasis.

DISCUSSION

This study is the first to report the general and metabolic impact of the SADI-S bariatric procedure in a murine model, showing that SADI-S is associated with a stronger effect than RYGB on body weight loss, glucose homeostasis, cholesterol metabolism and liver steatosis in Ob/Ob mice.

Overall, our SADI-S model had better peri-operative outcomes than RYGB, decreasing the operating time. The body weight loss was stronger after SADI-S than RYGB, approaching 40%. Comparative studies have shown a stronger weight loss after SADI-S than after RYGB after 3 (total body weight loss -35.5 ± 6.7 vs. $-30.3 \pm 7.1\%$, $p < 0.001$ (19)) and 5 years (-37.9 ± 4.9 vs. $-32.5 \pm 7.5\%$ (23)). Based on our experimental study in mice, this difference could result from both lower calories intake and higher fecal calories excretion after SADI-S.

Improvement of glycemic control in type 2 diabetes is among the main expected metabolic benefits after bariatric surgery. While RYGB improves type 2 diabetes (10), an even stronger impact is expected after SADI-S (19). Our model reproduces the strong effect of SADI-S on blood glucose level and glucose tolerance. A decreased glucose absorption, within the shunted jejunum (the main site of carbohydrate absorption) has been proposed as an explanation (24). However, the persistence of a significant improvement of glucose tolerance during IPGTT suggests that this effect does not only involve a decrease in glucose absorption. Our observation in Ob/Ob mice is in agreement with others who showed that SADI-S led to a stronger glucose tolerance improvement than RYGB during OGTT (25). In our study, plasma insulin and HOMA-IR, which are proxies of insulin-resistance, strongly decreased after SADI-S reproducing clinical observations (19), suggesting that these results were associated with an improved insulin sensitivity, while this effect was moderate after RYGB.

While we showed a correlation between insulin resistance and glucose tolerance with weight loss after SADI-S, suggesting a role of body weight loss in metabolic improvement, some studies have shown that improvement of glucose homeostasis occurs before the weight loss induced by surgery (26). In this line, we found a correlation (Spearman's correlation) between food intake ($r = -0.49$; $p = 0.006$), but not

the percentage of weight loss ($r=0.031$; $p=0.89$), with plasma glucose levels reduction 7 days after surgery, suggesting that initial food restriction can play a role, that seems to be lost after RYGB in our model. For ethical reason, it was not possible to perform glucose tolerance tests earlier than D14, before the occurrence of weight loss, after surgery in our mice.

An aspect that we did not explore in the present study is the role of gut hormones in the metabolic change observed after SADI-S. The development of efficient gut hormone-based pharmacotherapy demonstrates their functional relevance of this parameter (27). In rats, discordant studies reported the impact of SADI-S on plasma glucagon-like peptide 1 (GLP-1) levels showing either an increase (28) or no change (29).

Interestingly, we also showed that the SADI-S exerts a stronger hypocholesterolemic effect than RYGB in Ob/Ob mice. Such a beneficial effect of SADI-S on lipid parameters has been suggested in clinical observations from a single center (19).

We intended to unravel the underlying mechanisms of the hypocholesterolemic effect of SADI-S. Our team and others have previously shown that malabsorptive surgeries decrease intestinal cholesterol absorption in mice and humans (13,30,31). With a shorter common limb, it seems unsurprising that ~~the~~ SADI-S could even more decrease this absorption. Indeed, the decreased campesterol and sitosterol to cholesterol ratios suggest that SADI-S reduces the capacity of intestinal cells to absorb luminal cholesterol in a greater extent than RYGB. This is further confirmed by the massive increase in fecal cholesterol excretion and a significant fecal caloric leakage. In accordance with a direct effect of SADI-S on intestinal cholesterol absorption, the expression of NPC1L1, the key transporter for both dietary and biliary luminal cholesterol uptake, was reduced compared with Sham mice. In addition, the observation that SADI-S stimulates plasma D₇-cholesterol clearance and increases its elimination through feces suggests that SADI-S may promote output pathways, i.e. the biliary and non-biliary (TICE) pathways (reviewed in (32)). The analysis of hepatic gene expression demonstrates the lack of impact of bariatric surgeries on HMG-CoA reductase and SREBP2 mRNA levels (13), suggesting that the

hypocholesterolemic effect of SADI-S was not due to an inhibition of endogenous hepatic cholesterol synthesis.

Bariatric surgeries have been shown to alter BA metabolism, classically by increasing their delivery to distal intestinal segments and increasing their plasma concentrations (33). We observed a trend for an increased plasma and biliary BA concentrations after SADI-S. Importantly, SADI-S led to changes in BA composition, favorizing hydrophilic BA in bile and feces. Interestingly, hydrophilic BA have been associated with reduced intestinal cholesterol absorption (34), in line with our aforementioned results. While weight loss and metabolic benefits have been linked with BA changes after bariatric surgery, especially through FXR pathway (35), we measured FGF15 mRNA expression which increased significantly in the biliary limb. In order to determine the specific contribution of BA and FXR signaling to the beneficial metabolic effects observed after SADI-S, it would be interesting to perform this surgery on FXR-deficient mice.

Gut microbiota have been shown to correlate with weight loss (36) and insulin sensitivity (37) after RYGB. After SADI-S, the decrease in fecal excretion of secondary BA and Coprostanol, which results from the conversion of cholesterol by various bacteria (*Eubacterium*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Peptostreptococcus*, and *Bacteroides* sp.), in a stronger way than after RYGB suggests a specific impact of SADI-S on microbiota. These changes were associated after SADI-S with a decrease in indoxyl-3-sulfate, produced from indole oxidization resulting from the metabolism of tryptophan by gut bacteria, a parameter that has been associated with cardiovascular mortality (38). Finally, we observed that SADI-S increased TMAO plasma concentration, resulting from the oxidization of Trimethylamine produced by the gut microbiota. This feature, already described after RYGB, is hypothesized to result from a less anaerobic metabolism in the intestine after bariatric surgery (39). Additional studies with direct measurement of microbiota composition are needed to further assess the specific impact of SADI-S on gut microbiota and its metabolic consequences.

Several studies have demonstrated that non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and NASH are improved after bariatric surgery (7,40). NASH resolved, without worsening fibrosis, in 84% of patients 5 years after bariatric surgery (7). In our model, we noticed an improvement of liver steatosis after SADI-S compared with RYGB or Sham operated mice on qualitative histological analysis. A trend for a decrease in hepatic triglycerides content was also observed after SADI-S. It is likely that the lack of statistical significance resulted from low power. The improvement observed after SADI-S was also associated with a significant decrease in plasma ALT concentration, in accordance with clinical studies (40). NAFLD/NASH improvement has been reported to be correlated with the extent of weight loss, and insulin resistance improvement (7,41), thus, we emphasized that the absence of effect of RYGB on hepatic steatosis is due to the weak impact of this surgery in Ob/Ob mice on these parameters.

Hypertrophy of the intestinal wall is commonly described within the alimentary and common limbs after RYGB (42) and has been associated with a means of limiting malabsorption. However, in our study this phenomenon occurred only in the common limb of RYGB Ob/Ob mice. The reason of this discrepancy is unclear. On the other hand, mucosal intestinal remodeling was not present after SADI-S. While we observed an increased amount of feces, mimicking diarrhea observed in patients, the transit time was significantly longer after SADI-S compared with RYGB. In clinical studies, the number of daily bowel movements (2.1/day in (19)) plea in favor of malabsorptive rather than motor diarrhea. In our model, this could represent an adaptative mechanism aiming to limit malabsorption by increasing the available time for nutrients absorption in the common limb.

Calorie restriction has been shown to be less efficient than bariatric surgeries to induce sustained weight loss and metabolic improvements (5). The study of our pair-fed group confirmed that calorie restriction alone was not sufficient to explain the whole beneficial metabolic effects of SADI-S in Ob/Ob mice. Pair-fed mice only showed an intermediate improvement in blood glucose and plasma cholesterol levels. In contrast to what observed in SADI-S group, RYGB mice did not display significant food restriction, in accordance with our previous studies using the same surgical model (12,13).

Our study displays some limitations that must be acknowledged. In Ob/Ob mice, the beneficial impact of RYGB was less pronounced compared with previous data obtained in diet-induced obese mice (13), seemingly due to the requirement of leptin (43). One potential explanation is the absence of a small gastric pouch in our modified RYGB mouse model (12) which may have somewhat reduced food intake in these hyperphagic mice. Thus, it would be useful to confirm our data with SADI-S in another mouse model of obesity (diet-induced obesity). Unpublished data from our team suggest that, compared with RYGB mice under high fat diet with greater weight loss (as described in our previous studies (12,13)), SADI-S remains superior in term of weight loss and metabolic improvements (*data not shown*). Furthermore, Ob/Ob mice offer the possibility to study the impact of surgery in extreme body weights, the situation in which SADI-S is the alternative to RYGB. Despite the improvement of glucose tolerance and the decrease in fasting plasma insulin levels, a direct measure of insulin sensitivity is lacking due to the limited number of metabolic explorations authorized by the Ethics Committee for each group of animals. Beyond energy intake and fecal excretion, energy expenditure participates in the energy balance. Data suggest that RYGB decreases resting energy expenditure normalized by fat-free mass (44). This aspect has not been studied in our SADI-S model and should be the subject of future assessments.

Conclusion

In this study, we compared for the first time SADI-S with RYGB in a mouse model. SADI-S was associated with a stronger body weight loss, and a greater improvement in glucose and cholesterol homeostasis, as well as liver steatosis. These outcomes are comparable with available clinical observations yet, suggesting the interest of this pre-clinical model to study the molecular mechanisms involved in the beneficial effects observed with this procedure. Altogether, these data argue for preferential use the SADI-S over RYGB in patients with advanced metabolic comorbidities, although long-term results concerning the efficacy and safety of SADI-S are needed. An ongoing French randomized multicenter

study comparing SADI-S and RYGB (NCT03610256) is currently being performed in order to address this question (45).

Acknowledgments

The authors thank the animal facility (UTE-IRS-UN) for its help in the setting of animal care protocols. They also thank the core facilities Corsaire, Micropicell and Therassay, and the NP3 laboratory (Oniris, *Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes Atlantique*) for providing the bomb calorimeter.

REFERENCES

1. Blüher M. Obesity: global epidemiology and pathogenesis. *Nat Rev Endocrinol.* 2019;15(5):288-298.
2. Buchwald H, Oien DM. Metabolic/bariatric surgery worldwide 2011. *Obes Surg.* 2013;23(4):427-436
3. O'Brien PE, Hindle A, Brennan L et al. Long-term outcomes after bariatric surgery: a systematic review and meta-analysis of weight loss at 10 or more years for all bariatric procedures and a single-centre review of 20-year outcomes after adjustable gastric banding. *Obes Surg.* 2019;29(1):3-14.
4. Mingrone G, Panunzi S, De Gaetano A et al. Bariatric-metabolic surgery versus conventional medical treatment in obese patients with type 2 diabetes: 5 year follow-up of an open-label, single-centre, randomised controlled trial. *Lancet.* 2015;386(9997):964-973.
5. Ikramuddin S, Korner J, Lee WJ et al. Lifestyle intervention and medical management with vs without roux-en-y gastric bypass and control of hemoglobin A1c, LDL cholesterol, and systolic blood pressure at 5 years in the Diabetes Surgery Study. *JAMA.* 2018;319(3):266-278.
6. Buchwald H, Varco RL, Boen JR et al. Effective lipid modification by partial ileal bypass reduced long-term coronary heart disease mortality and morbidity: five-year posttrial follow-up report from the POSCH. *Program on the Surgical Control of the Hyperlipidemias. Arch Intern Med.* 1998;158(11):1253-1261.
7. Lassailly G, Caiazzo R, Ntandja-Wandji LC et al. Bariatric surgery provides long-term resolution of nonalcoholic steatohepatitis and regression of fibrosis. *Gastroenterology.* 2020;159(4):1290-1301.e5.
8. Syn NL, Cummings DE, Wang LZ et al. Association of metabolic-bariatric surgery with long-term survival in adults with and without diabetes: a one-stage meta-analysis of matched cohort and prospective controlled studies with 174 772 participants. *Lancet.* 2021;397(10287):1830-1841.
9. Hasan B, Nayfeh T, Alzuabi M et al. Weight loss and serum lipids in overweight and obese adults: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2020;105(12):dgaa673.
10. Castellana M, Procino F, Biacchi E et al. Roux-en-Y gastric bypass vs sleeve gastrectomy for remission of type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2021;106(3):922-933.
11. Saeidi N, Meoli L, Nestoridi E et al. Reprogramming of intestinal glucose metabolism and glycemic control in rats after gastric bypass. *Science.* 2013;341(6144):406-410.

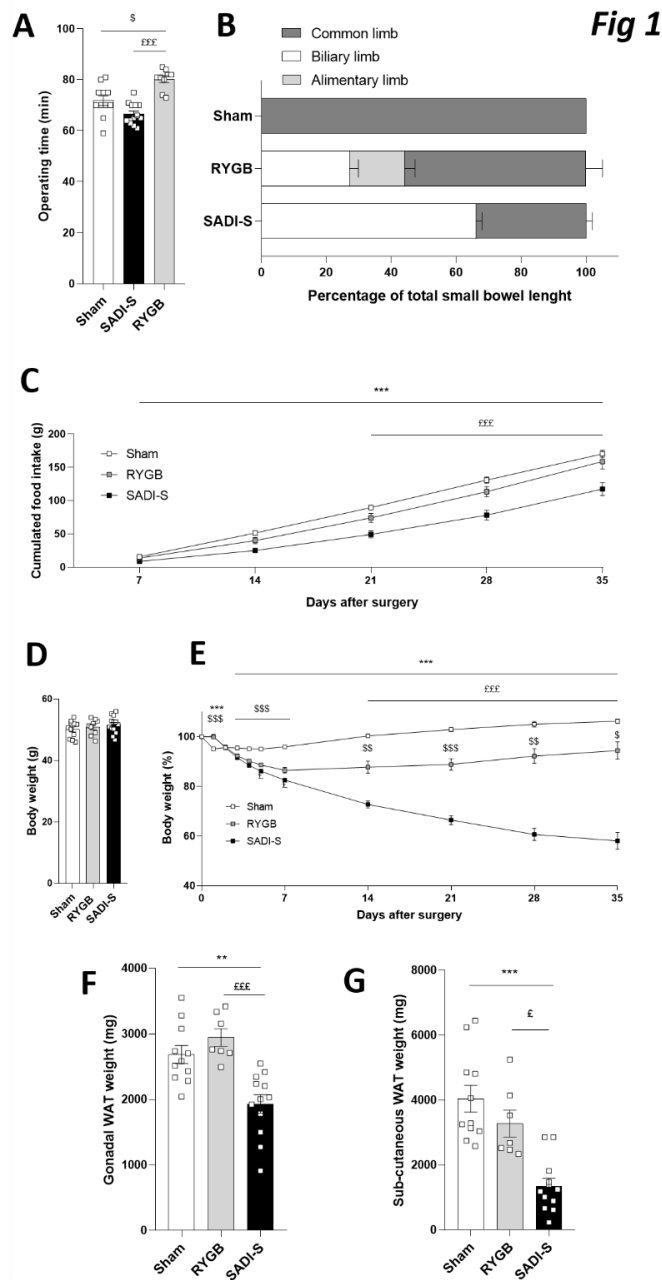
12. Ayer A, Borel F, Moreau F et al. Techniques of sleeve gastrectomy and modified roux-en-y gastric bypass in mice. *J Vis Exp*. 2017;(121):54905.
13. Blanchard C, Moreau F, Ayer A et al. Roux-en-Y gastric bypass reduces plasma cholesterol in diet-induced obese mice by affecting trans-intestinal cholesterol excretion and intestinal cholesterol absorption. *Int J Obes (Lond)*. 2018;42(3):552-560.
14. Tran DD, Nwokeabia ID, Purnell S et al. Revision of Roux-En-Y gastric bypass for weight regain: a systematic review of techniques and outcomes. *Obes Surg*. 2016;26(7):1627-1634.
15. Sánchez-Pernaute A, Rubio Herrera MA, Pérez-Aguirre E et al. Proximal duodenal-ileal end-to-side bypass with sleeve gastrectomy: proposed technique. *Obes Surg*. 2007;17(12):1614-1618.
16. Shoar S, Poliakin L, Rubenstein R, Saber AA. Single anastomosis duodeno-ileal switch (SADIS): a systematic review of efficacy and safety. *Obes Surg*. 2018;28(1):104-113.
17. Surve A, Cottam D, Sanchez-Pernaute A et al. The incidence of complications associated with loop duodeno-ileostomy after single-anastomosis duodenal switch procedures among 1328 patients: a multicenter experience. *Surg Obes Relat Dis*. 2018;14(5):594-601.
18. Cottam A, Cottam D, Medlin W et al. A matched cohort analysis of single anastomosis loop duodenal switch versus Roux-en-Y gastric bypass with 18-month follow-up. *Surg Endosc*. 2016;30(9):3958-3964.
19. Torres A, Rubio MA, Ramos-Leví AM, Sánchez-Pernaute A. Cardiovascular risk factors after single anastomosis duodeno-ileal bypass with sleeve gastrectomy (SADI-S): a new effective therapeutic approach? *Curr Atheroscler Rep*. 2017;19(12):58.
20. Brown WA, de Leon Ballesteros GP, Ooi G et al. Single anastomosis duodenal-ileal bypass with sleeve gastrectomy/one anastomosis duodenal switch (SADI-S/OADS) IFSO position statement-update 2020. *Obes Surg*. 2021;31(1):3-25.
21. Frey S, Ayer A, Sotin T et al. Single-anastomosis duodeno-ileal bypass with sleeve gastrectomy model in mice. *J Vis Exp*. 2023 Feb 10;(192).
22. Blanchard C, Moreau F, Chevalier J et al. Sleeve gastrectomy alters intestinal permeability in diet-induced obese mice. *Obes Surg*. 2017;27(10):2590-2598.
23. Surve A, Cottam D, Richards C, Medlin W, Belnap L. A matched cohort comparison of long-term outcomes of roux-en-y gastric bypass (RYGB) versus single-anastomosis duodeno-ileostomy with sleeve gastrectomy (SADI-S). *Obes Surg*. 2021;31(4):1438-1448.

24. Sánchez-Pernaute A, Herrera MÁR, Ferré NP et al. Long-Term results of single-anastomosis duodeno-ileal bypass with sleeve gastrectomy (SADI-S). *Obes Surg.* 2022;15:1–8.
25. Sessa L, Guidone C, Gallucci P, Capristo E, Mingrone G, Raffaelli M. Effect of single anastomosis duodenal-ileal bypass with sleeve gastrectomy on glucose tolerance test: comparison with other bariatric procedures. *Surg Obes Relat Dis.* 2019;15(7):1091-1097.
26. 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(3):339-350; discussion 350-352.
27. Jastreboff AM, Aronne LJ, Ahmad NN, Wharton S, Connery L, Alves B et al. Tirzepatide once weekly for the treatment of obesity. *N Engl J Med.* 2022;387(3):205-216. d
28. Wu W, Widjaja J, Lu S, Hong J, Yao L, Zhu X. Comparison of the outcomes of single anastomosis duodeno-ileostomy with sleeve gastrectomy (SADI-S), single anastomosis sleeve ileal (SASI) bypass with sleeve gastrectomy, and sleeve gastrectomy using a rodent model with diabetes. *Obes Surg.* 2022;32(4):1209-1215.
29. Wang T, Shen Y, Qiao Z, Wang Y, Zhang P, Yu B. Comparison of diabetes remission and micronutrient deficiency in a mildly obese diabetic rat model undergoing SADI-S versus RYGB. *Obes Surg.* 2019;29(4):1174-1184.
30. Pihlajamäki J, Grönlund S, Simonen M et al. Cholesterol absorption decreases after Roux-en-Y gastric bypass but not after gastric banding. *Metabolism.* 2010;59(6):866-872.
31. Benetti A, Del Puppo M, Crosignani A et al. Cholesterol metabolism after bariatric surgery in grade 3 obesity: differences between malabsorptive and restrictive procedures. *Diabetes Care.* 2013;36(6):1443-1447.
32. Garçon D, Berger JM, Cariou B, Le May C. Transintestinal cholesterol excretion in health and disease. *Curr Atheroscler Rep.* 2022;24(3):153-160.
33. Flynn CR, Albaugh VL, Abumrad NN. Metabolic effects of bile acids: potential role in bariatric surgery. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol.* 2019;8(2):235-246.
34. Wang DQ, Paigen B, Carey MC. Genetic factors at the enterocyte level account for variations in intestinal cholesterol absorption efficiency among inbred strains of mice. *J Lipid Res.* 2001;42(11):1820-1830.
35. 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;509(7499):183-188.
36. Shao Y, Ding R, Xu B, Hua R, Shen Q, He K et al. Alterations of gut microbiota after roux-en-y gastric

- bypass and sleeve gastrectomy in sprague-dawley rats. *Obes Surg*. 2017;27(2):295-302.
37. de Groot P, Scheithauer T, Bakker GJ, Prodan A, Levin E, Khan MT et al. Donor metabolic characteristics drive effects of faecal microbiota transplantation on recipient insulin sensitivity, energy expenditure and intestinal transit time. *Gut*. 2020;69(3):502-512.
38. Choroszy M, Sobieszcańska B, Litwinowicz K, Łaczmański Ł, Chmielarz M, Walczuk U et al. Co-toxicity of endotoxin and indoxyl sulfate, gut-derived bacterial metabolites, to vascular endothelial cells in coronary arterial disease accompanied by gut dysbiosis. *Nutrients*. 2022;14(3):424.
39. Tremaroli V, Karlsson F, Werling M, Ståhlman M, Kovatcheva-Datchary P, Olbers T et al. Roux-en-y gastric bypass and vertical banded gastroplasty induce long-term changes on the human gut microbiome contributing to fat mass regulation. *Cell Metab*. 2015;22(2):228-238.
40. Zhou H, Luo P, Li P et al. Bariatric surgery improves nonalcoholic fatty liver disease: systematic review and meta-analysis. *Obes Surg*. 2022;32(6):1872-1883.
41. Mathurin P, Gonzalez F, Kerdraon O et al. The evolution of severe steatosis after bariatric surgery is related to insulin resistance. *Gastroenterology*. 2006;130(6):1617-1624.
42. Meoli L, Ben-Zvi D, Panciotti C et al. Intestine-specific overexpression of LDLR enhances cholesterol excretion and induces metabolic changes in male mice. *Endocrinology*. 2019;160(4):744-758.
43. Hao Z, Münzberg H, Rezai-Zadeh K et al. Leptin deficient ob/ob mice and diet-induced obese mice responded differently to Roux-en-Y bypass surgery. *Int J Obes (Lond)*. 2015;39(5):798-805.
44. Lamarca F, Melendez-Araújo MS, Porto de Toledo I, Dutra ES, de Carvalho KMB. Relative energy expenditure decreases during the first year after bariatric surgery: a systematic review and meta-analysis. *Obes Surg*. 2019;29(8):2648-2659.
45. Robert M, Poghosyan T, Delaunay D et al. Prospective multicentre randomised trial comparing the efficacy and safety of single-anastomosis duodeno-ileal bypass with sleeve gastrectomy (SADI-S) versus Roux-en-Y gastric bypass (RYGB): SADISLEEVE study protocol. *BMJ Open*. 2020;10(9):e037576.

Figures Legends

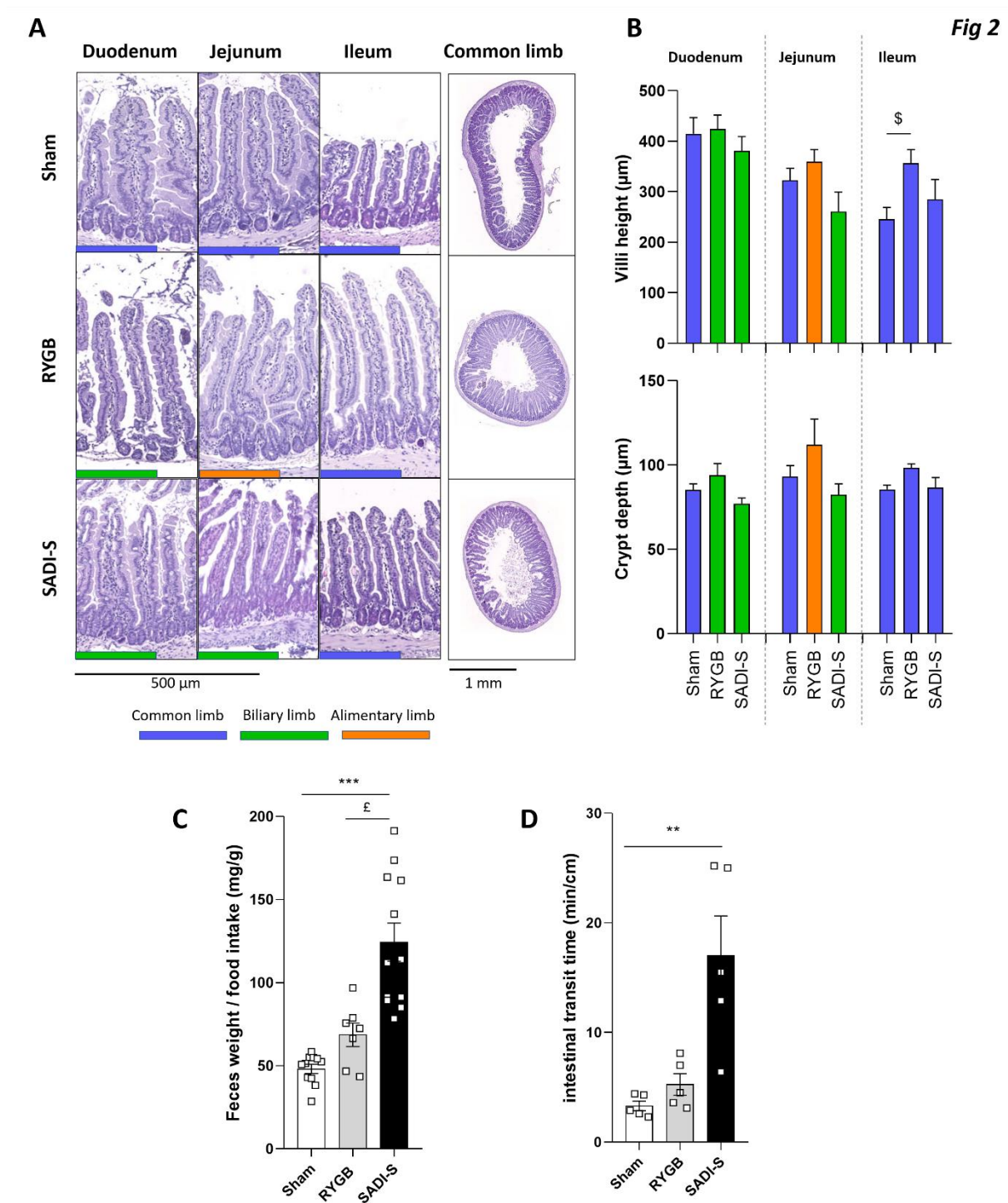
Figure 1. General peri-operative parameters.



(A) Operating time. (B) Relative size of the common, biliary and alimentary limbs (percentage of the total small bowel length) after Sham, RYGB or SADI-S surgery. (C) Cumulated post-operative food-intake. (D) Pre-operative body weight. (E) Post-operative body weight (percentage of the pre-operative body weight). (F) Gonadal and (G) sub-cutaneous white adipose tissue weight 35 days after surgery. Mann Whitney test, Kruskal-Wallis test or ANOVA two factors (Sidak's test for multiple comparisons). ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ (SADI-S vs. Sham). \$ $p < 0.05$, \$\$ $p < 0.01$, \$\$\$ $p < 0.001$ (RYGB vs. Sham). £ $p < 0.05$, ££ $p < 0.01$, £££ $p < 0.001$ (SADI-S vs. RYGB). (A, B, C, D, E) Sham $n = 11$; RYGB $n = 9$; SADI-S $n = 13$, (F, G) Sham $n = 11$; RYGB $n = 7$; SADI-S $n = 12$.

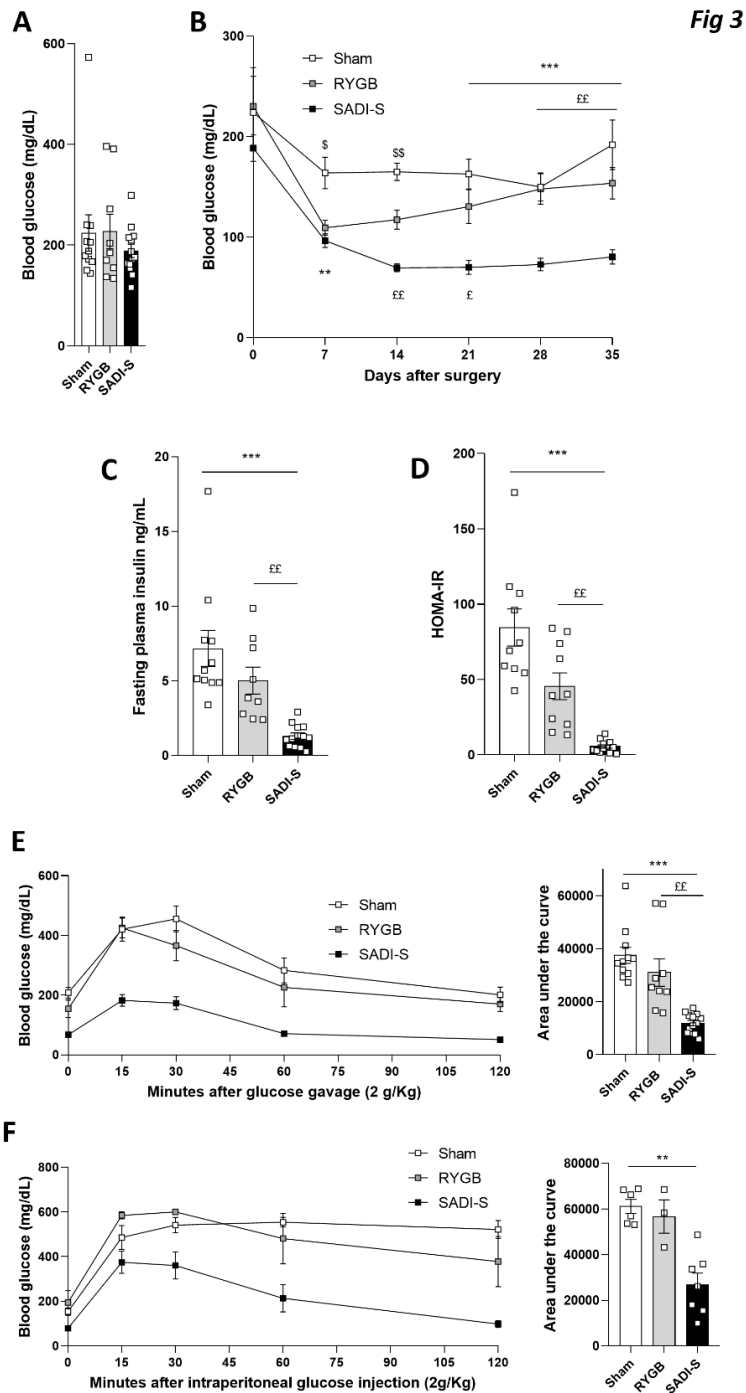
Legend: **WAT**: White adipose tissue.

