



Restaurer la fonction bêta pancréatique de la souris leptine déficiente par la chirurgie bariatrique

Chloé Amouyal

► To cite this version:

Chloé Amouyal. Restaurer la fonction bêta pancréatique de la souris leptine déficiente par la chirurgie bariatrique. Endocrinologie et métabolisme. Sorbonne Université, 2019. Français. NNT : 2019SORUS010 . tel-02935890

HAL Id: tel-02935890

<https://theses.hal.science/tel-02935890>

Submitted on 10 Sep 2020

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.

Sorbonne Université

Ecole doctorale ED 394 Physiologie et physiopathologie

UMRS 1269, INSERM, équipe NutriOmics

Restaurer la fonction bêta pancréatique de la souris leptine déficiente par la chirurgie bariatrique

Par Chloé AMOUYAL GALAND

Thèse de doctorat de sciences

Dirigée par Fabrizio Andreelli

Présentée et soutenue publiquement le 4 juin 2019

Devant un jury composé de :

Pr Bruno Fève, PUPH

Président

Pr Stéphane Dalle, PU

Rapporteur

Pr Guy A. Rutter, PU

Rapporteur

Dr Bertrand Blondeau, MCU

Examineur

Pr Céline Cruciani-Guglielmacci, PU

Examineur

Pr Fabrizio Andreelli, PUPH

Directeur de thèse

Je dédie ce travail à ma famille, mon mari Edouard, mes 2 filles Margot et Lucie et ma future fille à venir.

Remerciements

Je remercie Fabrizio Andreelli de m'avoir si bien guidé et encadré tout le long de ce travail de thèse. Je te remercie Fabrizio, tout d'abord de m'avoir donné goût à la recherche lors de notre première rencontre il y a bientôt 12 ans, au tout début de mon internat. Je te remercie aussi Fabrizio pour ces nombreuses heures à discuter sciences lors de mon clinicat ! Grâce à toi j'ai décidé de poursuivre nos travaux de recherche au cours d'une thèse de sciences après mes 4 ans de clinicat. Merci Fabrizio, tu as été un directeur de thèse formidable !

Je remercie également Karine Clément de m'avoir accueillie dans son équipe. Merci Karine pour tes conseils, tes idées, les réunions et séminaires qui font avancer scientifiquement notre équipe et qui la renforcent. Merci Karine de faire régner une ambiance de laboratoire propice qui fait grandir les esprits scientifiques.

Je remercie Christophe Magnan pour m'avoir à nouveau accueillie, en mission dans son laboratoire, au début de ma thèse pour apprendre la technique d'isolement des îlots pancréatiques. Je te remercie Christophe pour les nombreux échanges scientifiques que nous avons pu avoir. Encore merci de m'avoir présenté le Pr Guy A Rutter chez qui je vais faire mon année de mobilité l'an prochain.

Je remercie Claudiane Guay et Romano Regazzi pour leur collaboration dans ce travail, leur expertise concernant les microARN et leurs précieux conseils. Merci Claudiane et Romano pour avoir toujours répondu à mes questions, parfois des plus naïves.

Je remercie Judith Aron-Wisnewskey pour nos collaborations fructueuses scientifiques. Merci à toi Judith pour ton amitié et tes conseils avisés.

Je remercie Christine Rouault pour m'avoir tant appris techniquement. Merci Christine pour ta patience, ta pédagogie, parfois il fallait vraiment partir de la base ! Merci encore pour ta disponibilité, j'ai vraiment beaucoup appris de tes explications et conseils, et j'essaie maintenant de les transmettre à mon tour ! Grâce à toi, je ne me sens plus perdue dans un laboratoire.

Je remercie Florian Marquet pour son expertise d'immunologiste concernant la cytométrie en flux. Merci Florian pour ta maîtrise technique et ton aide, à nous deux, nous avons apporté une nouvelle expertise au laboratoire ! Merci aussi pour toutes ces discussions scientifiques endiablées autour du tableau noir de la cuisine. Merci aussi pour ton amitié, et nos discussions de couloir !

Je remercie Jean Debédât pour son soutien, son aide scientifique et surtout pour toutes les heures passées à l'animalerie pour nos manip souris. Merci de toute l'aide que tu m'as apportée concernant les animaux. Jean, nous avons débuté notre thèse en même temps, dans le même bureau et avons développé une amitié solide. Merci à toi mon partenaire de congrès, que de bons moments passés ensemble et non définitivement, ma première impression était faussée, tu n'as rien d'hautain !

Merci à la team souris pour tous ces sacrifices passés ensemble, quelle efficacité et que de rigolades !

Merci à tous les autres, Lise ma voisine, merci pour tous ces moments de complicités ainsi que ton aide pour les souris, Pierre, cher collègue, merci pour tous nos échanges scientifiques mais également non scientifiques (!) et merci pour tes conseils, Camille, merci pour ton aide avec les souris et pour ta constante gentillesse, Cindy, merci pour ta douceur, tes conseils et ton moral toujours positif, Geneviève merci pour les conseils et les échanges de jeunes maman, Pauline, merci pour ta bonne humeur quotidienne, j'espère avoir été un bon guide pour ton M2, Adèle, Léa, Lais et Anna, Nicole, Marc... mes voisin(e)s de bureau avec qui on a passé de si bon moments.

Merci à toute l'équipe NutriOmic, toujours aussi soudée et merci particulièrement à toi Michèle pour tes conseils avisés, c'est sûr cela m'a aidé à avoir mon poste d'accueil INSERM !

Enfin, je remercie mes parents, mes frères et sœurs (Gregory, Simon et Elise) ainsi que mon mari Edouard, et mes 2 filles Margot et Lucie pour être avec moi et faire mon bonheur au quotidien, merci pour votre soutien tout le long de ce travail.

Sommaire

Remerciements	2
Sommaire	4
Introduction	7
Diabète de type 2 et obésité, problèmes de santé publique	7
Epidémiologie du diabète	7
Diagnostic du diabète	9
Complications du diabète	10
Epidémiologie de l'obésité	10
Physiopathologie du diabète de type 2 : importance de la sécrétion d'insuline	12
Homéostasie normale du glucose	12
Insulinorésistance	13
La cellule bêta de Langerhans et la sécrétion d'insuline, physiologie	15
Anomalies de l'insulinosécrétion	20
Prise en charge thérapeutique des patients diabétiques de type 2	25
La chirurgie bariatrique, traitement du diabète de type 2 ?	27
Les différentes techniques de chirurgie bariatrique	27
Complications de la chirurgie bariatrique-Effets indésirables	30
Effet de la chirurgie bariatrique sur les comorbidités	31
De la chirurgie bariatrique à la chirurgie métabolique	32
Mécanismes d'amélioration du diabète post chirurgie bariatrique	34
Restriction calorique	34
Hormones digestives	35
Remodelage intestinal	35
Sels biliaires	36
Rôle des micro ARN dans la fonctionnalité bêta cellulaire	53
Synthèse des micro ARN	53
Sécrétion des miRs dans le milieu extra cellulaire	54
Micro ARN et fonctionnalité bêta cellulaire	56
Micro ARN circulants, biomarqueurs de diabète de type 2 ?	57
Modèles animaux, effet de la chirurgie bariatrique sur la cellule bêta pancréatique	60
EGA, modèle animal de chirurgie bariatrique	65

Le montage chirurgical.....	65
Modèle de l'EGA chez la souris soumise au régime gras.....	66
Modèle de l'EGA chez la souris leptine déficiente (ob-ob).....	67
Hypothèses de travail et objectifs de la thèse.....	69
Question posée.	69
Hypothèses de travail.	69
Objectifs de la thèse	69
Conclusion-discussion.....	113
Evolution métabolique après EGA – Importance de la leptine.	113
Effet de la chirurgie sur le poids, la prise alimentaire et la composition corporelle.	113
Conséquences métaboliques de la chirurgie bariatrique chez la souris ob-ob	117
Conséquences sur le métabolisme glucidique, in vivo, de la chirurgie bariatrique chez la souris ob-ob	120
Tolérance au glucose après EGA	120
Implication du GLP-1 après EGA.....	121
Evolution du pancréas endocrine, étude ex-vivo après chirurgie bariatrique chez la souris ob-ob.....	122
Lipotoxicité pancréatique.....	122
L'EGA corrige l'expression de gènes connue pour être altérée dans les ilots de souris ob-ob.....	123
Contenu en insuline des ilots et sécrétion induite par le glucose ex vivo	126
Morphologie des ilots après EGA	129
Expression des micro ARN dans les ilots pancréatiques après EGA.....	131
Fonctions biologiques enrichies par l'EGA dans les ilots pancréatiques, analyse Go Term	133
Conclusion.....	135
Bibliographie.....	136
Annexe 1	164
Annexe 2	173
Technique chirurgicale, d'isolement d'ilot pancréatique et de test de fonctionnalité .Erreur ! Signet non défini.	
Technique chirurgicale (cf figure 19).....	173
Prise en charge post opératoire précoce	174
Annexe 3 :	175

Isolement d'îlot de Langerhans, étude de la sécrétion d'insuline induite par le glucose et cytométrie en flux.....	175
Isolement d'îlot de Langerhans	175
Sécrétion d'insuline induite par le glucose	175
Analyse de la composition cellulaire de l'îlot de Langerhans par cytométrie en flux ...	176
Table des illustrations.....	177
Table des tableaux	179
Restoration of pancreatic beta cell function of leptin deficient mice by bariatric surgery	180

Introduction

Diabète de type 2 et obésité, problèmes de santé publique

Epidémiologie du diabète

Le diabète est une pathologie en pleine expansion dans un contexte épidémique d'obésité dans le monde. Parmi les différents types de diabète, le diabète de type 2 (DT2) est nettement majoritaire et représente plus de 90% des cas.

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) rapporte des chiffres alarmants. Le nombre de patient diabétiques serait passé de 108 millions de personnes dans le monde en 1980 à 422 millions en 2014 (1).

En 2015, la prévalence des patients diabétiques traités pharmacologiquement (données SNIIRAM) était de 5% de la population française, soit 3,3 millions de personnes (2). Cette estimation qui ne prend en compte que les patients traités pharmacologiquement, sous-estime le nombre de patients diabétiques en France. Aux Etats Unis, en 2017, on comptait environ 24.7 millions de patients atteints de diabète (soit environ 9.7% de leur population adulte) (3). La maladie touche plus favorablement les hommes, le sexe ratio Homme/femme est de 1,5. On assiste depuis des années à une croissance inexorable de cette maladie. En effet, la prévalence du diabète augmente d'années en années (+6,0 % de patients par an entre 2000 et 2009 (4) et +2,1% entre 2010-2015 en France (2)). De surcroit, le DT2 est plus fréquent avec l'âge avançant, le pic se situe entre 80 et 84 ans pour les femmes et entre 70 et 79 ans pour les hommes (Figure 1).

Malheureusement cette augmentation devrait se poursuivre, de par le vieillissement de la population, l'augmentation de l'espérance de vie de la population générale, mais aussi l'augmentation de la prévalence de l'obésité actuellement enregistrée.

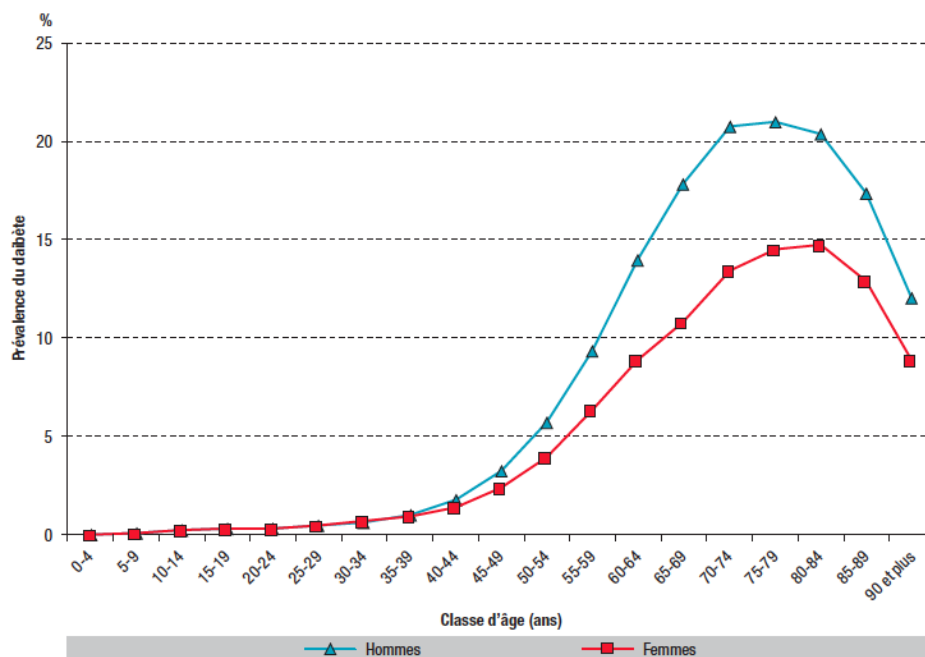


Figure 1: Répartition par âge et sexe de la prévalence du diabète traité pharmacologiquement en France en 2015. Extrait du Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire 2015 (2).

En effet, chez les patients diabétiques de type 2, la coexistence d'une obésité est fréquente. L'étude ENTRED 2010 confirmait que, en France, seuls 20 % des personnes diabétiques de type 2 étaient de corpulence normale (Indice de masse corporelle IMC < 25 kg/m²), 39 % étaient en surpoids (IMC 25-29 kg/m²) et 41 % étaient obèses (IMC ≥ 30 kg/m²) (5). Ces proportions étaient à peine plus élevées dans le sous-groupe traité par insuline (36 % en surpoids et 45 % obèses). Des données plus actuelles seront publiées prochainement puisqu'un 3^{ème} volet de l'étude ENTRED (ENTRED 3) est actuellement en cours (avec un objectif de 13000 patients diabétiques français inclus durant l'année 2019).

Par ailleurs, on constate que la proportion de patients obèses parmi ceux souffrant de DT2 varie selon les ethnies et est plus fréquente dans les pays d'Afrique du nord que dans le continent asiatique (6). Enfin, il existe une inégalité socio-économique face au diabète, qui est entre 1.5 et 2 fois plus fréquent en cas de précarité (2).

Diagnostic du diabète

En France, le diagnostic du diabète, se base sur le dosage de la glycémie à jeun mesurée à 2 reprises selon les recommandations de la Haute Autorité de Santé (HAS, cf Tableau 1) (7).

Lorsque la glycémie à jeun se situe entre 1.1 g/l (6 mmol/l) et 1.26g/l (7 mmol/l) on parle d'hyperglycémie à jeun modérée, au-delà de 1.26g/l (7 mmol/l) (contrôlé à 2 reprises), il s'agit d'un diabète.

Outre la glycémie à jeun, si la glycémie à 2h d'une hyperglycémie provoquée par voie orale à 75g de glucose (HGPO) excède 1.4g/l (7,7 mmol/l) sans dépasser 2g/l (11 mmol/l), il s'agit d'une intolérance au glucose. En cas de glycémie supérieure à 2g/l (à 2h d'une HGPO) ou bien mesurée à n'importe quel moment de la journée et accompagnée de symptômes cliniques d'hyperglycémie (syndrome polyuro-polydypsique, amaigrissement) : on pose également le diagnostic de diabète.

L'American Diabetes Association (ADA) propose une autre définition basée sur l'hémoglobine glycosylée (HbA1c) seule, dont le seuil de diagnostic pour le diabète est > 6,5% (48 mmol/mol) (8).

Tableau 1 : Diagnostic de diabète selon les différentes conditions (HAS et OMS (7))

Conditions de mesure	Glycémie	Diagnostic
A jeun	<1,1g/l	Normal
	1,1g/l-1,26g/l	Hyperglycémie à jeun modérée ou prédiabète
	>1,26g/l	Diabète
HGPO 75g à 2h	1,4g/l-2g/l	Intolérance au glucose
	> 2g/l	Diabète
N'importe quel moment de la journée, si symptômes associés	> 2g/l	Diabète

Complications du diabète

Au-delà d'être fréquent, le diabète est une maladie grave ; ses redoutables complications réduisent fortement l'espérance de vie des patients. En effet, le déséquilibre glycémique chronique favorise l'apparition de graves complications microangiopathiques (insuffisance rénale chronique, cécité, plaie du pied et amputations) et macroangiopathiques (infarctus du myocarde, accident vasculaire cérébral, artériopathie oblitérante des membres inférieurs notamment) (9–11). En 2013, les patients traités pharmacologiquement pour un diabète avaient un taux d'hospitalisation pour infarctus 2,2 fois plus élevé que la population générale, un taux pour un AVC 1,6 fois supérieur et pour une plaie du pied 5 fois supérieur (12). Également, la mise en route d'une épuration extra rénale pour insuffisance rénale terminale était 9 fois plus fréquente chez ces patients comparé à la population générale (12). En 2012, le nombre de décès relatifs au diabète était estimé par l'OMS à 1.5 millions, mais pouvait être relevé à 3.7million en incluant les décès imputables aux maladies cardiovasculaires (6). On comprend donc tout à fait que cette maladie de par sa fréquence et de par les comorbidités qu'elle engendre soit devenu un véritable fardeau socio-économique. En 2017, l'ADA (American Diabetes Association) estimait que les coûts liés au diabète aux USA étaient d'environ 327 milliards de dollars dont 237 milliards de prise en charge médicale et 90 de perte de productivité ; soit un coût économique pour la société par patient diabétique 2.3 fois plus élevé que les personnes non diabétiques (en ajustant sur l'âge et le sexe) (3). Ces chiffres alarmants font du diabète un véritable problème de santé publique nécessitant la mise en œuvre de mesures efficaces pour induire un contrôle adéquat de la glycémie.