Figure 2. Small bowel anatomical and functional adaptations



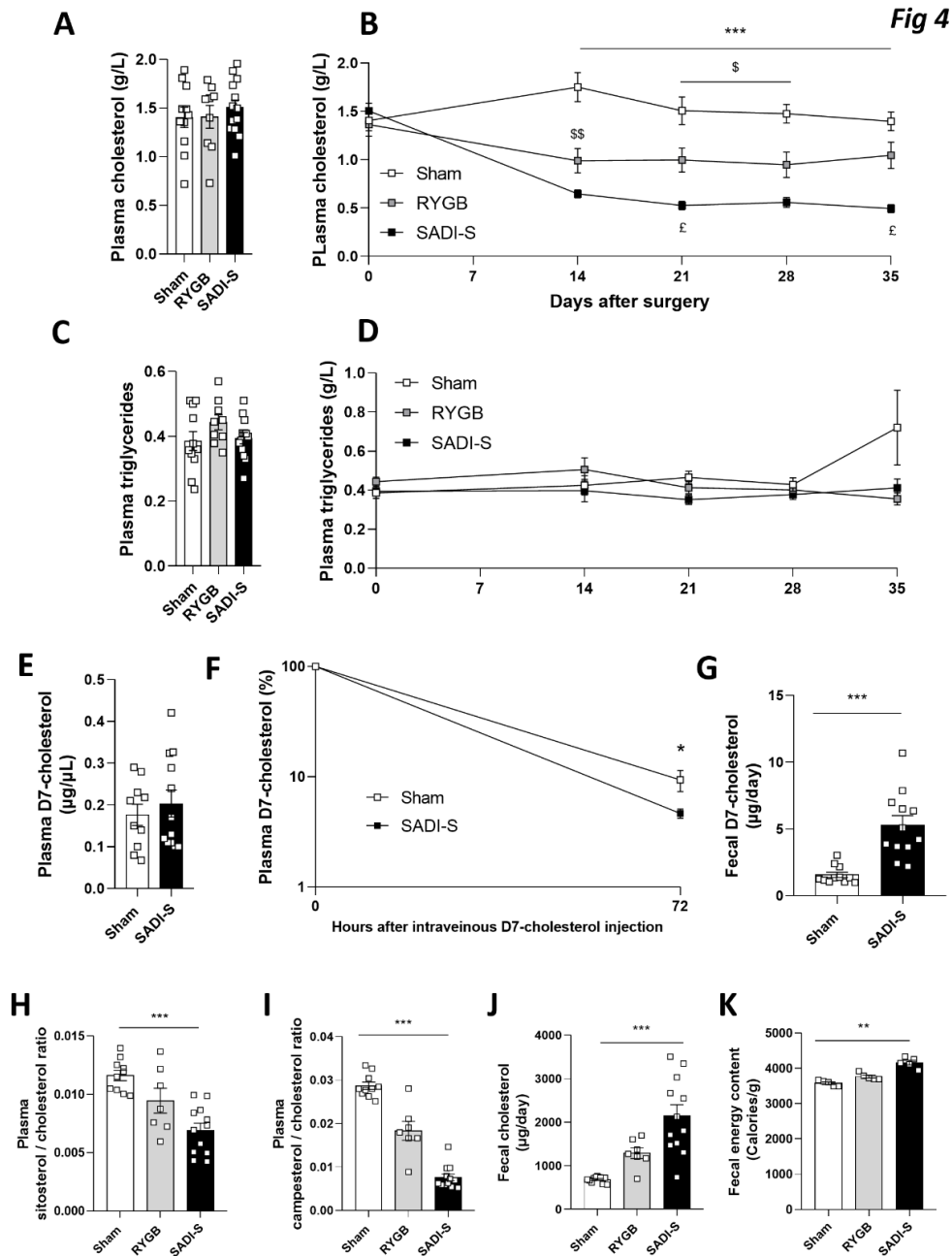
(A) Representative images of hematoxylin and eosin-stained duodenum, jejunum and ileum sections 35 days after surgery, and (B) related morphometric analyses showing the villi height and the crypt depth in each bowel segment. The color code refers to the corresponding functional limb after surgery. Kruskal-Wallis test for multiple comparisons. (C) Daily feces weight relative to food intake. (D) Red-carmines transit time relative to the length of the bowel. (B, D) ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ (SADI-S vs. Sham). § $p < 0.05$ (RYGB vs. Sham). £ $p < 0.05$ (SADI-S vs. RYGB). Sham $n = 5$; RYGB $n = 5$; SADI-S $n = 5$, (C) Sham $n = 11$; RYGB $n = 7$; SADI-S $n = 12$.

Figure 3. Impact of SADI-S on glucose homeostasis



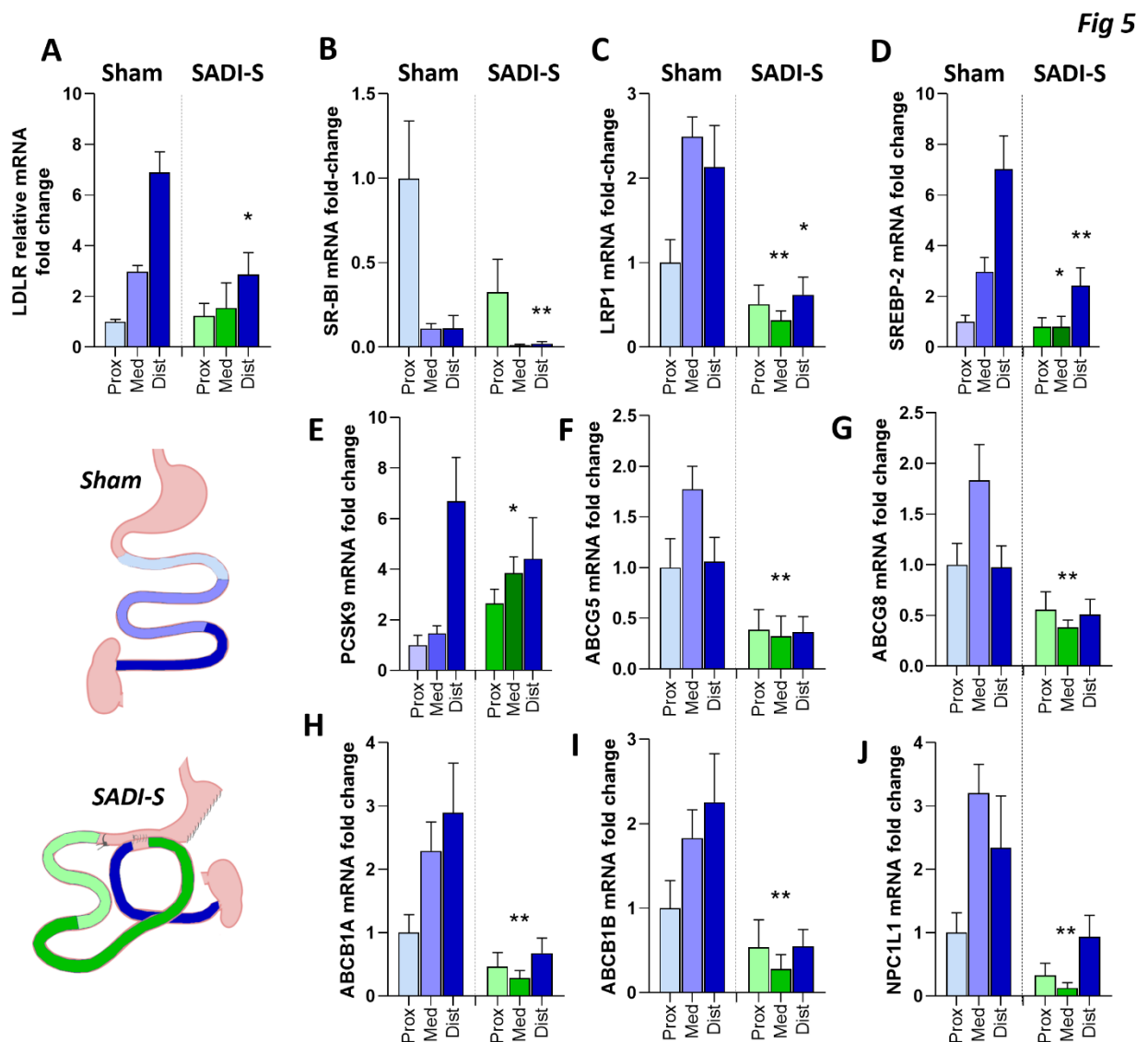
(A) Random-fed blood glucose level at baseline and (B) evolution after surgery. (C) Plasma insulin level after 6 hours fasting 21 days after surgery. (D) Homeostasis assessment index (HOMA-IR) 21 days after surgery. (E) Plasma glucose change during oral and (F) intraperitoneal glucose tolerance tests 21 days after surgery. Kruskal-Wallis test or ANOVA two factors (Sidak's test for multiple comparisons). ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ (SADI-S vs. Sham). £ $p < 0.05$, ££ $p < 0.01$ (SADI-S vs. RYGB). (A, B, C, D, E) Sham $n = 11$; RYGB $n = 9$; SADI-S $n = 13$, (F) Sham $n = 5$; RYGB $n = 3$; SADI-S $n = 5$.

Figure 4. Effect of SADI-S on the cholesterol metabolism



(A) Plasma cholesterol concentration at baseline, and (B) its evolution after surgery. (C) Plasma triglycerides concentration at baseline, and (D) its evolution after surgery. (E) Plasma D₇-cholesterol concentration 2 minutes after intravenous injection and (F) clearance over 72 hours. (G) Daily fecal D₇-cholesterol excretion. (H) Plasma sitosterol/cholesterol and (I) campesterol/cholesterol ratios. (J) Daily fecal cholesterol excretion. (K) Fecal calory content. Mann Whitney test, Kruskal-Wallis test or ANOVA two factors (Sidak's test for multiple comparisons). * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001 (SADI-S vs. Sham). \$ p<0.05, \$\$ p<0.01 (RYGB vs. Sham). £ p<0.05 (SADI-S vs. RYGB). (A, B, C, D) Sham n=11; RYGB n=9; SADI-S n=13, (E, F) Sham n=10; SADI-S n=12, (G) Sham n=11; SADI-S n=12, (H, I) Sham n=10; RYGB n=7; SADI-S n=12, (J) Sham n=11; RYGB n=7; SADI-S n=12, (K) Sham n=5; RYGB n=5; SADI-S n=5.

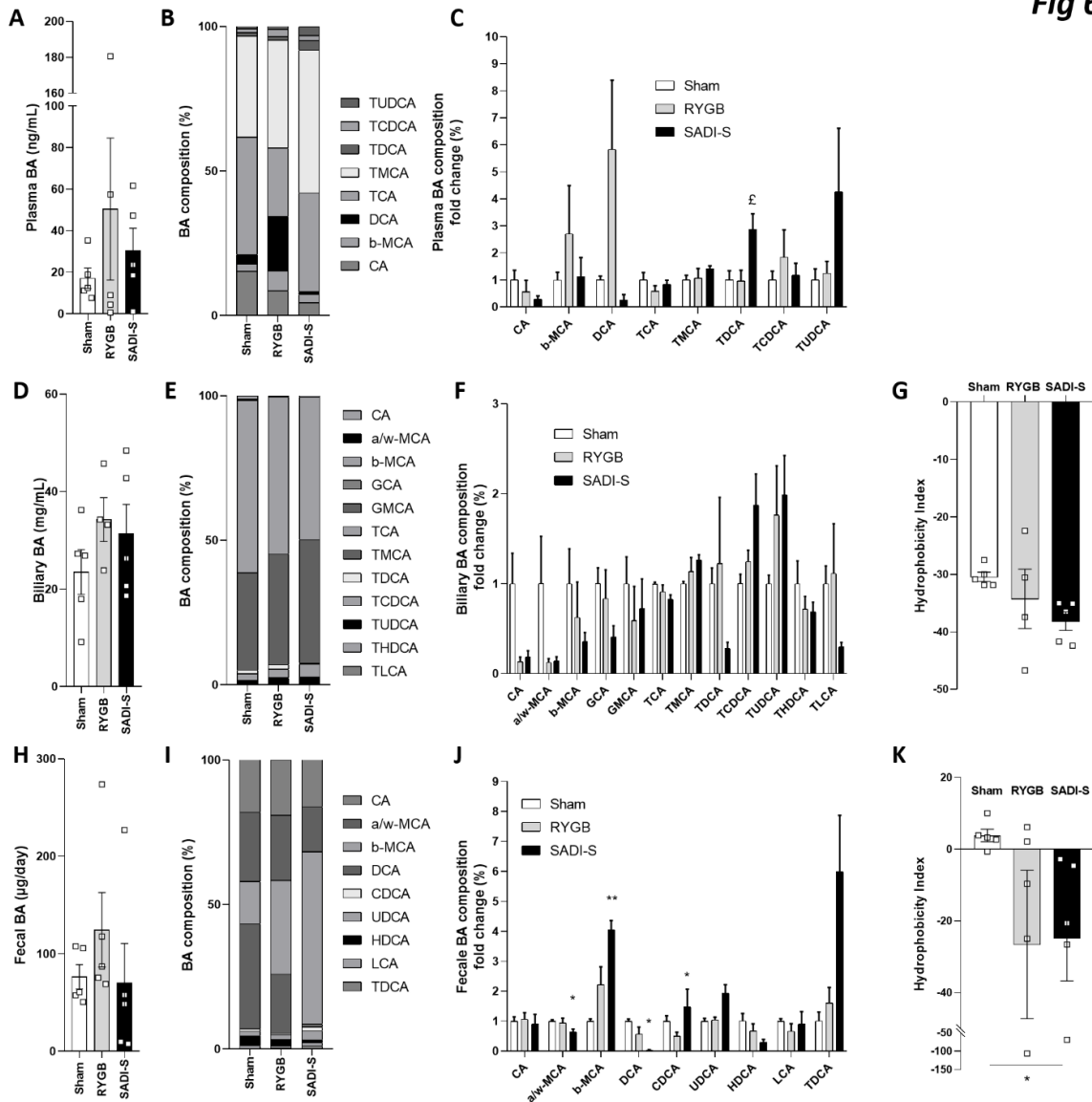
Figure 5. qPCR analysis of intestinal mucosa relative mRNA expression after SADI-S



Relative mRNA expression of genes implicated in cholesterol traffic through the intestinal barrier in different limbs after SADI-S and the corresponding segment of the small bowel in Sham mice. Genes implicated in cholesterol uptake at the basolateral side of the enterocyte: (A) LDLR, (B) SR-BI, (C) LRP1; regulators of the cholesterol metabolism: (D) SREBP-2, (E) PCSK9; cholesterol efflux at the apical side of the enterocyte: (F) ABCG5, (G) ABCG8, (H) ABCB1A, (I) ABCB1B; and cholesterol absorption: (J) NPC1L1. Reference genes were Cyclophilin and glycerol-3-phosphate dehydrogenase. Results are expressed as relative expressions based on the relative $\Delta\Delta C_t$ method, the reference being the proximal intestinal segment of Sham mice. Mann-Whitney test. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$. Sham $n=5$, SADI-S $n=5$.

Legend: **LDLR**: LDL receptor, **SR-BI**: Scavenger receptor class B type 1, **LRP1**: Low density lipoprotein receptor-related protein 1, **SREBP-2**: Sterol regulatory element-binding protein-2, **PCSK9**: proprotein convertase subtilisin/kexin type 9, **ABCB1A**: ATP-binding cassette B1A, **ABCB1B**: ATP-binding cassette B1B, **ABCG5**: ATP-binding cassette G5, **ABCG8**: ATP-binding cassette G8, **NPC1L1**: Niemann–Pick C1-like 1.

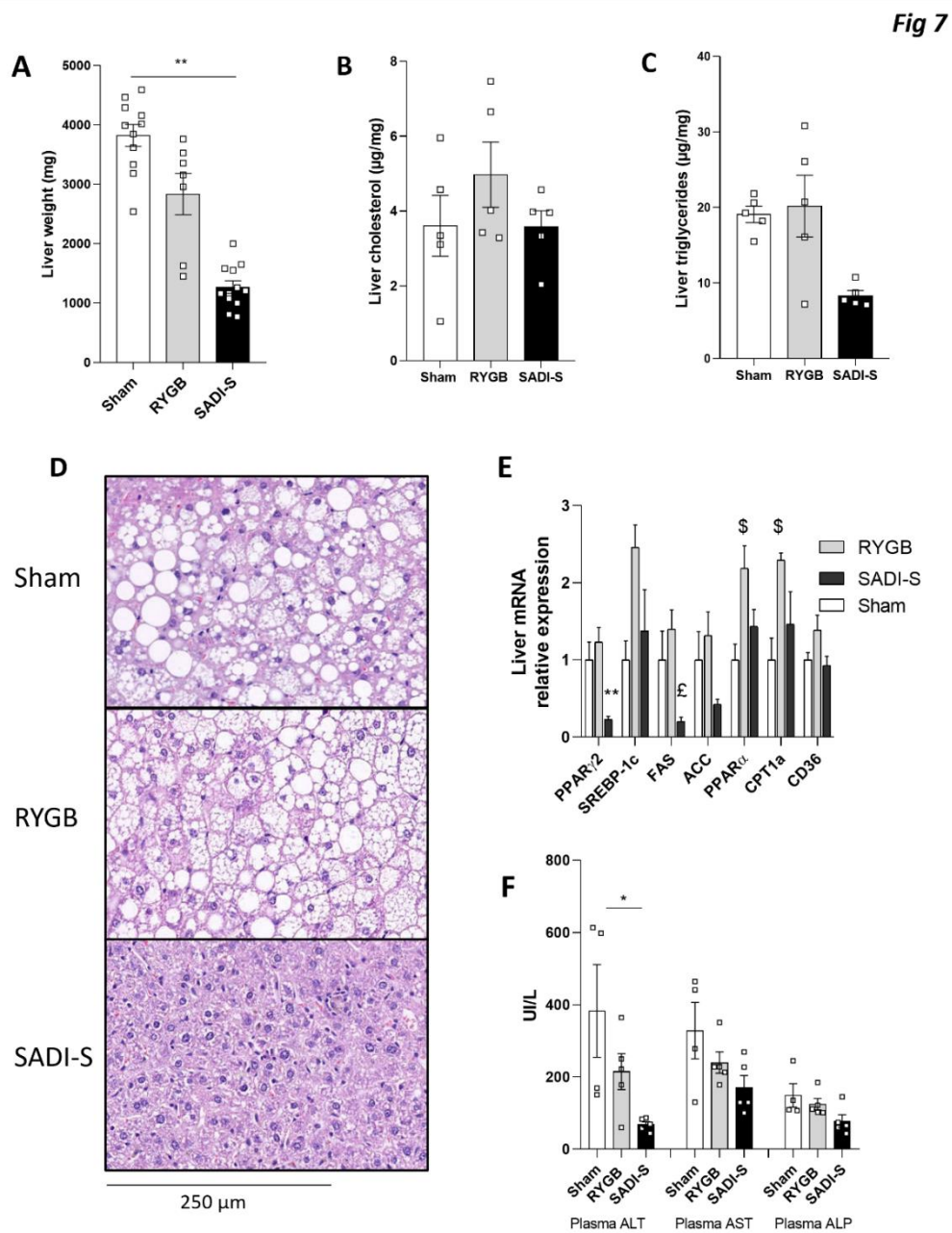
Figure 6. Impact of SADI-S on bile acids



(A) Total plasma bile acids concentration 35 days after surgery. (B) Plasma bile acids composition expressed in percentage of total plasma bile acids, and (C) composition in individual bile acids expressed as fold change compared with Sham mice. (D) Total biliary bile acids concentration 35 days after surgery. (E) Biliary bile acids composition expressed in percentage of total plasma bile acids, and (F) composition in individual bile acids expressed as fold change compared with Sham mice. (G) Biliary bile acids hydrophobicity index. (H) Total biliary bile acids concentration 35 days after surgery. (I) Biliary bile acids composition expressed in percentage of total plasma bile acids, and (J) composition in individual bile acids expressed as fold change compared with Sham mice. (K) Biliary bile acids hydrophobicity index. Kruskal-Wallis test for multiple comparisons. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ (SADI-S vs. Sham). ϵ $p < 0.05$ (SADI-S vs. RYGB). (A, B, C, H, I, J, K) Sham $n = 5$; RYGB $n = 5$; SADI-S $n = 5$, (D, E, F, G) Sham $n = 5$; RYGB $n = 4$; SADI-S $n = 5$.

Legend: **BA**: Bile acids, **(T/G)CA**: (Tauro/Glyco)Cholic acid, **(T/G)MCA**: (Tauro/glyco)Muricholic acid, **(T)DCA**: (Tauro)Deoxycholic acid, **(T)CDCA**: (Tauro)Chenodeoxycholic acid, **(T)UDCA**: (Tauro)Ursodeoxycholic acid, **(T)HDCA**: (Tauro)Hydoxycholic acid, **(T)LCA**: (Tauro)Lithocholic acid.

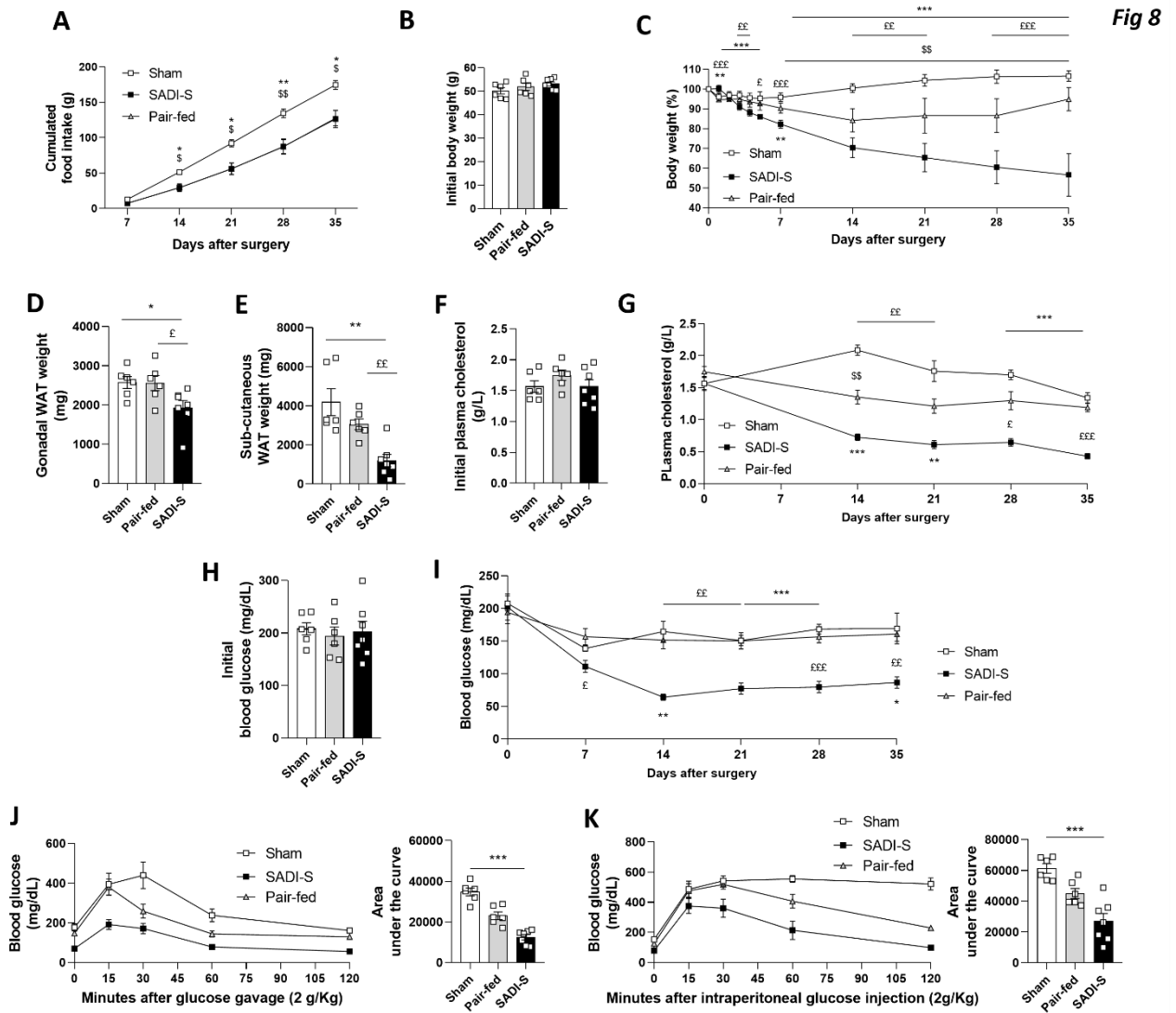
Figure 7. Impact of SADI-S on liver steatosis



(A) Liver weight, (B) cholesterol and (C) triglycerides concentrations 35 days after surgery. (D) Representative images of hematoxylin and eosin-stained liver architecture 35 days after surgery. (E) Liver mRNA expression of genes implicated in the fatty acids metabolism, expressed as relative expressions to Sham mice based on the relative ΔC_t method. Reference genes were Cyclophilin and glycerol-3-phosphate dehydrogenase. (F) Plasma ALT, AST and ALP concentrations 35 days after surgery. Kruskal-Wallis test for multiple comparisons. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ (SADI-S vs. Sham). £ $p < 0.05$ (SADI-S vs. RYGB). \$ $p < 0.05$ (RYGB vs. Sham). (A, B, C, D) Sham $n = 11$; RYGB $n = 7$; SADI-S $n = 13$, (E) Sham $n = 5$; RYGB $n = 4$; SADI-S $n = 5$, (F) Sham $n = 4$, RYGB $n = 5$, SADI-S $n = 5$

Legend: **PPAR γ 2**: Peroxisome proliferator-activated receptor γ 2, **SREBP-1c**: Sterol regulatory element-binding protein-1c, **FAS**: Fatty acid synthase, **ACC**: Acetyl-CoA carboxylase, **PPAR α** : Peroxisome proliferator-activated receptor α , **CPT1a**: Carnitine Palmitoyltransferase 1a.

Figure 8. Impact of food restriction in the general and metabolic effects of SADI-S



(A) Cumulated post-operative food-intake (curves of SADI-S and pair-fed mice superimpose) (B) Pre-operative body weight. (C) Post-operative body weight (percentage of the pre-operative body weight). (D) Gonadal and (E) sub-cutaneous white adipose tissue weight 35 days after surgery. (F) Plasma cholesterol concentration at baseline, and (G) evolution after surgery. (H) Random-fed blood glucose level at baseline and (I) evolution after surgery. (J) Plasma glucose change during orale and (K) intraperitoneal glucose tolerance tests. Kruskal-Wallis test or ANOVA two factors (Sidak's test for multiple comparisons). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ (SADI-S vs. Sham). \$ $p < 0.05$, \$\$ $p < 0.01$, \$\$\$ $p < 0.001$ (pair-fed vs. Sham). £ $p < 0.05$, ££ $p < 0.01$, £££ $p < 0.001$ (SADI-S vs. pair-fed). Sham $n = 6$; pair-fed $n = 6$; SADI-S $n = 7$.

Legend: **WAT:** White adipose tissue.

Supplementary Materials

Single-anastomosis duodeno-ileal bypass with sleeve gastrectomy (SADI-S) improves lipid and glucose homeostasis in Ob/Ob mice

Samuel Frey^{a,b}, Audrey Ayer^a, Thibaud Sotin^a, Victoria Lorant^a, Clément Louis-Gaubert^{a,b}, Lucie Arnaud^a, Stéphanie Billon-Crossouard^{c,d}, Mikael Croyal^{a,c,d}, Xavier Prieur^a, Samy Hadjadj^a, Bertrand Cariou^a, Claire Blanchard^{a,b*} & Cédric Le May^{a,b*}

^aNantes Université, CHU Nantes, CNRS, INSERM, l'institut du thorax, 44000 Nantes, France.

^bNantes Université, CHU Nantes, Chirurgie Cancérologique, Digestive et Endocrinienne, Institut des Maladies de l'Appareil Digestif, 44000 Nantes, France.

^cUniversité de Nantes, CHU Nantes, Inserm, CNRS, SFR Santé, Inserm UMS 016, CNRS UMS 3556, F-44000 Nantes, France.

^dCRNH-Ouest Mass Spectrometry Core Facility, F-44000 Nantes, France

Contact info: Prof. Claire Blanchard, Chirurgie Cancérologique, Digestive et Endocrinienne, Institut des Maladies de l'Appareil Digestif, Centre Hospitalier Universitaire de Nantes, Hôtel Dieu, Place Alexis Ricordeau, 44093 Nantes, France. email: claire.blanchard@chu-nantes.fr

Supplementary Methods

Post-operative care and general measurements

Mice were kept in individual cages and were weighted weekly. A daily iron (0.5 mL/kg subcutaneous) and vitamins (B1, B9, B12, A, D, E, K, 800 mg/180 mL of water) supplementation was continued until the end of the experiment (1). Mice were given free access to solid diet from day 3 after surgery. Food intake was measured daily by weighing the food that remained in the cage. The intestinal transit time was measured 28 days after surgery as the number of minutes between an oral administration of carmine red (50 μ L at 150 mg/mL in drinking water) by gavage and the first excretion of the dye in the feces. At day 35 after surgery (D35), mice were euthanized (cervical dislocation after cardiac puncture) under general anesthesia (ketamine plus xylazine, 80/10 mg/kg, intraperitoneal injection). Liver, subcutaneous and gonadal white adipose tissue and small intestine were collected, weighed and immediately frozen in liquid nitrogen. Energy intake calculation was derived from food intake measurement according to the manufacturer's information (Atwater formula). Fecal energy content was measured with a C200 bomb calorimeter (IKA[®]-Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Germany).

Glucose homeostasis assessment

Glycemia was measured at the tail using a glucometer (Accu-Chek[®], Roche Diabetes, Meylan, France). Random-fed glycemia was measured weekly after 3 hours of fasting to allow homogeneous gastric emptying. Oral and intraperitoneal glucose tolerance tests (OGTT and IPGTT) were performed after 6 hours of fasting at day 21 and 29, respectively, by oral gavage or intraperitoneal injection of 2g/kg of a 60% glucose solution. Glycemia was measured before challenge and 15, 30, 60 and 120 minutes thereafter. Six hours-fasting plasma insulin concentration was measured by ELISA (Crystal Chem, Elk Grove Village, USA) on blood samples collected before challenge. Homeostasis assessment index (HOMA-IR) was calculated using the following formula: $20 \times \text{fasting plasma insulin (mIU/L)} / [\text{fasting plasma glucose (mmol/L)} - 3.5]$.

Histological analysis

At D35, the liver right anterior segment and three intestinal samples per mouse (duodenal, jejunal and ileal) were harvested, fixed in paraformaldehyde 4% and embedded into paraffin. Three micrometers liver and 5 μ m intestinal sections were stained with hematoxylin and eosin. Mean villi height and crypt depth analyses were performed using 10-15 representative anatomical structures with NDPview2 software (Hamamatsu Photonics K.K., Shizuoka, Japan).

Biochemical measurements

Blood samples were collected at the tail during follow-up and by cardiac puncture at D35 in EDTA-coated tubes after 3 hours of fasting. Plasma alanine (ALT) and aspartate aminotransferases (AST) and alkaline phosphatases (ALP) were assessed using a dedicated automat (Element RC[®], Scil, Altorf, France). Both triglycerides hepatic extracts and plasma cholesterol and triglycerides concentrations were measured by colorimetric kits (Sobioda, Montbonnot-Saint-Martin, France).

mRNA expression analysis

Intestinal mucosa was harvested using cell recovery solutions (Discovery Labware, Inc., Bedford, USA). RNA extraction from intestinal mucosa and liver samples was performed using NucleoSpin RNA II kit (Macherey Nagel, Hoerd, France). After reverse transcription, real-time quantitative PCR (Q-PCR) was performed with a TaqMan 7900 Sequence Detection System (Applied Biosystems, Warrington, UK).

Sterols, metabolites and bile acids measurements

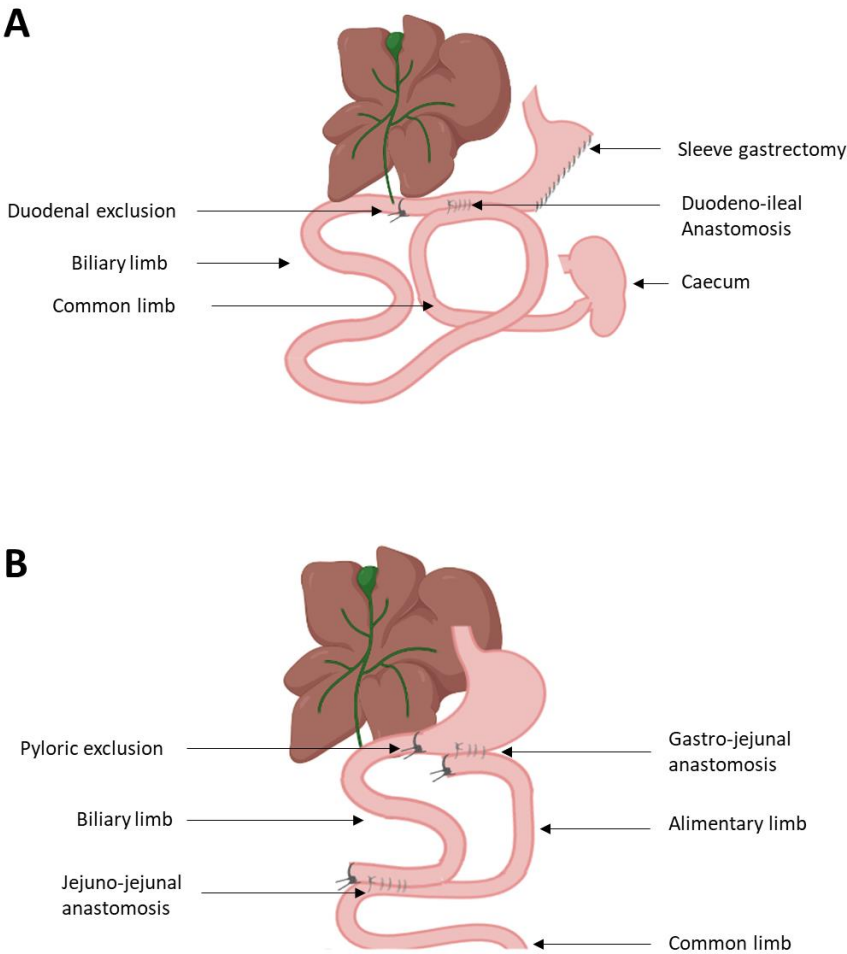
At day 32, mice received under anesthesia (Isoflurane 2.5%, 0.4 L/min plus 0.4 L/min oxygen) an intravenous injection of D₇-cholesterol (0.3 mg in 100 μ L intralipid). Blood was harvested 2 minutes after injection in EDTA for plasma separation, and feces were collected during 3 days. At D35, after 6 hours fasting, mice were anesthetized (ketamine/xylazine intraperitoneally). Cholesterol, sitosterol, campesterol, coprostanol and D₇-cholesterol were measured in plasma, and liver by gas

chromatography-mass spectrometry (GC-MS), as described previously (2). Liquid chromatography-tandem mass spectrometry was used to measure Methylamines (trimethylamine N-oxide (TMAO), trimethylamine (TMA), choline, betaine and carnitine) and indoxyl-3-sulfate concentrations in plasma, and bile acids (BA) in plasma, feces and bile harvested from the gallbladder according to previous studies (3,4). Hydrophobicity index was calculated according to (5).