Epidémiologie de l'obésité

Tout comme le diabète de type 2, l'obésité est en expansion continue depuis plusieurs années (13,14).

L'obésité est définie par un indice de masse corporelle ($IMC = \text{poids} / \text{taille au carré}$) supérieur à 30 kg/m² (15), l'obésité est dite modérée (classe I) lorsque l'IMC est entre 30 et 35, sévère (classe II) pour un IMC entre 35 et 40 et massive (classe III) si l'IMC dépasse les 40 kg/m² (Figure 2).

$$\text{IMC} = \frac{\text{poids (en kg)}}{\text{taille}^2 \text{ (en m}^2\text{)}}$$

Classification	
Maigreur	< 18,5
Normal	18,5 - 24,9
Surpoids	25,0 - 29,9
Obésité classe I	30,0 - 34,9
Obésité classe II	35,0 - 39,9
Obésité classe III	≥ 40,0 ²

Figure 2 : Indice de masse corporelle (IMC), extrait de Obepi 2012 (16)

Les enquêtes françaises observationnelles Obepi-INSERM (1997, 2000, 2003, 2006, 2009, 2012) (16,17), ont permis d'évaluer la prévalence de l'obésité et du surpoids de la population adulte française en analysant un échantillon représentatif de la population, soit plus de 25000 personnes, dans chacune des études. Les résultats de ces enquêtes sont sans équivoque, la prévalence de l'obésité continue d'augmenter. Cependant alors que la croissance de la prévalence cette maladie était en moyenne de 0,5% par an depuis 20 ans, pour la première fois, cette dernière a stagné entre 2009 et 2012. Les enquêtes Obepi relevaient, en 2012, un surpoids chez 32.3% de la population adulte française et une obésité chez 15% des adultes contre 31.8% et 14,5% en 2009. L'augmentation de la prévalence de l'obésité reste plus importante chez les femmes et les populations à niveau socio-économique plus faible (16).

De plus, il est bien établi que l'obésité est associée à l'augmentation de la mortalité cardiovasculaire (18), indépendamment des différents facteurs de risques cardiovasculaires (19). Il apparaît même que, la surmortalité secondaire à l'obésité persiste chez les patients ayant normalisé leur poids, en comparaison à des personnes n'ayant jamais été en surpoids (20). Selon l'enquête Obepi 2012, en France, près de 35% des personnes obèses présentent une HTA traitée, plus de 26% une dyslipidémie et 16% un diabète (16). Ces chiffres sont quasiment superposables à ceux rapportés par une étude observationnelle, aux Etats-Unis, en 2004 (21).

Enfin il faut souligner que la prévalence de l'obésité et du surpoids augmente avec l'âge. Le vieillissement secondaire à l'augmentation de l'espérance de vie est un facteur reconnu d'augmentation de la prévalence de l'obésité (16).

Du fait de ses graves comorbidités, l'obésité a un impact important sur l'économie de santé publique (22). Une étude américaine observationnelle a montré, après 6 ans de suivi, que, parmi les patients obèses, près de 50% avaient une baisse de leur productivité salariale et que cette population consultait beaucoup plus de médecins que les personnes en bonne santé (88% plus) (23).

Toutes ces observations soulignent la pertinence des préoccupations de santé publique et socio-économique de l'Organisation Mondiale de la Santé vis-à-vis de cette pathologie qu'est l'obésité.

Physiopathologie du diabète de type 2 : importance de la sécrétion d'insuline

L'apparition progressive et insidieuse du diabète de type 2 (DT2) est provoquée par une perturbation du métabolisme glucido-lipidique qui semble tout d'abord conduire à une insulino-résistance dans l'ensemble de l'organisme et notamment au niveau hépatique et musculaire (squelettique). Face à l'insulinorésistance et la demande accrue en insuline, la cellule β pancréatique parvient pendant plusieurs années à adapter la production et la sécrétion d'insuline à la demande.

Homéostasie normale du glucose

L'homéostasie glucidique consiste en un maintien physiologique de la glycémie à des niveaux stables en période post absorptive (jeûne) et post prandiale.

En période de jeûne, 75% de la captation du glucose a lieu au sein de tissus non dépendants de l'insuline (50% dans le cerveau, 25% au niveau du foie, du tissu gastro intestinal et du rein) et 25% au sein de tissus sous la dépendance de l'insuline (majoritairement les muscles) (24). En situation post absorptive, pour subvenir aux besoins métaboliques des organes, il existe une production endogène de glucose qui a principalement lieu dans le foie (glycogénolyse et néoglucogénèse) et de façon minoritaire (15%) dans le rein.

En période post prandiale (24), l'élévation de la glycémie, stimule l'insulinosécrétion ce qui a pour conséquence :

- Une freination de la production hépatique de glucose (PHG)
- Une augmentation de la captation périphérique du glucose (foie, intestin et muscles et tissu adipeux)

Insulinorésistance

L'insulinorésistance est caractérisée par une réponse altérée des tissus cibles à des taux physiologiques d'insuline. La baisse de l'insulinosensibilité des tissus cibles est la conséquence d'une altération de la réponse cellulaire à l'insuline (modulation de la transduction de son signal intra cellulaire) (25). Comme expliqué ci-dessus, l'insuline régule la production hépatique de glucose (PHG) par le foie (action inhibitrice sur la néoglucogénèse particulièrement) ainsi que la captation du glucose par les tissus cibles (action stimulante au niveau du foie et du tissu intestinal ainsi que les tissus périphériques : muscles et tissu adipeux principalement).

De nombreuses études anciennes utilisant la méthode du clamp euglycémique hyperinsulinémique combinée avec du glucose marqué ont permis de démontrer que les patients atteints de DT2 avaient besoin d'une concentration plus élevée d'insuline pour freiner leur PHG en comparaison aux sujets sains (26). La capacité de l'insuline à freiner la PHG en cas de DT2 est donc altérée, c'est l'insulinorésistance hépatique (26). Cette élévation de la PHG est à l'origine de l'hyperglycémie à jeun objectivée en cas de DT2.

Également, la captation du glucose par le muscle est réduite chez les patients DT2 (27). Enfin, l'insulinorésistance adipocytaire se traduit par une non freination de la lipolyse accrue et une élévation des acides gras libres circulants (26) qui lorsqu'ils s'accumulent dans les tissus, participent à l'insulinorésistance hépatique et musculaire. L'accumulation des acides gras libres dans les tissus périphériques induit une insulinorésistance par altération de multiples voies impliquées dans le métabolisme du glucose : altération de la signalisation du récepteur de l'insuline, du transport de glucose, de la phosphorylation du glucose, du cycle de Krebs (24).

D'autre part, le tissu adipeux en excès au cours de l'obésité présente des caractéristiques inflammatoires actuellement bien décrites. En effet, l'augmentation de la taille adipocytaire en cas d'obésité participe à la production de cytokines inflammatoires (Tumor Necrosis factor alpha, interleukine 6) et au recrutement macrophagique local (28). Les cellules immunitaires recrutées dans les tissus adipeux sont, elles-mêmes, génératrices de cytokines inflammatoires. Un autre acteur de l'inflammation chronique de bas grade pourrait être le microbiote intestinal. Les acides aminés à chaînes branchées, élevés dans le sérum de patients DT2, sont connus pour leurs effets délétères sur l'insulinosensibilité via l'activation du Mammalian Target of Rapamycin Complex 1 (mTORC1) et sa cible le ribosomal protein S6 kinase bêta-1 (S6K1). Le microbiote de patients DT2 est enrichi en bactéries promouvant la synthèse de ces acides aminés branchés (29). Par ailleurs, le transfert de microbiote de patient mince à un patient obèse avec syndrome métabolique semble améliorer l'insulinosensibilité des receveurs (30). De plus, l'exposition de

souris nourries au régime hyperlipidique a pour conséquence une augmentation de l'endotoxémie soit un passage de lipopolysaccharide (élément de la membrane de bactéries gram négatives) dans la circulation sanguine (31). L'inflammation chronique induite participe à l'altération de la transduction du signal de l'insuline sur son récepteur, à l'origine de l'insulinorésistance (28).

Au total, l'insulinorésistance a pour conséquence (Figure 3) :

- Augmentation de la néoglucogénèse hépatique et baisse de la captation périphérique (muscles surtout) du glucose
- Augmentation de la lipolyse et des acides gras libres circulants, accumulation excessive dans les tissus cibles
- Compensation pancréatique de l'insulinorésistance : augmentation de la production d'insuline
- Inflammation de bas grade dans le tissu adipeux, le foie, le muscle et le pancréas (infiltration macrophagique, et sécrétion de cytokines inflammatoires par les tissus) qui potentialisent l'insulinorésistance

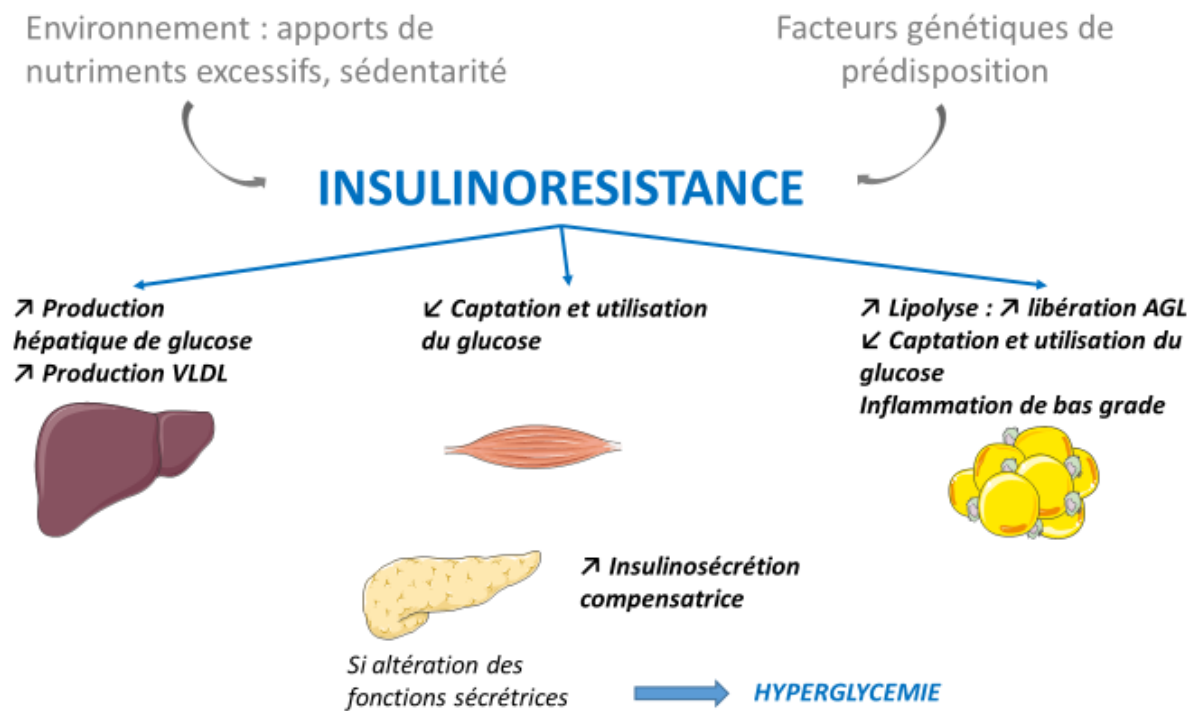


Figure 3 : Insulinorésistance, conséquences sur les tissus cibles

VLDL : very low density lipoprotein, AGL : acides gras libres

La cellule bêta de Langerhans et la sécrétion d'insuline, physiologie

Biosynthèse de l'insuline

Le gène de l'insuline est bien conservé au cours de l'évolution. Contrairement à l'homme, les rongeurs (rats et souris) possèdent 2 exemplaires du gène de l'insuline (Ins1 et 2). Composé de 3 exons et 2 introns il est exprimé exclusivement dans la cellule bêta pancréatique. La transcription du gène de l'insuline est sous la dépendance de plusieurs facteurs de transcription (FoxO1, Pdx1, MafA, Pax6 et Nkx6.1) (32,33). L'ARNm est traduit en pré-pro-insuline qui est clivé en pro-insuline dans la lumière du réticulum endoplasmique (étape 1 Figure 4). Dans le Golgi, la conversion en insuline se fait en 2 étapes : clivage au niveau de l'extrémité C terminale de la pro-insuline par les proconvertases 2 et 3 (étapes 2 et 3, Figure 4). Ensuite, l'hydrolyse des 2 dipeptides latéraux par une carboxypeptidase permet la libération du peptide C et de

l'insuline au sein des vésicules de sécrétions en stockage (étape 4, Figure 4). Le peptide C et l'insuline seront donc co-sécrétés en quantité équivalente.

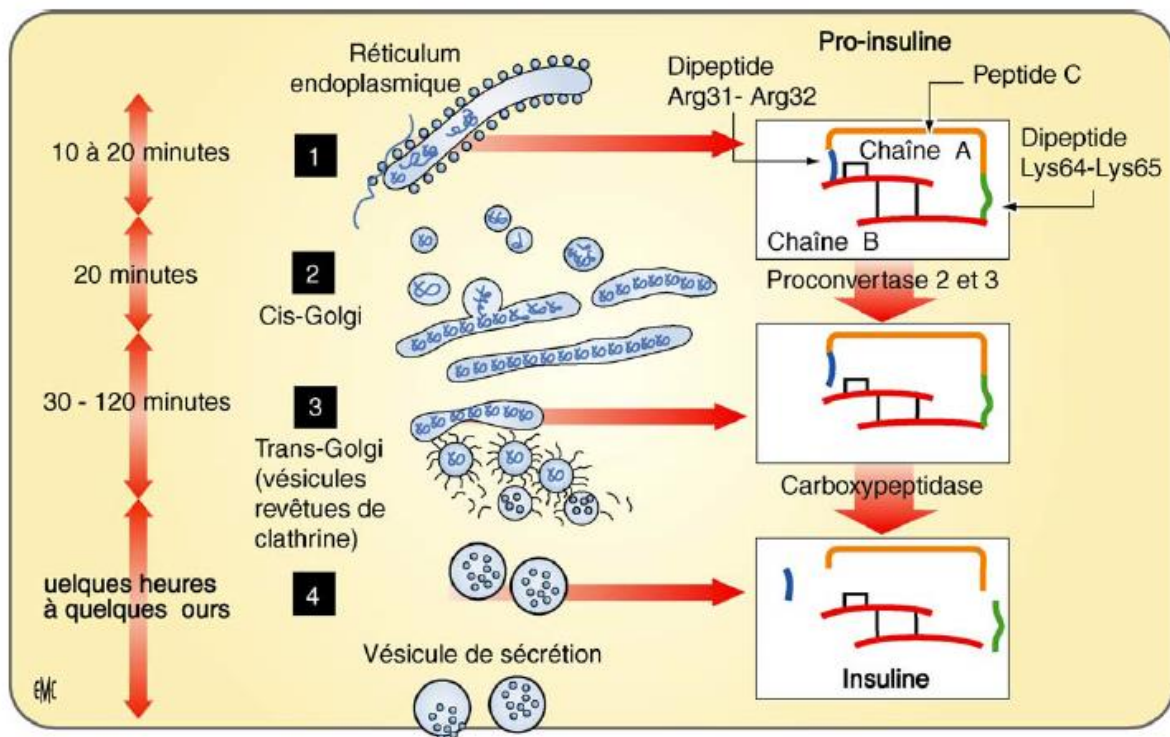


Figure 4 : Biosynthèse de l'insuline dans la cellule bêta pancréatique. Extrait de Magnan C. et al. (32).

Sécrétion de l'insuline

La sécrétion d'insuline par la cellule bêta pancréatique est dépendante de plusieurs facteurs, le glucose est le principal médiateur mais les acides gras en aigu et les acides aminés ainsi que certaines hormones et neurotransmetteurs sont également acteurs. La sécrétion d'insuline est biphasique : la première phase appelée aussi phase précoce est immédiate et dure moins de 10 minutes, elle correspond à la libération des vésicules d'insuline préformées. La seconde phase plus lente est maximale aux environs de 60 min, elle est dépendante du métabolisme mitochondrial, de facteurs de couplage et du flux de calcium intra cellulaire (Figure 5, (34)). Outre les 2 phases d'insulinosécrétion, il est connu que la sécrétion d'insuline est pulsatile. Ces oscillations semblent avoir leur importance physiologique puisque la perte du caractère

pulsatile fait partie des anomalies fonctionnelles de la cellule bêta dans la maladie du diabète de type 2 (35). Un autre élément essentiel pour une réponse adaptée du pancréas endocrine à l'hyperglycémie est la capacité des cellules bêta à coopérer entre elles. En effet, par l'intermédiaire de jonctions (assurées par des protéines membranaires, les connexines), la réponse sécrétoire des cellules bêta à l'hyperglycémie est coordonnée.

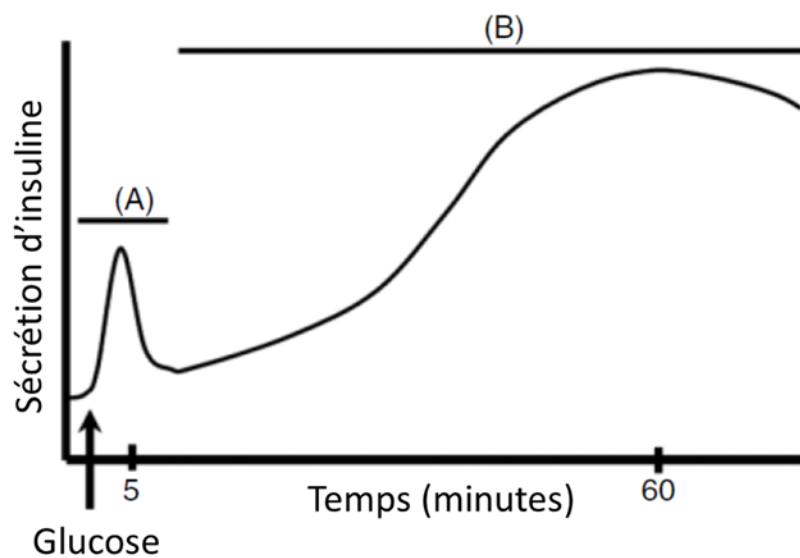


Figure 5 : Sécrétion d'insuline biphasique.

(A) phase précoce, (B) seconde phase de l'insulinosécrétion. Adapté de Newsholme et al. (34)

Les différentes étapes de la sécrétion d'insuline stimulée par le glucose sont détaillées au sein de la Figure 6.

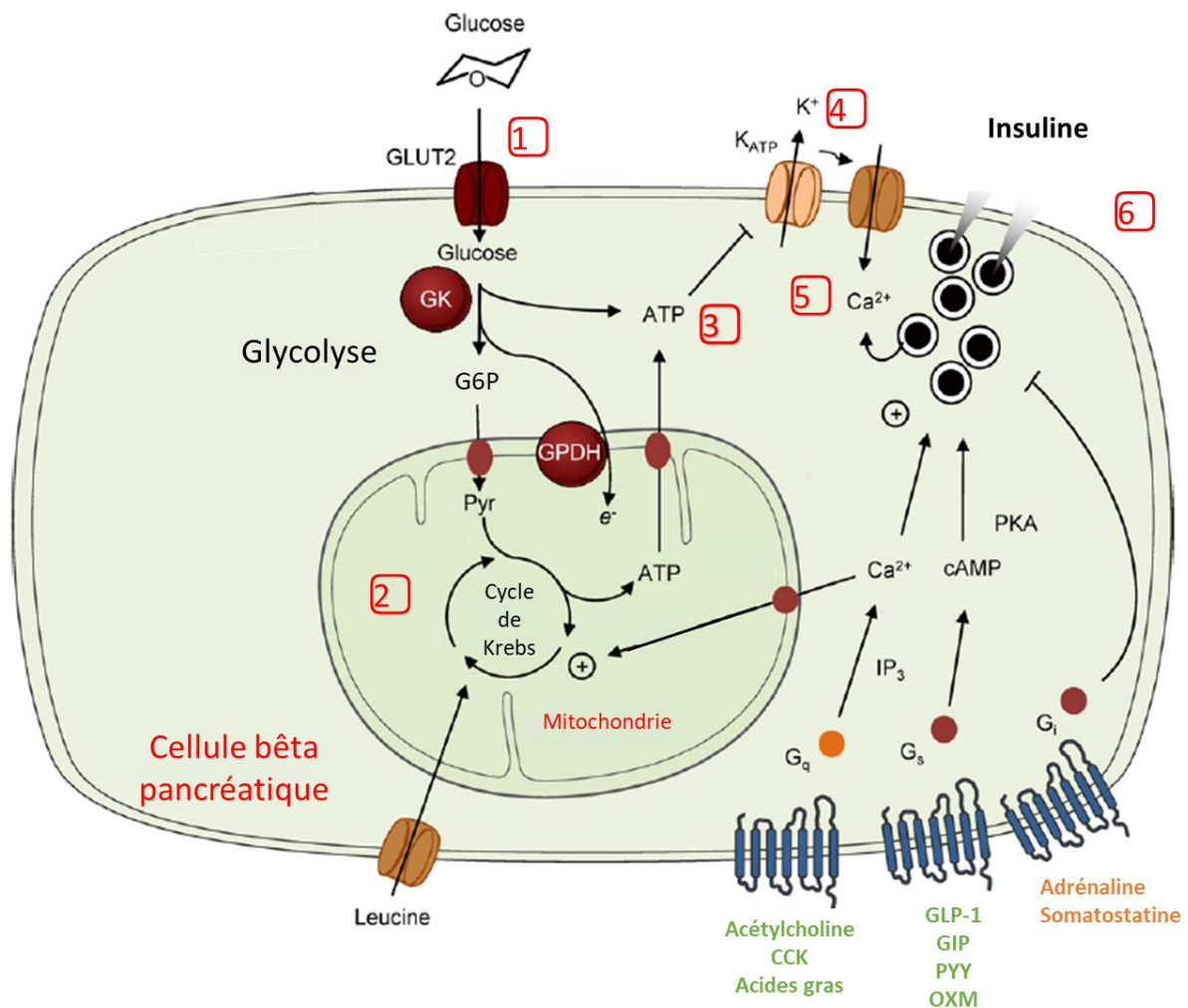


Figure 6 : Sécrétion d'insuline par la cellule bêta pancréatique. Adapté de Rutter G. et al. (33)

GLUT 2 : Glucose transporteur 2, GK : glucokinase, G6P : glucose-6-phosphate, Pyr : pyruvate, GPDH : ATP : adenosine triphosphate, cAMP : adenosine monophosphate cyclique, K⁺ : potassium, Ca²⁺ : calcium, PKA : protéine kinase A, G_q : Protéine G_q, G_s : protéine G_s, G_i : Protéine G_i, glucagon like peptide 1 : GLP-1, glucose-dependent insulintropic : GIP, cholestykinin : CCK, peptide YY : PYY et oxyntomodulin : OXM

1-Entrée du glucose via le transporteur GLUT 2 (Glucose transporteur 2) chez les rongeurs, GLUT 1 (Glucose transporteur 1) chez l'homme, puis phosphorylation du glucose par la glucokinase (GK) en glucose-6-phosphate (G6P)

2-La voie de la glycolyse est activée et s'ensuit l'oxydation mitochondriale à l'origine de la production d'ATP.

3- L'augmentation de la balance ATP/ADP inactive le canal potassique ATP dépendant (4 sous unités SUR (externes) / 4 sous unités Kir6.2 (internes))

4- La fermeture du canal potassique ATP dépendant dépolarise la membrane

5- Les canaux Ca^{2+} voltage dépendant s'ouvrent et la concentration de calcium cytosolique augmente massivement

6- Le calcium cytosolique stimule l'exocytose des vésicules d'insuline

La seconde phase de l'insulinosécrétion est plus lente et plus prolongée que la phase précoce et nécessite l'activation des voies d'amplification induite par le glucose pour maintenir une sécrétion d'insuline continue. Il semble, même si le sujet est toujours débattu, que l'augmentation du calcium intra cytosolique permet cette amplification. En effet, sous l'influence du glucose, la phospholipase C hydrolyse le phospho inositide PIP2 (phosphatidyl inositol 4-5 biphosphate) en plusieurs médiateurs : IP3 (inositol triphosphate) et DAG (diacylglycérol). Ces 2 médiateurs sont capables de stimuler une libération prolongée d'insuline en mobilisant le calcium contenu dans le réticulum endoplasmique (pour IP3) ou via l'activation de la protéine kinase C (pour le DAG). La mitochondrie semble également jouer un rôle essentiel dans le phénomène d'amplification induit par le glucose, notamment par l'intermédiaire du glutamate (32,33).

Comme nous l'avons évoqué initialement, l'insuline peut aussi être mobilisée par d'autres médiateurs que le glucose. L'architecture de l'îlot de Langerhans qui combine en plus de la cellule bêta d'autres cellules endocrines (dont les cellules alpha sécrétant le glucagon et delta sécrétant la somatostatine), une riche innervation et vascularisation, facilite les communications neuronales, hormonales et paracrines. Ainsi le contrôle de la sécrétion d'insuline, au-delà de la médiation par le glucose (qui est le principal médiateur) peut être potentialisé par des nutriments : les acides gras libres (fixation sur leur récepteur couplé aux protéines G : GPR40, les acides aminés (arginine, leucine, lysine). Certaines hormones intestinales stimulées par le passage des nutriments (glucagon like peptide 1 : GLP-1, glucose-dependent insulintropic : GIP, cholestykinin : CCK, peptide YY : PYY et oxyntomodulin : OXM) ou insulaires (glucagon) sont capables de stimuler la sécrétion d'insuline via leur fixation sur un récepteur membranaire couplé aux protéines G (Gs ou Gq), en induisant la production d'AMPc et l'activation de la protéine kinase A (via la protéine Gs) ou le médiateur IP3 (via Gq) (Figure 6). D'autres hormones (somatostatine, leptine, prolactine, GH) ont une action freinatrice de la synthèse d'insuline. Enfin, le système nerveux sympathique (via les neurotransmetteurs noradrénaline, galanine et neuropeptide Y) limite la sécrétion d'insuline de la cellule bêta, c'est une réponse physiologique au stress alors que l'acétylcholine (neurotransmetteur parasympathique principal) a une action stimulante (Figure 6).

Anomalies de l'insulinosécrétion

C'est lorsque la détérioration progressive de la synthèse et de la sécrétion d'insuline se produit que s'installe l'hyperglycémie chronique et que le DT2 est diagnostiqué.

On sait par ailleurs, notamment grâce aux résultats de l'étude UK Prospective Diabetes Study group (UKPDS) (9,10), que le diabète de type 2 s'aggrave avec le temps et ceci principalement du fait d'une réduction progressive de l'insulinosécrétion (36). On constate en effet dans cette étude une hausse inexorable de l'HbA1C au cours du temps dans la population étudiée et ceci quelle que soit la thérapeutique employée. Au cours de cette étude, il a été montré que les difficultés progressives du contrôle glycémique étaient liées non pas à l'aggravation de l'insulinorésistance (qui restait stable au cours du temps) mais plutôt à une défaillance croissante de l'insulinosécrétion. Il est donc crucial de comprendre les mécanismes précoces de dysfonctionnement de la cellule β .

Des anomalies fonctionnelles de la cellules bêta sont observés spécifiquement au cours du diabète de type 2 (et également chez les apparentés non diabétiques de patients diabétiques de type 2). On assiste tout d'abord à la perte de la phase précoce de la sécrétion d'insuline, mais également à des anomalies de pulsatilité de la sécrétion d'insuline, des anomalies de la maturation de la pro-insuline ou des défauts d'exocytose des vésicules de sécrétion d'insuline même en l'absence de carence en insulinosécrétion (37–39). De même la capacité de sécrétion d'insuline induite par le glucose d'ilots isolés de patients DT2 est réduite (40). Différents mécanismes ont été évoqués pour expliquer la dysfonction progressive de la cellule bêta dans le cas du diabète de type 2 (Figure 7).

Préserver ou restaurer une insulinosécrétion physiologique est un enjeu thérapeutique crucial et ne saurait se réduire à augmenter quantitativement la sécrétion d'insuline. Par définition, les enjeux sont de tenter de restaurer toutes les caractéristiques de l'insulinosécrétion (dont une restauration de la phase précoce) (41). En effet, les études chez les modèles animaux et chez l'homme ont montré que la restauration pharmacologique de la phase précoce était en soi suffisante pour améliorer de manière significative le contrôle glycémique (42–44). Ainsi, la cellule β est au cœur de la nécessaire escalade thérapeutique observée lors de la prise en charge du DT2.

De ce fait, malgré des progrès thérapeutiques indiscutables, le traitement du DT2 reste à être optimisé afin de récupérer (ou préserver) une insulinosécrétion physiologique. Ces arguments soulignent l'importance de la perte des caractéristiques multiples d'une insulinosécrétion dite

physiologique comme facteur essentiel non seulement du développement de l'hyperglycémie mais également comme facteur d'aggravation progressive du DT2.

Génétique

Ces dernières années, une littérature de plus en plus abondante s'est intéressée à l'implication de la génétique dans la pathogénicité du diabète de type 2. Le développement de nouvelles approches génomiques notamment via les études d'associations pangénomiques ont permis d'identifier plus d'une centaines de variants génétiques fréquents (SNP) et communs associés au diabète de type 2 (45). Ces variants, sont pour la plupart exprimés dans la cellule bêta pancréatique et impliqués dans son développement, sa fonctionnalité et sa survie (40,46,47).

Cependant, l'existence de variants génétiques ne permet d'expliquer qu'une partie de la part génétique associée au diabète. En effet l'épigénétique semble jouer un rôle important (48,49), tout comme la régulation post-transcriptionnelle par des ARN non codants (47). En effet, parmi les ARN non codants, les micro ARN, d'importants régulateurs post transcriptionnels des gènes, ont un impact crucial sur la fonctionnalité bêta cellulaire (cf sous chapitres Rôle des micro ARN dans la fonctionnalité bêta cellulaire).

Gluco-lipotoxicité de la cellule bêta pancréatique

De plus, l'hyperglycémie chronique et l'excès d'acides gras libres circulants exposent la cellule bêta à une lipotoxicité et/ou une glucotoxicité, situations à la suite desquelles la fonctionnalité de la cellule bêta se trouve altérée. En effet, il a été démontré que la glucolipotoxicité, impactait les capacités d'insulinosécrétion notamment en majorant le stress du réticulum endoplasmique et le stress oxydatif (augmentation de dérivés réactifs de l'oxygène, ROS) de la cellule bêta pancréatique (38,50–52). Cependant, cette situation paraît être réversible. En effet, la perte de poids massive faisant suite à une chirurgie bariatrique semble réduire le phénomène de lipotoxicité des ilots pancréatiques des patients DT2, notamment en normalisant leur contenu intra-pancréatique en triglycérides (53). Ce phénomène pourrait participer à l'amélioration de la sécrétion d'insuline observée chez ces patients.

Masse bêta pancréatique

Chez l'homme, des données autopsiques suggèrent que les anomalies de sécrétion d'insuline sont, au moins, la conséquence d'une réduction de la masse cellulaire bêta pancréatique par

accroissement de l'apoptose et réduction de la néogénèse cellulaire bêta pancréatique mais ceci est très controversé (54). Cependant, la faible réduction de la masse cellulaire bêta pancréatique observée chez les patients diabétiques comparés au sujets sains ne semble pouvoir expliquer seule les anomalies de l'homéostasie glucidique de ces patients (55).

Dédifférenciation de la cellule bêta pancréatique

De plus, de récentes études suggèrent que la réduction observée de la masse bêta cellulaire pourrait être plus la conséquence d'une dédifférenciation des cellules bêta pancréatiques plutôt qu'une mort cellulaire (56). En effet, ces cellules bêta dédifférenciées ayant perdues leurs caractéristiques bêta cellulaires (perte d'expression de l'insuline et des facteurs clé de transcription (FoxO1, Pdx1, MafA, Pax6 et Nkx6.1)) expriment toujours la chromogranine A (marqueur de cellule endocrine) (Figure 9). Certains travaux récents suggèrent également que la cellule bêta pourrait, au-delà de se dédifférencier, se trans-différencier, c'est-à-dire se convertir en d'autre type cellulaire pancréatique endocrine comme la cellule alpha (Figure 8) (57,58). La cellule alpha serait moins susceptible au stress induit par les nutriments tels que le stress oxydatif mitochondrial ou le stress du réticulum (59), le phénomène de trans-différenciation pourrait être une protection de la masse cellulaire bêta pancréatique contre le stress métabolique. Il est ainsi possible que à un stade avancé de diabète, il persiste des cellules bêta dont le nombre est sous-estimé par l'absence de marqueurs identifiés, spécifiques d'une cellule bêta dédifférenciée (60).