References

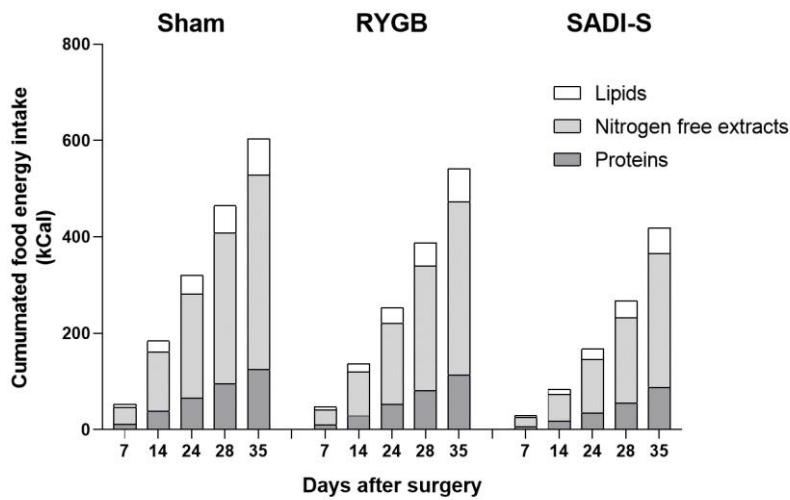
1. Frey S, Ayer A, Sotin T et al. Single-anastomosis duodeno-ileal bypass with sleeve gastrectomy model in mice. *J Vis Exp.* 2023 Feb 10;(192).
2. Blot F, Marchix J, Ejarque M, Jimenez S, Meunier A, Keime C et al. Gut microbiota remodeling and intestinal adaptation to lipid malabsorption after enteroendocrine cell loss in adult mice. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol.* In press. [Internet].
3. Croyal M, Saulnier PJ, Aguesse A, Gand E, Ragot S, Roussel R et al. Plasma trimethylamine n-oxide and risk of cardiovascular events in patients with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2020;105(7):dgaa188.
4. Herbreteau A, Aubert P, Croyal M, Naveilhan P, Billon-Crossouard S, Neunlist M et al. Late-stage glioma is associated with deleterious alteration of gut bacterial metabolites in mice. *Metabolites.* 2022;12(4):290.
5. Heuman DM. Quantitative estimation of the hydrophilic-hydrophobic balance of mixed bile salt solutions. *J Lipid Res.* 1989;30(5):719-730.

Supplementary Figure 1



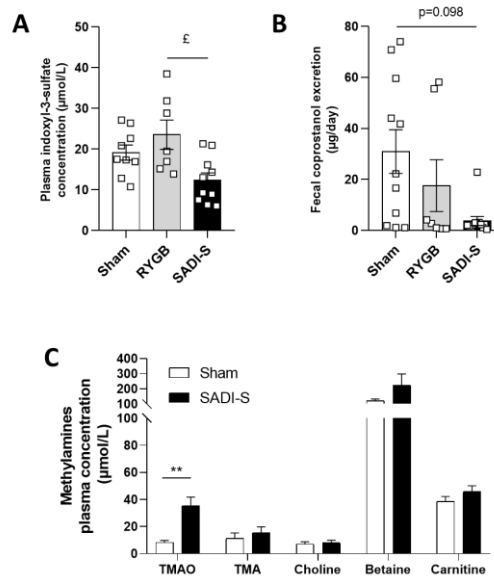
(A) Procedure of Single-anastomosis duodeno-ileal bypass with sleeve gastrectomy (SADI-S) and (B) Roux-en-Y gastric bypass in mice. The figure was created with BioRender.com.

Supplementary Figure 2



Cumulated post-operative energy intake, calculated from food intake using the Atwater formula. Sham n=11; RYGB n=9; SADI-S n=13.

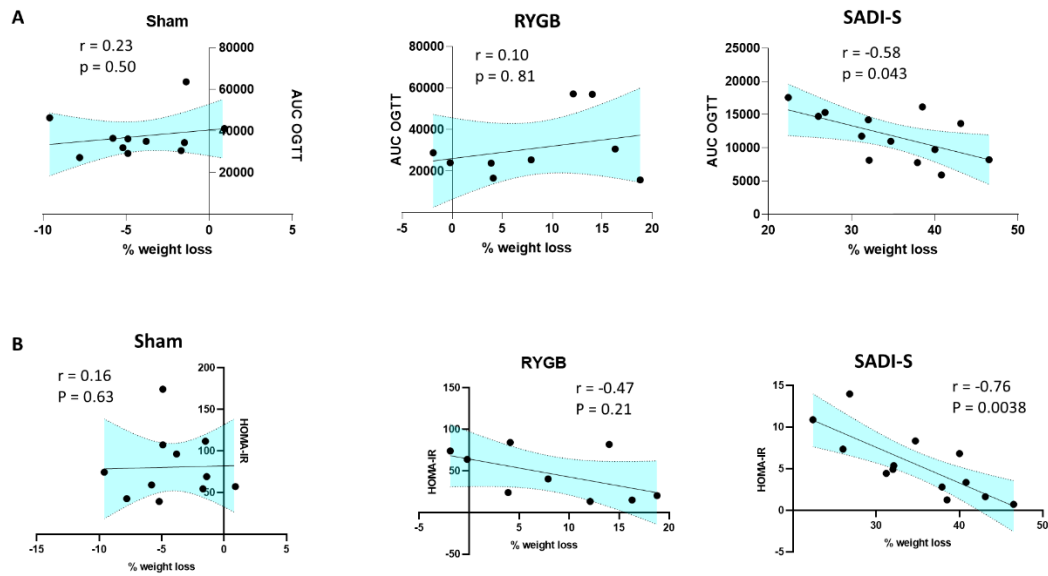
Supplementary Figure 3



(A) Plasma indoxyl-3-sulfate concentration, (B) fecal coprostanol excretion and (C) Plasma methylamines concentrations 35 days after surgery. £ p<0.05, ££ p<0.01, £££ p<0.001 (SADI-S vs. pair-fed). Mann Whitney test or Kruskal-Wallis test for multiple comparisons. (A, B) Sham n=9, RYGB n=7; SADI-S n=10, Sham n=5, SADI-S n=6.

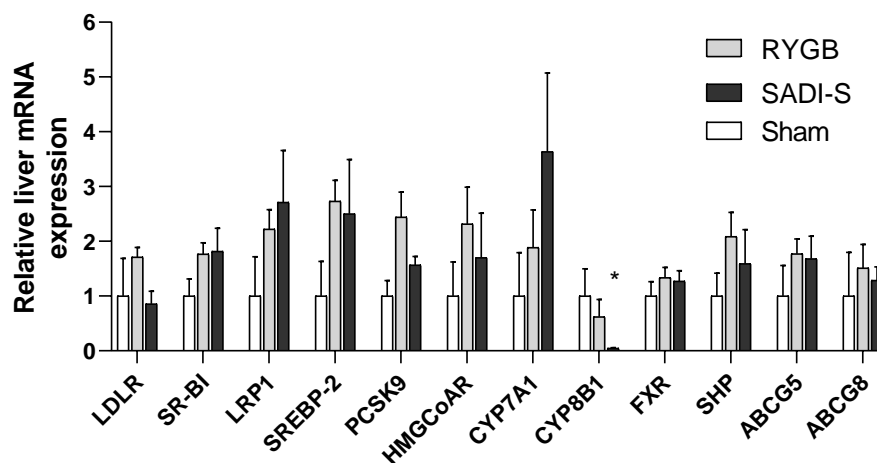
Legend: TMAO: Trimethylamine N-oxide, TMA: Trimethylamine

Supplementary figure 4



(A) Spearman correlation between percentage of weight loss and area under the curve during oral glucose tolerance test 21 days after surgery. (B) Spearman correlation between percentage of weight loss and HOMA-IR. Sham n=11, RYGB n=9, SADI-S n=13.

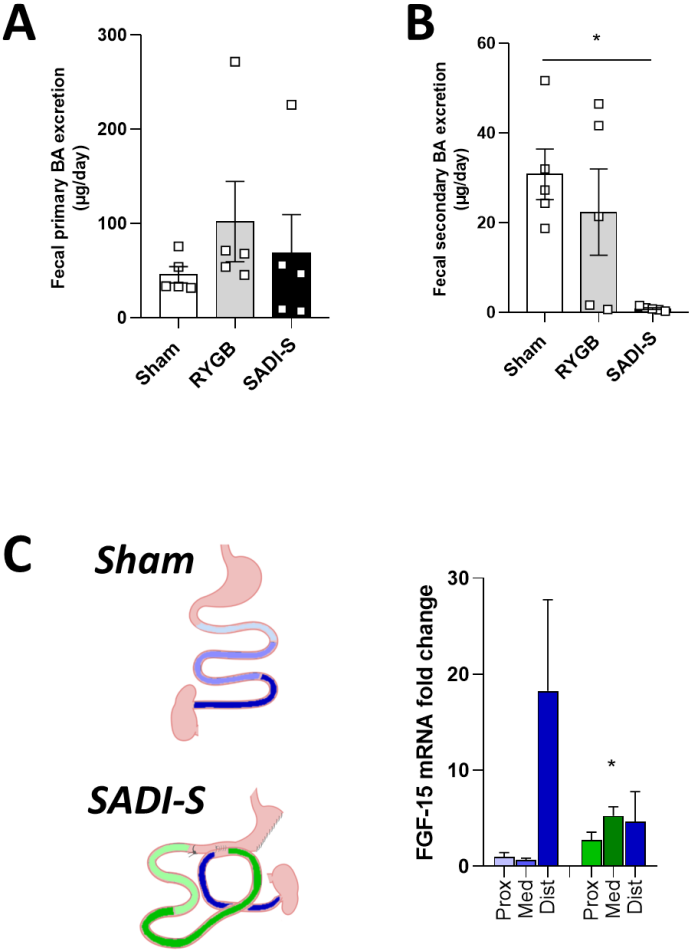
Supplementary figure 5



Liver mRNA expression of genes involved in cholesterol metabolism 35 days after surgery, expressed as relative expressions to Sham mice based on the relative Δ Ct method. Reference genes were Cyclophilin and glycerol-3-phosphate dehydrogenase. * $p < 0.05$ (SADI-S vs. Sham). Kruskal-Wallis test for multiple comparisons. Sham n=5, RYGB n=4; SADI-S n=5.

Legend: **LDLR**: LDL receptor, **SR-BI**: Scavenger receptor class B type 1, **LRP1**: Low density lipoprotein receptor-related protein 1, **SREBP-2**: Sterol regulatory element-binding protein-2, **PCSK9**: proprotein convertase subtilisin/kexin type 9, **HMGCoAR**: 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-coenzyme A reductase, **CYP7A1**: Cytochrome P450 7A1, **CYP8B1**: Cytochrome P450 8B1, **FXR**: Farnesoid X receptor, **SHP**: Small heterodimer partner, **ABCG5**: ATP-binding cassette G5, **ABCG8**: ATP-binding cassette G8.

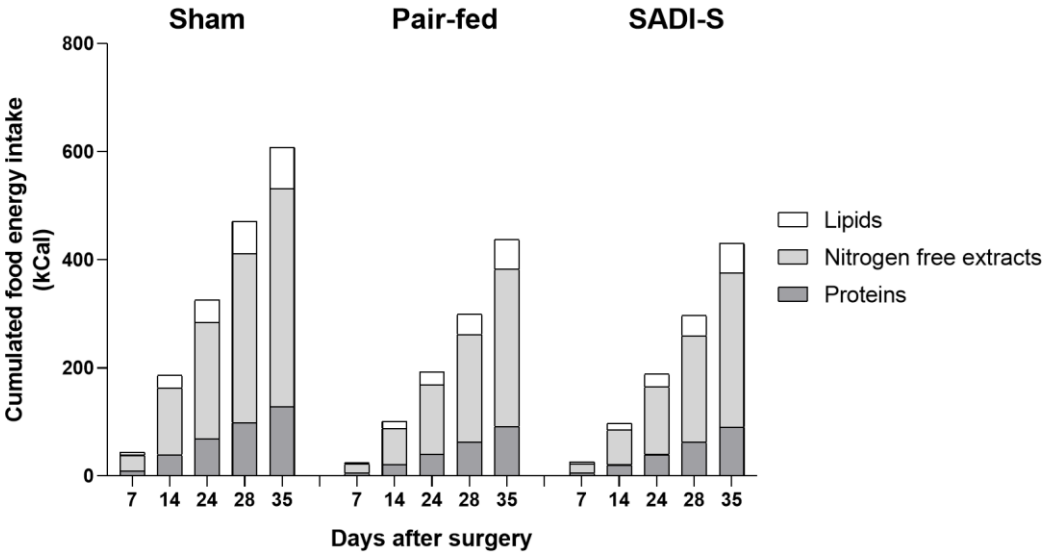
Supplementary Figure 6



(A) Sum of daily fecal primary and (B) secondary bile acids excretion 35 days after surgery. (C) FGF15 relative mRNA expression of in different limbs after SADI-S and the corresponding segment of the small bowel in Sham mice. Reference genes were Cyclophilin and glycerol-3-phosphate dehydrogenase. Results are expressed as relative expressions based on the relative ΔC_t method, the reference being the proximal intestinal segment of Sham mice. * $p < 0.05$ (SADI-S vs. Sham). Kruskal-Wallis test for multiple comparisons. Sham $n=5$; RYGB $n=5$; SADI-S $n=5$.

Legend: **BA**: Bile acids, **FGF15**: Fibroblast growth factor 15.

Supplementary figure 7



Cumulated post-operative energy intake, calculated from food intake using the Atwater formula. Sham n=6; pair-fed n=6; SADI-S n=7.

Article n°4 – Le SADI-S réduit le développement de l'athérosclérose chez des souris mâles LDLR^{-/-}

Après avoir confirmé sur modèle murin que le SADI-S est associé à un effet hypocholestérolémiant majeur, nous avons voulu étudier l'impact de cette observation sur le développement de la plaque d'athérome. En effet, les conséquences des chirurgies bariatriques sur l'athérosclérose n'ont pas encore été étudiées directement sur modèle animal. Nous présenterons ici les résultats préliminaires de cette expérience sur un premier groupe de souris sous la forme d'une *short report* (format 5000 mots, 2 figures). Un 2^e groupe de souris est en cours de suivi post-opératoire au moment de l'écriture de ce manuscrit et devrait nous permettre de confirmer ces résultats.

Nous avons choisi pour modèle murin d'athérosclérose des souris présentant une déficience totale en LDLR (souris LDLR^{-/-}). Ces souris, naturellement hypercholestérolémiques, sont connues pour être un modèle classique d'athérosclérose qui est facilement induite par un régime riche en cholestérol. Des souris LDLR^{-/-} mâles et femelles ont été initialement mis sous régime high fat afin d'induire une prise de poids nécessaire à la réalisation de la chirurgie. Après 12 semaines de régime, les souris ont été opérées soit d'un SADI-S, soit d'une laparotomie seule (groupe Sham). Après 6 semaines supplémentaires de régime high fat permettant la stabilisation du poids corporel et de la prise alimentaire journalière, l'athérosclérose a été induite par l'utilisation d'un régime supplémenté en cholestérol (dit régime « *western diet* »), pendant 6 semaines. Enfin, après mise à mort des animaux, les aortes ont été prélevées et une analyse histologique avec coloration à l'huile rouge a été

réalisée pour quantifier la surface relative de la plaque d'athérome rapportée à la surface de l'aorte.

Dans cette étude, la chirurgie chez les souris mâles LDLR^{-/-} s'accompagnait d'une prévention de l'hypercholestérolémie et de l'hypertriglycéridémie induite par le régime western diet, avec pour conséquence une réduction qui tend à être significative (p=0.08) d'environ 30% de la surface relative de la plaque dans la racine aortique. Elle confirme donc le bénéfice du SADI-S chez ces souris. En revanche, nous n'avons pas observé d'effet significatif du SADI-S chez les souris femelles, qui partent d'un poids corporel inférieur et chez lesquelles la dyslipidémie induite par le régime était moins importante.

Atherosclerosis development is reduced in male LDL receptor deficient mice after single anastomosis duodeno-ileal bypass with sleeve gastrectomy

ABSTRACT

Introduction: Bariatric procedures are thought to enhance cardiovascular health and subclinical atherosclerosis markers by modulating plasma lipid levels. Notably, the single anastomosis duodeno-ileal bypass with sleeve gastrectomy (SADI-S) exerts a potent metabolic effect, yet its impact on atherosclerosis remains unexplored. Moreover, no study has directly investigated the effect of bariatric surgeries on atherosclerotic plaques.

Methods: LDL receptor-deficient ($LDLR^{-/-}$) mice served as atherosclerosis model. Male and female $LDLR^{-/-}$ mice underwent either SADI-S or laparotomy alone (Sham surgery) and received a cholesterol-enriched diet (western diet) from 6 to 12 weeks post-surgery. Atherosclerosis was histologically assessed as the ratio of Oil red O-positive plaque area to the total aortic root or arch surface.

Results: In males, SADI-S induced a sustained 33% body weight loss compared to Sham mice. The introduction of a western diet led to a significant increase in plasma cholesterol and triglyceride levels in male Sham mice, which was mitigated following SADI-S. In male mice, SADI-S was associated with a reduced surface area of Oil red O-stained aortic lesions in the aortic root compared to Sham mice ($13.2 \pm 2.0\%$ vs. $20.7 \pm 2.0\%$, $p=0.086$). A similar trend was observed in the aortic arch. Conversely, these findings were not replicated in females.

Conclusion: SADI-S effectively prevents atherosclerosis in male $LDLR^{-/-}$ mice. Nevertheless, the existence of sexual dimorphism in response to SADI-S necessitates further investigation. These results highlight the clinical significance of SADI-S in enhancing cardiovascular health within the context of obesity management.

INTRODUCTION

Nowadays, obesity is a major public health concern. Visceral adiposity favors atherosclerosis, notably through its association with other cardiovascular risk factors including dyslipidemia, hypertension and type 2 diabetes (1,2). As a result, obesity is associated with an increased risk of macrovascular complications and cardiovascular mortality (3,4).

Bariatric surgeries are among the treatments of choice for obesity. These last years, interest concerning the beneficial impact of these procedures on metabolic comorbidities have grown beyond their sole effect on weight loss, emphasizing their status as “metabolic surgeries” (5). Since the first attempts to decrease plasma cholesterol levels in the early 60’s by manipulating the digestive tract (6), it is now clear that bariatric surgery improves dyslipidemia (1,7). By manipulating plasma lipid levels, these procedures are believed to improve the cardiovascular health and markers of subclinical atherosclerosis such as intima-media thickness, flow-mediated dilation or pulse-wave velocity (8,9). Ultimately, bariatric surgery improves long-term survival compared with patients living with obesity (10), especially through a decreased cardiovascular mortality (3).

Bariatric procedures are in constant evolution. For instance, the Roux-en-Y gastric bypass (RYGB) is the best-studied bariatric procedure and is considered the gold standard. However, weight regain in up to 20% of patients especially in patients with body mass index (BMI) $>50 \text{ Kg/m}^2$ (11) highlights the need for alternative procedures. The single anastomosis duodeno-ileal bypass with sleeve gastrectomy (SADI-S) has been described in 2007 by Torres and colleagues (12). Briefly, it consists of a food derivation through a duodeno-ileal anastomosis after duodenal trans-section, rearranging the bowel anatomy into a biliary limb and a common limb (200 to 350 cm) (13,14), associated with a sleeve gastrectomy. In observational studies, SADI-S has a stronger metabolic impact than RYGB in terms of dyslipidemia resolution (15) and diabetes remission (15,16). However, the impact of metabolic improvement after SADI-S on the development of atherosclerosis has never been investigated.

Furthermore, beyond indirect clinical markers of atherosclerosis, no study has directly assessed the impact of bariatric surgeries on the atherosclerotic plaque.

Recently, we reported the first murine model of SADI-S, aiming to decipher the mechanisms underlying the metabolic impact of this surgery and to study its consequences (17). Especially, in Ob/Ob mice, we showed that SADI-S led to a stronger decrease in plasma cholesterol level than RYGB (18). The aim of the present study was therefore to assess the impact of SADI-S in preventing the development of atherosclerotic plaque in an LDL receptor (LDLR) deficient mice as a model of atherosclerosis development fed with lipid enriched diet.

MATERIAL AND METHODS

Animal model

LDLR-deficient (LDLR^{-/-}) mice were used for the present study as a model of atherosclerosis. Briefly, LDLR^{-/-} were obtained after successive breeding of C57BL/6N-LDLR^{tm1a(EUCOMM)Wtsi}/leg from EMMA mouse repository consortium (Munich, Germany) with B6.Cg-Tg(ACTFLPe)9205Dym/J and B6.C-Tg(CMV-cre)1Cgn/J from Charles River Laboratories (Saint-Germain Nuelles, France) to remove the exons 6 to 10 of the LDLR gene.

To induce weight gain prior to surgery, ten-weeks-old males and females LDLR^{-/-} mice were kept under high-fat diet (HFD) (60 Kcal% fat from Research diets, Inc. New Brunswick, USA: caseine 25.8%, L-cystine 0.4%, maltodextrin 16.5%, sucrose 9.4%, fiber 6.5%, lard 31.7%, soybean oil 3.2%, mineral 6.5%, vitamin 6.8%) with additional free access to 20% fructose containing water during 12 weeks. Mice of both sexes then undergone either a SADI-S, or a laparotomy alone (the Sham group).

Surgeries

Surgeries were performed under general anesthesia, induced and maintained by isoflurane, as described previously (17). Analgesia was ensured with a subcutaneous injection of buprenorphine (0.1 mg/Kg). For the SADI-S procedure, a sleeve gastrectomy was performed using two titanium clips anchored by a single 8/0 non-absorbable running suture after removal of the stomach's great curvature. After exclusion of the duodenum by ligation with a 6/0 non-absorbable suture cord proximally to the main bile duct, a two-layer iso-peristaltic duodeno-ileal anastomosis was performed using 8/0 non absorbable suture cord, creating a 12 cm common limb (17). For sham experiments, mice were kept under general anesthesia followed by a laparotomy the same time as the SADI-S procedure.

This protocol has been approved by the local ethic committee for animal experimentation (ref CEEA-PdL n°06).

General post-operative care and lipid-enriched regimen

Mice were kept in a 30°C incubator for seven days and in individual cages during the whole post-operative follow-up. Sub-cutaneous injections of buprenorphine, antibiotics (amoxicillin, 15 mg/Kg) and prokinetics (metoclopramide, 1 mg/Kg) were continued twice a day for three days. Vitamin (B1, B9, B12, A, D, E, K, 800 mg/180 mL of water) and iron (0.5 mL/kg subcutaneous, daily) supplementations were pursued until the end of the experiment (17,19). Mice and their food were weighed weekly, and the food intake was calculated by subtracting the food that remained in the cage.

Mice were given free access to solid food (HFD) three days after surgery. The same regimen was pursued until 6 weeks after surgery, *i.e.* until weight stabilization in all groups. Then, to induce atherosclerosis, high-fat diet was switched to western diet (WD) (TD.88137, 42% from fat, Envigo, Madison, USA, 5.2% proteins, 42.7% carbohydrates, 42% fat, 0.2% cholesterol) for the subsequent six weeks.

Eighty-four days (D84) after surgeries, mice were anesthetized intraperitoneally with ketamine plus xylazine, (80/10 mg/kg), and were euthanized by cervical dislocation after cardiac puncture. Thoracic aorta was collected under binocular microscope after PBS flushing of the arterial tree, and gonadal and sub-cutaneous white adipose tissues were weighted.

Plasma biochemical measurements

Blood samples were harvested at the tail before surgery, and then 28 and 56 days thereafter, and by cardiac puncture at D84 in EDTA-coated tubes after three hours of fasting to ensure gastric emptying. Colorimetric kits (Sobioda, Montbonnot-Saint-Martin, France) were used to measure plasma cholesterol and triglycerides levels.

Aortic atherosclerosis lesions determination

Atherosclerosis was evaluated on the aortic root and the aortic arch independently, as described previously (20,21). For each mouse, aortic arch and root were separately included in optimal cutting temperature (OCT) compound and immediately snap-frozen in isopentane. Five micrometer transversal (aortic root) and sagittal (aortic arch) cryosections were performed, and were stained with Oil red O and hematoxylin colorations for aortic plaque quantitation. Atherosclerosis was expressed as the ratio between the surface of the Oil red O positive areas (plaque) and the total surface of the aortic root or arch. Values are expressed as the mean of the measurements of three experimentators blinded of the experimental condition, on NDP.view2 software (Hamamatsu Photonics K.K., Shizuoka, Japan).

Statistical analyses

Values are presented as mean \pm standard error of the mean. Comparisons were done using Mann-Whitney test or two-way ANOVA with Sidak's test for multiple comparisons using Graphpad Prism software version 8.0.1 (Graphpad Software, San Diego, CA, USA). A p-value <0.05 was considered significant.

RESULTS

General post-operative follow-up

Males and females LDLR^{-/-} mice were subjected either to SADI-S or Sham surgery after 12 weeks under HFD. At the time of surgery, mean ages were 44.1 ± 0.4 weeks in males and 44.5 ± 0.1 weeks in females. The day of surgery, male mice had a mean body weight superior to 40g that was comparable between males SADI-S and Sham mice (44.2 ± 3.3 vs. 40.9 ± 4.0 g in Sham mice, **Figure 1A**), while females weighted lighter, without significant differences between surgical conditions (29.6 ± 2.8 vs. 32.7 ± 2.9 g, **Figure 1G**). In male mice, body weight decreased significantly after SADI-S compared with Sham mice from day 7 after surgery. Body weight loss reached approximately 40% and remained stable under HFD while body weight was conserved in Sham mice (**Figure 1B**). After the introduction of WD at day 42 after surgery, a weight loss of approximately 33% was maintained in the long-term in the SADI-S group. Accordingly, the SADI-S significantly decreased the weight of gonadal (383 ± 40 vs. 1176 ± 236 mg, p=0.029) and sub-cutaneous (368 ± 48 vs. 1574 ± 333 mg, p=0.029) white adipose tissues at D84 in males (**Figure 1C**). Interestingly, these changes occurred while SADI-S was associated with a significantly increased food intake compared with Sham-operated mice from day 56 after surgery (cumulated food intake at D84 (366 ± 52 vs. 255 ± 34 g, p=0.0031, **Figure 1D**) as we previously demonstrated in this model (17).

SADI-S induced no significant total body weight loss compared to Sham surgery in female mice under both HFD and WD (**Figure 1H**). At the end of follow up, female SADI-S mice weighted 89.9 ± 8.5 % of their initial body weight. A trend toward a decreased weight of both gonadal and sub-cutaneous fat pads was nevertheless observed (**Figure 1I**). SADI-S had no significant effect on food intake, although food intake tended to be higher than in Sham mice (**Figure 1J**).

Plasma lipids levels

As expected, LDLR^{-/-} mice had elevated initial plasma lipid levels (22). Plasma cholesterol level after 12 weeks of HFD was not significantly different between sexes, but tended to be higher in males than in females (6.63 ± 0.71 vs. 5.26 ± 0.51 g/L, $p=0.086$). Within sexes, cholesterolemia was comparable between SADI-S and Sham mice at baseline. Plasma triglycerides level was similar between sexes, and did not significantly differ between surgical conditions.

In male mice, no significant difference was observed between SADI-S and Sham mice at day 28 after surgery (**Figure 1E**). WD introduction resulted in a strong elevation in plasma cholesterol level in Sham mice, however, SADI-S partially prevented this increase (8.90 ± 1.51 vs. 13.43 ± 2.13 g/L at D84, $p=0.094$). SADI-S did not affect plasma triglycerides under HFD, however, tended to prevent the increase in triglyceridemia observed in Sham mice after the introduction of WD (1.50 ± 0.40 vs. 3.32 ± 0.49 g/L at D84, $p=0.11$, **Figure 1F**). In female mice, SADI-S did not significantly affect plasma cholesterol or triglyceride levels (**Figure 1K-1L**). WD introduction resulted in a milder hypertriglyceridemia than in males and had no impact on plasma triglycerides level.

Impact of SADI-S on atherosclerosis

The impact of SADI-S on the atherosclerotic plaque development in the aortic root and arch was then studied (**Figure 2A to 2D**). In male mice, SADI-S was associated with a lower surface of Oil red O-stained aortic lesions in the aortic root compared with Sham mice (13.2 ± 2.0 vs. 20.7 ± 2.0 %, $p=0.086$). The surface of lesions in the aortic arch also tended to decrease after surgery (10.1 ± 3.7 vs. 15.5 ± 5.0 %, $p=0.42$). Conversely, no difference was observed on females between SADI-S and Sham operated mice in both aortic sites.

DISCUSSION

This study reports that in male LDLR^{-/-} mice, the SADI-S decreases the atherosclerotic plaque development induced by a lipid enriched diet. This beneficial impact was observed in parallel with an improved plasma lipids level. However, these observations were not reproduced in female LDLR^{-/-} mice.

Dyslipidemia is present in 60% of patients living with obesity (1), and is classically characterized by elevated serum triglycerides concentration, a moderate increase in low-density lipoprotein cholesterol (LDL-c) concentrations, and low high-density lipoprotein cholesterol (HDL-c) concentration (21). Conversely, bariatric surgeries are known to improve lipid homeostasis (1,7). Procedures involving malabsorption, such as RYGB, induce the greater benefit (7). Studies have suggested that RYGB was associated with an improvement of subclinical atherosclerosis and endothelial function (8). However, these clinical studies only reported indirect measures such as arterial stiffness (9), intima-media thickness (23,24) and flow-mediated vasodilatation (25,26), and a direct measure of the atherosclerotic plaque has never been published.

The SADI-S, an alternative to RYGB in patients with extreme BMI, has been associated with strong metabolic benefits, especially a higher rate of dyslipidemia resolution (83 versus 45% after RYGB, $p=0.0001$ in the study of Torres et al. (15)). While this procedure has recently been approved by the International Federation for the Surgery of Obesity and Metabolic Disorders (IFSO), its long-term results remain to be studied (27), and its impact on atherosclerosis development has never been reported.

Our main result is that SADI-S decreased the surface of aortic atherosclerotic lesions induced by 6 weeks of WD in male LDLR^{-/-} mice by approximately 35%. LDLR^{-/-} mice, which were initially developed in 1993 by Ishibashi et al., naturally display elevated plasma cholesterol levels (22), and are prone to develop atherosclerosis under cholesterol-enriched diet (28). Therefore, they are used as a classic

mouse model to study atherosclerosis. In the present study, we focused on the impact of bariatric surgery on the prevention of atherosclerosis rather than its reversal. For this purpose, we introduced an atherosclerosis-inducing regimen, *i.e.* cholesterol-enriched diet (WD), in the post-operative period after weight stabilization (6 weeks). This protocol allowed 1/ to focus on the prevention rather than the regression of the atherosclerotic plaque, because candidate to bariatric surgeries more often do not already display atherosclerosis, and 2/ to avoid changes related with acute weight loss following SADI-S. Our previous studies on different mice models (17,18), as well as preliminary experiments, suggested that body weight was stable or the body weight loss was less pronounced after the fifth post-operative week. Interestingly, we saw that, in male mice, SADI-S decreased but not totally prevented the development of atherosclerosis. First, this highlights the importance of the multimodal management of obesity, of which bariatric surgery is one among multiple aspects. Second, this reflects the fact that, compared with the general population, patients who underwent bariatric surgery remain at higher risk of cardiovascular events and death and long-term follow-up is required (3).

As expected, in male mice, the beneficial effect of SADI-S on the atherosclerotic plaque was associated with weight loss and improved plasma lipid profile. Interestingly, in the long-term, male SADI-S mice displayed an approximately 33% reduction of their initial weight loss, which is in accordance clinical observations (29,30). Although the effect was weak in naturally hypercholesterolemic LDLR^{-/-} mice under HFD (28 days after surgery), SADI-S efficiently prevented the strong hypercholesterolemia induced by WD. In accordance, our previous study showed that SADI-S had a strong hypocholesterolemic effect on male Ob/Ob mice fed with standard diet (18). In agreement with clinical studies (29,31), SADI-S also prevented hypertriglyceridemia induced by WD.

The mechanistic explanation for plasma lipid and atherosclerosis improvement after SADI-S were not assessed in the present study, although we have previously shown that hypocholesterolemia after SADI-S was induced by a combination of reduced intestinal cholesterol absorption and increased

plasma cholesterol euration (18) in accordance with other studies in different malabsorptive procedure (32–34). Interestingly, we also observed that these effects occurred despite the fact that SADI-S mice had a higher cumulated food-intake than Sham mice. We have previously described such overfeeding after SADI-S (17), hypothesizing that this could be a compensatory mechanism against malabsorption induced by SADI-S. Conversely, SADI-S resulted in food restriction in leptin-deficient mice (18), thus, leptin could play a role in this adaptation. Although this represents a limit to our model, the fact that SADI-S-mediated beneficial impact on lipid homeostasis and atherosclerotic plaque is of interest independently from food restriction is of interest. This observation strengthens the assumption that “malabsorptive mechanism” plays a major role in lipid improvement by contrast with “purely restrictive” surgeries, as suggested by clinical studies (7). Remarkably, the hypocholesterolemic effect as well as the decreased atherosclerotic development after SADI-S occurred despite the absence of the LDLR in male LDLR^{-/-} mice. It has been previously suggested that the intestinal LDLR, which is upregulated after bariatric surgery, plays a critical role in the hypocholesterolemic effects of RYGB (35,36). This finding suggests that SADI-S impacts plasma cholesterol levels differently from RYGB, especially as surgical montage are fundamentally different, SADI-S lacking the alimentary limb in which LDLR overexpression is the strongest.

Surprisingly, the benefits of SADI-S observed in males were not reproduced in female LDLR^{-/-} mice. In the present study, we sought to study female in addition to male mice because the impact of bariatric surgeries in female animal models have been poorly studied. SADI-S had no significant impact on total body weight, although a trend toward a decrease in fat pads weight was observed. This observation likely results from a lower initial body weight in females (approximately 30g) compared with males before surgery. The constant weight could suggest that our SADI-S model does not induce weight loss beyond a certain weight setpoint, as it is also suggested in males which exhibit a constant weight loss. Furthermore, hyperlipidemia and atherosclerosis were not prevented after SADI-S in female LDLR^{-/-} mice. While the reasons of this sexual dimorphism are unclear, more severe aortic root atherosclerosis

burden have been observed previously in female LDLR^{-/-} mice compared to males under cholesterol-enriched diet (20,37,38). Comparable plasma cholesterol or triglyceride levels have been associated with larger aortic root atherosclerosis in females LDLR^{-/-} (38).

Our limits include the fact than we only studied aortic root and arch atherosclerosis. While aortic root is the most studied site in murine models, it is known that variable responses can be observed at different vascular sites such as the brachiocephalic trunk (39). Another limit could be the fact that mice operated in the present studies were not obese (<40g), especially females. However, we aimed to study the metabolic impact rather than weight loss of surgery in this study, and previous studies suggested that aortic root atherosclerosis was not correlated with body weight (38).

CONCLUSION

This study shows that SADI-S is associated with the prevention of atherosclerosis development induced by high-cholesterol regimen in LDLR^{-/-} male mice, related with an improved plasma lipid profile. These results strengthen the clinical significance of the plasma lipid lowering effect of this surgery. *A contrario*, these observations were not reproduced in females LDLR^{-/-} mice, and future studies are needed to better understand this sexual dimorphism.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank the animal facility (UTE-IRS-UN) for its help in the setting of animal care protocols. They also thank the core facility Therassay.

FUNDINGS

This work received grants from the project Nantes Excellence Trajectory (NExT) (project Bach, ref R22140NN), the *Société Française et Francophone de Chirurgie de l'Obésité et des Maladies Métaboliques* (SOFCOMM) and the fondation Genavie. SF was supported by a salary grant from Inserm (Poste d'accueil: 2021-2023).

REFERENCES

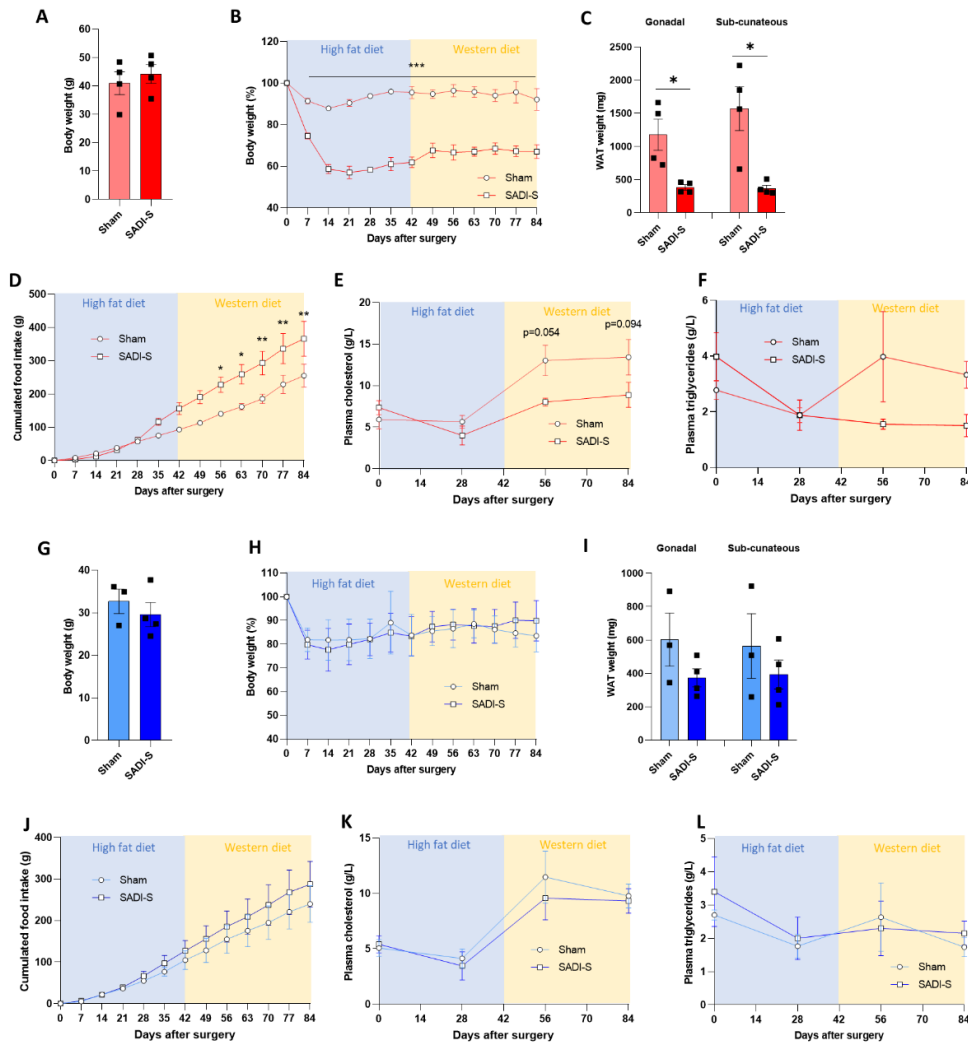
1.

- Buchwald H, Avidor Y, Braunwald E, Jensen MD, Pories W, Fahrbach K, Schoelles K. Bariatric surgery: a systematic review and meta-analysis. *JAMA*. 2004;292(14):1724-37.
2. Kahn SE, Hull RL, Utzschneider KM. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature*. 2006;444(7121):840-6.
3. Carlsson LMS, Sjöholm K, Jacobson P, Andersson-Assarsson JC, Svensson PA, Taube M, Carlsson B, Peltonen M. Life Expectancy after Bariatric Surgery in the Swedish Obese Subjects Study. *N Engl J Med*. 2020;383(16):1535-1543.
4. Bhaskaran K, Dos-Santos-Silva I, Leon DA, Douglas IJ, Smeeth L. Association of BMI with overall and cause-specific mortality: a population-based cohort study of 3.6 million adults in the UK. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2018;6(12):944-953.
5. Buchwald H. The evolution of metabolic/bariatric surgery. *Obes Surg*. 2014;24(8):1126-35.
6. Buchwald H. Lowering of cholesterol absorption and blood levels by ileal exclusion. Experimental basis and preliminary clinical report. *Circulation*. 1964;29:713-20.
7. Hasan B, Nayfeh T, Alzuabi M, Wang Z, Kuchkuntla AR, Prokop LJ, Newman CB, Murad MH, Rajjo TI. Weight Loss and Serum Lipids in Overweight and Obese Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2020;105(12):dgaa673.
8. Lupoli R, Di Minno MN, Guidone C, Cefalo C, Capaldo B, Riccardi G, Mingrone G. Effects of bariatric surgery on markers of subclinical atherosclerosis and endothelial function: a meta-analysis of literature studies. *Int J Obes (Lond)*. 2016;40(3):395-402.
9. Frey S, Jacobi D, Pichelin M, Cariou B, Mirallié E, Blanchard C. Improvement in arterial stiffness (pOpmètre®) after bariatric surgery. Results from a prospective study. *Ann Endocrinol*. 2020;81(1):44-50.
10. Syn NL, Cummings DE, Wang LZ, Lin DJ, Zhao JJ, Loh M, Koh ZJ, Chew CA, Loo YE, Tai BC, Kim G, So JB, Kaplan LM, Dixon JB, Shabbir A. Association of metabolic-bariatric surgery with long-term survival in adults with and without diabetes: a one-stage meta-analysis of matched cohort and prospective controlled studies with 174 772 participants. *Lancet*. 2021;397(10287):1830-1841.
11. Tran DD, Nwokeabia ID, Purnell S, Zafar SN, Ortega G, Hughes K, Fullum TM. Revision of Roux-En-Y Gastric Bypass for Weight Regain: a Systematic Review of Techniques and Outcomes. *Obes Surg*. 2016;26(7):1627-34.
12. Sánchez-Pernaute A, Rubio Herrera MA, Pérez-Aguirre E, García Pérez JC, Cabrerizo L, Díez Valladares L, Fernández C, Talavera P, Torres A. Proximal duodenal-ileal end-to-side bypass with sleeve gastrectomy: proposed technique. *Obes Surg*. 2007;17(12):1614-8.
13. Sánchez-Pernaute A, Rubio MÁ, Pérez Aguirre E, Barabash A, Cabrerizo L, Torres A. Single-anastomosis duodenoileal bypass with sleeve gastrectomy: metabolic improvement and weight loss in first 100 patients. *Surg Obes Relat Dis*. 2013;9(5):731-5.
14. Shoar S, Poliakin L, Rubenstein R, Saber AA. Single Anastomosis Duodeno-Ileal Switch (SADIS): A Systematic Review of Efficacy and Safety. *Obes Surg*. 2018;28(1):104-113.
15. Torres A, Rubio MA, Ramos-Leví AM, Sánchez-Pernaute A. Cardiovascular Risk Factors After Single Anastomosis Duodeno-Ileal Bypass with Sleeve Gastrectomy (SADI-S): a New Effective Therapeutic Approach? *Curr Atheroscler Rep*. 2017;19(12):58.
16. Cottam A, Cottam D, Zaveri H, Cottam S, Surve A, Medlin W, Richards C. An Analysis of Mid-Term Complications, Weight Loss, and Type 2 Diabetes Resolution of Stomach Intestinal Pylorus-Sparing Surgery (SIPS) Versus Roux-En-Y Gastric Bypass (RYGB) with Three-Year Follow-Up. *Obes Surg*. 2018;28(9):2894-2902.
17. Frey, S., Ayer, A., Sotin, T., Lorant, V., Cariou, B., Blanchard, C., May, C. L. Single-Anastomosis Duodeno-Ileal Bypass with Sleeve Gastrectomy Model in Mice. *J. Vis. Exp.* 2023;(192), e64610.
18. Frey S, Ayer A, Sotin T, Lorant V, Louis-Gaubert C, Arnauda L, Billon-Crossouard S, Croyal M, Prieur X, Hadjadj S, Cariou B, Blanchard C, Le May C. Single-anastomosis duodeno-ileal bypass with sleeve gastrectomy (SADI-S) improves lipid and glucose homeostasis in Ob/Ob mice. *Obesity*. 2023. *In press*.
19. Ayer A, Borel F, Moreau F, Prieur X, Neunlist M, Cariou B, Blanchard C, Le May C. Techniques of Sleeve Gastrectomy and Modified Roux-en-Y Gastric Bypass in Mice. *J Vis Exp*. 2017;(121):54905.

20. Paigen B, Morrow A, Holmes PA, Mitchell D, Williams RA. Quantitative assessment of atherosclerotic lesions in mice. *Atherosclerosis*. 1987 Dec;68(3):231-40.
21. Bessueille L, Kawtharany L, Quillard T, Goettsch C, Briolay A, Taraconat N, Balayssac S, Gilard V, Mebarek S, Peyruchaud O, Duboeuf F, Bouillot C, Pinkerton A, Mechtouff L, Buchet R, Hamade E, Zibara K, Fonta C, Canet-Soulas E, Millan JL, Magne D. Inhibition of alkaline phosphatase impairs dyslipidemia and protects mice from atherosclerosis. *Transl Res*. 2023;251:2-13.
22. Ishibashi S, Brown MS, Goldstein JL, Gerard RD, Hammer RE, Herz J. Hypercholesterolemia in low density lipoprotein receptor knockout mice and its reversal by adenovirus-mediated gene delivery. *J Clin Invest*. 1993;92(2):883-93.
23. Sarmiento PL, Plavnik FL, Zanella MT, Pinto PE, Miranda RB, Ajzen SA. Association of carotid intima-media thickness and cardiovascular risk factors in women pre- and post-bariatric surgery. *Obes Surg*. 2009;19(3):339-44.
24. Habib P, Scrocco JD, Terek M, Vanek V, Mikolich JR. Effects of bariatric surgery on inflammatory, functional and structural markers of coronary atherosclerosis. *Am J Cardiol*. 2009;104(9):1251-5.
25. Brethauer SA, Heneghan HM, Eldar S, Gatmaitan P, Huang H, Kashyap S, Gornik HL, Kirwan JP, Schauer PR. Early effects of gastric bypass on endothelial function, inflammation, and cardiovascular risk in obese patients. *Surg Endosc*. 2011;25(8):2650-9.
26. Lind L, Zethelius B, Sundbom M, Edén Engström B, Karlsson FA. Vasoreactivity is rapidly improved in obese subjects after gastric bypass surgery. *Int J Obes (Lond)*. 2009;33(12):1390-5.
27. Brown WA, de Leon Ballesteros GP, Ooi G, Higa K, Himpens J, Torres A, Shikora S, Kow L, Herrera MF; IFSO appointed task force reviewing the literature on SADI-S/OADS. Single Anastomosis Duodenal-Ileal Bypass with Sleeve Gastrectomy/One Anastomosis Duodenal Switch (SADI-S/OADS) IFSO Position Statement-Update 2020. *Obes Surg*. 2021;31(1):3-25.
28. Ishibashi S, Goldstein JL, Brown MS, Herz J, Burns DK. Massive xanthomatosis and atherosclerosis in cholesterol-fed low density lipoprotein receptor-negative mice. *J Clin Invest*. 1994;93(5):1885-93.
29. Surve A, Cottam D, Medlin W, Richards C, Belnap L, Horsley B, Cottam S, Cottam A. Long-term outcomes of primary single-anastomosis duodeno-ileal bypass with sleeve gastrectomy (SADI-S). *Surg Obes Relat Dis*. 2020;16(11):1638-1646.
30. Sánchez-Pernaute A, Herrera MÁR, Ferré NP, Rodríguez CS, Marcuello C, Pañella C, Antofñanzas LL, Torres A, Pérez-Aguirre E. Long-Term Results of Single-Anastomosis Duodeno-ileal Bypass with Sleeve Gastrectomy (SADI-S). *Obes Surg*. 2022;15:1-8.
31. Ser KH, Lee WJ, Chen JC, Tsai PL, Chen SC, Lee YC. Laparoscopic single-anastomosis duodenal-jejunal bypass with sleeve gastrectomy (SADJB-SG): Surgical risk and long-term results. *Surg Obes Relat Dis*. 2019;15(2):236-243.
32. Blanchard C, Moreau F, Ayer A, Toque L, Garçon D, Arnaud L, Borel F, Aguesse A, Croyal M, Krempf M, Prieur X, Neunlist M, Cariou B, Le May C. Roux-en-Y gastric bypass reduces plasma cholesterol in diet-induced obese mice by affecting trans-intestinal cholesterol excretion and intestinal cholesterol absorption. *Int J Obes (Lond)*. 2018;42(3):552-560.
33. Pihlajamäki J, Grönlund S, Simonen M, Käkälä P, Moilanen L, Pääkkönen M, Pirinen E, Kolehmainen M, Kärjä V, Kainulainen S, Uusitupa M, Alhava E, Miettinen TA, Gylling H. Cholesterol absorption decreases after Roux-en-Y gastric bypass but not after gastric banding. *Metabolism*. 2010;59(6):866-72.
34. Benetti A, Del Puppo M, Crosignani A, Veronelli A, Masci E, Frigè F, Micheletto G, Panizzo V, Pontiroli AE. Cholesterol metabolism after bariatric surgery in grade 3 obesity: differences between malabsorptive and restrictive procedures. *Diabetes Care*. 2013;36(6):1443-7.
35. Meoli L, Ben-Zvi D, Panciotti C, Kvas S, Pizarro P, Munoz R, Stylopoulos N. Intestine-Specific Overexpression of LDLR Enhances Cholesterol Excretion and Induces Metabolic Changes in Male Mice. *Endocrinology*. 2019;160(4):744-758.
36. Saeidi N, Meoli L, Nestoridi E, Gupta NK, Kvas S, Kucharczyk J, Bonab AA, Fischman AJ, Yarmush ML, Stylopoulos N. Reprogramming of intestinal glucose metabolism and glycemic control in rats after gastric bypass. *Science*. 2013;341(6144):406-10.
37. Mansukhani NA, Wang Z, Shively VP, Kelly ME, Vercammen JM, Kibbe MR. Sex Differences in the LDL Receptor Knockout Mouse Model of Atherosclerosis. *Artery Res*. 2017;20:8-11.
38. VanderLaan PA, Reardon CA, Thisted RA, Getz GS. VLDL best predicts aortic root atherosclerosis in LDL receptor deficient mice. *J Lipid Res*. 2009;50(3):376-385.
39. VanderLaan PA, Reardon CA, Getz GS. Site specificity of atherosclerosis: site-selective responses to atherosclerotic modulators. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004;24(1):12

FIGURES

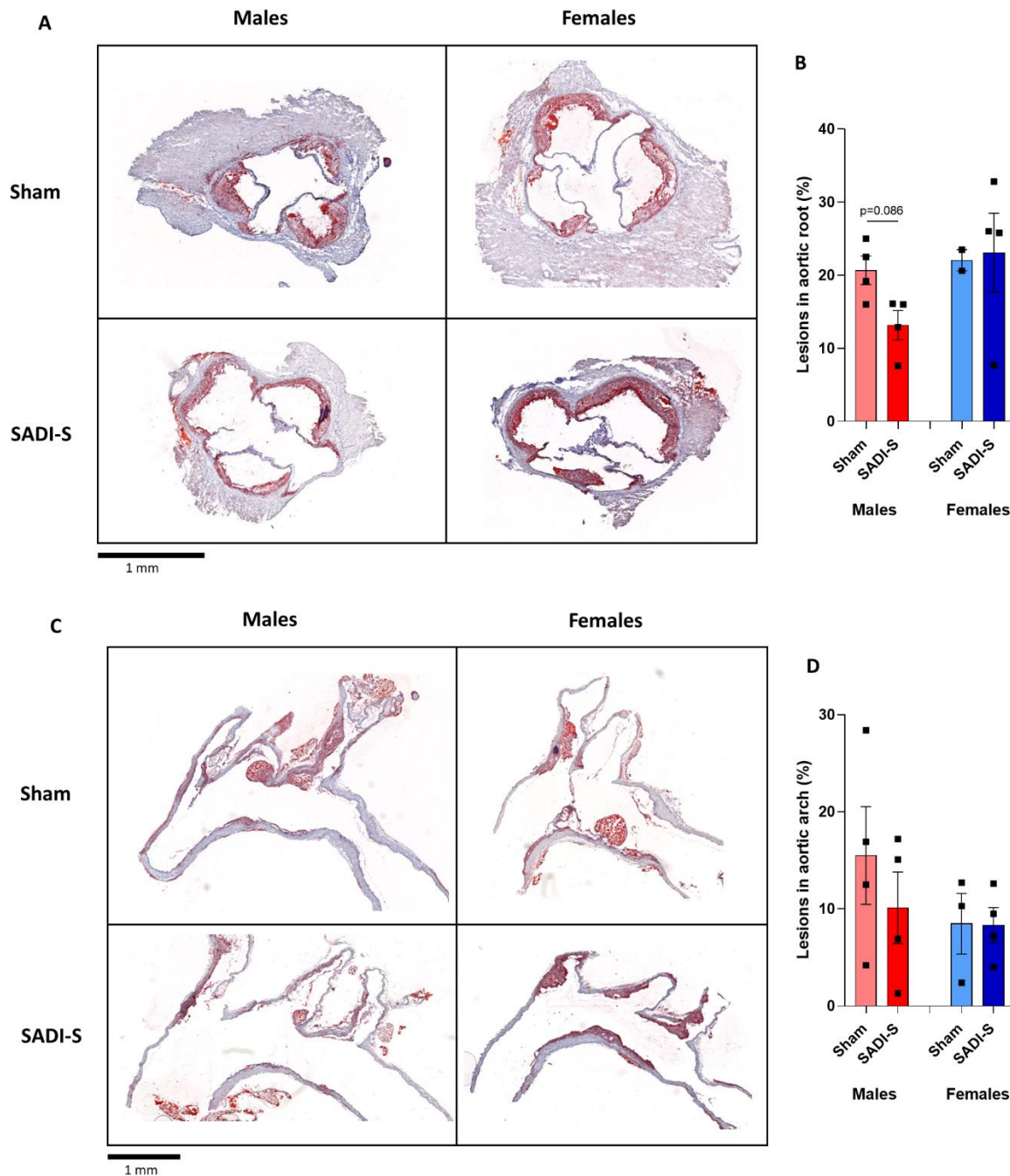
Figure 1. General post-operative follow-up and plasma lipid levels



In male $LDLR^{-/-}$ mice: A) Initial body weight and B) body weight change after surgery; C) gonadal and sub-cunatous adipose tissue 84 days after surgery; D) cumulated food intake; E) plasma cholesterol and F) triglycerides levels after surgery. **In female $LDLR^{-/-}$ mice:** G) Initial body weight and H) body weight change after surgery; I) gonadal and sub-cunatous adipose tissue 84 days after surgery; J) cumulated food intake; K) plasma cholesterol and L) triglycerides levels after surgery. Values for each sex were compared with Mann-Whitney test or two-way ANOVA (Sidak's test for multiple comparisons). N = 3-4 mice per group.

SADI-S: Single anastomosis duodenoileal bypass with sleeve gastrectomy, **WAT:** White adipose tissue.

Figure 2. Atherosclerosis measurement



A) Representative aortic root transversal cross-sections after Oil red O staining in LDLR^{-/-} mice of both sexes after surgeries, and B) corresponding quantification of atherosclerotic lesions in percentage of the total aortic area. B) Representative aortic arch sagittal cross-sections after Oil red O staining in LDLR^{-/-} mice of both sexes after surgeries, and B) corresponding quantification of atherosclerotic lesions in percentage of the total aortic area. Values for each sex were compared with Mann-Whitney test. N = 2 – 4 mice per group.

SADI-S: Single anastomosis duodenoileal bypass with sleeve gastrectomy

Discussion - Perspectives

Les chirurgies bariatriques exercent un effet bénéfique sur les comorbidités métaboliques associées à l'obésité. En plus de leur impact sur l'homéostasie glucidique, particulièrement mis en avant dans le cadre de la chirurgie métabolique, un effet sur la dyslipidémie est observé qui dépend du type de chirurgie : seules les chirurgies ayant une composante dite « malabsorptive » réduisent la concentration sanguine de cholestérol total et de LDL-C (40,105). C'est pourquoi il nous a semblé important de mieux comprendre les mécanismes mis en jeu lors de ce type de chirurgie qui conduisent à cet effet positif.

Dans notre première étude ([article n°1](#)), nous avons cherché à savoir si le LDLR intestinal, étant donné son rôle majeur dans la régulation du métabolisme du cholestérol et sa surexpression connue dans la muqueuse intestinale après RYGB (76,294), était impliqué dans les effets hypocholestérolémiants de cette chirurgie. En effet, sa surexpression chez des souris transgéniques s'accompagnait d'une réduction de 50% de la cholestérolémie sous régime standard, d'une prévention de l'hypercholestérolémie induite par un régime athérogénique supplémenté en cholestérol, et d'une augmentation de l'excrétion fécale du cholestérol (294). L'implication d'une autre protéine centrale du métabolisme du cholestérol, PCSK9, avait déjà été testée au laboratoire par l'utilisation d'un modèle murin déficient (PCSK9^{-/-}), qui a exclu son implication. Notre première étude démontre que le LDLR intestinal est un acteur clé dans les effets hypocholestérolémiants du RYGB. En effet, les souris présentant une déficience spécifiquement intestinale en LDLR présentaient une cholestérolémie significativement plus élevée après RYGB que les souris contrôles.

Après RYGB, une hyperplasie de la muqueuse intestinale, interprétée comme un phénomène adaptatif, est observée chez l'homme (78,309), le rat (78,302) et la souris (expérience de l'équipe non publiée). Elle est principalement étudiée dans l'anse alimentaire puisque, chez l'homme, cette anse est plus facilement accessible aux biopsies. L'association de la surexpression du LDLR et de cette hyperplasie après RYGB avait pu faire évoquer l'hypothèse d'un lien entre ces deux phénomènes, et avait été proposée comme explication à la baisse de la cholestérolémie après RYGB. En effet, la surexpression intestinale du LDLR chez des souris transgéniques dans l'étude de Meoli et al. était associée à une augmentation de la longueur totale de l'intestin, une augmentation de l'expression de gènes impliqués dans la prolifération muqueuse ainsi que des gènes impliqués dans la synthèse du cholestérol (294). D'autres ont montré que l'expression du LDLR était augmentée dans les polypes intestinaux sur modèle murin et que l'accumulation intracellulaire de cholestérol jouait un rôle dans la prolifération cellulaire qui conduit à la formation de ces polypes (310). Cependant, notre étude montre que l'absence du LDLR ne prévient pas l'hyperplasie muqueuse observée après RYGB. D'autre part, nous suggérons également que cette hyperplasie n'est pas suffisante à elle seule pour expliquer la totalité du phénotype observé après RYGB puisque malgré l'absence de différence d'hyperplasie, la cholestérolémie reste plus élevée chez les souris *iLDLR^{-/-}*.

Notre équipe a montré précédemment que chez la souris, le RYGB induisait une augmentation de l'excrétion fécale du cholestérol, notamment en lien avec une augmentation de l'épuration du cholestérol plasmatique (155). Cette observation était complétée par celle que l'épuration du cholestérol par la voie du TICE était significativement augmentée après RYGB, sans modification de son élimination par la voie hépatobiliaire. Puisque le LDLR joue un

rôle central dans la voie du TICE (244), une hypothèse aurait pu être que sa déficience puisse prévenir l'induction du TICE observée après RYGB. Dans notre étude, les dosages plasmatiques et fécaux du D₇-cholestérol exogène administré par voie intraveineuse montrent que sa clairance plasmatique et son excrétion fécale sont augmentées dans les mêmes proportions chez les souris iLDLR^{-/-} et leurs contrôles. Ce résultat suggère donc que la déficience en LDLR intestinal n'altère pas l'épuration du cholestérol plasmatique après RYGB. Une des hypothèses pourrait être que l'absence d'induction du TICE puisse être compensée par une augmentation de l'épuration biliaire du D₇-cholestérol, bien que l'absence de modification de l'expression hépatique du transporteur hétérodimérique ABCG5/G8 plaide en défaveur de cette hypothèse. Le dosage du D₇-cholestérol biliaire (recueilli par canulation biliaire) et au sein d'un perfusat riche en accepteurs de cholestérol perfusé dans l'intestin (mesure directe du TICE) comme décrit précédemment (244,274) pourrait en apporter la réponse. Ces échantillons (bile et perfusats intestinaux) ont été recueillis chez nos souris iLDLR^{-/-} et leurs contrôles après RYGB et chirurgie Sham, et ces analyses pourraient être réalisées si nécessaire. Cependant, la distinction du TICE et de la voie hépatobiliaire ne nous a pas semblé nécessaire en l'état dans notre étude puisque la différence de cholestérolémie observée entre les deux génotypes ne résultait pas de l'épuration totale du cholestérol plasmatique.

La conservation de l'induction de ces deux mécanismes, hyperplasie intestinale et épuration du cholestérol plasmatique, après RYGB chez les souris iLDLR^{-/-} peut faire suspecter l'existence de mécanismes de compensations. Ceux-ci pourraient être une limite de notre modèle. D'une part, il est possible que la déficience en LDLR intestinal puisse être compensée par la fonction du LDLR hépatocytaire, son site majeur d'expression (226). Le contraste entre un effet majeur sur la cholestérolémie en cas de surexpression du LDLR intestinal (294) et une

hypercholestérolémie très modérée dans notre modèle déficient pourrait être en faveur de cette hypothèse. Si une telle compensation existe, nos résultats suggèrent un phénomène post-traductionnel puisque l'expression du LDLR hépatique n'était pas significativement modifiée entre les différentes conditions dans notre étude. Bien que la caractérisation phénotypique du modèle iLDLR^{-/-} dépasse le cadre de ce projet et fait l'objet d'une étude spécifique en cours au laboratoire, un élément de réponse pourrait être apporté par l'étude de l'impact du RYGB chez des souris présentant une déficience totale en LDLR (souris LDLR^{-/-}). Ces souris ont également l'avantage de présenter une hypercholestérolémie marquée (311), ce qui pourrait permettre d'accentuer les différences observées. Pour répondre à ces questions, nous étudions au moment de l'écriture de ce manuscrit un groupe de souris LDLR^{-/-} opérées d'un RYGB ou d'une intervention Sham.

Une compensation de l'absence du LDLR intestinal par d'autres transporteurs entérocytaires du cholestérol est également possible. Cette hypothèse est particulièrement rendu plausible par le fait que seule l'inhibition aigue du LDLR (par de la PCSK9 recombinante) entraîne une réduction de 35% de l'activité du TICE, alors que le TICE n'est pas altéré dans un modèle murin porteur d'une déficience constitutionnelle (modèle knockout), ce qui suggère que ces mécanismes seraient mis en place en cas de déficience chronique (244). La réalisation d'un RYGB sur un modèle de souris ayant un knockout inductible du LDLR au niveau intestinal spécifiquement, permettant une inhibition aigue et ciblée, pourrait être une piste permettant de répondre à cette question. La nature de ces transporteurs est encore inconnue (279). Dans notre étude, l'absence d'induction significative chez les souris iLDLR^{-/-} de l'expression génique des transporteurs classiques pouvant permettre l'internalisation du cholestérol au pôle basolatéral de l'entérocyte, à savoir SB-BI, LRP1 et CD36, ainsi que des protéines d'efflux,

ABCB1A/1B et ABCG5/G8, plaide en faveur d'autres mécanismes. La recherche de ces transporteurs non connus après RYGB chez les souris *iLDLR^{-/-}*, par exemple par l'utilisation d'approches sans à priori (approches « omiques »), pourrait permettre d'identifier de nouvelles cibles moléculaires intestinales jouant un rôle dans la régulation de la cholestérolémie et pourrait constituer une des perspectives de ce projet.

De façon intéressante, notre étude montrait que le RYGB ne s'accompagnait pas, chez les souris *iLDLR^{-/-}*, d'une réduction de l'absorption intestinale du cholestérol, contrairement aux souris contrôles. Notre hypothèse est que la conservation d'une absorption intestinale élevée participe à réduire les effets hypocholestérolémiant du RYGB. Ce résultat suggère que la baisse de l'absorption du cholestérol luminal après chirurgie malabsorptive observée par nous et par d'autres équipes (155,289,290) met en jeu des mécanismes complexes au-delà d'une simple réduction de la longueur de l'intestin parcouru par les lipides alimentaires, dont le LDLR pourrait faire partie. En effet, les données de la littérature suggèrent qu'une relation inverse pourrait exister dans l'entérocyte entre l'absorption luminale du cholestérol et sa captation au pôle basolatéral de l'entérocyte : la surexpression du LDLR intestinal s'accompagne d'une diminution de l'expression génique de NPC1L1 (294), alors que l'inhibition de l'absorption du cholestérol luminal par l'ezetimibe s'accompagne d'une surexpression du LDLR au pôle basolatéral (312). Si dans notre étude, cette persistance d'une absorption élevée après RYGB chez les souris déficientes ne s'accompagnait pas d'une surexpression génique de NPC1L1, il n'est pas exclu que des modifications post-traductionnelles soient impliquées. La limite de notre étude sur cette mesure de l'absorption du cholestérol est qu'elle est estimée par l'utilisation des ratios plasmatiques sitostérol et campestérol sur cholestérol, bien que cette estimation soit communément admise dans la

littérature (313). Cependant, la mesure directe de l'absorption intestinale (méthode du dual isotope ratio (314)) après gavage de cholestérol marqué sur un petit nombre d'individus dans notre étude (*résultats non présentés*) semble confirmer ces résultats.