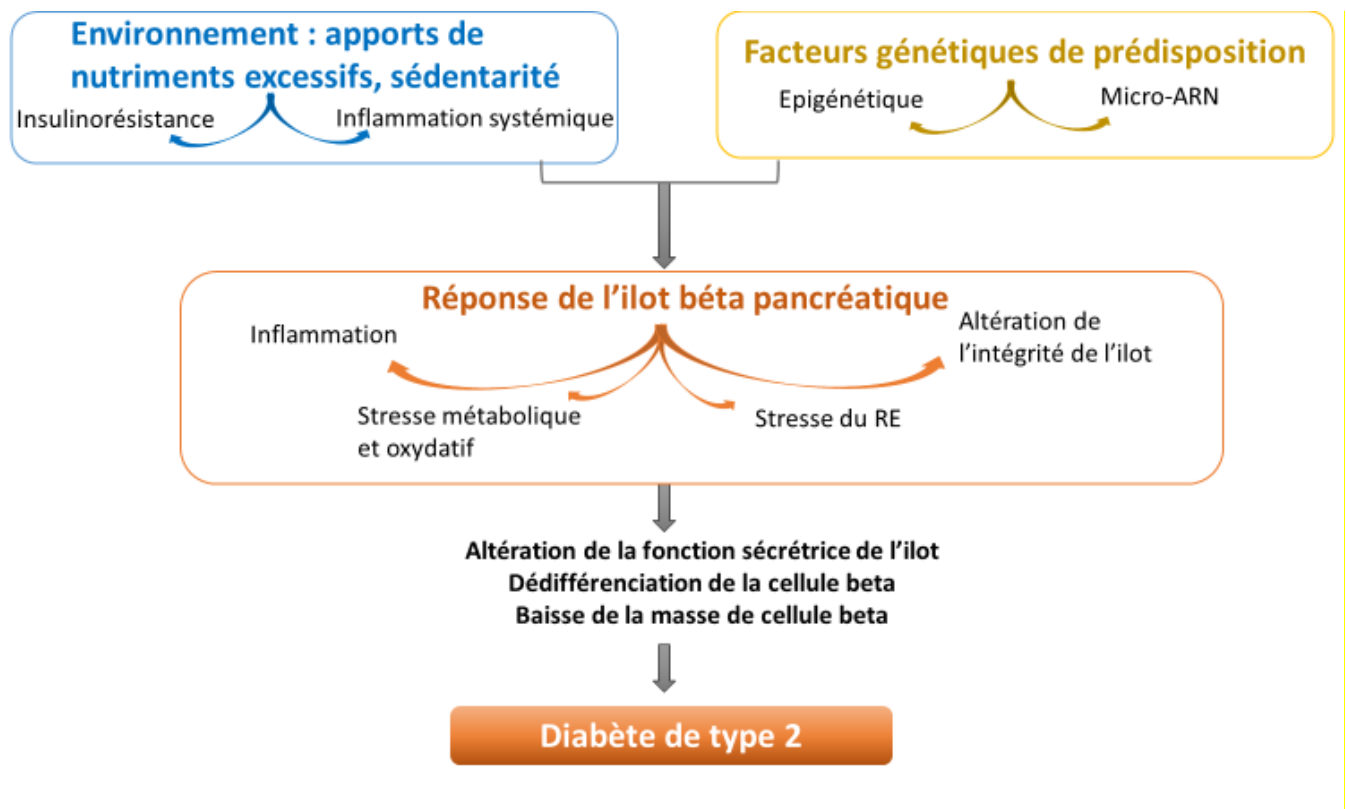


Figure 7 : Pathogénicité du diabète de type 2. Facteurs conduisant à la dysfonction bêta cellulaire. Adapté de Halban et al, (47).

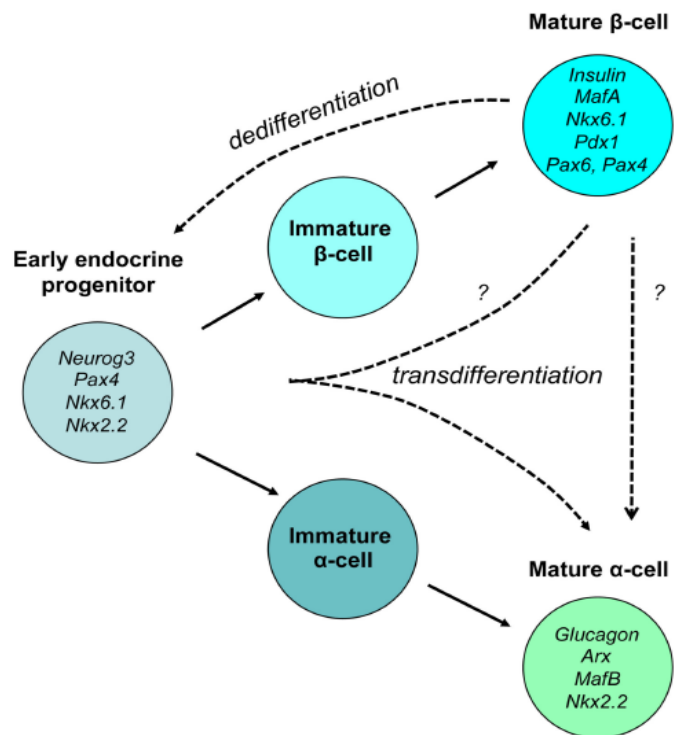


Figure 8 : Dédifférenciation et trans-différenciation de la cellule bêta pancréatique. Extrait de Brereton, et al (61)

Prise en charge thérapeutique des patients diabétiques de type 2

On constate que la prise en charge des patients diabétiques n'est pas encore optimale si l'on se réfère aux recommandations nationales et internationales (62). Nous pouvons tout d'abord considérer le dépistage des complications. En France, pour l'année 2007 (5), moins de 40% de patients ont eu un ECG annuel, 40% une HbA1C, 50% un fond d'œil, 25% un dépistage de l'albuminurie et 75% un dosage des paramètres lipidiques. Cependant, malgré cette surveillance incomplète, le dépistage et la prise en charge de complications du diabète s'améliorent progressivement cette dernière décennie (5). Ceci est parallèle à de nouvelles réflexions et stratégies de prise en charge globale des patients en développement (éducation thérapeutique, réorganisation de l'offre de soins...) (63).

Nous pouvons également considérer le contrôle glycémique. La pharmacopée hypoglycémiante est riche de plusieurs familles de composés qui sont introduits progressivement en une escalade thérapeutique (64) (Tableau 2). Celle-ci permet fort heureusement de contrôler l'équilibre glycémique le plus longtemps possible afin d'éviter les complications de microangiopathie. Néanmoins, des progrès thérapeutiques restent à faire. Ainsi, l'étude ENTRED montre qu'en France, en 2009, 50% des patients diabétiques de type 2 ont une HbA1c > 7% (objectif thérapeutique pour la majorité des patients DT2) malgré une bithérapie (5). Ceci témoigne des difficultés de prise en charge qui ne sont pas forcément inhérentes au parcours de soins mais qui doivent tenir compte également de la complexité de la pathologie. Préserver ou restaurer une insulinosécrétion physiologique est un enjeu thérapeutique crucial et ne saurait se réduire à augmenter quantitativement la sécrétion d'insuline. Les traitements hypoglycémiants actuels n'ont pas (ou faiblement) d'effet suffisant capable de prévenir la dégradation progressive du pancréas endocrine (Tableau 2). Les effets des thérapeutiques disponibles sur le renforcement de la sécrétion d'insuline sont variables. En effet, la restriction calorique, la perte de poids, les sulfamides hypoglycémiants, les analogues de GLP-1 ou les inhibiteurs de DPP-IV potentialisent surtout la phase secondaire de l'insulinosécrétion et ont des effets plus modestes et inconstants sur la phase précoce alors même que le contrôle de celle-ci est la clef du contrôle métabolique du DT2 (65–69). Les analogues de GLP-1 ont un effet bénéfique sur la phase précoce mais cet effet est inconstant (30% de patients diabétiques de type 2 sont répondeurs) et fugace dans le temps (ce qui conduit à la recommandation de l'arrêt de ce traitement soit en cas de non réponse soit en cas d'épuisement de l'effet au cours du temps) (64,70). Ainsi, la cellule β est au cœur de la nécessaire escalade thérapeutique observée lors de la prise en charge du DT2.

Il est donc nécessaire de proposer des stratégies innovantes de prise en charge.

Tableau 2 : Différentes classes thérapeutiques antidiabétiques disponibles en France en 2019

Classes	Molécules et noms de spécialités		Baisse HbA1c (71)	Mécanismes d'action
Biguanides	Metformine (Glucophage®)		1,0 – 2,0	↓↓ Production hépatique de glucose, ↑ utilisation du glucose par les tissus périphériques
Sulfamides hypoglycémiants	Glibanclamide (Daonil®), Glipizide (Glibenese®, Ozidia®, Minidiab®), Gliclazide (Diamicon®), Glimepiride (Amarel®)		1,0 – 1,5	↑↑ sécrétion d'insuline par fermeture du canal potassique ATP dépendant de la cellule bêta
Glinides	Repaglinide (Novonorm®)		0,5 – 1,0	↑ sécrétion insuline, fermeture du canal potassique ATP dépendant
Inhibiteurs de l'α-glucosidase	Acarbose (Glucor®), Miglitol (Diastabol®)		0,5 – 1,0	↓ glucose postprandial, baisse d'absorption intestinale du glucose
Analogues du GLP-1	Exenatide (Bydureon®, Byetta®), Liraglutide (Victoza®), Dalaglutide (Trulicity®)		0,5 – 1,5	↑↑ sécrétion insuline, ↓ sécrétion glucagon, perte de poids (satiété)
Inhibiteurs de DPP-4	Staglipatine (Januvia®, Xelevia®), Vildagliptine (Galvus®), Saxagliptine (Onglyza®)		0,5 – 0,8	↑ GLP-1 endogènes, ↑ sécrétion insuline, ↓ sécrétion glucagon
Insulines	Action rapide	Insuline humaine (Actrapid®, Insuman®, Umuline®), Insuline lispro (Humalog®), Insuline asparte (Novorapid®, Fiasp®), Insuline glulisine (Apidra®)	1,0 – 2,5	↓ Production hépatique de glucose, ↑↑ utilisation périphérique du glucose ↑Poids
	Action semi-lente	Insuline humaine (Insulatard®, Umuline NPH®)		
	Action lente	Insuline glargine (Lantus®, Abasaglar®, Toujeo®), Insuline detemir (Levemir®), Insuline degludec (Tresiba®)		
	Action mixtes	Insuline humaine (Mixtard®, Umuline profil®), Insuline lispro (Humalog mix®), Insuline asparte (Novomix®)		
Associations	Eucreas® (Metformine+Vildagliptine), Glucovance® (Metformine+Glibanclamide), Janumet® (Metformine+Sitagliptine), Komboglyze® (Metformine+Saxagliptine), Velmetia® (Metformine+Sitagliptine)			
	Xultophy® (insuline degludec+liraglutide)			

La chirurgie bariatrique, traitement du diabète de type 2 ?

Chez certains patients massivement obèses, la modification de style de vie et les interventions diététiques ne suffisent plus à obtenir une perte de poids significative (72,73). Il est dans ce cas, souvent nécessaire d'avoir recours à un traitement chirurgical de leur obésité (chirurgie bariatrique) afin d'assurer à la fois une réduction pondérale et un meilleur contrôle des comorbidités. Ces huit dernières années, face à l'augmentation de la prévalence des formes sévères d'obésité, le recours à la chirurgie bariatrique a doublé à travers le monde (74). En France, selon les dernières recommandations de l'HAS (2009) (75), la chirurgie bariatrique peut être envisagée chez des patients présentant un IMC supérieur à 40 kg/m² ou supérieur à 35 kg/m² associé à au moins une comorbidité susceptible d'être améliorée après la chirurgie (notamment 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, stéatohépatite non alcoolique). La chirurgie bariatrique est une thérapeutique de 2^{ème} intention, elle n'est proposée qu'après échec d'une prise en charge médicale, nutritionnelle, diététique et psychothérapeutique bien conduite pendant 6-12 mois, soit en l'absence de perte de poids suffisante ou en l'absence de maintien de la perte de poids.

Les différentes techniques de chirurgie bariatrique

Les techniques restrictives pures

- L'anneau gastrique ajustable

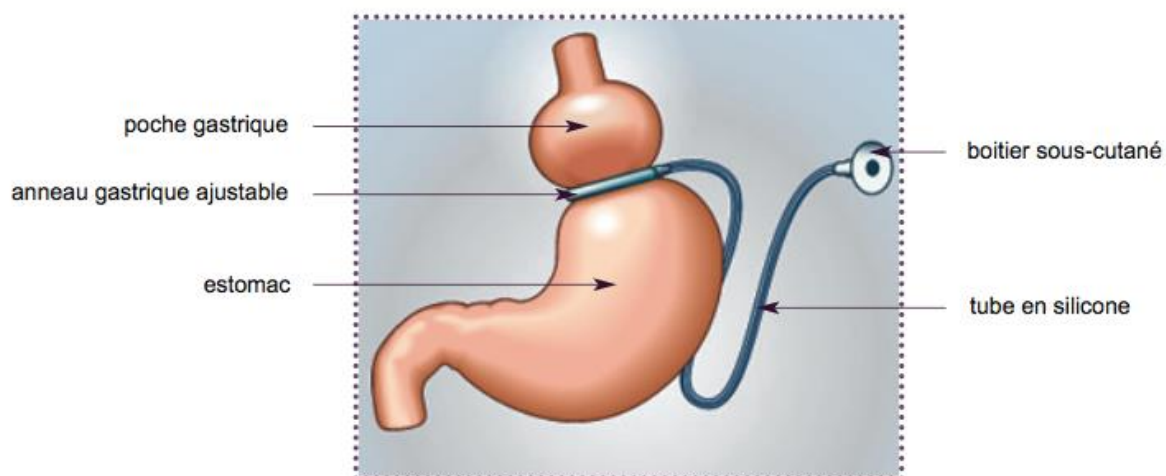


Figure 9 : Anneau gastrique ajustable, extrait de l'HAS

Ces dernières années, l'anneau gastrique ajustable (figure 9) est de moins en moins pratiquée. Cette intervention vise à diminuer le volume de l'estomac et à ralentir le passage des aliments. Elle ne perturbe pas la digestion des aliments. Un anneau (dont le diamètre est modifiable) est placé autour de la partie supérieure de l'estomac, délimitant ainsi une petite poche. Peu d'aliments sont nécessaires pour remplir cette poche et la sensation de satiété apparaît rapidement. Les aliments vont s'écouler très lentement selon le principe du sablier (76).

- La sleeve gastrectomie

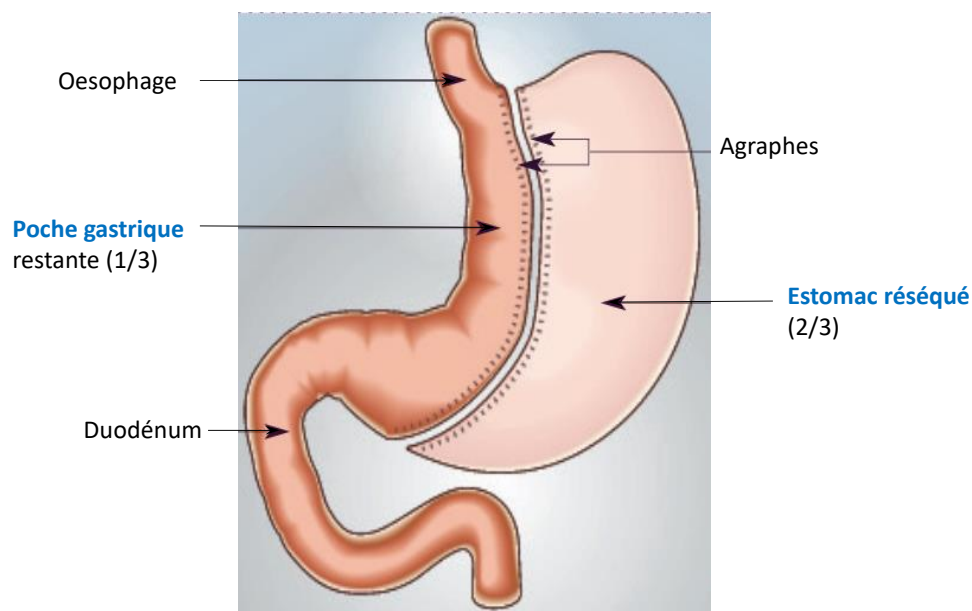


Figure 10 : Sleeve gastrectomie, adapté de l'HAS

La sleeve gastrectomie (SG) ou gastrectomie longitudinale (figure 10) en manchon est désormais la chirurgie bariatrique la plus pratiquée dans le monde (74). Cette technique restrictive consiste à retirer (de manière irréversible) environ les 2/3 de l'estomac et, notamment, la partie contenant les cellules pariétales fundiques sécrétant la ghréline. L'estomac est donc réduit à un tube vertical et les aliments passent rapidement dans l'intestin qui reste fonctionnellement normal (il n'y a donc pas de malabsorption). Cette technique chirurgicale prisee permet d'obtenir une perte pondérale conséquente avec des comorbidités limitées

(77,78). La SG constitue parfois la première étape d'une chirurgie plus complexe (dérivation biliopancréatique ou bypass gastrique) (79).

D'autres techniques sont à la fois restrictives et malabsorptives.

Les techniques à la fois restrictives et malabsorptives (ou mixtes)

- Le bypass gastrique selon la technique du Roux en Y

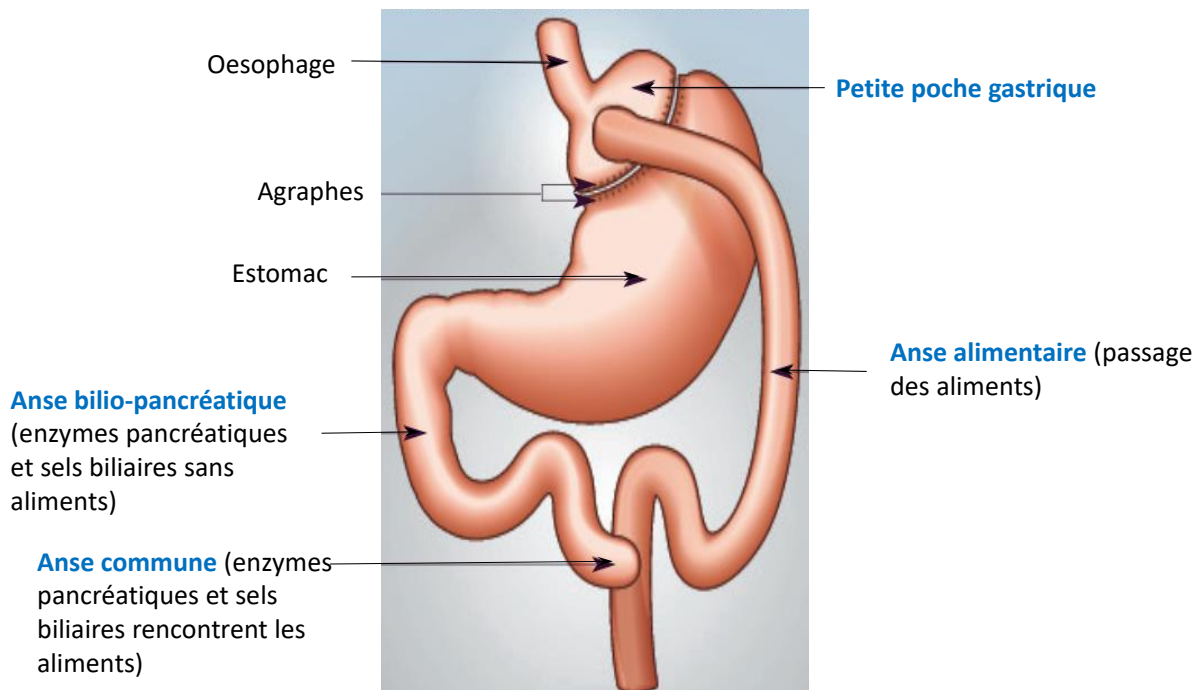


Figure 11 : Bypass gastrique selon la technique de Roux en Y, adapté de l'HAS

Le by-pass gastrique selon la technique de Roux en Y (RYGB) (figure 11) reste, après la sleeve gastrectomie, le montage chirurgical le plus pratiqué (74). Le RYGB consiste à exclure de manière réversible du tractus alimentaire la majeure partie de l'estomac ainsi que le duodénum et le jéjunum proximal. Pour se faire, une partie de l'estomac est sectionnée pour ne conserver qu'une poche de 30 ml. Le jéjunum distal est anastomosé à la poche gastrique de 30 ml (c'est le phénomène de bypass) créant une anse alimentaire. Le jéjunum proximal restant libre est abouché à l'iléon, à une distance d'1 mètre de l'appendice, créant ainsi une anse exclue du circuit alimentaire : l'anse bilio-pancréatique. Les sécrétions pancréatiques et biliaires ne seront

au contact du bol alimentaire que dans l'anse commune qui détermine la longueur de l'intestin ayant des capacités d'absorption, en particulier des lipides.

- La dérivation biliopancréatique

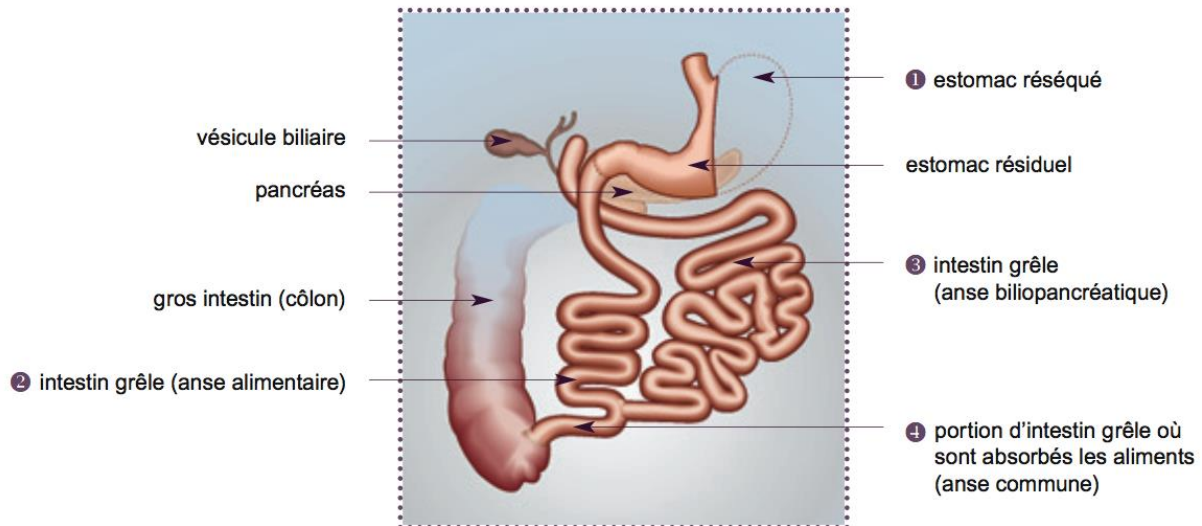


Figure 12 : Dérivation biliopancréatique, extrait de l'HAS

La dérivation biliopancréatique (figure 12) est une technique complexe, restrictive et surtout malabsorptive, peu utilisée en France. Elle consiste dans un premier temps à réaliser une gastrectomie longitudinale, puis à provoquer une malabsorption. La malabsorption est la conséquence de deux actions différentes : l'exclusion du duodénum ainsi que de tout le jéjunum du tractus alimentaire et l'anastomose de ces anses exclues dans l'intestin grêle proche de l'appendice soit au niveau de l'iléon distal. Ainsi l'absorption des aliments, aidée par les sécrétions biliopancréatiques, ne se fait que sur une très courte distance, ce qui provoque une malabsorption beaucoup plus importante que dans le bypass gastrique (80). Le risque de dénutrition en est d'autant augmenté.

Complications de la chirurgie bariatrique-Effets indésirables

Les risques liés aux procédures chirurgicales (taux de mortalité et de morbidité) ont récemment été évalués au cours d'une méta-analyse incluant 164 articles (dont 37 essais randomisés et contrôlés) (81). De façon rassurante, la mortalité post opératoire globale (anneau gastrique, SG

et RYGB) est basse (0.08% en péri opératoire et 0.31% post opératoire au-delà de 1 mois). Le RYGB, est considéré comme une technique chirurgicale sûre, son taux de mortalité péri opératoire (0.08%) est proche de celui de l'appendicectomie non compliquée et son taux de reprise chirurgicale n'est que de 2.56% (contre 9% pour la SG) dans cette étude (81).

Par ailleurs, du fait de comorbidités préopératoires fréquentes, les patients candidats à la chirurgie bariatrique sont souvent polymédicamentés. Plusieurs publications ont suggéré que l'absorption et la demi vie de certains médicaments pouvait être modifiées par la chirurgie bariatrique (82). En effet, l'absorption médicamenteuse est dépendante de la surface membranaire d'absorption, du pH local, de la lipophilicité (capacité de la molécule à passer à travers une membrane bilipidique) et dans certains cas, de transporteurs intestinaux spécifiques. Or, certains paramètres sont susceptibles d'altérer l'absorption médicamenteuse après RYGB et SG : le volume de la poche gastrique est réduit et son pH est plus élevé, la vidange gastrique s'accélère et dans le cas du RYGB les sels biliaires sont absents dans l'anse alimentaire (anse intestinale qui reçoit en premier le contenu de la vidange gastrique). De plus, la supplémentation systématique en inhibiteurs de la pompe à protons en post opératoire participe dans certains cas à l'altération de l'absorption des molécules (83). Ainsi, l'utilisation de psychotropes (84), d'anti-rétroviraux (85), et d'autres molécules nécessitent une surveillance étroite de leur efficacité et de leur concentration en post opératoire afin de limiter le sous ou sur dosage de molécules.

L'effet de la SG sur l'absorption des anti-rétroviraux a fait l'objet d'un travail en parallèle à ce travail de thèse (article annexe : Sleeve gastrectomy in morbidly obese HIV patients : Focus on anti-retroviral treatment absorption after surgery. Chloé Amouyal, Marion Buyse, Lea Lucas-Martini, Déborah Hirt, Laurent Genser, Adriana Torcivia, Jean-Luc Bouillot, Jean-Michel Oppert, Judith Aron-Wisniewsky, Obesity Surgery, 2018)

Effet de la chirurgie bariatrique sur les comorbidités

Une abondante littérature montre que les comorbidités de l'obésité et la mortalité sont réduites par la chirurgie bariatrique (86–90). L'étude S.O.S. (Swedish Obesity Study) (86) est la première étude d'intervention prospective randomisée ayant comparé l'effet de la chirurgie bariatrique aux règles hygiéno-diététiques. Les différentes chirurgies bariatriques proposées aux patients étaient le bypass gastrique, ou l'anneau gastrique ajustable ou la gastroplastie verticale calibrée. Dans cette étude, à 2 ans de suivi, les patients ayant bénéficié d'une chirurgie bariatrique avaient perdu plus de poids (23% du poids initial) que le groupe sous régime seul

(qui avait repris leur poids initial). Les comorbidités liées à l'obésité étaient améliorées de façon significative par la chirurgie bariatrique sur les 10 ans de suivi (86) et le nombre d'évènements cardiovasculaires étaient significativement réduits à 15 ans de suivi (91). Les chiffres rapportés par la méta-analyse de Chang et al. sont spectaculaires, le taux de rémission des dyslipidémies, hypertension, diabète, syndrome d'apnée du sommeil dépasse les 80%, après RYGB dans les études randomisées contrôlées analysées. Outre la réduction des comorbidités, la chirurgie bariatrique a montré une nette diminution du risque de mortalité toute cause, d'environ 30% après ajustement chez ces patients à haut risque (92). Alors que la réduction pondérale et les comorbidités à court terme post RYGB sont similaires aux effets de la SG (77), il semble y avoir une perte de poids plus durable et une amélioration métabolique plus prononcée après le RYGB au-delà de la première année (81,93).

De la chirurgie bariatrique à la chirurgie métabolique

De toutes les complications de l'obésité, le diabète de type 2 apparaît particulièrement sensible à la chirurgie bariatrique (94).

Depuis les années 90, la littérature chirurgicale rapporte que le RYGB est capable de faire disparaître le diabète de type 2 de façon indépendante du poids, à un temps très précoce. L'amélioration des glycémies après cette intervention est très rapide, et s'observe dans la semaine qui suit la chirurgie, avant même que l'on puisse noter une perte significative du poids des patients (94).

De plus, dans un contexte de restriction calorique similaire, lors d'une HGPO, l'insulinosécrétion est plus rapide et plus accentuée chez les patients opérés d'un bypass gastrique, comparés aux patients ayant un anneau gastrique (95). Les mécanismes impliqués dans l'amélioration du diabète après ces 2 types de chirurgie bariatrique passent probablement par différentes voies mécanistiques.

Ces dernières années, le concept de rémission du diabète post chirurgie a émergé. L'American Diabetes Association a établi des critères précis : une rémission partielle du diabète se caractérise par une HbA1C inférieure à 6,5% avec une glycémie à jeun entre 100 et 125mg/dl ; la guérison complète se définit par une HbA1c < 6% et une glycémie à jeun inférieure à 100 mg/dl. Dans les 2 cas, cette définition est portée en l'absence de thérapeutique antidiabétique, 1 an après la chirurgie bariatrique. La rémission est dite prolongée après 5 ans de suivi (96). Les chiffres avancés par les différentes études sont spectaculaires et l'on estime qu'une rémission du DT2 est observée à 2 ans post opératoire dans 60 à 83 % des cas (97–99). La SG

tout comme le RYGB permettent une amélioration de l'homéostasie glucidique chez les patients. Cependant les patients opérés d'un RYGB atteignent plus volontiers la rémission de leur diabète sans traitement comparé à la SG à 5 ans de suivi (90). Enfin, même sans atteindre la rémission du diabète, la chirurgie bariatrique a un effet nettement supérieur sur le contrôle glycémique que les règles hygiéno-diététiques (100).

Il apparaît cependant que le RYGB n'a pas les mêmes effets bénéfiques sur l'équilibre glycémique chez tous les sujets diabétiques de type 2. Les études cliniques suggèrent que l'amélioration de l'homéostasie glucidique serait dépendante à la fois de la durée d'évolution du diabète précédant la chirurgie et de sa gravité (101,102). Ainsi, avoir un diabète évoluant depuis plus de 10 ans ou traité par insuline avant l'intervention serait un facteur prédictif défavorable pour la disparition de cette maladie (101,102). De plus, on voit apparaître, après plusieurs années de suivi, des cas de rechute du diabète chez 30 à 50 % des patients qui étaient auparavant en rémission (90,103,104). Les facteurs impliqués dans la rechute du diabète évoqués dans les différentes études sont, la faible perte de poids à 1 an post opératoire, la reprise de poids durant le suivi, la sévérité du diabète précédant la chirurgie (104). Quoi qu'il en soit, les patients, même en rechute, gardent un meilleur équilibre glycémique qu'en préopératoire.

Ces résultats spectaculaires sur l'équilibre glycémique des patients diabétiques par la chirurgie bariatrique a fait émerger récemment le concept de chirurgie métabolique (105). Les auteurs recommandent un algorithme de prise en charge chirurgical des patients obèses grade II et III diabétiques et proposent même de « considérer » une prise en charge chirurgicale des patients obèses grade I (IMC entre 30 et 35 kg/m²) dont le diabète n'est pas contrôlé par les traitements conventionnels (105).

Mécanismes d'amélioration du diabète post chirurgie bariatrique

Article 1 : Debédât J., Amouyal C et al, *Seminars in Immunopathology*, in press

L'amélioration du profil des glycémies des patients après un bypass gastrique est la conséquence d'une augmentation précoce de l'insulinosensibilité ainsi que de l'insulinosécrétion dans un contexte de restriction calorique intense (106).

Ces dernières années, de nombreuses équipes ont cherché à comprendre les différents mécanismes potentiellement impliqués dans l'amélioration de l'homéostasie glucidique post RYGB.

Les mécanismes mis en jeu sont complexes et certainement multiples et suggèrent que le montage chirurgical lui-même, par les modifications anatomiques qu'il crée, induit des mécanismes spécifiques sur la sécrétion d'insuline et la sensibilité à l'insuline. Nous avons détaillé dans une revue récente (Debédât J., Amouyal C et al, *Seminars in Immunopathology*, in press) certains mécanismes décrits dans la littérature pouvant participer à la rémission du diabète post RYGB (cf article et Figure 13).

Restriction calorique

Tout d'abord nous évoquons l'impact de la réduction de calories ingérées et de la perte de poids après une chirurgie bariatrique. Dans l'année qui suit la chirurgie, les patients subissent une réduction drastique de leur prise alimentaire, expliquée à la fois par une réduction de la poche gastrique et par une augmentation de la satiété (élévation d'hormones digestives anorexigéniques et baisse de la ghréline hormone orexigénique) (107,108). Cependant, la restriction calorique sévère en aigüe est plutôt connue pour induire une dégradation de la sensibilité à l'insuline chez l'obèse et même induire une véritable insulino-résistance chez les sujets sains (109).

De même, la quantité de perte de poids induite par la chirurgie semble être essentielle pour l'amélioration de l'insulinosensibilité à long terme mais n'explique pas l'amélioration du diabète observée à court terme et encore moins l'augmentation de l'insulinosécrétion (110,111). Ainsi, la restriction calorique ainsi que la perte de poids ne peuvent à elles seules expliquer complètement l'amélioration de l'homéostasie glucidique post chirurgie bariatrique.

Hormones digestives

Par la suite, nous discutons l'impact du changement de sécrétion des hormones digestives observé après chirurgie bariatrique. En effet, plusieurs hormones endocrines digestives dont le GLP-1 sont sécrétées en plus grande quantité en post opératoire. Le remodelage du tissu intestinal secondaire au montage chirurgical ou l'arrivée d'aliments non digérés dans l'intestin grêle peuvent être à l'origine des changements de sécrétions des hormones digestives (GLP-1, PYY, GIP, CCK, OXM). Une littérature abondante s'est intéressée à l'implication du GLP-1 dans l'amélioration la fonctionnalité bêta cellulaire et particulièrement sur l'insulinosécrétion (cf chapitre infra : Modèles animaux, effet de la chirurgie bariatrique sur la cellule bêta pancréatique). Le rétablissement de sécrétion de cette hormone joue très probablement un rôle dans l'amélioration de la fonctionnalité bêta pancréatique post RYGB mais n'apparaît pas être l'unique mécanisme mis en cause au vu des récentes études que nous évoquons dans la revue (notamment, certaines études portant sur des animaux invalidés pour le récepteur du GLP-1). Également, il semblerait qu'il y ait une modification de la masse bêta pancréatique après chirurgie bariatrique, mais les données de la littérature ne sont pas concordantes. Il n'y a que très peu de données sur la fonctionnalité propre de la cellule bêta après chirurgie. La littérature apporte des éléments parfois contradictoires, probablement parce que les patients diabétiques de type 2 étudiés sont très hétérogènes pour ce paramètre influencé par l'ancienneté du diabète et l'importance de la carence en insulinosécrétion. De plus, les données sur la glucosensibilité des cellules bêta pancréatiques semblent être contradictoires, parfois améliorée par le bypass gastrique (112) ou inchangée (113).

Le chapitre infra « Modèles animaux, effet de la chirurgie bariatrique sur la cellule bêta pancréatique », reprend plus en détail les questions de l'effet du GLP-1, de l'évolution de la masse bêta pancréatique et de la fonctionnalité bêta cellulaire après chirurgie bariatrique, une partie importante de la littérature concernant ces sujets, implique le support de modèles animaux.

Remodelage intestinal

Par ailleurs, il apparaît que le remodelage du tissu intestinal en lui-même pourrait participer à l'amélioration du diabète après RYGB comme récemment décrit. Tout d'abord, l'intestin hypertrophié (anse alimentaire principalement) augmenterait sa captation/utilisation du glucose participant donc à la baisse globale de la glycémie (114). Il y aurait également, une baisse de la

réabsorption totale du glucose par l'intestin (le cotransporteur sodium/glucose SGLT1 serait non fonctionnel dans l'anse alimentaire dépourvu des sels biliaires) (115).