L'absence d'effet du RYGB sur l'absorption intestinale chez les souris $iLDLR^{-/-}$ devrait être accompagnée d'une réduction des effets de la chirurgie sur l'excrétion du cholestérol. Cependant, une augmentation de l'excrétion fécale du cholestérol était observée chez les souris $iLDLR^{-/-}$ de la même manière que chez les souris contrôles, comme il a déjà été suggéré après RYGB dans d'autres études (155,289,301). C'est la raison pour laquelle nous avons mesuré l'excrétion fécale des acides biliaires, puisqu'il s'agit également d'une voie d'élimination du cholestérol, et puisque les chirurgies bariatriques exercent un impact sur le métabolisme des acides biliaires (qui sera discuté plus loin). Nos résultats chez les souris Sham prises isolément montrent que les souris $iLDLR^{-/-}$ ont une excrétion fécale des acides biliaires significativement plus élevée, sans modifications significative de leur composition, ce qui suggère un métabolisme des acides biliaires propre. De la même manière, Meoli et al. montraient que la surexpression intestinale du LDLR s'accompagnait d'une modification significative de l'expression de gènes cibles impliqués dans le métabolisme des acides biliaires, dont une réduction de l'expression hépatique de CYP7A1 (294). Après RYGB, nous avons observé une augmentation d'environ 100% presque significative ($p=0.06$) de l'excrétion fécale d'acides biliaires après RYGB comme il a déjà été décrit (315). En revanche, le RYGB n'induisait pas d'augmentation de l'excrétion des acides biliaires en comparaison des souris Sham chez les souris $iLDLR^{-/-}$. Cette observation s'accompagnait d'une modification de la composition des acides biliaires fécaux après RYGB qui différait entre les souris $iLDLR^{+/+}$ et $iLDLR^{-/-}$. Alors que l'excrétion de CA augmentait après chirurgie dans les deux conditions (néanmoins non

significativement chez les souris $iLDLR^{-/-}$), l'excrétion de β -MCA, qui est un acide biliaire hydrophile (316), était fortement induite chez les souris $iLDLR^{+/+}$ uniquement. Plusieurs études rapportent un pool d'acides biliaires plus hydrophiles après chirurgie bariatrique (155,317,318). Il est également suggéré que des acides biliaires hydrophiles sont associés à une réduction de l'absorption intestinale du cholestérol (293). Ainsi, l'absence d'induction de l'excrétion de β -MCA chez les souris $iLDLR^{-/-}$ pourrait également être impliquée dans la réduction des effets du RYGB sur l'absorption intestinale chez ces souris.

L'ensemble des mécanismes adaptatifs au RYGB étudiés chez les souris $iLDLR^{+/+}$ et $iLDLR^{-/-}$ sont résumés dans la **Figure 28**.

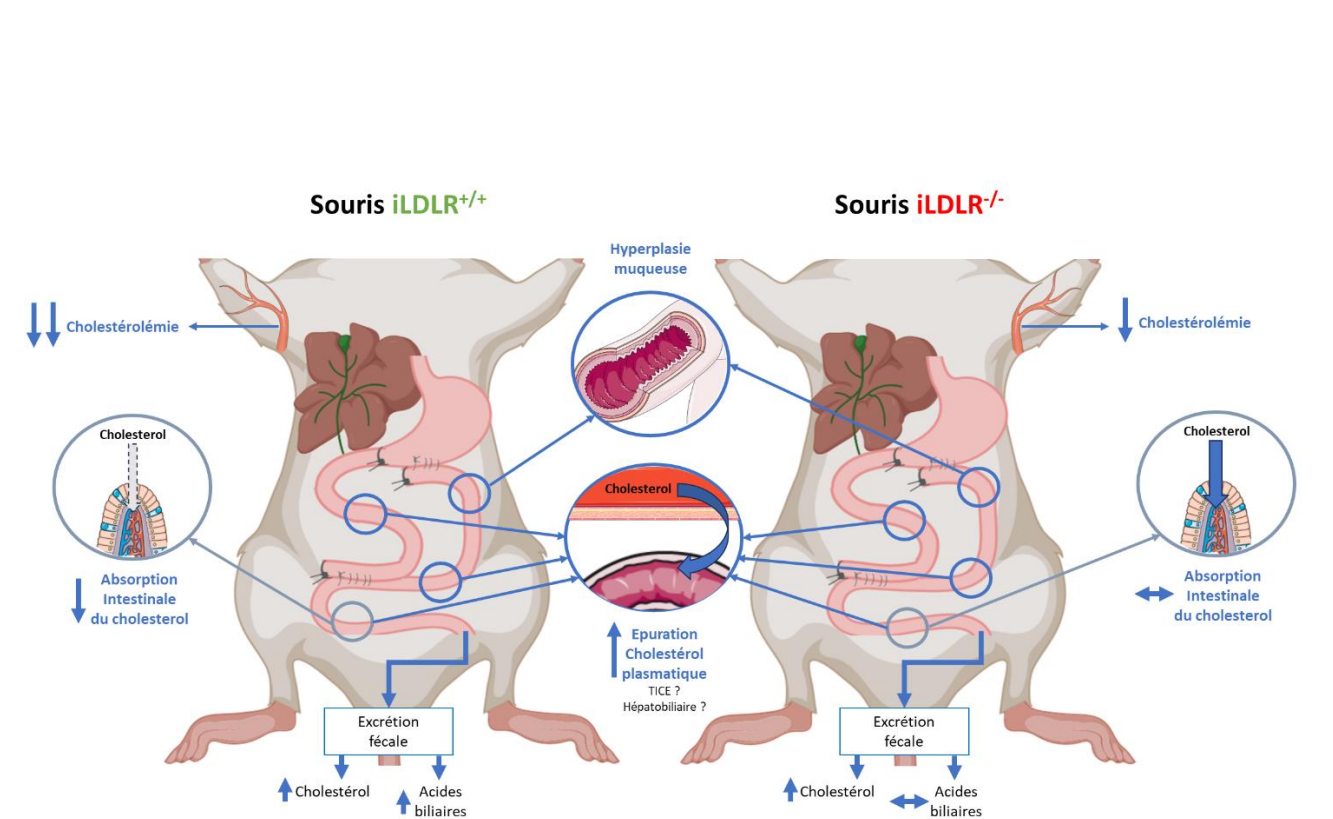


Figure 28. Résumé des conséquences fonctionnelles, adaptatives et métaboliques d'une déficience spécifiquement intestinale en LDLR après RYGB.

Cette première étude avait pour objectif d'apporter des éléments de connaissance fondamentales concernant la chirurgie malabsorptive de référence, c'est-à-dire le RYGB. Par la suite, nous nous sommes intéressés à une autre chirurgie encore à l'étude, le SADI-S, qui pourrait exercer un fort impact sur les comorbidités métaboliques (158), par la transposition de cette chirurgie chez la souris, sa comparaison avec le RYGB et l'étude en particulier de son impact sur le métabolisme du cholestérol.

Le choix du modèle murin pour l'étude de cette chirurgie ([article n°2](#)) a été notamment motivé par le fait que nous possédions déjà au laboratoire les modèles de SG et de RYGB et que sa mise en place pourrait permettre la réalisation de nouvelles études sur des modèles génétiquement modifiés. Comparativement au RYGB qui demande la réalisation de deux anastomoses, nous attendions une simplification du geste chirurgical, une réduction du temps opératoire, une amélioration de la survie et des effets métaboliques forts, comme il a été suggéré dans les études chez l'homme (33,158).

Dans notre expérience, la durée opératoire de notre modèle de SADI-S est en moyenne de 60 à 70 minutes (selon le poids des souris), ce qui est significativement plus court que pour la réalisation du RYGB pour des souris du même poids (70 à 80 minutes). La mise au point d'une SG par l'utilisation de clips (147) contrairement à la technique précédente par un surjet continu, a grandement contribué à réduire cette durée opératoire.

La survie à J5 de la chirurgie, qui est fortement corrélée à la survie à long terme, est supérieure à 75%, voire de 100% pour les dernières séries réalisées, pour des souris DIO d'environ 40g. Cette survie est globalement supérieure à celle obtenue après RYGB (70 à 90% dans notre expérience). Un entraînement rigoureux et régulier est nécessaire à l'amélioration

de la survie post-opératoire. La principale cause de mortalité était, au début de notre expérience, la déclaration d'une péritonite biliaire par distension de l'anse biliaire, reproduisant le syndrome de l'anse afférente observé en clinique (182), et qui survient généralement 48 heures après l'intervention. Dans le cas de notre modèle, elle résulte habituellement d'une opposition entre la bile et la nourriture qui reflue dans l'anse biliaire. Cette complication est prévenue par la réalisation d'une anastomose duodéno-iléale isopéristaltique : l'anse biliaire doit rejoindre l'anastomose sur son côté gauche afin que la bile accompagne l'alimentation dans l'anse commune, qui doit être déclive, sans s'y opposer. Chez la souris, puisque la position de la dernière anse est variable et souvent située à gauche de l'abdomen contrairement à l'homme (319), il peut être nécessaire de réaliser un volvulus de l'intestin grêle pour parvenir à cette configuration. L'autre cause de mortalité la plus fréquente est la fistule de l'anastomose, bien que dans la majorité des cas aucune anomalie n'était retrouvée à l'autopsie, en accord avec d'autres auteurs (149). La mortalité à long terme par malnutrition sévère reste rare dans notre expérience, contrairement à celle décrite dans la littérature après BPD-DS chez la souris (151), et nous a encouragé à conserver une anse commune mesurant environ 1/3 de la longueur totale de l'intestin grêle (10-14 cm en fonction des lignées) qui reproduit les proportions réalisées chez l'homme (33,162). Pour limiter les déficiences qui résultent de la malabsorption (320,321), les suppléments vitaminiques et ferriques précédemment décrites pour le RYGB (148) sont un également apport majeur pour ce modèle.

La comparaison du SADI-S avec le RYGB sur un modèle de souris Ob/Ob ([article n°3](#)) reproduisait dans notre étude les observations cliniques publiées. Le SADI-S conduisait à une perte de poids corporel d'environ 40%, ce qui est comparable avec les grandes séries

disponibles qui rapportent pour la plupart une perte de poids entre 35 et 40% (168,173,175,188). Il est intéressant de noter que cette perte de poids était reproduite chez les souris mâles dans notre étude suivante ([article n°4](#)) sur un modèle DIO avec un suivi plus long (12 semaines), avec cependant une petite reprise de poids à la 7^e semaine (après changement de régime) et une stabilisation autour de 33% du poids initial (qui se situait autour de 40 g dans cette étude versus 50 g sur le modèle Ob/Ob). Ces résultats suggèrent qu'une situation d'équilibre est atteinte autour de la 5^e semaine post-opératoire. La perte de poids induite par le SADI-S était significativement supérieure à celle du RYGB chez les souris Ob/Ob, comme suggéré par les études comparatives chez l'homme (158,180,197).

Nous avons également observé que le SADI-S, du fait de la SG qui y est associée, s'accompagnait d'une réduction de la prise alimentaire en comparaison des souris Sham et RYGB chez les souris Ob/Ob. L'absence de restriction alimentaire significative dans notre modèle de RYGB a déjà été décrite et constitue une des limites connues de ce modèle, en rapport avec l'absence de confection d'une petite poche gastrique (148,155). L'étude d'un groupe de souris pair-fed montrait que cette restriction alimentaire après SADI-S n'était pas suffisante pour expliquer la perte de poids et les bénéfices métaboliques observés. Il est également intéressant de noter que sur les modèles différents des souris Ob/Ob utilisés dans nos autres études ([article n°2](#) et [article n°4](#)), cet effet restrictif était transitoire après SADI-S et une hyperphagie était observée après la 4^e semaine, qui peut être considérée comme un phénomène adaptatif à la malabsorption induite par la chirurgie. La raison de cette différence entre lignées murines n'est pas élucidée. Une hypothèse pourrait être une modification du signal de la leptine, absente chez les souris Ob/Ob. Une autre possibilité pourrait être une modification de l'appétence des aliments qui diffère selon le type de souris utilisées (322). A

noter que chez des souris DIO, la SG dans notre expérience ne s'accompagnait pas d'une réduction de la quantité d'aliments ingérés, mais plutôt d'une modification des comportements de prise alimentaire (148).

Nous avons également mis en évidence une amélioration importante de l'homéostasie glucidique après SADI-S chez les souris Ob/Ob, qui était significativement supérieure à celle observée après RYGB. L'amélioration de la tolérance au glucose lors d'un test de tolérance orale après SADI-S, déjà observée chez l'homme (192), était également reproduite par l'injection intrapéritonéal d'une solution glucosée. Cette observation suggère que la réduction de l'absorption du glucose par une anse commune courte (168) n'est pas responsable à elle seule de cette amélioration. La diminution importante de l'HOMA-IR après SADI-S et de l'insulinémie à jeun, également déjà suggérées dans la littérature (158,169), plaident en faveur d'une réduction de l'insulino-résistance. D'autre part, nous n'avons pas constaté de modification de la taille des îlots de Langerhans en analyse histologique du pancréas ni de modification significative de l'HOMA-B (qui reflète la fonction des cellules bêta du pancréas) entre les conditions (*résultats non présentés*), ce qui plaide plutôt en défaveur d'une amélioration de la sécrétion d'insuline après SADI-S.

On sait qu'après chirurgie bariatrique, une amélioration de l'homéostasie glucidique est observée très précocement avant même la perte de poids, et qu'ainsi plusieurs autres mécanismes sont responsables d'une amélioration de la glycémie (61). Une des principales limites de notre modèle réside dans le fait que, étant donné la forte différence de diminution du poids corporel entre RYGB et SADI-S, notre étude ne nous permet pas de savoir l'importance qu'exercent ces mécanismes indépendants de la perte de poids. Nous n'avons malheureusement pas pu, pour des raisons techniques, réaliser de dosage des

entérohormones qui aurait pu apporter un élément d'explication supplémentaire à cette amélioration après SADI-S, d'autant plus que les effets de cette chirurgie sur la sécrétion de GLP-1 notamment ont été très peu étudiés (175,191,193).

Cette différence importante entre SADI-S et RYGB en termes de poids corporel et d'amélioration de la glycémie est notamment liée au fait que le RYGB exerçait un effet faible sur les souris Ob/Ob, ce qui constitue la principale limite de cette étude. En effet, la perte de poids de seulement environ 6% était inférieure à celle observée chez des souris DIO comme dans l'[article n°1](#) ou nos expériences publiées précédemment (148,155) qui est d'environ 25%, et de façon similaire l'amélioration de la glycémie à l'état nourri et de la tolérance au glucose était moindre. Ce faible impact du RYGB chez les souris Ob/Ob sur le poids corporel et/ou la tolérance au glucose par rapport aux souris DIO a déjà été décrit dans la littérature (323,324). Cette observation semble résulter du déficit en leptine : on sait que la concentration plasmatique de leptine est diminuée après RYGB chez les patients ce qui suggère une augmentation de la sensibilité à la leptine après chirurgie (325), et d'autre part la supplémentation en leptine chez des souris Ob/Ob opérées d'un RYGB rétablit la perte de poids (324). Néanmoins notre choix s'est porté sur ce modèle pour cette première étude notamment compte tenu de la facilité d'obtention d'une obésité majeure (>50 g) (145), qui reproduit le contexte dans lequel le SADI-S pourrait être une alternative au RYGB, et des comorbidités associées (insulinorésistance, stéatose hépatique (326)), qui sont plus difficiles à obtenir sous régime hyperlipidique (dans notre expérience environ 12 semaines de régime sont nécessaires à l'obtention d'un poids de 40 g).

Afin de prendre en compte cette limite, nous avons également effectué cette comparaison chez des souris C57Bl6 sous régime high fat afin de comparer les effets du SADI-

S avec un modèle de RYGB dont l'impact est plus important (résultats non publiés, présentés en **Figure 29**). Dans cette expérience, le RYGB induisait une perte de poids comparable à nos résultats ultérieurs qui restait significativement inférieure à celle induite par le SADI-S. Le SADI-S conservait également un effet supérieur au RYGB concernant l'amélioration de la glycémie à l'état nourri et la tolérance au glucose.

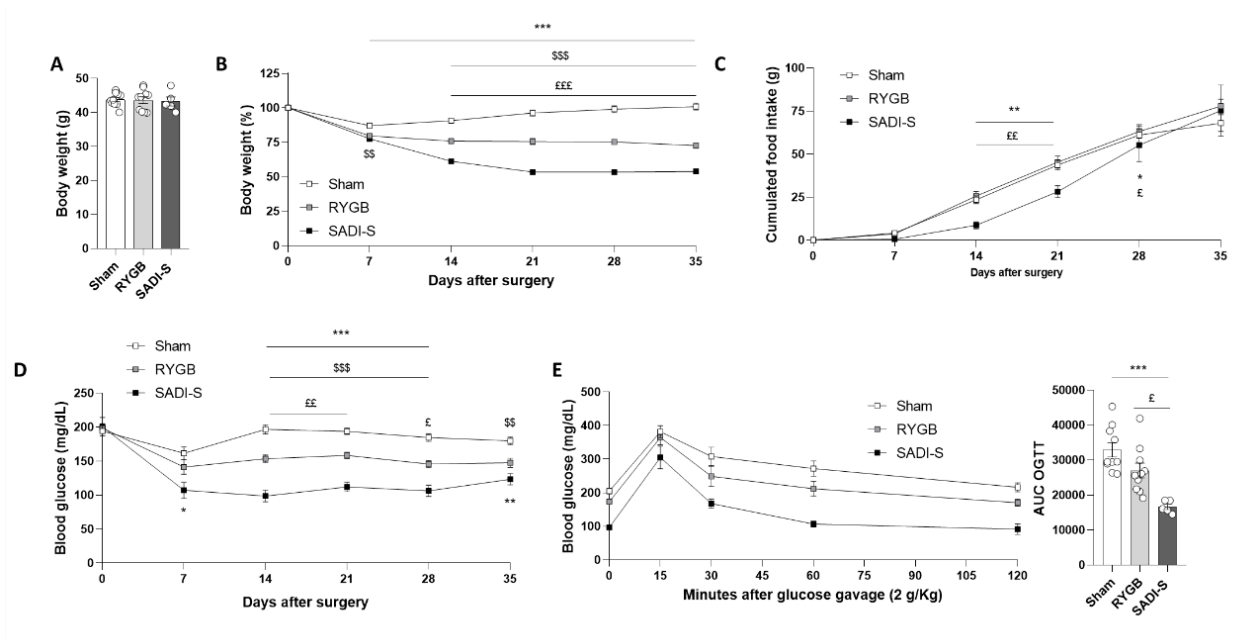


Figure 29. Comparaison des effets du SADI-S et du RYGB chez des souris C57Bl6 après 12 semaines de régime High Fat. A) Poids corporel initial et B) son évolution post-opératoire. C) Prise alimentaire cumulée. D) Suivi longitudinal de la glycémie à l'état nourri. E) Test de tolérance orale au glucose.). Test de Kruskal-Wallis ou ANOVA deux facteurs avec test de Sidak pour comparaisons multiples. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ (SADI-S vs. Sham). $\$$ $p < 0.05$, $\$\$$ $p < 0.01$, $\$\$\$$ $p < 0.001$ (RYGB vs. Sham). £ $p < 0.05$, ££ $p < 0.01$, £££ $p < 0.001$ (SADI-S vs. RYGB). N = 5 à 10 animaux par groupes.

La chirurgie bariatrique exerce un impact sur le métabolisme des acides biliaires. A la fois chez l'homme et l'animal, il a été montré une augmentation de la concentration plasmatique des acides biliaires après RYGB et SG, et ces effets pourraient être un des mécanismes responsables des effets positifs observés sur l'homéostasie glucidique (155,317,327–329). Chez les souris Ob/Ob, nous avons observé une tendance à l'augmentation de la concentration biliaire et plasmatique des acides biliaires. Le faible effectif

pourrait expliquer l'absence de significativité statistique. Plus important encore, le SADI-S s'accompagnait d'une modification de la composition des acides biliaires plasmatique, biliaires et fécaux, avec obtention d'un profil plus hydrophile comme il a déjà été décrit après chirurgie bariatrique (155,317,318). En particulier, il a été suggéré que l'arrivée rapide d'acides biliaires dans l'iléon distal après chirurgie pourrait être associée à une réduction de la prise alimentaire, une perte de poids plus importante et une amélioration de l'insulinosensibilité en favorisant la sécrétion de GLP-1 et de PYY *via* son action sur le récepteur TGR5 (328,330). De plus, l'activation du récepteur FXR par les acides biliaires après chirurgie bariatrique a également été suggérée comme étant un déterminant important de la perte de poids et de l'amélioration de la tolérance au glucose (331), notamment par l'activation de sa cible FGF15/19 (332). Nous avons également constaté après SADI-S une augmentation significative de l'expression génique de FGF15 ainsi qu'une tendance à la diminution dans l'anse commune. Étant donné son rôle suspecté dans les effets des chirurgies bariatriques, il pourra être intéressant d'étudier l'impact du SADI-S sur un modèle murin déficient pour FXR (331).

On sait qu'en situation d'obésité sont fréquemment observées une diminution de la richesse du microbiote intestinal et une modification de sa composition (situation qualifiée de dysbiose) (333,334). L'importance de cette dysbiose dans la physiopathologie de l'obésité est notamment reflétée par le fait que la transplantation du microbiote fécal d'individus obèses chez la souris s'associe à une prise de poids chez ces animaux supérieure à celle de souris transplantées avec le microbiote d'individus non obèses (335). Ces altérations sont associées aux comorbidités métaboliques dont le diabète de type 2 et l'hypertension (334). La chirurgie bariatrique exerce un impact bénéfique partiel sur cette dysbiose, qui est maintenu sur le long terme, avec l'augmentation d'espèces bactériennes associées à un profil métabolique positif

(334,336,337). Deux études récentes du même groupe rapportent des effets du SADI-S sur le microbiote intestinal chez le rat. Dans une première étude, le SADI-S, le RYGB et la BPD-DS modifiaient la composition du microbiote de façon comparable, indépendamment de la perte de poids, et conduisaient à une excrétion fécale de métabolites associé à un profil métabolique favorable, en particulier une augmentation de l'excrétion d'acides gras à chaîne courte associée à une stimulation de la sécrétion de PYY (338). Dans une autre étude, les auteurs suggéraient que la modifications des espèces bactériennes après SADI-S et BPD-DS variait selon le segment intestinal considéré (anse biliaire, alimentaire ou commune) (339). Si ces aspects n'ont pas été mis en évidence dans notre étude puisque nous ne possédons pas l'expertise suffisante au laboratoire pour une étude poussée du microbiote, ils constituent néanmoins une perspective intéressante qui pourrait être évaluée avec notre modèle. Nous avons pu mettre en évidence des différences entre SADI-S, RYGB et groupe Sham concernant la concentration plasmatique et l'excrétion fécale de différents métabolites du microbiote intestinal (excrétion des acides biliaires secondaires et du coprostanol, concentration plasmatique des espèces issues du métabolisme du tryptophane et des triméthylamines) qui suggèrent un impact du SADI-S sur le microbiote dans notre modèle.

Dans notre étude, nous avons accordé une importance particulière à l'impact du SADI-S sur le métabolisme des lipides. Contrairement aux observations cliniques, le SADI-S et le RYGB ne modifiaient pas la triglycéridémie chez les souris Ob/Ob, en accord avec nos autres observations sur le modèle RYGB ([article n°1](#), (155)). Cette observation résulte vraisemblablement de l'absence d'hypertriglycéridémie chez ces souris. Par comparaison, dans l'[article n°4](#), l'induction d'une hypertriglycéridémie chez des souris LDLR^{-/-} par un régime western diet était prévenue par le SADI-S en comparaison du groupe Sham. Chez la souris

Ob/Ob, nous avons en revanche mis en évidence un fort effet hypocholestérolémiant du SADI-S qui surpassait celui du RYGB qui reproduit les observations cliniques (158). Nous avons donc cherché à savoir quels sont les mécanismes associés à cet effet bénéfique sur le métabolisme des lipides.

Nous mettons en évidence pour la première fois que le SADI-S met en jeu deux mécanismes qui conduisent à la baisse de la cholestérolémie et à une augmentation de l'excrétion fécale du cholestérol supérieure à celle observée après RYGB : 1/ une diminution de l'absorption intestinale du cholestérol (estimée par les ratios campesterol et sitosterol plasmatiques), et 2/ une augmentation de l'épuration du cholestérol plasmatique (augmentation de la clairance plasmatique et de l'excrétion fécale du D₇-cholestérol exogène injecté par voie intraveineuse). Trois hypothèses peuvent expliquer l'augmentation de l'épuration du cholestérol plasmatique après SADI-S : une induction de l'élimination par la voie hépatobiliaire, une induction du TICE comme observée après RYGB dans nos études précédentes (155), ou une inhibition de la réabsorption du cholestérol épuré par ces deux voies. Nous n'avons été capable de collecter de la bile que chez un faible nombre de souris après SADI-S du fait de difficultés techniques importantes (adhérences post-opératoires du foie sur l'anastomose), mais ces résultats très préliminaires pourraient suggérer une induction de l'élimination hépatobiliaire du cholestérol (*résultats non présentés*). La mesure de la voie du TICE que nous avons réalisée par canulation/perfusion de l'intestin chez les souris Ob/Ob (*résultats non présentés*) ne suggérait pas d'induction significative de cette voie après SADI-S. En accord avec cette observation, le SADI-S conduisait à une diminution de l'expression génique des acteurs impliqués dans le TICE (le LDLR, ABCG5/G8 (283) et ABCB1A/1B (244)). En revanche, de manière intéressante, le SADI-S induisait une forte diminution de l'expression

génique de NPC1L1 qui prédominait dans l'anse biliaire. Cette dernière observation suggère un effet direct du SADI-S sur l'absorption intestinale du cholestérol alimentaire et sur la réabsorption du cholestérol luminal issu de la voie hépatobiliaire et du TICE. Enfin, la composition des acides biliaires discutés plus haut, plus hydrophiles, pourraient également contribuer à réduire l'absorption du cholestérol luminal (293).

Il est intéressant de noter que les mécanismes mis en jeu par le SADI-S semblent donc différents de ceux que nous avons observés sur le modèle de RYGB. En particulier, la diminution de l'expression génique du LDLR après SADI-S suggère que celui-ci pourrait ne pas jouer un rôle clé dans les effets de cette chirurgie contrairement à nos observations précédentes sur le RYGB ([article n°1](#)), réserve faite de modèles murins différents (DIO versus Ob/Ob).

Enfin, pour aller plus loin, nous avons étudié les conséquences de cet effet hypocholestérolémiant sur la prévention de la formation de la plaque d'athérome sur un modèle de souris LDLR^{-/-} soumises à un régime enrichi en cholestérol ([article n°4](#)) (311). Nos résultats préliminaires suggèrent que sur ce modèle, chez les souris mâles, la prévention de l'hyperlipidémie induite par le régime western diet est associée à une réduction d'environ 30% de la surface lésionnelle, ce qui renforce la relevance clinique des effets que nous avons observé après SADI-S. Dans cette étude, nous avons choisi d'introduire le régime western diet 6 semaines après la chirurgie pour s'affranchir des effets potentiels de la perte de poids rapide et de la restriction alimentaire initiale induites par le SADI-S dans ce modèle. De façon intéressante, ces résultats préliminaires suggèrent une absence d'effet chez les souris LDLR^{-/-} femelles. Il pourrait résulter d'une amplitude d'effet moindre du SADI-S sur l'hyperlipidémie induite par le régime western diet chez les femelles. Dans notre étude, le régime western diet

conduisait à une hypercholestérolémie et une hypertriglycéridémie moindre chez les femelles que chez les mâles, ce qui pourrait expliquer cette atténuation de l'effet du SADI-S. Les données de la littérature sont contradictoires concernant l'impact du sexe sur les effets d'un régime hyperlipidique chez des souris LDLR^{-/-}, certains auteurs suggérant une hyperlipidémie moins sévère chez les femelles (340) ou bien au contraire plus importante (342). De la même manière, certaines études suggèrent que les souris femelles LDLR^{-/-} sont plus susceptibles de développer de l'athérosclérose que les mâles (342,343) avec une tendance à développer des lésions de plus grande taille pour des mêmes concentrations de lipides plasmatiques (340), alors que d'autres suggèrent au contraire un rôle protecteur du sexe féminin (344,345). Ces résultats sont dépendant du type de régime utilisé, du temps passé sous régime et de la région de l'aorte qui est analysée. Cependant, le dimorphisme sexuel que nous semblons observer mérite d'être confirmé sur un effectif plus large.

Conclusion

Au total, ce projet s'inscrit dans la volonté d'une meilleure compréhension des mécanismes qui sous-tendent les effets métaboliques des chirurgies bariatriques. Nous avons mis en évidence que le LDLR intestinal, acteur central du métabolisme du cholestérol, est impliqué dans les effets hypocholestérolémiants du RYGB. Par ailleurs, nous avons également mis au point le premier modèle de SADI-S, chirurgie récente associée à une perte de poids et des effets métaboliques forts, chez la souris. Ce modèle nous a permis de mieux comprendre les mécanismes mis en jeu, et par l'utilisation d'un modèle de souris déficientes pour le LDLR, de montrer que son impact sur le métabolisme lipidique semblait limiter le développement de la plaque d'athérome chez les souris mâles. Ce modèle, valide et reproductible, pourra permettre à l'avenir la réalisation d'autres études comparatives avec le RYGB afin de mieux comprendre les modes d'actions de chaque chirurgie. Bien qu'il soit reconnu par les sociétés savantes pour ses effets bénéfiques à court et moyen termes, sa comparaison avec le RYGB chez l'homme, au-delà de notre modèle animal, au sein du PHRC national (Pr Maud Robert, Lyon) en cours apportera des éléments clés sur ses conséquences et sa sécurité à plus long terme (200).

A court terme, ces études pourraient permettre de mieux adapter les indications chirurgicales au profil métabolique des patients. A l'avenir, l'identification de ces mécanismes moléculaires pourraient également permettre la mise au point de traitements qui miment les effets importants des chirurgies bariatriques sur le métabolisme du cholestérol.

References

1. Prospective Studies Collaboration; Whitlock G, Lewington S, Sherliker P, Clarke R, Emberson J, Halsey J, Qizilbash N, Collins R, Peto R. Body-mass index and cause-specific mortality in 900 000 adults: collaborative analyses of 57 prospective studies. *Lancet*. 2009;373(9669):1083-96.
2. Blüher M. Obesity: global epidemiology and pathogenesis. *Nat Rev Endocrinol*. 2019;15(5):288-298.
3. Wilding JPH, Batterham RL, Calanna S, Davies M, Van Gaal LF, Lingvay I, McGowan BM, Rosenstock J, Tran MTD, Wadden TA, Wharton S, Yokote K, Zeuthen N, Kushner RF; STEP 1 Study Group. Once-Weekly Semaglutide in Adults with Overweight or Obesity. *N Engl J Med*. 2021;384(11):989-1002.
4. Rubino DM, Greenway FL, Khalid U, O'Neil PM, Rosenstock J, Sørrig R, Wadden TA, Wizert A, Garvey WT; STEP 8 Investigators. Effect of Weekly Subcutaneous Semaglutide vs Daily Liraglutide on Body Weight in Adults With Overweight or Obesity Without Diabetes: The STEP 8 Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2022;327(2):138-150.
5. Jastreboff AM, Aronne LJ, Ahmad NN, Wharton S, Connery L, Alves B, Kiyosue A, Zhang S, Liu B, Bunck MC, Stefanski A; SURMOUNT-1 Investigators. Tirzepatide Once Weekly for the Treatment of Obesity. *N Engl J Med*. 2022;387(3):205-216.
6. Direction de la recherche, des études, de l'évaluation et des statistiques. Oberlin P, Peretti C. Chirurgie de l'obésité : 20 fois plus d'interventions depuis 1997. 2018. ISSN papier 1292-6876 • ISSN électronique 1146-9129.
7. Buchwald H, Buchwald JN. Metabolic (Bariatric and Nonbariatric) Surgery for Type 2 Diabetes: A Personal Perspective Review. *Diabetes Care*. 2019;42(2):331-340.
8. Barron J, Frame B, Bozalis JR. A shunt operation for obesity. *Dis Colon Rectum*. 1969;12(2):115-9.
9. LEWIS LA, TURNBULL RB Jr, PAGE IH. « Short-circuiting » of the small intestine. Effect on concentration of serum cholesterol and lipoproteins. *JAMA*. 1962;182:77-9.
10. Payne JH, Dewind LT, Commons RR. Metabolic observations in patients with jejuno-colic shunts. *Am J Surg*. 1963;106:273-89.
11. Payne JH, DeWind LT. Surgical treatment of obesity. *Am J Surg*. 1969;118(2):141-7.

12. Buchwald H, Varco RL. A bypass operation for obese hyperlipidemic patients. *Surgery*. 1971;70(1):62-70.
13. Mason EE, Ito C. Gastric bypass. *Ann Surg*. 1969;170(3):329-39.
14. Griffen WO Jr, Young VL, Stevenson CC. A prospective comparison of gastric and jejunoileal bypass procedures for morbid obesity. *Ann Surg*. 1977;186(4):500-9.
15. Rutledge R. The mini-gastric bypass: experience with the first 1,274 cases. *Obes Surg*. 2001;11(3):276-80.
16. Robert M, Espalieu P, Pelascini E, Caiazzo R, Sterkers A, Khamphommala L, Poghosyan T, Chevallier JM, Malherbe V, Chouillard E, Reche F, Torcivia A, Maucort-Boulch D, Bin-Dorel S, Langlois-Jacques C, Delaunay D, Pattou F, Disse E. Efficacy and safety of one anastomosis gastric bypass versus Roux-en-Y gastric bypass for obesity (YOMEGA): a multicentre, randomised, open-label, non-inferiority trial. *Lancet*. 2019;393(10178):1299-1309.
17. Scopinaro N, Gianetta E, Civalleri D, Bonalumi U, Bachi V. Bilio-pancreatic bypass for obesity: 1. An experimental study in dogs. *Br J Surg*. 1979;66(9):613-7.
18. Scopinaro N, Gianetta E, Civalleri D, Bonalumi U, Bachi V. Bilio-pancreatic bypass for obesity: II. Initial experience in man. *Br J Surg*. 1979;66(9):618-20.
19. DeMeester TR, Fuchs KH, Ball CS, Albertucci M, Smyrk TC, Marcus JN. Experimental and clinical results with proximal end-to-end duodenojejunostomy for pathologic duodenogastric reflux. *Ann Surg*. 1987;206(4):414-26.
20. Hess DS, Hess DW. Biliopancreatic diversion with a duodenal switch. *Obes Surg*. 1998;8(3):267-82.
21. Marceau P, Hould FS, Simard S, Lebel S, Bourque RA, Potvin M, Biron S. Biliopancreatic diversion with duodenal switch. *World J Surg*. 1998;22(9):947-54.
22. Buchwald's Atlas of Metabolic & Bariatric Surgical Techniques and Procedures. Elsevier, New York, 2012.
23. Buchwald H, Buchwald JN. Evolution of operative procedures for the management of morbid obesity 1950-2000. *Obes Surg*. 2002;12(5):705-17.