Sels biliaires

Les acides biliaires sont décrits comme des cibles intéressantes participant à l'amélioration de l'homéostasie glucidique post bypass. Différentes hypothèses impliquant leurs récepteurs spécifiques (FXR et TGR5(116,117)) et/ou leur lien avec le microbiote ont été évoquées.

La richesse et la diversité bactérienne du microbiote semblent améliorées par la chirurgie bariatrique (118,119) et cela est associé à une modification de l'abondance de certaines espèces (120). De plus, la barrière intestinale se renforce après la chirurgie et l'endotoxémie en est réduite (121,122). Cependant, malgré tous ces effets bénéfiques observés, l'implication directe du microbiote dans l'amélioration de l'homéostasie glucidique après chirurgie bariatrique reste encore à prouver.

Enfin, le profil inflammatoire du tissu adipeux ainsi que l'inflammation systémique s'abaissent en post opératoire et participent à l'amélioration de l'insulinosensibilité (123–125).

Cependant, il faut bien comprendre que, la plupart des mécanismes évoqués dans cette revue (en dehors de l'effet du GLP-1) ciblent plus favorablement l'insulinosensibilité des patients et n'ont que peu ou pas d'impact sur l'insulinosécrétion. Or, il est important de se rappeler que l'amélioration de l'homéostasie glucidique après chirurgie bariatrique est la conséquence d'une amélioration très précoce de l'insulinosécrétion avant toute perte de poids significative ainsi qu'une amélioration drastique de l'insulinorésistance à moyen et long terme. Etudier les mécanismes impliqués dans l'amélioration de l'insulinosécrétion post chirurgie bariatrique reste donc une problématique essentielle. Pour ce faire, il est nécessaire d'avoir accès au pancréas endocrine, ce qui est rendu difficile chez l'homme. C'est pourquoi, l'utilisation de modèles animaux dans ce domaine de recherche, reste un outil indispensable.

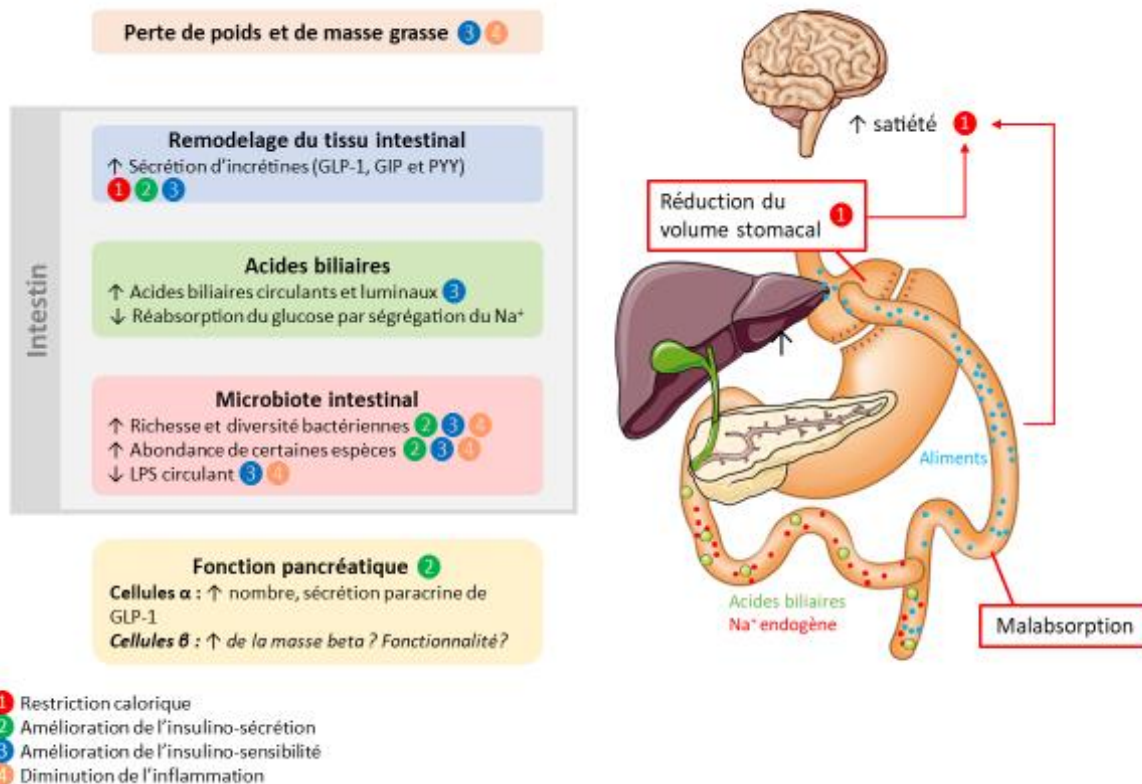


Figure 13 : Mécanismes participant à l'amélioration du diabète post RYGB décrits dans la littérature, adapté de Debédats J., Amouyal C et al (in press)

Impact of bariatric surgery on type 2 diabetes: contribution of inflammation and gut microbiome?

Jean Debédát^{1,2} · Chloé Amouyal^{1,2} · Judith Aron-Wisniewsky^{1,2} · Karine Clément^{1,2}

Received: 5 March 2019 / Accepted: 15 March 2019
© Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2019

Abstract

Obesity is a chronic low-grade inflammatory disease (both at the systemic and adipose tissue level) that continues to rise worldwide. It is associated with an abundance of comorbidities, including type 2 diabetes (T2D). Bariatric surgery, which induces modifications of the intestinal tract, is to date the most successful treatment for obesity. Its use has dramatically increased in number as it enables both weight reduction and metabolic improvements, with 60% of patients even achieving diabetes remission. Several mechanisms are actually demonstrated to be involved in those clinical improvements. Importantly, both obesity and T2D share many phenotypic characteristics, including increased systemic and adipose tissue inflammation, as well as gut microbiota dysbiosis. These characteristics are deeply modulated after bariatric surgery. This review will specifically focus on the host metabolic changes induced by bariatric surgery as regards the induced gut architectural changes, as well as on the modifications in the inflammatory tone and gut microbiota observed subsequently to bariatric surgery-induced weight loss.

Keywords Bariatric surgery · Gut microbiota · Inflammation · Type 2 diabetes · Obesity · Microbiome

Introduction

The obesity epidemic and its related comorbidities, including metabolic alterations, type 2 diabetes (T2D), cardiovascular diseases, and some cancers, continue to rise unabated [1]. Obesity is a low-grade inflammatory disease, in part due to inflammatory injuries in adipose tissue (AT) contributing eventually to moderate but chronic systemic inflammation (i.e., cytokines and circulating immune cells). Obesity-

associated low-grade inflammation has a critical role in obesity-related complication development [2]. Major progresses have been made in understanding the timeline of events leading to the onset and maintenance of adipose tissue inflammation and its links with AT structural alterations and systemic metabolism, although this has been frequently explored on mouse models. Briefly, adipocyte size increases during weight gain and participates to inflammatory cytokine production (such as tumor necrosis factor alpha (TNFα)) and chemokines (as the monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1)) [3, 4], which recruit inflammatory cells within the AT. Macrophages [5, 6] probably account for the vast majority of AT inflammatory cells (as reviewed previously [7]) and display a mixed surface marker phenotype (M1 and M2) in human obese subjects [8]. Yet, they produce a myriad of pro- and anti-inflammatory cytokines [9, 10]. Among the overall infiltrating AT macrophage, those organized in crown-like structures, which are also increased in obesity, are resolutely pro-inflammatory [11]. These cellular alterations in subcutaneous AT (scAT) are exacerbated in obese individuals with impaired glucose tolerance or T2D [6, 11, 12]. Visceral AT (vAT), an adipose depot critically related to T2D and non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) [13], is more inflammatory than scAT [5]. Perturbations of adipose cellular cross talk further contribute to maintain low-grade inflammation and

Jean Debédát, Chloé Amouyal, Judith Aron-Wisniewsky and Karine Clément contributed equally to this work.

This article is a contribution to the special issue on Inflammation and Type 2 Diabetes - Guest Editor: Marc Y. Donath

- ✉ Judith Aron-Wisniewsky
judith.aron-wisniewsky@psl.sph.fr
- ✉ Karine Clément
karine.clement@inserm.fr

¹ INSERM, Nutrition and Obesities; Systemic Approaches (NutriOmics), Sorbonne Université, 47-83 Bd de l'hôpital, 75013 Paris, France

² Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Nutrition Département, Pitié-Salpêtrière Hospital, Sorbonne Université, 47-83 Bd de l'hôpital, 75013 Paris, France

altered metabolism. As such, adipocytes-macrophages cross talks increase the inflammatory tone via (1) interleukin (IL) 1β production by macrophages and inflammasome activation in the adipocytes [14] and (2) macrophages toll-like receptor 4 (TLR-4) activation by adipocyte-released saturated free-fatty acids [4]. IL 1β production contributes to adipocyte insulin resistance.

In addition to macrophages, other inflammatory cell types, including lymphocytes [15], mastocytes [16], and neutrophils [17], contribute to a perpetual inflammatory cycle and related perturbed adipose tissue metabolism in obesity. This includes, for example, an increased ratio of helper T cells 1/helper T cells 2 (Th1/Th2) that is associated with increased markers of insulin resistance [18]. Adipose tissue lymphocytes also produce IL-22 and IL-17, two interleukins that enhance macrophage IL- 1β secretion in obese T2D patients [15]. Through IL- 1β secretion, macrophages, in return, induce the upregulation of IL-22 and IL-17 surface receptors on lymphocytes [4]. The order of events has been suggested to be as follows: T cells are recruited and activated within the AT, inducing macrophage accumulation, and this pro-inflammatory activation contributes to insulin resistance development [19]. This sequence is nevertheless debated as reviewed in [20].

Recently, the gut microbiota (GM) has emerged as a new contributor to weight gain and immune/inflammatory system imbalances. This concept has been demonstrated through fecal transfer experiments using mice [21] or human [22] donors and germ-free mice recipients and suggests that fecal GM may impact energy metabolism and immune cell activation in the AT (reviewed in [23]). An increasing number of studies has further demonstrated that a non-negligible proportion of obese subjects exhibit GM dysbiosis. This fecal GM phenotype is characterized by (1) decreased microbial gene richness (MGR) [24, 25] that worsens with the severity of obesity and metabolic alterations [26] and (2) a switch in bacterial composition with a respective increase and decrease of species with pro-inflammatory and anti-inflammatory properties [25]. Moreover, in genetically or high-fat diet-induced obese mice, an increased intestinal permeability and subsequent translocation of bacteria and bacterial components into the systemic compartment was found to lead to increased circulating lipopolysaccharide (LPS) (termed “metabolic endotoxemia”) and accumulation of AT macrophages. Both dysbiosis and altered intestinal barrier may thus contribute to the inflammatory tone and related metabolic alterations [27–29]. In human obesity, however, this concept is still challenged as intestinal permeability is subtly altered in fasting conditions, but it appears to worsen dramatically after a lipid challenge and associates with increased systemic inflammation and T2D [30].

Bariatric surgery (BS) represents a relevant model of rapid weight reduction combined with metabolic and inflammatory improvements. Recent data has also shown some improvements of GM dysbiosis, although only partial. However,

whether bariatric surgery-induced improved metabolism is firmly related to the changes of systemic and tissue inflammatory tone, as well as GM dysbiosis rescue, need detailed examination. In the current review, we focus on the effects of BS on T2D, GM, and inflammation modifications and address whether these events can be connected.

Bariatric surgery and type 2 diabetes improvement

Lifestyle modifications and/or dietary intervention are in general not sufficient to induce major and sustainable weight loss and often result in weight regain [31, 32]. The increasing prevalence of severe forms of obesity [33] has been accompanied by a surge in BS interventions, with the number of surgeries increasing twofold worldwide over the last 8 years [34]. Bariatric surgery is reserved for patients with a BMI > 40 kg/m² or a BMI > 35 kg/m² when associated with obesity-related diseases [35]. However, metabolic surgery has recently been proposed to T2D individual with BMI > 30 kg/m², yet this has not been implemented in every country's national guidelines [36]. Currently, BS can be divided into two main procedures: (1) either purely restrictive, with laparoscopic adjustable gastric banding (AGB) and vertical sleeve gastrectomy (VSG) or (2) using both restrictive and malabsorptive mechanisms, with Roux-en-Y gastric bypass (RYGB) and biliopancreatic diversion [37]. RYGB and VSG are the most widely performed types of BS worldwide [34] and as such, we will focus on these procedures, whereas LAGB constitute a good weight loss control model. Although VSG and RYGB display low and similar rates of complications, mortality [38], and comparable short term weight loss [39], RYGB tends to achieve greater weight loss and metabolic improvement in the long-term [39].

An abundance of literature demonstrates the major beneficial effects of BS in inducing major and durable weight reduction [40–42], in decreasing mortality [43] and improving many obesity-related comorbidities. As T2D improves rapidly and more significantly following BS than with intensive medical therapy [44], a new clinical concept has emerged: diabetes remission (DR), which is defined as the normalization of glycemic parameters in the absence of glucose-lowering agents 1 year post-BS [45]. DR occurs in around 60% of T2D 1 year post-BS, yet this percentage varies according to type of surgery [46]. Randomized controlled trials have demonstrated that, compared to intensive medical care, RYGB and VSG both improve glucose control, as seen by the number of patients reaching their HbA1c target. However, post-RYGB, more patients are able to remain free of glucose-lowering drugs (i.e., achieving DR) as compared to post-VSG patients [47]. Even in patients not reaching DR, a significant improvement of glycemic control is nevertheless observed, as

159 evidenced by the reduction in HbA1c [48, 49] or the number
160 of glucose-lowering agents needed to reach the HbA1c target
161 [50]. Despite these glucose metabolism improvements, how-
162 ever, T2D relapse occurs in the longer-term follow-up in 30 to
163 50% of the patients [47, 48, 51, 52] who had experienced DR
164 at 1 year. Nevertheless, these patients still display improved
165 glycemic control as compared to their metabolic status prior to
166 BS. Poor weight loss at 1 year [48], weight regain during the
167 follow-up [48, 53], and T2D severity (represented by duration
168 and number of glucose-lowering agents) and duration prior to
169 BS [54, 55] are among the different factors involved in T2D
170 relapse.

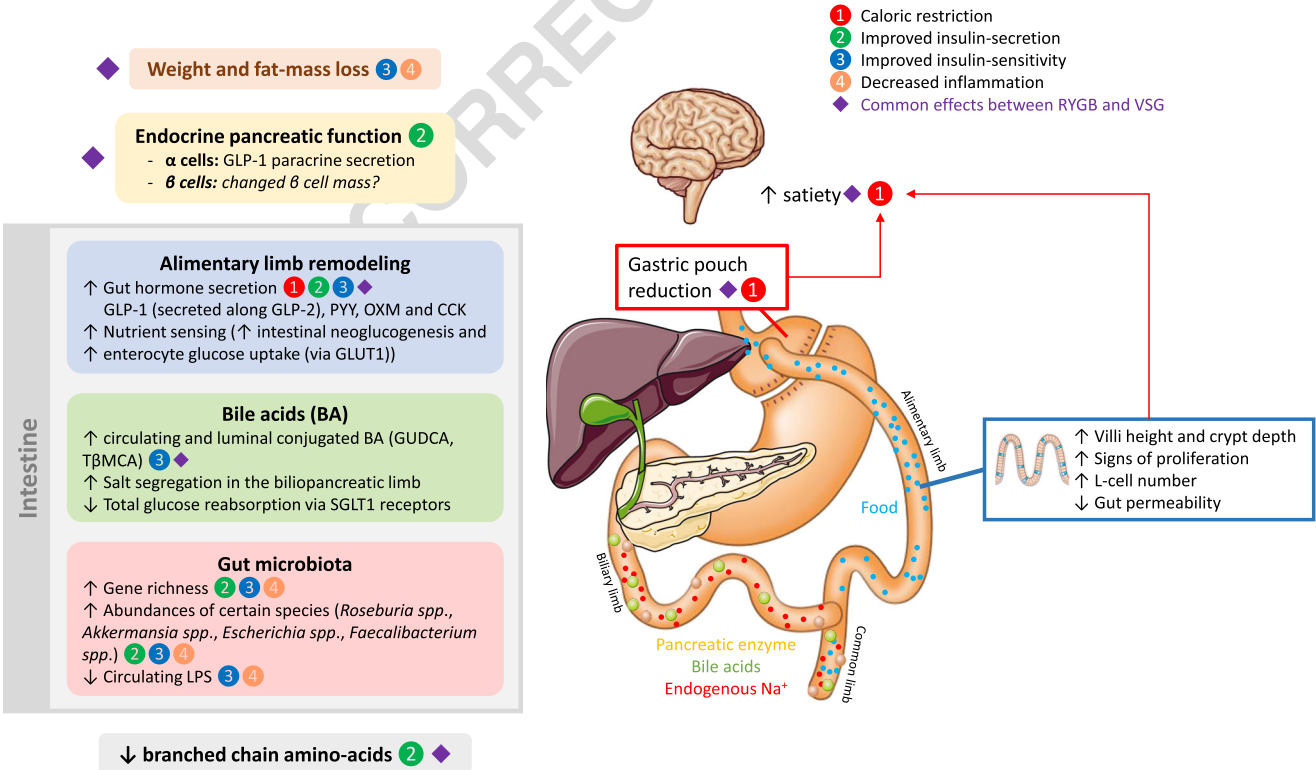
171 Since DR following BS is not universal, there has
172 been progress in developing scoring systems (DiaRem
173 [56], ABCD score [57], Ad-DiaRem [58] and
174 DiaBetter [59]) to predict patients' likelihood to achieve
175 DR 1 year following surgery. These scores use several
176 routine clinical parameters demonstrated to be involved
177 with DR or non-DR. This includes age, T2D severity,
178 and the quality of glycemic control assessed by HbA1c
179 values. Studies have compared the predictive value of
180 these scores [58–60] and confirmed that whereas the
181 DiaRem predicts well DR following surgery in certain
182 individuals [60], the Ad-DiaRem [58] performed better
183 for short term prediction (more individuals accurately

184 predicted), but neither were sufficient to accurately pre-
185 dict longer-term outcomes [54, 61–63]. A new score
186 (5y-Ad-DiaRem) including weight loss during the first
187 year post-BS has recently been shown to perform better
188 than both the DiaRem and Ad-DiaRem to predict 5 years
189 outcomes [48]. These clinical scores will be useful to
190 select and propose different patient follow-ups or even
191 future synergic therapies according to the different pre-
192 dicted outcomes.