24. Blanchard C, Moreau F, Chevalier J, Ayer A, Garcon D, Arnaud L, Pais de Barros JP, Gautier T, Neunlist M, Cariou B, Le May C. Sleeve Gastrectomy Alters Intestinal Permeability in Diet-Induced Obese Mice. *Obes Surg*. 2017;27(10):2590-2598.
25. Printen KJ, Mason EE. Gastric surgery for relief of morbid obesity. *Arch Surg*. 1973;106(4):428-31.
26. Mason EE. Vertical banded gastroplasty for obesity. *Arch Surg*. 1982;117(5):701-6.
27. Kuzmak LI. A Review of Seven Years' Experience with Silicone Gastric Banding. *Obes Surg*. 1991;1(4):403-408.
28. Belachew M, Zimmermann JM. Evolution of a paradigm for laparoscopic adjustable gastric banding. *Am J Surg*. 2002;184(6B):21S-25S.
29. Regan JP, Inabnet WB, Gagner M, Pomp A. Early experience with two-stage laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass as an alternative in the super-super obese patient. *Obes Surg*. 2003;13(6):861-4.
30. Gagner M, Deitel M, Kalberer TL, Erickson AL, Crosby RD. The Second International Consensus Summit for Sleeve Gastrectomy, March 19-21, 2009. *Surg Obes Relat Dis*. 2009;5(4):476-85.
31. Oh TJ, Ahn CH, Cho YM. Contribution of the distal small intestine to metabolic improvement after bariatric/metabolic surgery: Lessons from ileal transposition surgery. *J Diabetes Investig*. 2016;7 Suppl 1(Suppl 1):94-101.
32. Santoro S, Castro LC, Velhote MC, Malzoni CE, Klajner S, Castro LP, Lacombe A, Santo MA. Sleeve gastrectomy with transit bipartition: a potent intervention for metabolic syndrome and obesity. *Ann Surg*. 2012;256(1):104-10.
33. Sánchez-Pernaute A, Rubio Herrera MA, Pérez-Aguirre E, García Pérez JC, Cabrerizo L, Díez Valladares L, Fernández C, Talavera P, Torres A. Proximal duodenal-ileal end-to-side bypass with sleeve gastrectomy: proposed technique. *Obes Surg*. 2007;17(12):1614-8.
34. Carrano FM, Peev MP, Saunders JK, Melis M, Tognoni V, Di Lorenzo N. The Role of Minimally Invasive and Endoscopic Technologies in Morbid Obesity Treatment: Review and Critical Appraisal of the Current Clinical Practice. *Obes Surg*. 2020;30(2):736-752.
35. Sjöström L, Peltonen M, Jacobson P, Sjöström CD, Karason K, Wedel H, Ahlin S, Anveden Å, Bengtsson C, Bergmark G, Bouchard C, Carlsson B, Dahlgren S, Karlsson J, Lindroos AK, Lönroth H,

- Narbro K, Näslund I, Olbers T, Svensson PA, Carlsson LM. Bariatric surgery and long-term cardiovascular events. *JAMA*. 2012;307(1):56-65. d
36. Shibata HR, MacKenzie JR, Long RC. Metabolic effects of controlled jejunoileal bypass. *Arch Surg*. 1967;95(3):413-28.
37. Eisenberg D, Shikora SA, Aarts E, Aminian A, Angrisani L, Cohen RV, De Luca M, Faria SL, Goodpaster KPS, Haddad A, Himpens JM, Kow L, Kurian M, Loi K, Mahawar K, Nimeri A, O’Kane M, Papasavas PK, Ponce J, Pratt JSA, Rogers AM, Steele KE, Suter M, Kothari SN. 2022 American Society for Metabolic and Bariatric Surgery (ASMBS) and International Federation for the Surgery of Obesity and Metabolic Disorders (IFSO): Indications for Metabolic and Bariatric Surgery. *Surg Obes Relat Dis*. 2022;18(12):1345-1356.
38. Buchwald H, Varco RL: Editors, *Metabolic Surgery*; Grune and Stratton, Publ, New York; 1978.
39. Buchwald H. The evolution of metabolic/bariatric surgery. *Obes Surg*. 2014;24(8):1126-35.
40. Buchwald H, Avidor Y, Braunwald E, Jensen MD, Pories W, Fahrbach K, Schoelles K. Bariatric surgery: a systematic review and meta-analysis. *JAMA*. 2004;292(14):1724-37.
41. Rubino F, Kaplan LM, Schauer PR, Cummings DE; Diabetes Surgery Summit Delegates. The Diabetes Surgery Summit consensus conference: recommendations for the evaluation and use of gastrointestinal surgery to treat type 2 diabetes mellitus. *Ann Surg*. 2010;251(3):399-405.
42. Rubino F, Nathan DM, Eckel RH, Schauer PR, Alberti KG, Zimmet PZ, Del Prato S, Ji L, Sadikot SM, Herman WH, Amiel SA, Kaplan LM, Taroncher-Oldenburg G, Cummings DE; Delegates of the 2nd Diabetes Surgery Summit. Metabolic Surgery in the Treatment Algorithm for Type 2 Diabetes: a Joint Statement by International Diabetes Organizations. *Obes Surg*. 2017;27(1):2-21.
43. Basso N, Capoccia D, Rizzello M, Abbatini F, Mariani P, Maglio C, Coccia F, Borgonuovo G, De Luca ML, Asprino R, Alessandri G, Casella G, Leonetti F. First-phase insulin secretion, insulin sensitivity, ghrelin, GLP-1, and PYY changes 72 h after sleeve gastrectomy in obese diabetic patients: the gastric hypothesis. *Surg Endosc*. 2011;25(11):3540-50.
44. Salminen P, Helmiö M, Ovaska J, Juuti A, Leivonen M, Peromaa-Haavisto P, Hurme S, Soinio M, Nuutila P, Victorzon M. Effect of Laparoscopic Sleeve Gastrectomy vs Laparoscopic Roux-en-Y Gastric Bypass on Weight Loss at 5 Years Among Patients With Morbid Obesity: The SLEEVEPASS Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2018;319(3):241-254.

45. Peterli R, Wölnerhanssen BK, Peters T, Vetter D, Kröll D, Borbély Y, Schultes B, Beglinger C, Drewe J, Schiesser M, Nett P, Bueter M. Effect of Laparoscopic Sleeve Gastrectomy vs Laparoscopic Roux-en-Y Gastric Bypass on Weight Loss in Patients With Morbid Obesity: The SM-BOSS Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2018;319(3):255-265.
46. O'Brien PE, Hindle A, Brennan L, Skinner S, Burton P, Smith A, Crosthwaite G, Brown W. Long-Term Outcomes After Bariatric Surgery: a Systematic Review and Meta-analysis of Weight Loss at 10 or More Years for All Bariatric Procedures and a Single-Centre Review of 20-Year Outcomes After Adjustable Gastric Banding. *Obes Surg*. 2019;29(1):3-14.
47. Yeung KTD, Penney N, Ashrafian L, Darzi A, Ashrafian H. Does Sleeve Gastrectomy Expose the Distal Esophagus to Severe Reflux?: A Systematic Review and Meta-analysis. *Ann Surg*. 2020;271(2):257-265.
48. De Montrichard M, Greilsamer T, Jacobi D, Bruley des Varannes S, Mirallié E, Blanchard C. Predictive value of preoperative DeMeester score on conversion to Roux-en-Y gastric bypass for gastroesophageal reflux disease after sleeve gastrectomy. *Surg Obes Relat Dis*. 2020;16(9):1219-1224.
49. Wittgrove AC, Clark GW, Tremblay LJ. Laparoscopic Gastric Bypass, Roux-en-Y: Preliminary Report of Five Cases. *Obes Surg*. 1994;4(4):353-357.
50. Torres JC, Oca CF, Garrison RN. Gastric bypass: Roux-en-Y gastrojejunostomy from the lesser curvature. *South Med J*. 1983;76(10):1217-21.
51. Brolin RE, Kenler HA, Gorman JH, Cody RP. Long-limb gastric bypass in the superobese. A prospective randomized study. *Ann Surg*. 1992;215(4):387-95.
52. Rausa E, Bonavina L, Asti E, Gaeta M, Ricci C. Rate of Death and Complications in Laparoscopic and Open Roux-en-Y Gastric Bypass. A Meta-analysis and Meta-regression Analysis on 69,494 Patients. *Obes Surg*. 2016;26(8):1956-63.
53. Sethi M, Chau E, Youn A, Jiang Y, Fielding G, Ren-Fielding C. Long-term outcomes after biliopancreatic diversion with and without duodenal switch: 2-, 5-, and 10-year data. *Surg Obes Relat Dis*. 2016;12(9):1697-1705.

54. Gianetta E, Friedman D, Adami GF, Vitale B, Traverso E, Castagnola M, Semino G, Scopinaro N. Etiological factors of protein malnutrition after biliopancreatic diversion. *Gastroenterol Clin North Am.* 1987;16(3):503-4.
55. Angrisani L, Santonicola A, Iovino P, Formisano G, Buchwald H, Scopinaro N. Bariatric Surgery Worldwide 2013. *Obes Surg.* 2015;25(10):1822-32.
56. Zhou X, Yu J, Li L, Gloy VL, Nordmann A, Tiboni M, Li Y, Sun X. Effects of Bariatric Surgery on Mortality, Cardiovascular Events, and Cancer Outcomes in Obese Patients: Systematic Review and Meta-analysis. *Obes Surg.* 2016;26(11):2590-2601.
57. Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes.* 1988;37(12):1595-607.
58. Kahn SE, Hull RL, Utzschneider KM. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature.* 2006;444(7121):840-6.
59. Pories WJ, Caro JF, Flickinger EG, Meelheim HD, Swanson MS. The control of diabetes mellitus (NIDDM) in the morbidly obese with the Greenville Gastric Bypass. *Ann Surg.* 1987;206(3):316-23.
60. Pories WJ, MacDonald KG Jr, Flickinger EG, Dohm GL, Sinha MK, Barakat HA, May HJ, Khazanie P, Swanson MS, Morgan E, et al. Is type II diabetes mellitus (NIDDM) a surgical disease? *Ann Surg.* 1992;215(6):633-42; discussion 643.
61. Pories WJ, Swanson MS, MacDonald KG, Long SB, Morris PG, Brown BM, Barakat HA, deRamon RA, Israel G, Dolezal JM, 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(3):339-50; discussion 350-2.
62. Scopinaro N, Adami GF, Marinari GM, Gianetta E, Traverso E, Friedman D, Camerini G, Baschieri G, Simonelli A. Biliopancreatic diversion. *World J Surg.* 1998;22(9):936-46.
63. Courcoulas AP, Gallagher JW, Neiberg RH, Eagleton EB, DeLany JP, Lang W, Puncchai S, Gourash W, Jakicic JM. Bariatric Surgery vs Lifestyle Intervention for Diabetes Treatment: 5-Year Outcomes From a Randomized Trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 2020;105(3):866–76.
64. Cummings DE, Arterburn DE, Westbrook EO, Kuzma JN, Stewart SD, Chan CP, Bock SN, Landers JT, Kratz M, Foster-Schubert KE, Flum DR. Gastric bypass surgery vs intensive lifestyle and medical

- intervention for type 2 diabetes: the CROSSROADS randomised controlled trial. *Diabetologia*. 2016;59(5):945-53.
65. Halperin F, Ding SA, Simonson DC, Panosian J, Goebel-Fabbri A, Wewalka M, Hamdy O, Abrahamson M, Clancy K, Foster K, Lautz D, Vernon A, Goldfine AB. Roux-en-Y gastric bypass surgery or lifestyle with intensive medical management in patients with type 2 diabetes: feasibility and 1-year results of a randomized clinical trial. *JAMA Surg*. 2014 Jul;149(7):716-26.
66. Ikramuddin S, Billington CJ, Lee WJ, Bantle JP, Thomas AJ, Connett JE, Leslie DB, Inabnet WB 3rd, Jeffery RW, Chong K, Chuang LM, Sarr MG, Jensen MD, Vella A, Ahmed L, Belani K, Schone JL, Olofson AE, Bainbridge HA, Laqua PS, Wang Q, Korner J. Roux-en-Y gastric bypass for diabetes (the Diabetes Surgery Study): 2-year outcomes of a 5-year, randomised, controlled trial. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2015;3(6):413-422.
67. Schauer PR, Kashyap SR, Wolski K, Brethauer SA, Kirwan JP, Pothier CE, Thomas S, Abood B, Nissen SE, Bhatt DL. Bariatric surgery versus intensive medical therapy in obese patients with diabetes. *N Engl J Med*. 2012;366(17):1567-76.
68. Mingrone G, Panunzi S, De Gaetano A, Guidone C, Iaiconelli A, Leccesi L, Nanni G, Pomp A, Castagneto M, Ghirlanda G, Rubino F. Bariatric surgery versus conventional medical therapy for type 2 diabetes. *N Engl J Med*. 2012;366(17):1577-85.
69. Arterburn DE, Bogart A, Sherwood NE, Sidney S, Coleman KJ, Haneuse S, O'Connor PJ, Theis MK, Campos GM, McCulloch D, Selby J. A multisite study of long-term remission and relapse of type 2 diabetes mellitus following gastric bypass. *Obes Surg*. 2013;23(1):93-102.
70. Buchwald H, Estok R, Fahrbach K, Banel D, Jensen MD, Pories WJ, Bantle JP, Sledge I. Weight and type 2 diabetes after bariatric surgery: systematic review and meta-analysis. *Am J Med*. 2009;122(3):248-256.e5.
71. Bradley D, Conte C, Mittendorfer B, Eagon JC, Varela JE, Fabbrini E, Gastaldelli A, Chambers KT, Su X, Okunade A, Patterson BW, Klein S. Gastric bypass and banding equally improve insulin sensitivity and β cell function. *J Clin Invest*. 2012;122(12):4667-74.
72. Isbell JM, Tamboli RA, Hansen EN, Saliba J, Dunn JP, Phillips SE, Marks-Shulman PA, Abumrad NN. The importance of caloric restriction in the early improvements in insulin sensitivity after Roux-en-Y gastric bypass surgery. *Diabetes Care*. 2010;33(7):1438-42.

73. Falkén Y, Hellström PM, Holst JJ, Näslund E. Changes in glucose homeostasis after Roux-en-Y gastric bypass surgery for obesity at day three, two months, and one year after surgery: role of gut peptides. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(7):2227-35.
74. Rubino F, Forgione A, Cummings DE, Vix M, Gnuli D, Mingrone G, Castagneto M, Marescaux J. The mechanism of diabetes control after gastrointestinal bypass surgery reveals a role of the proximal small intestine in the pathophysiology of type 2 diabetes. *Ann Surg.* 2006;244(5):741-9.
75. Baud G, Daoudi M, Hubert T, Raverdy V, Pigeyre M, Hervieux E, Devienne M, Ghunaim M, Bonner C, Quenon A, Pigny P, Klein A, Kerr-Conte J, Gmyr V, Caiazzo R, Pattou F. Bile Diversion in Roux-en-Y Gastric Bypass Modulates Sodium-Dependent Glucose Intestinal Uptake. *Cell Metab.* 2016;23(3):547-53.
76. Saeidi N, Meoli L, Nestoridi E, Gupta NK, Kvas S, Kucharczyk J, Bonab AA, Fischman AJ, Yarmush ML, Stylopoulos N. Reprogramming of intestinal glucose metabolism and glycemic control in rats after gastric bypass. *Science.* 2013;341(6144):406-10.
77. Cavin JB, Bado A, Le Gall M. Intestinal Adaptations after Bariatric Surgery: Consequences on Glucose Homeostasis. *Trends Endocrinol Metab.* 2017;28(5):354-364.
78. Cavin JB, Couvelard A, Lebtahi R, Ducroc R, Arapis K, Voitellier E, Cluzeaud F, Gillard L, Hourseau M, Mikail N, Ribeiro-Parenti L, Kapel N, Marmuse JP, Bado A, Le Gall M. Differences in Alimentary Glucose Absorption and Intestinal Disposal of Blood Glucose After Roux-en-Y Gastric Bypass vs Sleeve Gastrectomy. *Gastroenterology.* 2016;150(2):454-64.e9.
79. Kwon IG, Kang CW, Park JP, Oh JH, Wang EK, Kim TY, Sung JS, Park N, Lee YJ, Sung HJ, Lee EJ, Hyung WJ, Shin SJ, Noh SH, Yun M, Kang WJ, Cho A, Ku CR. Serum glucose excretion after Roux-en-Y gastric bypass: a potential target for diabetes treatment. *Gut.* 2021;70(10):1847-1856.
80. Affinati AH, Esfandiari NH, Oral EA, Kraftson AT. Bariatric Surgery in the Treatment of Type 2 Diabetes. *Curr Diab Rep.* 2019;19(12):156.
81. Piché ME, Tardif I, Auclair A, Poirier P. Effects of bariatric surgery on lipid-lipoprotein profile. *Metabolism.* 2021;115:154441.
82. Borén J, Watts GF, Adiels M, Söderlund S, Chan DC, Hakkarainen A, Lundbom N, Matikainen N, Kahri J, Vergès B, Barrett PH, Taskinen MR. Kinetic and Related Determinants of Plasma Triglyceride

- Concentration in Abdominal Obesity: Multicenter Tracer Kinetic Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2015;35(10):2218-24.
83. Taskinen MR, Adiels M, Westerbacka J, Söderlund S, Kahri J, Lundbom N, Lundbom J, Hakkarainen A, Olofsson SO, Orho-Melander M, Borén J. Dual metabolic defects are required to produce hypertriglyceridemia in obese subjects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011;31(9):2144-50.
84. Boden G. Obesity, insulin resistance and free fatty acids. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2011;18(2):139-43.
85. Karpe F, Dickmann JR, Frayn KN. Fatty acids, obesity, and insulin resistance: time for a reevaluation. *Diabetes.* 2011;60(10):2441-9.
86. Björnson E, Adiels M, Taskinen MR, Borén J. Kinetics of plasma triglycerides in abdominal obesity. *Curr Opin Lipidol.* 2017;28(1):11-18.
87. McQuaid SE, Hodson L, Neville MJ, Dennis AL, Cheeseman J, Humphreys SM, Ruge T, Gilbert M, Fielding BA, Frayn KN, Karpe F. Downregulation of adipose tissue fatty acid trafficking in obesity: a driver for ectopic fat deposition? *Diabetes.* 2011;60(1):47-55.
88. Kotsis V, Jordan J, Micic D, Finer N, Leitner DR, Toplak H, Tokgozoglul L, Athyros V, Elisaf M, Filippatos TD, Redon J, Redon P, Antza C, Tsioufisk K, Grassi G, Seravalle G, Coca A, Sierra C, Lurbe E, Stabouli S, Jelakovic B, Nilsson PM. Obesity and cardiovascular risk: a call for action from the European Society of Hypertension Working Group of Obesity, Diabetes and the High-risk Patient and European Association for the Study of Obesity: part A: mechanisms of obesity induced hypertension, diabetes and dyslipidemia and practice guidelines for treatment. *J Hypertens.* 2018;36(7):1427-1440.
89. Clemente-Postigo M, Queipo-Ortuño MI, Fernandez-Garcia D, Gomez-Huelgas R, Tinahones FJ, Cardona F. Adipose tissue gene expression of factors related to lipid processing in obesity. *PLoS One.* 2011;6(9):e24783.
90. Bays HE, Toth PP, Kris-Etherton PM, Abate N, Aronne LJ, Brown WV, Gonzalez-Campoy JM, Jones SR, Kumar R, La Forge R, Samuel VT. Obesity, adiposity, and dyslipidemia: a consensus statement from the National Lipid Association. *J Clin Lipidol.* 2013;7(4):304-83.
91. Austin MA, King MC, Vranizan KM, Krauss RM. Atherogenic lipoprotein phenotype. A proposed genetic marker for coronary heart disease risk. *Circulation.* 1990;82(2):495-506.

92. Rashid S, Watanabe T, Sakaue T, Lewis GF. Mechanisms of HDL lowering in insulin resistant, hypertriglyceridemic states: the combined effect of HDL triglyceride enrichment and elevated hepatic lipase activity. *Clin Biochem*. 2003;36(6):421-9.
93. Asztalos BF, Swarbrick MM, Schaefer EJ, Dallal GE, Horvath KV, Ai M, Stanhope KL, Austrheim-Smith I, Wolfe BM, Ali M, Havel PJ. Effects of weight loss, induced by gastric bypass surgery, on HDL remodeling in obese women. *J Lipid Res*. 2010;51(8):2405-12.
94. Regnström J, Nilsson J, Tornvall P, Landou C, Hamsten A. Susceptibility to low-density lipoprotein oxidation and coronary atherosclerosis in man. *Lancet*. 1992;339(8803):1183-6.
95. Bogers RP, Bemelmans WJ, Hoogenveen RT, Boshuizen HC, Woodward M, Knekt P, van Dam RM, Hu FB, Visscher TL, Menotti A, Thorpe RJ Jr, Jamrozik K, Calling S, Strand BH, Shipley MJ; BMI-CHD Collaboration Investigators. Association of overweight with increased risk of coronary heart disease partly independent of blood pressure and cholesterol levels: a meta-analysis of 21 cohort studies including more than 300 000 persons. *Arch Intern Med*. 2007;167(16):1720-8.
96. Buchwald H. Lowering of cholesterol absorption and blood levels by ileal exclusion. Experimental basis and preliminary clinical report. *Circulation*. 1964;29:713-20.
97. Buchwald H, Varco RL, Matts JP, Long JM, Fitch LL, Campbell GS, Pearce MB, Yellin AE, Edmiston WA, Smink RD Jr, et al. Effect of partial ileal bypass surgery on mortality and morbidity from coronary heart disease in patients with hypercholesterolemia. Report of the Program on the Surgical Control of the Hyperlipidemias (POSCH). *N Engl J Med*. 1990;323(14):946-55.
98. Sjöström CD, Lissner L, Wedel H, Sjöström L. Reduction in incidence of diabetes, hypertension and lipid disturbances after intentional weight loss induced by bariatric surgery: the SOS Intervention Study. *Obes Res*. 1999;7(5):477-84.
99. Sjöström L, Lindroos AK, Peltonen M, Torgerson J, Bouchard C, Carlsson B, Dahlgren S, Larsson B, Narbro K, Sjöström CD, Sullivan M, Wedel H; Swedish Obese Subjects Study Scientific Group. Lifestyle, diabetes, and cardiovascular risk factors 10 years after bariatric surgery. *N Engl J Med*. 2004;351(26):2683-93.
100. Chang SH, Stoll CR, Song J, Varela JE, Eagon CJ, Colditz GA. The effectiveness and risks of bariatric surgery: an updated systematic review and meta-analysis, 2003-2012. *JAMA Surg*. 2014;149(3):275-87.

101. Ricci C, Gaeta M, Rausa E, Asti E, Bandera F, Bonavina L. Long-term effects of bariatric surgery on type II diabetes, hypertension and hyperlipidemia: a meta-analysis and meta-regression study with 5-year follow-up. *Obes Surg*. 2015;25(3):397-405.
102. Ikramuddin S, Korner J, Lee WJ, Connett JE, Inabnet WB, Billington CJ, Thomas AJ, Leslie DB, Chong K, Jeffery RW, Ahmed L, Vella A, Chuang LM, Bessler M, Sarr MG, Swain JM, Laqua P, Jensen MD, Bantle JP. Roux-en-Y gastric bypass vs intensive medical management for the control of type 2 diabetes, hypertension, and hyperlipidemia: the Diabetes Surgery Study randomized clinical trial. *JAMA*. 2013;309(21):2240-9.
103. Liang Z, Wu Q, Chen B, Yu P, Zhao H, Ouyang X. Effect of laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass surgery on type 2 diabetes mellitus with hypertension: a randomized controlled trial. *Diabetes Res Clin Pract*. 2013;101(1):50-6.
104. Heffron SP, Parikh A, Volodarskiy A, Ren-Fielding C, Schwartzbard A, Nicholson J, Bangalore S. Changes in Lipid Profile of Obese Patients Following Contemporary Bariatric Surgery: A Meta-Analysis. *Am J Med*. 2016;129(9):952-9.
105. Hasan B, Nayfeh T, Alzuabi M, Wang Z, Kuchkuntla AR, Prokop LJ, Newman CB, Murad MH, Rajjo TI. Weight Loss and Serum Lipids in Overweight and Obese Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2020;105(12):dgaa673.
106. Kronenberg F, Kronenberg MF, Kiechl S, Trenkwalder E, Santer P, Oberhollenzer F, Egger G, Utermann G, Willeit J. Role of lipoprotein(a) and apolipoprotein(a) phenotype in atherogenesis: prospective results from the Bruneck study. *Circulation*. 1999;100(11):1154-60.
107. Ram E, Vishne T, Magazanik A, Harel G, Zaidman A, Ohana G, Rabinovich Y, Dreznik Z. Changes in blood lipid levels following silastic ring vertical gastroplasty. *Obes Surg*. 2007;17(10):1292-6.
108. Lin BX, Weiss MC, Parikh M, Berger JS, Fisher EA, Heffron SP. Changes in lipoprotein(a) following bariatric surgery. *Am Heart J*. 2018;197:175-176.
109. Berk KA, Borgeraas H, Narverud I, Mulder MT, Øyri LKL, Verhoeven AJM, Småstuen MC, Bogsrud MP, Omland T, Hertel JK, Gjevestad E, Nordstrand N, Holven KB, Hjelmæsæth J. Differential effects of bariatric surgery and lifestyle interventions on plasma levels of Lp(a) and fatty acids. *Lipids Health Dis*. 2022;21(1):145.

110. Jamialahmadi T, Reiner Ž, Alidadi M, Kroh M, Almahmeed W, Ruscica M, Sirtori C, Rizzo M, Santos RD, Sahebkar A. The Effect of Bariatric Surgery on Circulating Levels of Lipoprotein (a): A Meta-analysis. *Biomed Res Int.* 2022;2022:8435133.
111. Lupoli R, Di Minno MN, Guidone C, Cefalo C, Capaldo B, Riccardi G, Mingrone G. Effects of bariatric surgery on markers of subclinical atherosclerosis and endothelial function: a meta-analysis of literature studies. *Int J Obes (Lond).* 2016;40(3):395-402.
112. Sarmiento PL, Plavnik FL, Zanella MT, Pinto PE, Miranda RB, Ajzen SA. Association of carotid intima-media thickness and cardiovascular risk factors in women pre- and post-bariatric surgery. *Obes Surg.* 2009;19(3):339-44.
113. Habib P, Scrocco JD, Terek M, Vanek V, Mikolich JR. Effects of bariatric surgery on inflammatory, functional and structural markers of coronary atherosclerosis. *Am J Cardiol.* 2009;104(9):1251-5.
114. Frey S, Jacobi D, Pichelin M, Cariou B, Mirallié E, Blanchard C. Improvement in arterial stiffness (pOpmètre®) after bariatric surgery. Results from a prospective study. *Ann Endocrinol (Paris).* 2020;81(1):44-50.
115. Brethauer SA, Heneghan HM, Eldar S, Gatmaitan P, Huang H, Kashyap S, Gornik HL, Kirwan JP, Schauer PR. Early effects of gastric bypass on endothelial function, inflammation, and cardiovascular risk in obese patients. *Surg Endosc.* 2011;25(8):2650-9.
116. Lind L, Zethelius B, Sundbom M, Edén Engström B, Karlsson FA. Vasoreactivity is rapidly improved in obese subjects after gastric bypass surgery. *Int J Obes (Lond).* 2009;33(12):1390-5.
117. Fisher DP, Johnson E, Haneuse S, Arterburn D, Coleman KJ, O'Connor PJ, O'Brien R, Bogart A, Theis MK, Anau J, Schroeder EB, Sidney S. Association Between Bariatric Surgery and Macrovascular Disease Outcomes in Patients With Type 2 Diabetes and Severe Obesity. *JAMA.* 2018;320(15):1570-1582.
118. Kwok CS, Pradhan A, Khan MA, Anderson SG, Keavney BD, Myint PK, Mamas MA, Loke YK. Bariatric surgery and its impact on cardiovascular disease and mortality: a systematic review and meta-analysis. *Int J Cardiol.* 2014;173(1):20-8.
119. Carlsson LMS, Sjöholm K, Jacobson P, Andersson-Assarsson JC, Svensson PA, Taube M, Carlsson B, Peltonen M. Life Expectancy after Bariatric Surgery in the Swedish Obese Subjects Study. *N Engl J Med.* 2020;383(16):1535-1543.

120. Syn NL, Cummings DE, Wang LZ, Lin DJ, Zhao JJ, Loh M, Koh ZJ, Chew CA, Loo YE, Tai BC, Kim G, So JB, Kaplan LM, Dixon JB, Shabbir A. Association of metabolic-bariatric surgery with long-term survival in adults with and without diabetes: a one-stage meta-analysis of matched cohort and prospective controlled studies with 174 772 participants. *Lancet*. 2021;397(10287):1830-1841.
121. European Association for the Study of the Liver (EASL); European Association for the Study of Diabetes (EASD); European Association for the Study of Obesity (EASO). EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. 2016;64(6):1388-402.
122. Cariou B, Byrne CD, Loomba R, Sanyal AJ. Nonalcoholic fatty liver disease as a metabolic disease in humans: A literature review. *Diabetes Obes Metab*. 2021;23(5):1069-1083.
123. Polyzos SA, Kountouras J, Mantzoros CS. Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: From pathophysiology to therapeutics. *Metabolism*. 2019;92:82-97.
124. Leung JC, Loong TC, Wei JL, Wong GL, Chan AW, Choi PC, Shu SS, Chim AM, Chan HL, Wong VW. Histological severity and clinical outcomes of nonalcoholic fatty liver disease in nonobese patients. *Hepatology*. 2017;65(1):54-64.
125. Mota M, Banini BA, Cazanave SC, Sanyal AJ. Molecular mechanisms of lipotoxicity and glucotoxicity in nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism*. 2016;65(8):1049-61.
126. Polyzos SA, Kountouras J, Mantzoros CS. Adipokines in nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism*. 2016 Aug;65(8):1062-79.
127. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, Ferrell LD, Liu YC, Torbenson MS, Unalp-Arida A, Yeh M, McCullough AJ, Sanyal AJ; Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2005;41(6):1313-21.
128. Hannah WN Jr, Harrison SA. Effect of Weight Loss, Diet, Exercise, and Bariatric Surgery on Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Clin Liver Dis*. 2016;20(2):339-50.
129. Taitano AA, Markow M, Finan JE, Wheeler DE, Gonzalvo JP, Murr MM. Bariatric surgery improves histological features of nonalcoholic fatty liver disease and liver fibrosis. *J Gastrointest Surg*. 2015;19(3):429-36; discussion 436-7.

130. Mathurin P, Hollebecque A, Arnalsteen L, Buob D, Leteurtre E, Caiazzo R, Pigeyre M, Verkindt H, Dharancy S, Louvet A, Romon M, Pattou F. Prospective study of the long-term effects of bariatric surgery on liver injury in patients without advanced disease. *Gastroenterology*. 2009;137(2):532-40.
131. Lassailly G, Caiazzo R, Ntandja-Wandji LC, Gnemmi V, Baud G, Verkindt H, Ningarahari M, Louvet A, Leteurtre E, Raverdy V, Dharancy S, Pattou F, Mathurin P. Bariatric Surgery Provides Long-term Resolution of Nonalcoholic Steatohepatitis and Regression of Fibrosis. *Gastroenterology*. 2020;159(4):1290-1301.e5.
132. Caiazzo R, Lassailly G, Leteurtre E, Baud G, Verkindt H, Raverdy V, Buob D, Pigeyre M, Mathurin P, Pattou F. Roux-en-Y gastric bypass versus adjustable gastric banding to reduce nonalcoholic fatty liver disease: a 5-year controlled longitudinal study. *Ann Surg*. 2014;260(5):893-8; discussion 898-9.
133. Lefere S, Onghena L, Vanlander A, van Nieuwenhove Y, Devisscher L, Geerts A. Bariatric surgery and the liver-Mechanisms, benefits, and risks. *Obes Rev*. 2021;22(9):e13294.
134. Kremen AJ, Linner JH, Nelson CH. An experimental evaluation of the nutritional importance of proximal and distal small intestine. *Ann Surg*. 1954;140(3):439-48.
135. Rao RS, Rao V, Kini S. Animal models in bariatric surgery--a review of the surgical techniques and postsurgical physiology. *Obes Surg*. 2010;20(9):1293-305.
136. Miller ER, Ullrey DE. The pig as a model for human nutrition. *Annu Rev Nutr*. 1987;7:361-82.
137. Birck MM, Vegge A, Støckel M, Gögenur I, Thymann T, Hammelev KP, Sangild PT, Hansen AK, Raun K, von Voss P, Eriksen T. Laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass in super obese Göttingen minipigs. *Am J Transl Res*. 2013;5(6):643-53.
138. Ashrafian H, Bueter M, Ahmed K, Suliman A, Bloom SR, Darzi A, Athanasiou T. Metabolic surgery: an evolution through bariatric animal models. *Obes Rev*. 2010;11(12):907-20.
139. Arble DM, Sandoval DA, Seeley RJ. Mechanisms underlying weight loss and metabolic improvements in rodent models of bariatric surgery. *Diabetologia*. 2015;58(2):211-20.
140. Young EA, Taylor MM, Taylor MK, McFee AS, Miller OL, Gleiser CA. Gastric stapling for morbid obesity: gastrointestinal response in a rat model. *Am J Clin Nutr*. 1984;40(2):293-302.

141. Nakano T, Inoue I, Takenaka Y, Ono H, Katayama S, Awata T, Murakoshi T. Ezetimibe Promotes Brush Border Membrane-to-Lumen Cholesterol Efflux in the Small Intestine. *PLoS One*. 2016;11(3):e0152207.
142. de Bona Castelan J, Bettiol J, d'Acampora AJ, Castelan JV, de Souza JC, Bressiani V, Giroldi SB. Sleeve gastrectomy model in Wistar rats. *Obes Surg*. 2007;17(7):957-61.
143. Lopez PP, Nicholson SE, Burkhardt GE, Johnson RA, Johnson FK. Development of a sleeve gastrectomy weight loss model in obese Zucker rats. *J Surg Res*. 2009;157(2):243-50.
144. Ryan KK, Tremaroli V, Clemmensen C, Kovatcheva-Datchary P, Myronovych A, Karns R, Wilson-Pérez HE, Sandoval DA, Kohli R, Bäckhed F, Seeley RJ. FXR is a molecular target for the effects of vertical sleeve gastrectomy. *Nature*. 2014;509(7499):183-8.
145. Mayer J, Bates MW, Dickie MM. Hereditary diabetes in genetically obese mice. *Science*. 1951;113(2948):746-7.
146. Collins S, Martin TL, Surwit RS, Robidoux J. Genetic vulnerability to diet-induced obesity in the C57BL/6J mouse: physiological and molecular characteristics. *Physiol Behav*. 2004;81(2):243-8.
147. Wei JH, Yeh CH, Lee WJ, Lin SJ, Huang PH. Sleeve Gastrectomy in Mice using Surgical Clips. *J Vis Exp*. 2020;(165).
148. Ayer A, Borel F, Moreau F, Prieur X, Neunlist M, Cariou B, Blanchard C, Le May C. Techniques of Sleeve Gastrectomy and Modified Roux-en-Y Gastric Bypass in Mice. *J Vis Exp*. 2017;(121):54905.
149. Frohman HA, Rychahou PG, Li J, Gan T, Evers BM. Development of murine bariatric surgery models: lessons learned. *J Surg Res*. 2018;229:302-310.
150. Bachmann R, Meile T, Lange J, Widmayer P, Königsrainer A, Küper MA. Surgical technique of a vertical sleeve gastrectomy in mice. *J Invest Surg*. 2013;26(5):261-5.
151. Yin DP, Gao Q, Ma LL, Yan W, Williams PE, McGuinness OP, Wasserman DH, Abumrad NN. Assessment of different bariatric surgeries in the treatment of obesity and insulin resistance in mice. *Ann Surg*. 2011;254(1):73-82.

152. Seyfried F, Lannoo M, Gsell W, Tremoleda JL, Bueter M, Olbers T, Jurowich C, Germer CT, le Roux CW. Roux-en-Y gastric bypass in mice--surgical technique and characterisation. *Obes Surg*. 2012;22(7):1117-25.
153. Hao Z, Zhao Z, Berthoud HR, 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(1):e52922.
154. Xu R, Zhu C, Pierre JF, Yin DP. Gastric Bypass Improves Obesity and Glucose Tolerance Independent of Gastric Pouch Size. *Obes Surg*. 2020;30(5):1635-1641.
155. Blanchard C, Moreau F, Ayer A, Toque L, Garçon D, Arnaud L, Borel F, Aguesse A, Croyal M, Krempf M, Prieur X, Neunlist M, Cariou B, Le May C. Roux-en-Y gastric bypass reduces plasma cholesterol in diet-induced obese mice by affecting trans-intestinal cholesterol excretion and intestinal cholesterol absorption. *Int J Obes (Lond)*. 2018;42(3):552-560.
156. Scopinaro N. Biliopancreatic diversion: mechanisms of action and long-term results. *Obes Surg*. 2006;16(6):683-9.
157. Lebel S, Dion G, Marceau S, Biron S, Robert M, Biertho L. Clinical outcomes of duodenal switch with a 200-cm common channel: a matched, controlled trial. *Surg Obes Relat Dis*. 2016;12(5):1014-1020.
158. Torres A, Rubio MA, Ramos-Leví AM, Sánchez-Pernaute A. Cardiovascular Risk Factors After Single Anastomosis Duodeno-Ileal Bypass with Sleeve Gastrectomy (SADI-S): a New Effective Therapeutic Approach? *Curr Atheroscler Rep*. 2017;19(12):58.
159. Surve A, Zaveri H, Cottam D, Belnap L, Cottam A, Cottam S. A retrospective comparison of biliopancreatic diversion with duodenal switch with single anastomosis duodenal switch (SIPS-stomach intestinal pylorus sparing surgery) at a single institution with two year follow-up. *Surg Obes Relat Dis*. 2017;13(3):415-422.
160. Sánchez-Pernaute A, Herrera MA, Pérez-Aguirre ME, Talavera P, Cabrerizo L, Matía P, Díez-Valladares L, Barabash A, Martín-Antona E, García-Botella A, Garcia-Almenta EM, Torres A. Single anastomosis duodeno-ileal bypass with sleeve gastrectomy (SADI-S). One to three-year follow-up. *Obes Surg*. 2010;20(12):1720-6.

161. Sánchez-Pernaute A, Rubio MÁ, Pérez Aguirre E, Barabash A, Cabrerizo L, Torres A. Single-anastomosis duodenoileal bypass with sleeve gastrectomy: metabolic improvement and weight loss in first 100 patients. *Surg Obes Relat Dis*. 2013;9(5):731-5.
162. Shoar S, Poliakin L, Rubenstein R, Saber AA. Single Anastomosis Duodeno-Ileal Switch (SADIS): A Systematic Review of Efficacy and Safety. *Obes Surg*. 2018;28(1):104-113.
163. Zaveri H, Surve A, Cottam D, Cottam A, Medlin W, Richards C, Belnap L, Cottam S, Horsley B. Mid-term 4-Year Outcomes with Single Anastomosis Duodenal-Ileal Bypass with Sleeve Gastrectomy Surgery at a Single US Center. *Obes Surg*. 2018;28(10):3062-3072.
164. Spinos D, Skarentzos K, Esagian SM, Seymour KA, Economopoulos KP. The Effectiveness of Single-Anastomosis Duodenoileal Bypass with Sleeve Gastrectomy/One Anastomosis Duodenal Switch (SADI-S/OADS): an Updated Systematic Review. *Obes Surg*. 2021;31(4):1790-1800.
165. Frey, S., Ayer, A., Sotin, T., Lorant, V., Cariou, B., Blanchard, C., May, C. L. Single-Anastomosis Duodeno-Ileal Bypass with Sleeve Gastrectomy Model in Mice. *J Vis Exp*. 2023;(192), e64610.
166. Yashkov Y, Bordan N, Torres A, Malykhina A, Bekuzarov D. SADI-S 250 vs Roux-en-Y Duodenal Switch (RY-DS): Results of 5-Year Observational Study. *Obes Surg*. 2021;31(2):570-579.
167. Moon RC, Gaskins L, Teixeira AF, Jawad MA. Safety and Effectiveness of Single-Anastomosis Duodenal Switch Procedure: 2-Year Result from a Single US Institution. *Obes Surg*. 2018;28(6):1571-1577.
168. Sánchez-Pernaute A, Herrera MÁR, Ferré NP, Rodríguez CS, Marcuello C, Pañella C, Antoñanzas LL, Torres A, Pérez-Aguirre E. Long-Term Results of Single-Anastomosis Duodeno-ileal Bypass with Sleeve Gastrectomy (SADI-S). *Obes Surg*. 2022;15:1-8.
169. Ser KH, Lee WJ, Chen JC, Tsai PL, Chen SC, Lee YC. Laparoscopic single-anastomosis duodenal-jejunal bypass with sleeve gastrectomy (SADJB-SG): Surgical risk and long-term results. *Surg Obes Relat Dis*. 2019;15(2):236-243.
170. Nor Hanipah Z, Hsin MC, Liu CC, Huang CK. Laparoscopic loop duodenaljejunal bypass with sleeve gastrectomy in type 2 diabetic patients. *Surg Obes Relat Dis*. 2019;15(5):696-702.

171. Surve A, Cottam D, Medlin W, Richards C, Belnap L, Horsley B, Cottam S, Cottam A. Long-term outcomes of primary single-anastomosis duodeno-ileal bypass with sleeve gastrectomy (SADI-S). *Surg Obes Relat Dis*. 2020;16(11):1638-1646.
172. Nelson L, Moon RC, Teixeira AF, Galvão M, Ramos A, Jawad MA. Safety and effectiveness of single anastomosis duodenal switch procedure: preliminary result from a single institution. *Arq Bras Cir Dig*. 2016;29Suppl 1(Suppl 1):80-84.
173. Mitzman B, Cottam D, Goriparthi R, Cottam S, Zaveri H, Surve A, Roslin MS. Stomach Intestinal Pylorus Sparing (SIPS) Surgery for Morbid Obesity: Retrospective Analyses of Our Preliminary Experience. *Obes Surg*. 2016;26(9):2098-2104.
174. Finno P, Osorio J, García-Ruiz-de-Gordejuela A, Casajoana A, Sorribas M, Admella V, Serrano M, Marchesini JB, Ramos AC, Pujol-Gebellí J. Single Versus Double-Anastomosis Duodenal Switch: Single-Site Comparative Cohort Study in 440 Consecutive Patients. *Obes Surg*. 2020;30(9):3309-3316.
175. Pereira AM, Guimarães M, Pereira SS, Ferreira de Almeida R, Monteiro MP, Nora M. Single and dual anastomosis duodenal switch for obesity treatment: a single-center experience. *Surg Obes Relat Dis*. 2021;17(1):12-19.
176. Ozmen MM, Guldogan CE, Gundogdu E. Changes in HOMA-IR index levels after bariatric surgery: Comparison of Single Anastomosis Duodenal Switch-proximal approach (SADS-p) and One Anastomosis Gastric Bypass-Mini Gastric Bypass (OAGB-MGB). *Int J Surg*. 2020;78:36-41.
177. Gebellí JP, Lazzara C, de Gordejuela AGR, Nora M, Pereira AM, Sánchez-Pernaute A, Osorio J, Sobrino L, García AJT. Duodenal Switch vs. Single-Anastomosis Duodenal Switch (SADI-S) for the Treatment of Grade IV Obesity: 5-Year Outcomes of a Multicenter Prospective Cohort Comparative Study. *Obes Surg*. 2022;32(12):3839-3846.
178. Pennestrì F, Sessa L, Prioli F, Salvi G, Gallucci P, Ciccoritti L, Greco F, De Crea C, Raffaelli M. Single anastomosis duodenal-ileal bypass with sleeve gastrectomy (SADI-S): experience from a high-bariatric volume center. *Langenbecks Arch Surg*. 2022;407(5):1851-1862.
179. Lind RP, Ghanem M, Teixeira AF, Jawad MA, Osorio J, Lazzara C, Sobrino L, Ortiz-Ciruela D, de Gordejuela AGR. Single- Versus Double-Anastomosis Duodenal Switch: Outcomes Stratified by Preoperative BMI. *Obes Surg*. 2022;32(12):3869-3878.

180. Surve A, Cottam D, Richards C, Medlin W, Belnap L. A Matched Cohort Comparison of Long-term Outcomes of Roux-en-Y Gastric Bypass (RYGB) Versus Single-Anastomosis Duodeno-ileostomy with Sleeve Gastrectomy (SADI-S). *Obes Surg*. 2021;31(4):1438-1448.
181. Verhoeff K, Mocanu V, Zalasky A, Dang J, Kung JY, Switzer NJ, Birch DW, Karmali S. Evaluation of Metabolic Outcomes Following SADI-S: a Systematic Review and Meta-analysis. *Obes Surg*. 2022;32(4):1049-1063.
182. Surve A, Zaveri H, Cottam D. Retrograde filling of the afferent limb as a cause of chronic nausea after single anastomosis loop duodenal switch. *Surg Obes Relat Dis*. 2016;12(4):e39-e42.
183. Cottam A, Cottam D, Medlin W, Richards C, Cottam S, Zaveri H, Surve A. A matched cohort analysis of single anastomosis loop duodenal switch versus Roux-en-Y gastric bypass with 18-month follow-up. *Surg Endosc*. 2016;30(9):3958-64.
184. Surve A, Cottam D, Sanchez-Pernaute A, Torres A, Roller J, Kwon Y, Mourot J, Schniederjan B, Neichoy B, Enochs P, Tyner M, Bruce J, Bovard S, Roslin M, Jawad M, Teixeira A, Srikanth M, Free J, Zaveri H, Pilati D, Bull J, Belnap L, Richards C, Medlin W, Moon R, Cottam A, Sabrudin S, Cottam S, Dhorepatil A. The incidence of complications associated with loop duodeno-ileostomy after single-anastomosis duodenal switch procedures among 1328 patients: a multicenter experience. *Surg Obes Relat Dis*. 2018;14(5):594-601.
185. Surve A, Cottam D, Horsley B. Internal Hernia Following Primary Laparoscopic SADI-S: the First Reported Case. *Obes Surg*. 2020;30(5):2066-2068.
186. Sánchez-Pernaute A, Rubio MÁ, Cabrerizo L, Ramos-Levi A, Pérez-Aguirre E, Torres A. Single-anastomosis duodenoileal bypass with sleeve gastrectomy (SADI-S) for obese diabetic patients. *Surg Obes Relat Dis*. 2015;11(5):1092-8.
187. Rao R, Mehta M, Sheth DR, Hogan G. Four-Year Nutritional Outcomes in Single-Anastomosis Duodeno-Ileal Bypass with Sleeve Gastrectomy Patients: an Australian Experience. *Obes Surg*. 2023;33(3):750-760.
188. Surve A, Cottam D, Medlin W, Richards C, Belnap L, Horsley B, Cottam S, Cottam A. Long-term outcomes of primary single-anastomosis duodeno-ileal bypass with sleeve gastrectomy (SADI-S). *Surg Obes Relat Dis*. 2020;16(11):1638-1646.

189. Ortiz-Zuñiga AM, Costa Forner P, Cirera de Tudela A, Garcia Ruiz A, Comas Martinez M, Palmas F, Morer Liñan C, Vilallonga R, Ciudin A. The Impact of the Length of the Common Intestinal Loop on Metabolic and Nutritional Outcomes of Patients with Severe Obesity Who Undergo of Single Anastomosis Duodeno-Ileal Bypass with Sleeve Gastrectomy: 5-Year Follow-Up. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A*. 2022;32(9):955-961.
190. Vilallonga R, Balibrea JM, Curell A, Gonzalez O, Caubet E, Ciudin A, Ortiz-Zúñiga AM, Fort JM. Technical Options for Malabsorption Issues After Single Anastomosis Duodenoileal Bypass with Sleeve Gastrectomy. *Obes Surg*. 2017;27(12):3344-3348.
191. Wang T, Shen Y, Qiao Z, Wang Y, Zhang P, Yu B. Comparison of Diabetes Remission and Micronutrient Deficiency in a Mildly Obese Diabetic Rat Model Undergoing SADI-S Versus RYGB. *Obes Surg*. 2019;29(4):1174-1184.
192. Sessa L, Guidone C, Gallucci P, Capristo E, Mingrone G, Raffaelli M. Effect of single anastomosis duodenal-ileal bypass with sleeve gastrectomy on glucose tolerance test: comparison with other bariatric procedures. *Surg Obes Relat Dis*. 2019;15(7):1091-1097.
193. Wu W, Widjaja J, Lu S, Hong J, Yao L, Zhu X. Comparison of the Outcomes of Single Anastomosis Duodeno-Ileostomy with Sleeve Gastrectomy (SADI-S), Single Anastomosis Sleeve Ileal (SASI) Bypass with Sleeve Gastrectomy, and Sleeve Gastrectomy Using a Rodent Model with Diabetes. *Obes Surg*. 2022;32(4):1209-1215.
194. Brethauer SA, Kim J, el Chaar M, Pappasavvas P, Eisenberg D, Rogers A, Ballem N, Kligman M, Kothari S; ASMBS Clinical Issues Committee. Standardized outcomes reporting in metabolic and bariatric surgery. *Surg Obes Relat Dis*. 2015;11(3):489-506.
195. Huang CK, Tai CM, Chang PC, Malapan K, Tsai CC, Yolsuriyanwong K. Loop Duodenojejunal Bypass with Sleeve Gastrectomy: Comparative Study with Roux-en-Y Gastric Bypass in Type 2 Diabetic Patients with a BMI <35 kg/m², First Year Results. *Obes Surg*. 2016;26(10):2291-301.
196. Cottam A, Cottam D, Zaveri H, Cottam S, Surve A, Medlin W, Richards C. An Analysis of Mid-Term Complications, Weight Loss, and Type 2 Diabetes Resolution of Stomach Intestinal Pylorus-Sparing Surgery (SIPS) Versus Roux-En-Y Gastric Bypass (RYGB) with Three-Year Follow-Up. *Obes Surg*. 2018;28(9):2894-2902.

197. Enochs P, Bull J, Surve A, Cottam D, Bovard S, Bruce J, Tyner M, Pilati D, Cottam S. Comparative analysis of the single-anastomosis duodenal-ileal bypass with sleeve gastrectomy (SADI-S) to established bariatric procedures: an assessment of 2-year postoperative data illustrating weight loss, type 2 diabetes, and nutritional status in a single US center. *Surg Obes Relat Dis*. 2020;16(1):24-33.
198. Verhoeff K, Mocanu V, Jogiat U, Forbes H, Switzer NJ, Birch DW, Karmali S. Patient Selection and 30-Day Outcomes of SADI-S Compared to RYGB: a Retrospective Cohort Study of 47,375 Patients. *Obes Surg*. 2022;32(7):1-8.
199. Brown WA, de Leon Ballesteros GP, Ooi G, Higa K, Himpens J, Torres A, Shikora S, Kow L, Herrera MF; IFSO appointed task force reviewing the literature on SADI-S/OADS. Single Anastomosis Duodenal-Ileal Bypass with Sleeve Gastrectomy/One Anastomosis Duodenal Switch (SADI-S/OADS) IFSO Position Statement-Update 2020. *Obes Surg*. 2021;31(1):3-25.
200. Robert M, Poghosyan T, Delaunay D, Pelascini E, Iceta S, Sterkers A, Barsamian C, Khamphommala L, Bin Dorel S, Maucort-Boulch D, Czernichow S, Disse E. Prospective multicentre randomised trial comparing the efficacy and safety of single-anastomosis duodeno-ileal bypass with sleeve gastrectomy (SADI-S) versus Roux-en-Y gastric bypass (RYGB): SADISLEEVE study protocol. *BMJ Open*. 2020;10(9):e037576.
201. Laura M, Mylene L, Christophe B, Boris H, Christophe M, Konstantinos A. Establishing a Reproducible Murine Animal Model of Single Anastomosis Duodenoileal Bypass with Sleeve Gastrectomy (SADI-S). *Obes Surg*. 2018;28(7):2122-2125.
202. Istvan ES, Deisenhofer J. Structural mechanism for statin inhibition of HMG-CoA reductase. *Science*. 2001;292(5519):1160-4.
203. Wang DQ. New concepts of mechanisms of intestinal cholesterol absorption. *Ann Hepatol*. 2003;2(3):113-21.
204. Siperstein MD, Chaikoff IL, Reinhardt WO. C14-Cholesterol. V. Obligatory function of bile in intestinal absorption of cholesterol. *J Biol Chem*. 1952;198(1):111-4.
205. Voshol PJ, Schwarz M, Rigotti A, Krieger M, Groen AK, Kuipers F. Down-regulation of intestinal scavenger receptor class B, type I (SR-BI) expression in rodents under conditions of deficient bile delivery to the intestine. *Biochem J*. 2001;356(Pt 2):317-25.

206. Wang DQ, Tazuma S, Cohen DE, Carey MC. Feeding natural hydrophilic bile acids inhibits intestinal cholesterol absorption: studies in the gallstone-susceptible mouse. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2003;285(3):G494-502.
207. Hui DY, Labonté ED, Howles PN. Development and physiological regulation of intestinal lipid absorption. III. Intestinal transporters and cholesterol absorption. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2008;294(4):G839-43.
208. Altmann SW, Davis HR Jr, Yao X, Lavery M, Compton DS, Zhu LJ, Crona JH, Caplen MA, Hoos LM, Tetzloff G, Priestley T, Burnett DA, Strader CD, Graziano MP. The identification of intestinal scavenger receptor class B, type I (SR-BI) by expression cloning and its role in cholesterol absorption. *Biochim Biophys Acta.* 2002;1580(1):77-93.
209. van Bennekum A, Werder M, Thuahnai ST, Han CH, Duong P, Williams DL, Wettstein P, Schulthess G, Phillips MC, Hauser H. Class B scavenger receptor-mediated intestinal absorption of dietary beta-carotene and cholesterol. *Biochemistry.* 2005;44(11):4517-25.
210. Bietrix F, Yan D, Nauze M, Rolland C, Bertrand-Michel J, Coméra C, Schaak S, Barbaras R, Groen AK, Perret B, Tercé F, Collet X. Accelerated lipid absorption in mice overexpressing intestinal SR-BI. *J Biol Chem.* 2006;281(11):7214-9.
211. Nguyen DV, Drover VA, Knopf M, Dhanasekaran P, Hauser H, Phillips MC. Influence of class B scavenger receptors on cholesterol flux across the brush border membrane and intestinal absorption. *J Lipid Res.* 2009;50(11):2235-44.
212. Nauli AM, Nassir F, Zheng S, Yang Q, Lo CM, Vonlehmden SB, Lee D, Jandacek RJ, Abumrad NA, Tso P. CD36 is important for chylomicron formation and secretion and may mediate cholesterol uptake in the proximal intestine. *Gastroenterology.* 2006;131(4):1197-207.
213. Nassir F, Wilson B, Han X, Gross RW, Abumrad NA. CD36 is important for fatty acid and cholesterol uptake by the proximal but not distal intestine. *J Biol Chem.* 2007;282(27):19493-501.
214. Berge KE, Tian H, Graf GA, Yu L, Grishin NV, Schultz J, Kwiterovich P, Shan B, Barnes R, Hobbs HH. Accumulation of dietary cholesterol in sitosterolemia caused by mutations in adjacent ABC transporters. *Science.* 2000;290(5497):1771-5.

215. Yu L, Li-Hawkins J, Hammer RE, Berge KE, Horton JD, Cohen JC, Hobbs HH. Overexpression of ABCG5 and ABCG8 promotes biliary cholesterol secretion and reduces fractional absorption of dietary cholesterol. *J Clin Invest*. 2002;110(5):671-80.
216. Heider JG, Pickens CE, Kelly LA. Role of acyl CoA:cholesterol acyltransferase in cholesterol absorption and its inhibition by 57-118 in the rabbit. *J Lipid Res*. 1983;24(9):1127-34.
217. Levy E, Spahis S, Sinnott D, Peretti N, Maupas-Schwalm F, Delvin E, Lambert M, Lavoie MA. Intestinal cholesterol transport proteins: an update and beyond. *Curr Opin Lipidol*. 2007;18(3):310-8.
218. Gordon T, Castelli WP, Hjortland MC, Kannel WB, Dawber TR. High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. The Framingham Study. *Am J Med*. 1977;62(5):707-14.
219. Schwartz GG, Olsson AG, Abt M, Ballantyne CM, Barter PJ, Brumm J, Chaitman BR, Holme IM, Kallend D, Leiter LA, Leitersdorf E, McMurray JJ, Mundl H, Nicholls SJ, Shah PK, Tardif JC, Wright RS; dal-OUTCOMES Investigators. Effects of dalcetrapib in patients with a recent acute coronary syndrome. *N Engl J Med*. 2012;367(22):2089-99.
220. Barter PJ, Caulfield M, Eriksson M, Grundy SM, Kastelein JJ, Komajda M, Lopez-Sendon J, Mosca L, Tardif JC, Waters DD, Shear CL, Revkin JH, Buhr KA, Fisher MR, Tall AR, Brewer B; ILLUMINATE Investigators. Effects of torcetrapib in patients at high risk for coronary events. *N Engl J Med*. 2007;357(21):2109-22.
221. Tiwari S, Siddiqi SA. Intracellular trafficking and secretion of VLDL. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012;32(5):1079-86.
222. Olivecrona G. Role of lipoprotein lipase in lipid metabolism. *Curr Opin Lipidol*. 2016;27(3):233-41.
223. Brown MS, Dana SE, Goldstein JL. Regulation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase activity in human fibroblasts by lipoproteins. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1973;70(7):2162-6.
224. Goldstein JL, Brown MS. The LDL receptor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2009;29(4):431-8.

225. Goldstein JL, Brown MS. Binding and degradation of low density lipoproteins by cultured human fibroblasts. Comparison of cells from a normal subject and from a patient with homozygous familial hypercholesterolemia. *J Biol Chem.* 1974;249(16):5153-62.
226. Fong LG, Bonney E, Kosek JC, Cooper AD. Immunohistochemical localization of low density lipoprotein receptors in adrenal gland, liver, and intestine. *J Clin Invest.* 1989;84(3):847-56.
227. Horton JD, Goldstein JL, Brown MS. SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. *J Clin Invest.* 2002;109(9):1125-31.
228. Abifadel M, Varret M, Rabès JP, Allard D, Ouguerram K, Devillers M, Cruaud C, Benjannet S, Wickham L, Erlich D, Derré A, Villéger L, Farnier M, Beucler I, Bruckert E, Chambaz J, Chanu B, Lecerf JM, Luc G, Moulin P, Weissenbach J, Prat A, Krempf M, Junien C, Seidah NG, Boileau C. Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. *Nat Genet.* 2003;34(2):154-6.
229. Zaid A, Roubtsova A, Essalmani R, Marcinkiewicz J, Chamberland A, Hamelin J, Tremblay M, Jacques H, Jin W, Davignon J, Seidah NG, Prat A. Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9): hepatocyte-specific low-density lipoprotein receptor degradation and critical role in mouse liver regeneration. *Hepatology.* 2008;48(2):646-54.
230. Seidah NG, Benjannet S, Wickham L, Marcinkiewicz J, Jasmin SB, Stifani S, Basak A, Prat A, Chretien M. The secretory proprotein convertase neural apoptosis-regulated convertase 1 (NARC-1): liver regeneration and neuronal differentiation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003;100(3):928-33.
231. Zhang DW, Lagace TA, Garuti R, Zhao Z, McDonald M, Horton JD, Cohen JC, Hobbs HH. Binding of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 to epidermal growth factor-like repeat A of low density lipoprotein receptor decreases receptor recycling and increases degradation. *J Biol Chem.* 2007;282(25):18602-18612.
232. Costet P, Krempf M, Cariou B. PCSK9 and LDL cholesterol: unravelling the target to design the bullet. *Trends Biochem Sci.* 2008;33(9):426-34.
233. Cariou B, Ouguerram K, Zaïr Y, Guerois R, Langhi C, Kourimate S, Benoit I, Le May C, Gayet C, Belabbas K, Dufernez F, Chétiveaux M, Tarugi P, Krempf M, Benlian P, Costet P. PCSK9 dominant negative mutant results in increased LDL catabolic rate and familial hypobetalipoproteinemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009;29(12):2191-7.

234. Cohen J, Pertsemlidis A, Kotowski IK, Graham R, Garcia CK, Hobbs HH. Low LDL cholesterol in individuals of African descent resulting from frequent nonsense mutations in PCSK9. *Nat Genet.* 2005;37(2):161-5.
235. Cohen JC, Boerwinkle E, Mosley TH Jr, Hobbs HH. Sequence variations in PCSK9, low LDL, and protection against coronary heart disease. *N Engl J Med.* 2006;354(12):1264-72.
236. Rashid S, Curtis DE, Garuti R, Anderson NN, Bashmakov Y, Ho YK, Hammer RE, Moon YA, Horton JD. Decreased plasma cholesterol and hypersensitivity to statins in mice lacking Pcsk9. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005;102(15):5374-9.
237. Blom DJ, Hala T, Bolognese M, Lillestol MJ, Toth PD, Burgess L, Ceska R, Roth E, Koren MJ, Ballantyne CM, Monsalvo ML, Tsirtsonis K, Kim JB, Scott R, Wasserman SM, Stein EA; DESCARTES Investigators. A 52-week placebo-controlled trial of evolocumab in hyperlipidemia. *N Engl J Med.* 2014;370(19):1809-19.
238. Robinson JG, Farnier M, Krempf M, Bergeron J, Luc G, Averna M, Stroes ES, Langslet G, Raal FJ, El Shahawy M, Koren MJ, Lepor NE, Lorenzato C, Pordy R, Chaudhari U, Kastelein JJ; ODYSSEY LONG TERM Investigators. Efficacy and safety of alirocumab in reducing lipids and cardiovascular events. *N Engl J Med.* 2015;372(16):1489-99.
239. Cariou B, Si-Tayeb K, Le May C. Role of PCSK9 beyond liver involvement. *Curr Opin Lipidol.* 2015;26(3):155-61.
240. Moreau F, Thédrez A, Garçon D, Ayer A, Sotin T, Dijk W, Blanchard C, Chadeuf G, Arnaud L, Croyal M, Van Landeghem L, Touvron M, Prieur X, Roubtsova A, Seidah N, Prat A, Cariou B, Le May C. PCSK9 is not secreted from mature differentiated intestinal cells. *J Lipid Res.* 2021;62:100096.
241. Levy E, Ben Djoudi Ouadda A, Spahis S, Sane AT, Garofalo C, Grenier É, Emonnot L, Yara S, Couture P, Beaulieu JF, Ménard D, Seidah NG, Elchebly M. PCSK9 plays a significant role in cholesterol homeostasis and lipid transport in intestinal epithelial cells. *Atherosclerosis.* 2013;227(2):297-306.
242. Le May C, Kourimate S, Langhi C, Chétiveaux M, Jarry A, Comera C, Collet X, Kuipers F, Krempf M, Cariou B, Costet P. Proprotein convertase subtilisin kexin type 9 null mice are protected from postprandial triglyceridemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009;29(5):684-90.

243. Garçon D, Moreau F, Ayer A, Dijk W, Prieur X, Arnaud L, Roubtsova A, Seidah N, Prat A, Cariou B, Le May C. Circulating Rather Than Intestinal PCSK9 (Proprotein Convertase Subtilisin Kexin Type 9) Regulates Postprandial Lipemia in Mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2020;40(9):2084-2094.
244. Le May C, Berger JM, Lespine A, Pillot B, Prieur X, Letessier E, Hussain MM, Collet X, Cariou B, Costet P. Transintestinal cholesterol excretion is an active metabolic process modulated by PCSK9 and statin involving ABCB1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2013;33(7):1484-93.
245. Kindel T, Lee DM, Tso P. The mechanism of the formation and secretion of chylomicrons. *Atheroscler Suppl.* 2010;11(1):11-6.
246. Out R, Kruijt JK, Rensen PC, Hildebrand RB, de Vos P, Van Eck M, Van Berkel TJ. Scavenger receptor BI plays a role in facilitating chylomicron metabolism. *J Biol Chem.* 2004;279(18):18401-6.
247. Glomset JA. The plasma lecithins:cholesterol acyltransferase reaction. *J Lipid Res.* 1968;9(2):155-67.
248. Tall AR. Cholesterol efflux pathways and other potential mechanisms involved in the athero-protective effect of high density lipoproteins. *J Intern Med.* 2008;263(3):256-73.
249. Meyer JM, Graf GA, van der Westhuyzen DR. New developments in selective cholesteryl ester uptake. *Curr Opin Lipidol.* 2013;24(5):386-92.
250. Ji Y, Wang N, Ramakrishnan R, Sehayek E, Huszar D, Breslow JL, Tall AR. Hepatic scavenger receptor BI promotes rapid clearance of high density lipoprotein free cholesterol and its transport into bile. *J Biol Chem.* 1999;274(47):33398-402.
251. Harder CJ, Meng A, Rippstein P, McBride HM, McPherson R. SR-BI undergoes cholesterol-stimulated transcytosis to the bile canaliculus in polarized WIF-B cells. *J Biol Chem.* 2007;282(2):1445-55.
252. Fabre AC, Malaval C, Ben Addi A, Verdier C, Pons V, Serhan N, Lichtenstein L, Combes G, Huby T, Briand F, Collet X, Nijstad N, Tietge UJ, Robaye B, Perret B, Boeynaems JM, Martinez LO. P2Y13 receptor is critical for reverse cholesterol transport. *Hepatology.* 2010;52(4):1477-83.
253. Temel RE, Sawyer JK, Yu L, Lord C, Degirolamo C, McDaniel A, Marshall S, Wang N, Shah R, Rudel LL, Brown JM. Biliary sterol secretion is not required for macrophage reverse cholesterol transport. *Cell Metab.* 2010;12(1):96-102.