Proposed mechanisms of type 2 diabetes remission

193194

195 Several mechanisms have been suggested to participate in
196 the beneficial metabolic outcomes post-BS. Le Roux et al.
197 have summarized these effects as the “BRAVE effect,” for
198 Bile flow diversion, gastric size Reduction, Anatomical gut
199 rearrangement, Vagal manipulation, and Enteric gut hor-
200 mone modulation [64]. Whereas those mechanisms are all
201 observed post-RYGB, only some of them occur in VSG.
202 Figure 1 condenses the different mechanisms currently de-
203 scribed as implicated in the metabolic improvements that
204 are discussed below.



Q3 **Fig. 1** Mechanisms involved in type-2 diabetes remission after bariatric surgery. GLP-1, glucagon-like peptide 1; GLP-2, glucagon-like peptide 2; PYY, peptide YY; OXM, oxyntomodulin; CCK, cholecystokinin; GLUT1, glucose transporter 1; GUDCA, glycochenodeoxycholic acid;

TβMCA, tauro-β-muricholic acid; SGLT1, sodium glucose-linked transporter 1; LPS, lipopolysaccharide; Na⁺, sodium; RYGB, Roux-en-Y gastric bypass; VSG, vertical sleeve gastrectomy

205 Caloric restriction and weight loss

206 Glucose levels improve within days post-RYGB [65], sug-
 207 gesting that immediate post-surgery caloric restriction, inde-
 208 pendently of weight loss, is critical in T2D improvement.
 209 Energy intake is drastically reduced post-RYGB or VSG
 210 [66–68], due to concomitant gastric pouch reduction [69]
 211 and enhanced satiety following rapid changes in gut hormone
 212 secretion post-BS before any significant weight loss [70, 71].
 213 This includes the increase in anorexic hormone such as cho-
 214 lecystokinin (CCK) [72], peptide YY (PYY) [73], glucagon-
 215 like peptide 1 (GLP-1) [74], oxyntomodulin (OXM) [75], and
 216 eventually the decrease in the orexigenic hormone ghrelin
 217 [76].

218 Despite these findings in the absence of weight loss, the
 219 amount of weight loss per se also seems to explain post-BS
 220 improvements in glucose homeostasis. While a 10% weight
 221 loss induced either by RYGB [74, 77], LAGB [77], or a diet
 222 restriction [74] improves glucose metabolism, RYGB im-
 223 proves β -cell function better than LAGB or dietary restriction,
 224 which is probably linked to the BRAVE effect. However, a
 225 more substantial weight loss (20% of initial body weight)
 226 similarly improved β -cell function after both RYGB and
 227 LAGB [77]. The amount of weight loss also appears impor-
 228 tant in explaining DR after different surgical procedures as
 229 individuals with poor weight loss display reduced rates of
 230 DR [51]. However, mechanisms other than energy restriction
 231 or weight loss cannot be excluded when examining diabetes
 232 improvement post-BS [65], and among them, early improve-
 233 ment of insulin sensitivity, specifically post-RYGB as com-
 234 pared to LAGB or a restrictive diet [78], has been proposed.

235 Changes in hormones and beta cell function

236 In addition to their role in the control of food intake, the
 237 impact of gut hormones on insulin secretion and insulin resis-
 238 tance have been abundantly described in the literature
 239 [79–81]. The hindgut hypotheses (i.e., rapid emptying of the
 240 gastric pouch thus enabling the direct delivery of nutrients into
 241 the ileum) may explain the modulation of the gut endocrine
 242 system post-BS [82–84]. GLP-1, synthesized by the intestinal
 243 L cells, remains the most explored of the gut hormones fol-
 244 lowing BS. T2D patients display an altered incretin effect due
 245 to reduced post-prandial GLP-1 secretion [85, 86]. The spe-
 246 cific effects of GLP-1 on the pancreas include (1) preventing
 247 β -cell death, (2) stimulating glucose-induced insulin secretion
 248 (GSIS), and (3) the expansion of β -cell mass [87]. Early fol-
 249 lowing BS, post-prandial GLP-1 secretion is enhanced and
 250 may participate to improve insulin secretion [74]. However,
 251 the role of GLP-1 in explaining glucose metabolism improve-
 252 ments post-BS has been challenged. Indeed, blocking the
 253 GLP-1 receptor with the pharmacologist antagonist exendin
 254 9-39 amide in patients post-RYGB alters insulin secretion, but

255 does not significantly modify glucose levels in either the
 256 fasting or fed state nor does it impact the subjects' glucose
 257 tolerance during OGTT [88, 89]. Similarly, the beneficial met-
 258 abolic effects of BS are not altered in mice with genetic inval-
 259 idation of the GLP-1 receptor [90, 91]. Recent evidence pro-
 260 poses a more complex mechanism of GLP-1 mediating post-
 261 BP improvements in glucose metabolism. In mice with knock-
 262 out (KO) for the GLP-1 receptor specifically in β -cells, glu-
 263 cose metabolism is not rescued after VSG, whereas it was
 264 normal in the WT counterpart. This observation suggests a
 265 contribution specifically localized GLP-1 receptors in
 266 explaining the metabolic effects of GLP-1 post-BS [92]. An
 267 alternative hypothesis proposes that GLP-1 stimulation of
 268 GSIS depends mostly on the α -cells paracrine GLP-1 secre-
 269 tion rather than that of intestinal L cells. α -Cells can indeed
 270 secrete GLP-1 by switching the expression of their
 271 prohormone convertase (PC) (i.e., favoring PC 1/3 instead of
 272 PC 2) [93, 94], thus probably explaining, in part, the results
 273 obtained in specific β -cells GLP-1 receptor KO undergoing
 274 VSG [92]. Concordantly, VSG increases the α -cells paracrine
 275 production of GLP-1, yet it still requires β -cells GLP-1 recep-
 276 tor presence [95].

277 Literature on adaptive changes of pancreatic insulin
 278 secretion post-BS started with the exploration of subjects
 279 with hyperinsulinemic hypoglycemia complications post-
 280 RYGB. Service et al. described an increased β -cell mass
 281 (i.e., nesidioblastose) upon resecting the pancreas in six
 282 patients suffering from neuroglucopenic symptoms of
 283 post-prandial hypoglycemia post-RYGB [96]. Since then,
 284 whereas one study confirmed this first finding [97], others
 285 observed no change in pancreatic β -cell mass [98, 99]
 286 post-BS. These diverging results might originate from
 287 the difficulty in directly assessing pancreatic tissue in
 288 humans. Some groups have thus evaluated β -cell mass
 289 or function using tomography or magnetic resonance im-
 290 aging to assess pancreatic triglyceride content [100]
 291 coupled with functional exploration (C-peptide
 292 production and insulin sensibility) [99]. Rather than in-
 293 crease observed previously, a decrease in pancreatic β -
 294 cell mass was shown due to the reduction in pancreatic
 295 steatosis and decreased pancreatic insulin content, a phe-
 296 nomenon suggested to be linked to pancreas adaptation
 297 following weight loss. Similarly to heterogeneous find-
 298 ings in humans, animal model studies report either en-
 299 hanced [101, 102] or decreased [95, 103, 104] β -cell mass
 300 post-BS. Differences in insulin resistance status may ex-
 301 plain such variability with decreased β -cell mass observed
 302 solely in humans or mice who predominantly improved
 303 their insulin sensibility. Nevertheless, despite the major
 304 improvement in glucose homeostasis, β -cell function is
 305 not rescued by BS and remains dysfunctional as compared
 306 to lean normoglycemic subjects [105]. Along with weight
 307 regain [48], persistent β -cell dysfunction could participate

in T2D relapse observed during follow-up, in agreement with findings demonstrating that T2D severity and duration [48] contribute to diabetes non-remission.

Interestingly, glucagon-like peptide-2 (GLP-2) is also proposed to be involved in the metabolic improvements. GLP-2, co-expressed with GLP-1 in intestinal L cells and released upon nutrient ingestion, has a beneficial trophic role on the small intestine with stimulation of crypt cell proliferation, increased bowel weight, and villus growth of both the jejunum and the ileum [106, 107]. Plasma GLP-2 significantly increases post-RYGB, concomitantly with increased crypt cell proliferation [108, 109]; thus, GLP-2 may participate to the gut hypertrophy induced by BS. GLP-2 also displays a protective effect on gut barrier function and inflammation [28]. Using prebiotics in obese mice induces higher GLP-2 circulating concentration, lower plasma LPS, and decreased systemic and hepatic inflammation together with metabolic improvements [28]. Pharmacologic agonist GLP-2 treatment reproduced the beneficial effect of the prebiotic treatment [28]. In humans, the therapeutic injection of GLP-2 in small bowel disease also results in significantly improved nutrient absorption, which is probably due to improvements in gut function and reduced inflammation [110]. Since GLP-1 and GLP-2 are co-secreted, one could wonder whether the physiological response to the anatomic changes induced by BS could be explained by enhanced GLP-2 secretion to restore the gut anatomy with GLP-1 secretion being merely driven by this adaptive effect.

Enteroplasticity and gut remodeling

Each section of the intestine is highly and functionally specialized, with nutrient absorption occurring generally in the proximal to mid-intestine (i.e., duodenum/ jejunum) whereas the gut barrier and gut peptide secretion are likely more important along the distal intestine. The intestinal mucosa is organized into a stratified inner and a larger outer layer, which is where most commensal bacteria are hosted, thus enabling the cross talk between the host and the environment. The intestine is highly plastic, as it has been shown that large surgical ileal removal [111] induces an increased cellular proliferation to increase glucose uptake. Both RYGB and VSG modify the gut anatomy, and various mouse studies using different BS techniques have described an intestinal adaptation post-BS. Whereas the non-alimentary bypassed limb tends to atrophy [112], both the alimentary and common limb show signs of hyperplasia (up to 40% weight gain, higher villus height and crypt depth, signs of proliferation, increased L cell number without changes in L cell density) post-RYGB [108, 112–114]. By contrast, whereas VSG does not induce gut hypertrophy, it results in increased number and density of enteroendocrine L cells [115].

The increased number of intestinal proglucagon-derived peptide secreting cells post-BS agrees with the above described increase of gut hormones secretion post-BS. Despite hormonal changes, modifications of nutrient sensing by the remodeled gut are also suggested to be involved in improvement of glucose metabolism post-RYGB. Troy et al. suggested that duodenojejunal bypass enhanced intestinal neoglucogenesis and portal glucose sensing thus resulting in improved insulin sensitivity [116]. More recently, it was demonstrated that BS-induced gut remodeling is different according to the BS techniques. RYGB induces intestinal hyperplasia and increased glucose uptake through increased glucose transporter 1 (GLUT-1) at the basolateral membrane of enterocytes [115] to support tissue growth [117]. By contrast, VSG is not associated with intestinal hyperplasia yet VSG mice display delayed glucose absorption. Finally, recent evidence demonstrates that bile diversion also plays a role in the decrease of intestinal glucose uptake post-RYGB [118]. Finally, since endogenous sodium contained in bile acids is necessary for glucose uptake by sodium glucose cotransporter 1 (SGLT1), it was recently demonstrated that glucose uptake (via SGLT1) occurred only in the common limb post-RYGB, thus reducing the total intestine glucose uptake and therefore improving plasma glucose.

Bile acids

Bile acids (BA) are synthesized in the liver, stored in the gallbladder, and delivered to the duodenum in response to nutrients. BA act as surfactants and play a critical role in lipid absorption. Furthermore, BA have a positive impact on pancreatic function since they are able to trigger GLP-1 secretion, through their action as natural ligands on the Takeda G protein-coupled membrane receptor (TGR5) receptor expressed in intestinal L cells [119]. Both RYGB and VSG induce modifications of fasting and post-prandial BA serum concentration and composition [103, 120–123], whereas LAGB solely reduces serum BA [120]. Although endoluminal concentration of BA post-BS does not seem to be modified in animal models [124], this needs to be evaluated in humans, especially because the BA composition differs between rodents and human. Interestingly, intrajejunal bile infusion of taurocholic acid can experimentally lower blood glucose concentration and enhance GLP-1 secretion and C-peptide/glucose ratio [125] in healthy men.

Indirect proof of the involvement of BA on weight loss and improved glucose tolerance has been demonstrated using TGR5 and farnesoid X receptor (FXR) KO mice submitted to VSG, BA being another natural ligand for FXR [119]. In TGR5^{-/-} mice, VSG fails to induce improvements in body weight, fasting glycemia, and glucose tolerance [103], thus suggesting the importance of the TGR5 signaling pathway in the improvement of glucose homeostasis post-BS. The

409 proposed mechanism of BA underlying BS-induced improve-
 410 ments in body weight and metabolism includes the reduction
 411 of systemic and hepatic inflammation, which would improve
 412 insulin signaling, but not an increase of GLP-1 or insulin
 413 secretion [103]. Furthermore, FXR^{-/-} mice undergoing VSG
 414 display impaired reduction of fasting glycemia and glucose
 415 tolerance [122]. This further suggests the importance of
 416 FXR in the improvement of glucose homeostasis post-BS.
 417 However, the complete physiological mechanisms are
 418 clouded by pharmacological studies administering agonists
 419 and antagonists of intestinal FXR displaying similar clinical
 420 effects. Indeed, both the inhibition of the intestinal FXR with
 421 either tauro-beta-muricholate (T-beta-MCA) [126] or
 422 glyoursodeoxycholic acid (GUDCA) [127], or the selective
 423 intestinal FXR agonist using fexaramine [128] improve met-
 424 abolic disorders in mice fed a HFD [126–128]. Notably, the
 425 improvement of glucose homeostasis in these pharmacologi-
 426 cal studies could merely originate from the induced weight
 427 loss or at least reduced weight gain and reduction of systemic
 428 inflammation [128]. While BA are ligands for FXR and
 429 TGR5, ultimately, the pool of bile acids (secondary vs. prima-
 430 ry) are largely important for how BA affect these signaling
 431 pathways. Most importantly, BA can influence microbiota
 432 composition, and microbiota reciprocally influence the BA
 433 pool through FXR [122, 129]; thus, it is important to examine
 434 BA in parallel with the gut microbiota.

435 **Change of gut microbiota after bariatric** 436 **surgery**

437 **Gut microbiota compositional modifications**

438 Remarkable shifts in the gut microbiota (GM) composition
 439 have been consistently described post-BS in both short-term
 440 [130–133] or long-term (> 5 years) studies [26, 134]; howev-
 441 er, there is a major inter-individual variability [135]. There is
 442 no doubt that those modifications might be partly driven by
 443 the drastic modulation of the gut architecture [136] as well as
 444 food intake reduction [24], hormonal and bile acid modifica-
 445 tion, and eventually low-grade inflammation changes.
 446 Importantly, because drugs impact microbiota composition
 447 [137], their change or even cessation due to BS-induced met-
 448 abolic improvement might also account for major GM modi-
 449 fications post-BS. Yet, this has, to date, never been examined
 450 in BS studies. For example, metformin has largely been
 451 shown to influence GM composition in both mice [138] and
 452 humans [139]. As some patients experience DR post-BS, they
 453 are able to discontinue their glucose-lowering agents follow-
 454 ing BS [48], which could account for differences in GM pro-
 455 files as compared to patients not achieving DR. Likewise,
 456 proton pump inhibitors (PPIs), systematically prescribed dur-
 457 ing the first months post-BS, induce GM modifications [140,

458 141] by increasing oral bacteria [142], a modification already
 459 observed post-BS [131, 143].

460 A recent meta-analysis [132] summarized the changes in
 461 GM composition post-BS and showed that among the
 462 plethora of bacterial changes, two genera, *Escherichia*
 463 and *Akkermansia*, have been consistently reported to
 464 strongly increased post-BS [132]. *Akkermansia*
 465 *muclniphila* abundance is associated with insulin sensitiv-
 466 ity and decreased inflammation in several studies [144,
 467 145] exploring obese subjects. Metformin is also known
 468 to increase the abundance of both *Akkermansia* and
 469 *Escherichia* [138, 139, 146], thus suggesting that BS could
 470 mimic some of the glucose-lowering effects metformin ef-
 471 fects via the microbiome. Another bacteria,
 472 *Faecalibacterium prausnitzii*, increase solely in T2D obese
 473 individuals post-RYGB, and this augmentation is correlat-
 474 ed with the improvement of systemic inflammation [130].
 475 However, whether the increase in the proportional abun-
 476 dance of these bacteria species in the GM is causally linked
 477 to improved glucose metabolism is unknown. Unpublished
 478 data from our team revealed that the marked increase in
 479 *Akkermansia muclniphila* seen after RYGB, but not
 480 LAGB, is not related to improved insulin sensitivity
 481 markers (Dao et al., in revision), albeit in severely obese
 482 subjects with marked dysbiosis that only partially im-
 483 proves after BS. In this context, a hallmark of GM modi-
 484 fications post-BS is the increase in microbial gene richness
 485 (MGR) [26, 131] with drastic amelioration of insulin sen-
 486 sitivity, adiposity, BMI, and systemic inflammation [24,
 487 26, 131]. However, morbidly obese patients post-BS do
 488 not normalize their bacterial richness in proportion to their
 489 metabolic improvements [26].