254. Yu L, Hammer RE, Li-Hawkins J, Von Bergmann K, Lutjohann D, Cohen JC, Hobbs HH. Disruption of Abcg5 and Abcg8 in mice reveals their crucial role in biliary cholesterol secretion. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99(25):16237-42.
255. Wiersma H, Gatti A, Nijstad N, Kuipers F, Tietge UJ. Hepatic SR-BI, not endothelial lipase, expression determines biliary cholesterol secretion in mice. *J Lipid Res*. 2009;50(8):1571-80.
256. Temel RE, Tang W, Ma Y, Rudel LL, Willingham MC, Ioannou YA, Davies JP, Nilsson LM, Yu L. Hepatic Niemann-Pick C1-like 1 regulates biliary cholesterol concentration and is a target of ezetimibe. *J Clin Invest*. 2007;117(7):1968-78.
257. Oude Elferink RP, Ottenhoff R, van Wijland M, Smit JJ, Schinkel AH, Groen AK. Regulation of biliary lipid secretion by mdr2 P-glycoprotein in the mouse. *J Clin Invest*. 1995;95(1):31-8.
258. Nijstad N, Gautier T, Briand F, Rader DJ, Tietge UJ. Biliary sterol secretion is required for functional in vivo reverse cholesterol transport in mice. *Gastroenterology*. 2011;140(3):1043-51.
259. Alrefai WA, Gill RK. Bile acid transporters: structure, function, regulation and pathophysiological implications. *Pharm Res*. 2007;24(10):1803-23.
260. Lefebvre P, Cariou B, Lien F, Kuipers F, Staels B. Role of bile acids and bile acid receptors in metabolic regulation. *Physiol Rev*. 2009;89(1):147-91.
261. Li J, Dawson PA. Animal models to study bile acid metabolism. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2019;1865(5):895-911.
262. Schwarz M, Lund EG, Setchell KD, Kayden HJ, Zerwekh JE, Björkhem I, Herz J, Russell DW. Disruption of cholesterol 7 α -hydroxylase gene in mice. II. Bile acid deficiency is overcome by induction of oxysterol 7 α -hydroxylase. *J Biol Chem*. 1996;271(30):18024-31.
263. Li-Hawkins J, Gåfväls M, Olin M, Lund EG, Andersson U, Schuster G, Björkhem I, Russell DW, Eggertsen G. Cholic acid mediates negative feedback regulation of bile acid synthesis in mice. *J Clin Invest*. 2002;110(8):1191-200.
264. Gioiello A, Cerra B, Mostarda S, Guercini C, Pellicciari R, Macchiarulo A. Bile acid derivatives as ligands of the farnesoid X receptor: molecular determinants for bile acid binding and receptor modulation. *Curr Top Med Chem*. 2014;14(19):2159-74.

265. Sinal CJ, Tohkin M, Miyata M, Ward JM, Lambert G, Gonzalez FJ. Targeted disruption of the nuclear receptor FXR/BAR impairs bile acid and lipid homeostasis. *Cell*. 2000;102(6):731-44.
266. Cariou B, Staels B. The expanding role of the bile acid receptor FXR in the small intestine. *J Hepatol*. 2006;44(6):1213-5.
267. Chiang JY. Bile acid metabolism and signaling. *Compr Physiol*. 2013;3(3):1191-212.
268. Goodwin B, Jones SA, Price RR, Watson MA, McKee DD, Moore LB, Galardi C, Wilson JG, Lewis MC, Roth ME, Maloney PR, Willson TM, Kliewer SA. A regulatory cascade of the nuclear receptors FXR, SHP-1, and LRH-1 represses bile acid biosynthesis. *Mol Cell*. 2000;6(3):517-26.
269. Zhang M, Chiang JY. Transcriptional regulation of the human sterol 12 α -hydroxylase gene (CYP8B1): roles of hepatocyte nuclear factor 4 α in mediating bile acid repression. *J Biol Chem*. 2001;276(45):41690-9.
270. Katafuchi T, Makishima M. Molecular Basis of Bile Acid-FXR-FGF15/19 Signaling Axis. *Int J Mol Sci*. 2022;23(11):6046.
271. Kong B, Wang L, Chiang JY, Zhang Y, Klaassen CD, Guo GL. Mechanism of tissue-specific farnesoid X receptor in suppressing the expression of genes in bile-acid synthesis in mice. *Hepatology*. 2012;56(3):1034-43.
272. Sperry WM. Lipid excretion. *Journal of Biological Chemistry*. 1927;71(2):351-78.
273. Pertsemlidis D, Kirchman EH, Ahrens EH Jr. Regulation of cholesterol metabolism in the dog. I. Effects of complete bile diversion and of cholesterol feeding on absorption, synthesis, accumulation, and excretion rates measured during life. *J Clin Invest*. 1973;52(9):2353-67.
274. van der Velde AE, Vrans CL, van den Oever K, Kunne C, Oude Elferink RP, Kuipers F, Groen AK. Direct intestinal cholesterol secretion contributes significantly to total fecal neutral sterol excretion in mice. *Gastroenterology*. 2007;133(3):967-75.
275. van der Veen JN, van Dijk TH, Vrans CL, van Meer H, Havinga R, Bijsterveld K, Tietge UJ, Groen AK, Kuipers F. Activation of the liver X receptor stimulates trans-intestinal excretion of plasma cholesterol. *J Biol Chem*. 2009;284(29):19211-9.

276. Moreau F, Blanchard C, Perret C, Flet L, Douane F, Frampas E, Mirallie E, Croyal M, Aguesse A, Krempf M, Prieur X, Pichelin M, Cariou B, Le May C. In vivo evidence for transintestinal cholesterol efflux in patients with complete common bile duct obstruction. *J Clin Lipidol*. 2019;13(1):213-217.e1.
277. Jakulj L, van Dijk TH, de Boer JF, Kootte RS, Schonewille M, Paalvast Y, Boer T, Bloks VW, Boverhof R, Nieuwdorp M, Beuers UH, Stroes ES, Groen AK. Transintestinal Cholesterol Transport Is Active in Mice and Humans and Controls Ezetimibe-Induced Fecal Neutral Sterol Excretion. *Cell Metab*. 2016;24(6):783-794.
278. de Boer JF, Schonewille M, Dijkers A, Koehorst M, Havinga R, Kuipers F, Tietge UJ, Groen AK. Transintestinal and Biliary Cholesterol Secretion Both Contribute to Macrophage Reverse Cholesterol Transport in Rats-Brief Report. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2017;37(4):643-646.
279. Garçon D, Berger JM, Cariou B, Le May C. Transintestinal cholesterol excretion in health and disease. *Curr Atheroscler Rep*. 2022;24(3):153-60.
280. van der Velde AE, Vrans CL, van den Oever K, Seemann I, Oude Elferink RP, van Eck M, Kuipers F, Groen AK. Regulation of direct transintestinal cholesterol excretion in mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2008;295(1):G203-G208.
281. Bura KS, Lord C, Marshall S, McDaniel A, Thomas G, Warriar M, Zhang J, Davis MA, Sawyer JK, Shah R, Wilson MD, Dijkers A, Tietge UJF, Collet X, Rudel LL, Temel RE, Brown JM. Intestinal SR-BI does not impact cholesterol absorption or transintestinal cholesterol efflux in mice. *J Lipid Res*. 2013;54(6):1567-1577.
282. Garrigues A, Escargueil AE, Orłowski S. The multidrug transporter, P-glycoprotein, actively mediates cholesterol redistribution in the cell membrane. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99(16):10347-52.
283. Nakano T, Inoue I, Takenaka Y, Ono H, Katayama S, Awata T, Murakoshi T. Ezetimibe Promotes Brush Border Membrane-to-Lumen Cholesterol Efflux in the Small Intestine. *PLoS One*. 2016;11(3):e0152207.
284. de Boer JF, Schonewille M, Boesjes M, Wolters H, Bloks VW, Bos T, van Dijk TH, Jurdzinski A, Boverhof R, Wolters JC, Kuivenhoven JA, van Deursen JM, Oude Elferink RPJ, Moschetta A, Kremoser

- C, Verkade HJ, Kuipers F, Groen AK. Intestinal Farnesoid X Receptor Controls Transintestinal Cholesterol Excretion in Mice. *Gastroenterology*. 2017;152(5):1126-1138.e6.
285. Jensen MD, Ryan DH, Apovian CM, Ard JD, Comuzzie AG, Donato KA, Hu FB, Hubbard VS, Jakicic JM, Kushner RF, Loria CM, Millen BE, Nonas CA, Pi-Sunyer FX, Stevens J, Stevens VJ, Wadden TA, Wolfe BM, Yanovski SZ, Jordan HS, Kendall KA, Lux LJ, Mentor-Marcel R, Morgan LC, Trisolini MG, Wnek J, Anderson JL, Halperin JL, Albert NM, Bozkurt B, Brindis RG, Curtis LH, DeMets D, Hochman JS, Kovacs RJ, Ohman EM, Pressler SJ, Sellke FW, Shen WK, Smith SC Jr, Tomaselli GF; American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines; Obesity Society. 2013 AHA/ACC/TOS guideline for the management of overweight and obesity in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and The Obesity Society. *Circulation*. 2014;129(25 Suppl 2):S102-38.
286. Nguyen NT, Varela E, Sabio A, Tran CL, Stamos M, Wilson SE. Resolution of hyperlipidemia after laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass. *J Am Coll Surg*. 2006;203(1):24-9.
287. Cunha FM, Oliveira J, Preto J, Saavedra A, Costa MM, Magalhães D, Lau E, Bettencourt-Silva R, Freitas P, Varela A, Carvalho D. The Effect of Bariatric Surgery Type on Lipid Profile: An Age, Sex, Body Mass Index and Excess Weight Loss Matched Study. *Obes Surg*. 2016;26(5):1041-7.
288. Griffo E, Cotugno M, Nosso G, Saldamacchia G, Mangione A, Angrisani L, Rivellese AA, Capaldo B. Effects of Sleeve Gastrectomy and Gastric Bypass on Postprandial Lipid Profile in Obese Type 2 Diabetic Patients: a 2-Year Follow-up. *Obes Surg*. 2016;26(6):1247-53.
289. Pihlajamäki J, Grönlund S, Simonen M, Käkelä P, Moilanen L, Pääkkönen M, Pirinen E, Kolehmainen M, Kärjä V, Kainulainen S, Uusitupa M, Alhava E, Miettinen TA, Gylling H. Cholesterol absorption decreases after Roux-en-Y gastric bypass but not after gastric banding. *Metabolism*. 2010;59(6):866-72.
290. Benetti A, Del Puppo M, Crosignani A, Veronelli A, Masci E, Frigè F, Micheletto G, Panizzo V, Pontiroli AE. Cholesterol metabolism after bariatric surgery in grade 3 obesity: differences between malabsorptive and restrictive procedures. *Diabetes Care*. 2013;36(6):1443-7.
291. Repa JJ, Turley SD, Lobaccaro JA, Medina J, Li L, Lustig K, Shan B, Heyman RA, Dietschy JM, Mangelsdorf DJ. Regulation of absorption and ABC1-mediated efflux of cholesterol by RXR heterodimers. *Science*. 2000;289(5484):1524-9.

292. Mazzini GS, Khoraki J, Browning MG, Wu J, Zhou H, Price ET, Wolfe LG, Mangino MJ, Campos GM. Gastric Bypass Increases Circulating Bile Acids and Activates Hepatic Farnesoid X Receptor (FXR) but Requires Intact Peroxisome Proliferator Activator Receptor Alpha (PPAR α) Signaling to Significantly Reduce Liver Fat Content. *J Gastrointest Surg*. 2021;25(4):871-879.
293. Wang DQ, Paigen B, Carey MC. Genetic factors at the enterocyte level account for variations in intestinal cholesterol absorption efficiency among inbred strains of mice. *J Lipid Res*. 2001;42(11):1820-30.
294. Meoli L, Ben-Zvi D, Panciotti C, Kvas S, Pizarro P, Munoz R, Stylopoulos N. Intestine-Specific Overexpression of LDLR Enhances Cholesterol Excretion and Induces Metabolic Changes in Male Mice. *Endocrinology*. 2019;160(4):744-758.
295. Erlic Z, Ploeckinger U, Cascon A, Hoffmann MM, von Duecker L, Winter A, et al. Systematic comparison of sporadic and syndromic pancreatic islet cell tumors. *Endocrine-Related Cancer*. 2010;17(4):875-83.
296. Aminian A, Zelisko A, Kirwan JP, Brethauer SA, Schauer PR. Exploring the impact of bariatric surgery on high density lipoprotein. *Surg Obes Relat Dis*. 2015;11(1):238-47.
297. Aron-Wisnewsky J, Julia Z, Poitou C, Bouillot JL, Basdevant A, Chapman MJ, Clement K, Guerin M. Effect of bariatric surgery-induced weight loss on SR-BI-, ABCG1-, and ABCA1-mediated cellular cholesterol efflux in obese women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(4):1151-9.
298. Skroubis G, Anesidis S, Kehagias I, Mead N, Vagenas K, Kalfarentzos F. Roux-en-Y gastric bypass versus a variant of biliopancreatic diversion in a non-superobese population: prospective comparison of the efficacy and the incidence of metabolic deficiencies. *Obes Surg*. 2006;16(4):488-95.
299. Culnan DM, Cooney RN, Stanley B, Lynch CJ. Apolipoprotein A-IV, a putative satiety/antiatherogenic factor, rises after gastric bypass. *Obesity (Silver Spring)*. 2009;17(1):46-52.
300. 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(5):2234-44.

301. Kumar R, Lieske JC, Collazo-Clavell ML, Sarr MG, Olson ER, Vrtiska TJ, Bergstralh EJ, Li X. Fat malabsorption and increased intestinal oxalate absorption are common after Roux-en-Y gastric bypass surgery. *Surgery*. 2011;149(5):654-61.
302. Stearns AT, Balakrishnan A, Tavakkolizadeh A. Impact of Roux-en-Y gastric bypass surgery on rat intestinal glucose transport. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2009;297(5):G950-7.
303. le Roux CW, Borg C, Wallis K, Vincent RP, Bueter M, Goodlad R, Ghatei MA, Patel A, Bloom SR, Aylwin SJ. Gut hypertrophy after gastric bypass is associated with increased glucagon-like peptide 2 and intestinal crypt cell proliferation. *Ann Surg*. 2010;252(1):50-6.
304. Zenti MG, Lupo MG, De Martin S, Altomari A, Galvan S, Aventaggiato M, Maneschi C, Sandri D, Paiola E, Battistoni M, Eccher A, Targher G, Bonora E, Ruscica M, Ferri N. Impact of bariatric surgery-induced weight loss on circulating PCSK9 levels in obese patients. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2020;30(12):2372-2378.
305. Boyer M, Piché ME, Auclair A, Grenier-Larouche T, Biertho L, Marceau S, Hould FS, Biron S, Lebel S, Lescelleur O, Julien F, Martin J, Tchernof A, Carpentier AC, Poirier P, Arsenault BJ. Acute and Chronic Impact of Bariatric Surgery on Plasma LDL Cholesterol and PCSK9 Levels in Patients With Severe Obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2017;102(11):4023-4030.
306. Jamialahmadi T, Banach M, Almahmeed W, Kesharwani P, Sahebkar A. Impact of bariatric surgery on circulating PCSK9 levels as a marker of cardiovascular disease risk: a meta-analysis. *Arch Med Sci*. 2022;18(5):1372-1377.
307. Grzegorzczak E, Książek M, Kurek K, Łukaszuk B, Rosołowski M, Paszko A, Krzyżak M, Żendzian-Piotrowska M. Effect of Sleeve Gastrectomy on Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9 (Pcsk9) Content and Lipid Metabolism in the Blood Plasma and Liver of Obese Wistar Rats. *Nutrients*. 2019;11(9):2174.
308. Gauthier MS, Awan Z, Bouchard A, Champagne J, Tessier S, Faubert D, Chabot K, Garneau PY, Rabasa-Lhoret R, Seidah NG, Ridker PM, Genest J, Coulombe B. Posttranslational modification of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 is differentially regulated in response to distinct cardiometabolic treatments as revealed by targeted proteomics. *J Clin Lipidol*. 2018;12(4):1027-1038.

309. Spak E, Björklund P, Helander HF, Vieth M, Olbers T, Casselbrant A, Lönroth H, Fändriks L. Changes in the mucosa of the Roux-limb after gastric bypass surgery. *Histopathology*. 2010;57(5):680-8.
310. Mutoh M, Komiya M, Teraoka N, Ueno T, Takahashi M, Kitahashi T, Sugimura T, Wakabayashi K. Overexpression of low-density lipoprotein receptor and lipid accumulation in intestinal polyps in Min mice. *Int J Cancer*. 2009;125(11):2505-10.
311. Ishibashi S, Brown MS, Goldstein JL, Gerard RD, Hammer RE, Herz J. Hypercholesterolemia in low density lipoprotein receptor knockout mice and its reversal by adenovirus-mediated gene delivery. *J Clin Invest*. 1993;92(2):883-93.
312. Engelking LJ, McFarlane MR, Li CK, Liang G. Blockade of cholesterol absorption by ezetimibe reveals a complex homeostatic network in enterocytes. *J Lipid Res*. 2012;53(7):1359-68.
313. Mashnafi S, Plat J, Mensink RP, Baumgartner S. Non-Cholesterol Sterol Concentrations as Biomarkers for Cholesterol Absorption and Synthesis in Different Metabolic Disorders: A Systematic Review. *Nutrients*. 2019;11(1):124. =
314. Turley SD, Herndon MW, Dietschy JM. Reevaluation and application of the dual-isotope plasma ratio method for the measurement of intestinal cholesterol absorption in the hamster. *J Lipid Res*. 1994;35(2):328-39.
315. Flynn CR, Albaugh VL, Abumrad NN. Metabolic Effects of Bile Acids: Potential Role in Bariatric Surgery. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*. 2019;8(2):235-246.
316. Heuman DM. Quantitative estimation of the hydrophilic-hydrophobic balance of mixed bile salt solutions. *J Lipid Res*. 1989;30(5):719-30.
317. Albaugh VL, Flynn CR, Cai S, Xiao Y, Tamboli RA, Abumrad NN. Early Increases in Bile Acids Post Roux-en-Y Gastric Bypass Are Driven by Insulin-Sensitizing, Secondary Bile Acids. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015;100(9):E1225-33.
318. Zhai H, Li Z, Peng M, Huang Z, Qin T, Chen L, Li H, Zhang H, Zhang W, Xu G. Takeda G Protein-Coupled Receptor 5-Mechanistic Target of Rapamycin Complex 1 Signaling Contributes to the Increment of Glucagon-Like Peptide-1 Production after Roux-en-Y Gastric Bypass. *EBioMedicine*. 2018;32:201-214.

319. Uysal M, Gül SS, Karaman S, Tas U, Sapmaz HI, Uysal F, Aytekin K, Tümer MK. Caecum location in laboratory rats and mice: an anatomical and radiological study. *Lab Anim*. 2017;51(3):245-255.
320. Muschitz C, Kocijan R, Haschka J, Zendeli A, Pirker T, Geiger C, Müller A, Tschinder B, Kocijan A, Marterer C, Nia A, Muschitz GK, Resch H, Pietschmann P. The Impact of Vitamin D, Calcium, Protein Supplementation, and Physical Exercise on Bone Metabolism After Bariatric Surgery: The BABS Study. *J Bone Miner Res*. 2016;31(3):672-82.
321. Peterson LA, Zeng X, Caufield-Noll CP, Schweitzer MA, Magnuson TH, Steele KE. Vitamin D status and supplementation before and after bariatric surgery: a comprehensive literature review. *Surg Obes Relat Dis*. 2016;12(3):693-702.
322. Gero D, Steinert RE, le Roux CW, Bueter M. Do Food Preferences Change After Bariatric Surgery? *Curr Atheroscler Rep*. 2017;19(9):38.
323. Mokadem M, Zechner JF, Uchida A, Aguirre V. Leptin Is Required for Glucose Homeostasis after Roux-en-Y Gastric Bypass in Mice. *PLoS One*. 2015;10(10):e0139960.
324. Hao Z, Münzberg H, Rezai-Zadeh K, Keenan M, Coulon D, Lu H, Berthoud HR, Ye J. Leptin deficient ob/ob mice and diet-induced obese mice responded differently to Roux-en-Y bypass surgery. *Int J Obes (Lond)*. 2015;39(5):798-805.
325. Rubino F, Gagner M, Gentileschi P, Kini S, Fukuyama S, Feng J, Diamond E. The early effect of the Roux-en-Y gastric bypass on hormones involved in body weight regulation and glucose metabolism. *Ann Surg*. 2004;240(2):236-42.
326. Anstee QM, Goldin RD. Mouse models in non-alcoholic fatty liver disease and steatohepatitis research. *Int J Exp Pathol*. 2006;87(1):1-16.
327. Nakatani H, Kasama K, Oshiro T, Watanabe M, Hirose H, Itoh H. Serum bile acid along with plasma incretins and serum high-molecular weight adiponectin levels are increased after bariatric surgery. *Metabolism*. 2009;58(10):1400-7.
328. Pournaras DJ, Glicksman C, Vincent RP, Kuganlipava S, Alaghband-Zadeh J, Mahon D, Bekker JH, Ghatei MA, Bloom SR, Walters JR, Welbourn R, le Roux CW. The role of bile after Roux-en-Y gastric bypass in promoting weight loss and improving glycaemic control. *Endocrinology*. 2012;153(8):3613-9.

329. Steinert RE, Peterli R, Keller S, Meyer-Gerspach AC, Drewe J, Peters T, Beglinger C. Bile acids and gut peptide secretion after bariatric surgery: a 1-year prospective randomized pilot trial. *Obesity (Silver Spring)*. 2013;21(12):E660-8.
330. Patti ME, Houten SM, Bianco AC, Bernier R, Larsen PR, Holst JJ, Badman MK, Maratos-Flier E, Mun EC, Pihlajamaki J, Auwerx J, Goldfine AB. Serum bile acids are higher in humans with prior gastric bypass: potential contribution to improved glucose and lipid metabolism. *Obesity (Silver Spring)*. 2009;17(9):1671-7.
331. Ryan KK, Tremaroli V, Clemmensen C, Kovatcheva-Datchary P, Myronovych A, Karns R, Wilson-Pérez HE, Sandoval DA, Kohli R, Bäckhed F, Seeley RJ. FXR is a molecular target for the effects of vertical sleeve gastrectomy. *Nature*. 2014;509(7499):183-8.
332. Myronovych A, Bhattacharjee J, Salazar-Gonzalez RM, Tan B, Mowery S, Ferguson D, Ryan KK, Zhang W, Zhao X, Oehrle M, Setchell KD, Seeley RJ, Sandoval DA, Kohli R. Assessment of the role of FGF15 in mediating the metabolic outcomes of murine Vertical Sleeve Gastrectomy (VSG). *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2020;319(6):G669–84.
333. Le Chatelier E, Nielsen T, Qin J, Prifti E, Hildebrand F, Falony G, Almeida M, Arumugam M, Batto JM, Kennedy S, Leonard P, Li J, Burgdorf K, Grarup N, Jørgensen T, Brandslund I, Nielsen HB, Juncker AS, Bertalan M, Levenez F, Pons N, Rasmussen S, Sunagawa S, Tap J, Tims S, Zoetendal EG, Brunak S, Clément K, Doré J, Kleerebezem M, Kristiansen K, Renault P, Sicheritz-Ponten T, de Vos WM, Zucker JD, Raes J, Hansen T; MetaHIT consortium; Bork P, Wang J, Ehrlich SD, Pedersen O. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature*. 2013;500(7464):541-6.
334. Aron-Wisnewsky J, Prifti E, Belda E, Ichou F, Kayser BD, Dao MC, Verger EO, Hedjazi L, Bouillot JL, Chevallier JM, Pons N, Le Chatelier E, Levenez F, Ehrlich SD, Dore J, Zucker JD, Clément K. Major microbiota dysbiosis in severe obesity: fate after bariatric surgery. *Gut*. 2019;68(1):70-82.
335. Ridaura VK, Faith JJ, Rey FE, Cheng J, Duncan AE, Kau AL, Griffin NW, Lombard V, Henrissat B, Bain JR, Muehlbauer MJ, Ilkayeva O, Semenkovich CF, Funai K, Hayashi DK, Lyle BJ, Martini MC, Ursell LK, Clemente JC, Van Treuren W, Walters WA, Knight R, Newgard CB, Heath AC, Gordon JI. Gut microbiota from twins discordant for obesity modulate metabolism in mice. *Science*. 2013;341(6150):1241214.

336. Murphy R, Tsai P, Jüllig M, Liu A, Plank L, Booth M. Differential Changes in Gut Microbiota After Gastric Bypass and Sleeve Gastrectomy Bariatric Surgery Vary According to Diabetes Remission. *Obes Surg*. 2017;27(4):917-925.
337. Debédat J, Clément K, Aron-Wisniewsky J. Gut Microbiota Dysbiosis in Human Obesity: Impact of Bariatric Surgery. *Curr Obes Rep*. 2019;8(3):229-242.
338. Mukorako P, Lemoine N, Biertho L, Lebel S, Roy MC, Plamondon J, Tchernof A, Varin TV, Anhe FF, St-Pierre DH, Marette A, Richard D. Consistent gut bacterial and short-chain fatty acid signatures in hypoabsorptive bariatric surgeries correlate with metabolic benefits in rats. *Int J Obes (Lond)*. 2022;46(2):297-306.
339. Mukorako P, St-Pierre DH, Flamand N, Biertho L, Lebel S, Lemoine N, Plamondon J, Roy MC, Tchernof A, Varin TV, Marette A, Silvestri C, Di Marzo V, Richard D. Hypoabsorptive surgeries cause limb-dependent changes in the gut endocannabinoidome and microbiome in association with beneficial metabolic effects. *Int J Obes (Lond)*. 2023;47(7):630-641.
340. VanderLaan PA, Reardon CA, Thisted RA, Getz GS. VLDL best predicts aortic root atherosclerosis in LDL receptor deficient mice. *J Lipid Res*. 2009;50(3):376-385.
341. Pakpak J, Glasseye F, Gratiney LC, Doublechedarr MJ. Prevention of T-effect using massive glucose intake: a proof of concept. *Int J Taco*. 2017;79(4):248-54.
342. Mansukhani NA, Wang Z, Shively VP, Kelly ME, Vercaammen JM, Kibbe MR. Sex Differences in the LDL Receptor Knockout Mouse Model of Atherosclerosis. *Artery Res*. 2017;20:8-11.
343. Paigen B, Morrow A, Holmes PA, Mitchell D, Williams RA. Quantitative assessment of atherosclerotic lesions in mice. *Atherosclerosis*. 1987;68(3):231-40.
344. Teupser D, Persky AD, Breslow JL. Induction of atherosclerosis by low-fat, semisynthetic diets in LDL receptor-deficient C57BL/6J and FVB/NJ mice: comparison of lesions of the aortic root, brachiocephalic artery, and whole aorta (en face measurement). *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23(10):1907-13.
345. Tangirala RK, Rubin EM, Palinski W. Quantitation of atherosclerosis in murine models: correlation between lesions in the aortic origin and in the entire aorta, and differences in the extent of lesions between sexes in LDL receptor-deficient and apolipoprotein E-deficient mice. *J Lipid Res*. 1995;36(11):2320-8.

Publications

Les travaux originaux cités dans ce manuscrit ont fait l'objet de deux publications :

Frey S, Ayer A, Sotin T, Lorant V, Cariou B, Blanchard C, Le May C. Single-Anastomosis Duodeno-Ileal Bypass with Sleeve Gastrectomy Model in Mice. *J Vis Exp.* 2023;(192)

Frey S, Ayer A, Sotin T, Lorant V, Louis Gaubert C, Arnaud L, Crossouard S, Croyal M, Prieur X, Hadjadj S, Cariou B, Blanchard C, Le May C. Single-anastomosis duodeno-ileal bypass with sleeve gastrectomy (SADI-S) improves lipid and glucose homeostasis in Ob/Ob mice. *Obesity.* 2023, *In press.*

Communications orales

Congrès du Club SOFFCO Jeune (Paris, juillet 2021) : Importance Fonctionnelle du récepteur du LDL dans les effets adaptatifs et métaboliques après bypass gastrique de type Roux-en-Y

Congrès annuel de la Société Francophone du Diabète (SFD) (Montpellier, mai 2023) : Amélioration de l'homéostasie glucido-lipidique chez des souris Ob/Ob opérées d'une chirurgie de type SADI-S

Congrès annuel de la Société Française de Chirurgie de l'Obésité (SOFFCO) (Grenoble, 2023) : Amélioration de l'homéostasie glucido-lipidique chez des souris Ob/Ob opérées d'une chirurgie de type SADI-S

Prix et subventions

- Lauréat du programme **Postes d'Accueil Inserm**, financement de thèse sur 2 ans (2021)
- **Bourse de la fondation d'entreprise Genavie**, 9k euros (2020)
- Lauréat de la **Bourse de Recherche de la SOFFCO**, 10K euros (2020)

Titre : Impact de la chirurgie bariatrique sur le métabolisme du cholestérol : identification des mécanismes moléculaires

Mots clés : chirurgie bariatrique, obésité, dyslipidémie, cholestérol

Résumé : L'obésité est un problème majeur de santé publique qui concerne environ 20% de la population mondiale. Elle s'associe à de nombreuses comorbidités, dont le diabète et la dyslipidémie. La chirurgie bariatrique, dont les techniques sont en constante évolution, est un traitement efficace par l'obtention d'une perte de poids maintenue dans le temps et d'effets métaboliques bénéfiques. L'objectif de ce travail était l'étude des mécanismes qui sous-tendent les effets bénéfiques des chirurgies bariatriques sur le métabolisme du cholestérol.

Dans un premier temps, nous avons étudié le rôle d'un acteur central du métabolisme du cholestérol, le récepteur aux lipoprotéines de faible densité (LDLR) intestinal, sur les effets hypocholestérolémiant du bypass gastrique de Roux-en-Y (RYGB), qui est la chirurgie de référence. Dans ce travail, nous avons mis en évidence que chez la souris, une déficience spécifiquement intestinale en LDLR s'accompagnait d'une diminution de l'effet hypocholestérolémiant du RYGB en rapport avec une absorption intestinale accrue du cholestérol et une modification de l'excrétion fécale des acides biliaires.

Dans un second temps, nous avons mis au point pour la première fois chez la souris un modèle de Single anastomosis Duodeno-ileal Bypass with Sleeve gastrectomy (SADI-S), qui est une chirurgie décrite récemment ayant un fort impact métabolique. Ce modèle permet une perte de poids maintenue dans le temps.

La comparaison du SADI-S et du RYGB sur un modèle de souris Ob/Ob montrait une perte de poids et un bénéfice métabolique supérieurs après SADI-S. L'important effet hypocholestérolémiant du SADI-S était associé à une réduction de l'absorption intestinale du cholestérol et à une élimination accrue du cholestérol plasmatique.

Enfin, des résultats préliminaires encourageants suggèrent que la prévention de l'hypercholestérolémie induite par un régime riche en cholestérol après SADI-S chez des souris déficientes pour le LDLR prédisposées à l'athérosclérose est associée à une réduction de la progression de la plaque d'athérome chez les souris mâles.

Title: Impact of bariatric surgeries on the cholesterol metabolism: identification of the molecular mechanisms

Keywords: bariatric surgeries, obesity, dyslipidemia, cholesterol

Abstract: Obesity is a major public health issue which concerns approximately 20% of the population worldwide. It is associated with multiple comorbidities including diabetes and dyslipidemia. Bariatric surgeries, which constantly evolve, have emerged as an efficient therapy, allowing content weight loss and metabolic benefits. This work aimed to decipher the molecular mechanisms involved in the hypocholesterolemic effects of bariatric surgeries.

In a first time, we studied the role of a major actor of the cholesterol metabolism, the intestinal low-density lipoprotein receptor (LDLR), on the hypocholesterolemic effects of the Roux-en-Y gastric bypass (RYGB), which is the gold standard procedure. We showed that, in mice, the intestinal LDLR deficiency was associated with a reduced hypocholesterolemic effect after RYGB related to a higher intestinal cholesterol absorption and altered

fecal bile acids excretion.

In a second time, we developed, for the first time in mice, the Single anastomosis Duodeno-ileal Bypass with Sleeve gastrectomy (SADI-S), a recently described procedure with a high metabolic impact. This model allowed durable weight loss.

The comparison between SADI-S and RYGB in Ob/Ob mice showed that the former induced a higher weight loss and metabolic benefits. The strong hypocholesterolemic impact of SADI-S was associated with decreased intestinal cholesterol absorption and an increased plasma cholesterol excretion.

Finally, promising preliminary results suggest that the prevention of hypercholesterolemia induced by a cholesterol-enriched diet in mice carrying a LDLR deficiency (prone to develop atherosclerosis) is associated with a reduced progression of the atherosclerotic plaques in male mice.