490 In the context of T2D remission, only one study has
 491 focused on the comparison of microbial changes between
 492 patients experiencing or not experiencing DR post-BS
 493 [147]. Even though only 14 patients were examined (7
 494 RYGB, 7 VSG), Murphy et al. showed that pre-surgical
 495 GM composition differed between patients who eventually
 496 experienced DR as compared to those who did not. Post-
 497 surgery, individuals experiencing DR had increasing levels
 498 of the genera *Faecalibacterium* (only RYGB) and the spe-
 499 cies *Roseburia intestinalis* (both RYGB and VSG), both of
 500 which have already been associated with decreased low-
 501 grade inflammation and improved glucose homeostasis in
 502 both humans and rodents [122, 130].

503 Although there is no doubt that GM composition is sig-
 504 nificantly changing post-BS, this association does not (1)
 505 confirm the involvement of GM in metabolic improve-
 506 ments found post-BS nor (2) provide insights into the po-
 507 tentially mechanisms involved. To decipher the relation-
 508 ship between the host metabolic improvements, BS, and
 509 GM, fecal microbiota transplantation (FMT) appears a rel-
 510 evant tool to explore causality.

Fecal transplantations effects

FMT has been scarcely studied post-BS [134, 148, 149], and only two studies provide information related to glucose homeostasis improvement [148, 149]. FMT from either post-RYGB or sham-operated obese mice into germ-free mice leads to decreased adiposity in the animals receiving post-RYGB feces. A recent study performing FMT from human to mice confirmed this effect [134]. Germ-free mice receiving FMT from patients who had undergone BS up to 9 years before gained less adiposity than those receiving FMT from non-operated obese individuals [134]. Additionally, RYGB recipients displayed decreased circulating insulin levels and HOMA-IR, while the opposite could be observed for the Sham-recipient [148], suggesting that post-BS GM could replicate some metabolic benefits of the surgery. Finally, Arora et al. performed two different FMT experiments from BS or sham-operated fa/fa rats into germ-free mice, transferring either the ileum or the cecum content as inoculum [149]. They showed that the ileal FMT (from RYGB) increased both the α -diversity and fat mass, yet altered their glucose tolerance as compared to that of ileal sham controls. By contrast, cecal FMT post-RYGB induced a significant decrease in post-prandial glucose excursion, yet there was no significant effect on weight as compared to the cecal sham control FMT. This apparent discrepancy between these observations and those previously reported by Liou et al. could also originate from the differences in the models (mice vs. rats and diet-induced obesity vs. genetic obesity and T2D) [148]. These promising yet conflicting results underline the need for replicative studies, and while further research is needed to fully determine the factors affecting GM composition following surgery, the switch in GM functionality may be a more important factor that impacts clinical outcomes post-BS.

Gut microbiota functional modification

Metabolic endotoxemia and gut barrier improvements

As previously described, obesity and T2D is associated with increased gut permeability [27–29] in mice and humans. For the latter, this occurs mostly after a lipid challenge [30]. This phenomenon is mainly driven by lipopolysaccharides (LPS), an outer membrane molecule of gram negative bacteria, which triggers inflammation via the TLR4/CD14 complex [27–29]. Literature has repeatedly reported the decrease of systemic LPS post-BS [150–154], which has even been associated with improvements in insulin resistance and glucose control [151, 153]. A recent murine study demonstrated that RYGB induced the improvement of tight-junction integrity and improved in vivo intestinal permeability together with the reduction of metabolic endotoxemia and systemic inflammation [155]. This improved intestinal permeability could originate from

(1) the observed reduction of fat intake post-BS [156] as fat intake indeed alters the gut barrier [27, 30] or (2) the increased *Akkermansia muciniphila* observed post-BS. While this latter factor needs to be further explored, supplementing mice with alive or pasteurized *A. muciniphila* is able to reduce plasma LPS and is associated with improvements of the gut barrier as well as glucose metabolism [138, 144]. Whether this is a possible mechanism in BS-induced metabolic improvement remains unknown.

Bile acids

As mentioned above, BA have an impact on glucose homeostasis post-BS and are strongly connected to GM composition. Experiments using germ-free or antibiotic-treated mice demonstrated the obligatory role of the GM to ensure the physiological production of unconjugated and secondary BA [129, 157]. As GM dysbiosis contributes to altered BA metabolism in inflammatory bowel diseases (IBD), one could wonder whether the same is also occurring in other diseases presenting with GM dysbiosis, such as obesity [145] or T2D [158]. Importantly, BS induces an increase in conjugated BA in humans and rodents [103, 120–123] which acts partly through FXR to improve glucose tolerance post-BS [122]. FXR KO mice submitted to VSG displayed differences in GM composition such as lower levels of *Roseburia* spp. [122] as compared to their wild-type counterpart. Most importantly, GM functionality linked to BA metabolism was demonstrated to significantly differ between RYGB and obese individuals without surgery. Specifically, they observed an increased abundance of microbial genes involved in the production of secondary BA, concomitantly with increased post-prandial levels of BA and fibroblast-growth factor 19 (FGF-19) post-RYGB, the latter of which is an intestinal hormone that regulates BA pools via FXR [134]. However, the link between the modifications of BA and GM had not been evaluated in this study. More recently, GUDCA has been demonstrated to be an intestinal FXR antagonist and is increased upon metformin treatment and improves glucose tolerance. Importantly, it was recently demonstrated that metformin improves glucose tolerance via the decrease of *Bacteroides fragilis* abundance which itself is correlated to GUDCA levels and acts through FXR signaling [127]. They further showed that FMT using feces of metformin-treated patients increases insulin sensitivity and levels of intestinal tauro- β -muricholic acid (T β MCA) in antibiotic-treated mice, whereas FMT using untreated patients was deleterious, similarly to the inoculation with *B. fragilis* which abrogated the beneficial effects of metformin on BA levels [127]. It is thus possible, yet unproven, that GM evolution post-BS is implicated in the observed increase of GUDCA or T β MCA, which further suggests a metformin-like action of BS on glucose homeostasis. Nevertheless, whether BS induces modification of *Bacteroides fragilis* and

614 Branched chain amino acids

615 Branched chain amino acids (BCAA) are essential amino
616 acids such as leucine, isoleucine, and valine, consisting up to
617 20% of daily amino acid intake. Although beneficial effects of
618 BCAA supplementation have been described [159–161], other
619 studies also show increased BCAA levels in obesity [22,
620 162], insulin resistance, and T2D [158, 163–167]. BCAA med-
621 iate IR through the activation of the mammalian target of
622 rapamycin complex 1 (mTORC1) and its downstream target,
623 the ribosomal protein S6 kinase beta-1 (S6K1). mTORC1 and
624 S6K1 induce insulin resistance via the inhibition of phospho-
625 rylation of the insulin-receptor (IRS-1) [168, 169]. BCAA are
626 implicated in pancreatic beta cell proliferation in the presence
627 of increased glucose [170]. Relationships between GM, serum
628 BCAA, and insulin resistance are also suggested [22, 163,
629 171]. Patients with insulin resistance display increased levels
630 of serum BCAA together with a GM enriched in *Prevotella*
631 *copri* and *Bacteroides vulgatus*, which are two species harbor-
632 ing increased expression of genes involved in the biosynthesis
633 of BCAAs and reduced expression of genes for internal
634 BCAA use [163]. Most importantly, our team demonstrated
635 that RYGB induces a reduction in serum BCAAs, demonstrat-
636 ing another potential mechanism of BS to improve glucose-
637 related parameters [26]. This decrease in BCAAs is also ob-
638 served post-BS in several other studies [172–178]. Moreover,

RYGB also induces an improvement in microbial gene rich-
ness which was at baseline significantly associated with in-
creased *Bacteroides vulgatus* [26]. Similarly, we found posi-
tive associations between this species and metabolic deterio-
ration in severe obesity.

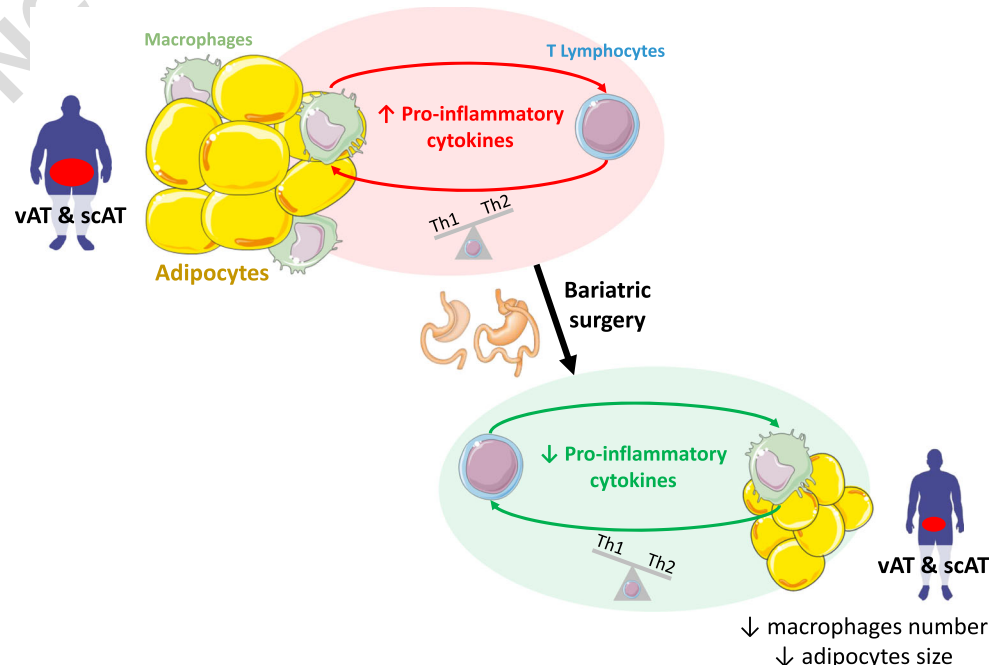
Most interestingly, Laferrère et al. demonstrated that BCAA
decreased significantly solely in patients who lost at least 10 kg
of body weight post-BS, but not in patients with a similar weight
loss induced by a restrictive diet [172], suggesting the role of a
BS-dependent mechanism in BCAA reduction. Whether the re-
duction in BCAA post-BS could be another weight loss-
independent factor implicated in the resolution of T2D and im-
plicating the GM would need demonstration. Indirect support of
this is that reducing BCAAs have beneficial effects on glucose
control independent of weight loss. As well, several experiments
demonstrated that glucose-lowering drugs such as metformin
[179, 180] and glipizide [180] promote the upregulation of
BCAA degradation pathways, also leading to a decreased serum
BCAA [179].

Inflammatory changes post-BS: links with improvement in T2D?

Adipose tissue remodeling

As depicted in Fig. 2, BS enables a dramatic loss in body fat
mass [67] involving both from scAT and vAT depots [5]. It
was initially described that AT undergoes significant remodel-
ing during BS and that BS reduces adipocyte size, yet more

Fig. 2 Immunity and inflammation profiles of adipose tissue before and after bariatric surgery. VAT, visceral adipose tissue; scAT, subcutaneous adipose tissue; Th1, helper T cells 1; Th2, helper T cells 2



effectively in DR patients [181]. Although the relationship has not been firmly confirmed, reduced adipocyte size might contribute to the reduced production of cytokines such as IL-1Ra [182, 183] or IL-8, IP-10, monokine-induced by γ -interferon (MIG), MCP-1, and “Regulated on Activation, Normal T Cell Expressed and Secreted” (RANTES), along with the improvement of body weight and metabolic alterations. Moreover, BS is associated with fewer macrophages in the scAT [183, 184] and in the vAT [185] and a switch toward a less pro-inflammatory profile [8, 184], which may also participate in the reduced inflammatory tone post-BS. T2D patients undergoing long-term DR lose more total fat mass and trunk-fat mass than those remaining T2D post-RYGB, suggesting a possible role of vAT modifications in DR [48]. This result is concordant with that of a previous study where the remission of metabolic syndrome (pre-diabetes state) was observed in patients who lost the most vAT mass post-RYGB [186].

Notably, a recent study demonstrated that, while obese mice on a dietary restriction can normalize their body weight, they do not fully rescue their insulin sensitivity profile nor AT inflammation with the conservation of crown-like structures. Moreover, macrophages still display an inflammatory profile with a perpetual cross talk with T cells maintaining inflammatory activation [187]. These results, that need to be confirmed in human, suggest that although weight loss improves obesity-induced AT injuries, it does not restore its structure and function, which is important in the context of BS as some individuals do not normalize their BMI post-BS [40, 48]. In addition, it is well-known that BS induces major inter-individual variability in clinical outcomes and weight response and that one could speculate that patients undergoing DR would improve AT inflammation and metabolism better than those not achieving DR and with persistent inflammatory alterations.

Circulating immune and cytokine production changes

Together with changes in inflammation in the AT, modifications of circulating immune cells and inflammatory cytokines are observed post-BS. Blood CD16+ monocytes, known to display an increased inflammatory cytokine production, are increased during obesity [188] and positively correlates with BMI [189] and the specific CD14dim CD16+ subpopulation further augments in obese individuals with T2D [188]. Interestingly, the CD14dim CD16+ subpopulation exhibits the lowest lipid accumulation capacity of all monocytes and is less prone to migrate into the AT [190]. BS significantly reduces these two subpopulations and most particularly the CD14dim CD16+ monocytes [188, 191] while switching their secretory profile toward a decreased production of inflammatory cytokines such as TNF α and IL6 [191]. Interestingly, Chen et al. recently showed significant associations between changes in GM composition post-BS (assessed by RT-PCR) and the changes in monocytes number, secretion profile, and the expression of their membrane receptors such as TLR-4,

which is the receptor that recognizes bacterially-produced LPS, and thus involved in microbiota signalization pathway [191].

Circulating T lymphocytes display a Th1 inflammatory profile during obesity [18] and also undergo phenotype modifications post-BS. Whereas the blood number of lymphocytes is not modified, Th1 cells and the Th1/Th2 ratio decreases significantly post-BS-induced weight loss [192] (Fig. 2). This decrease is stronger among patients with T2D or impaired glucose tolerance (IGT) than normoglycemic patients pre-BS [192]. In agreement with a switch in inflammatory profile, the magnitude of glycemic improvement post-BS is correlated with the increase in Th2 post-BS in a clinical study focusing on T2D or IGT patients [193]. Blood levels of a specific T cell type, mucosal-associated invariant T (MAIT) cells, are dramatically decreased in obese and obese T2D patients [194, 195] but display a Th1 and Th17 cytokine production profile [194] while their number is increased in the AT. The relationship between MAIT cells and hyperglycemic milieu was substantiated by an in vitro study showing that hyperglycemia per se induces MAIT apoptosis [195], which could partly explain their reduction during obesity and T2D. Interestingly, MAIT cells recognize microbial derived metabolites (originating from the riboflavin pathway) that are able to activate these cells. Recently, it was also demonstrated that MAIT cells could be activated by some bacterial species [196]. RYGB is able to (1) increase the number of MAIT cells, yet their level does not return to that of normal healthy controls, and (2) nearly normalize their cytokine secretion profile with the exception of IL-17 [194], concomitantly with weight loss and improvements in glycemic control. Overall, the inflammatory tone as well as the inflammatory profile of circulating and AT immune cells tend to decrease post-BS.

Conclusions and perspectives

In this review, we ought to describe the beneficial effects of BS in terms of glucose control improvement and diabetes remission, as well as the myriad of complex mechanisms probably acting in synergy to improve glucose homeostasis. BS induces caloric restriction, weight loss, fat mass loss, improved β -cell function, gut plasticity, both hormonal and bile acids changes, as well as immune cell modifications at the systemic level and within the adipose tissue. However, the causal or secondary contribution of these factors in improved glucose metabolism still need to be deciphered. Recently, GM dysbiosis was shown to be partially improved after BS, however, not to the same degree as metabolic improvements. Thus, whether the GM per se plays a role in DR observed post-BS still remains to be proven. Additionally, the mechanisms by which GM compositional and functional modifications post-BS participates in improved glucose metabolism and/or inflammatory tone still need to be evaluated in depth in controlled studies focusing on the combination of mechanisms

766 proposed above in this review. Exploring these interactions will
 767 also help identifying targets for biomarkers or upstream thera-
 768apeutics mimicking BS effects without surgical intervention.

769 **Financial support** Funding to support NutriOmics research Unit activity
 770 on this reviewed topic were obtained from European Union's Seventh
 771 Framework Program (FP7) for research, technological development and
 772 demonstration under grant agreement HEALTH-F4-2012-305312
 773 (Metacardis) and from the French national program "Investissement
 774 d'Avenir" FORCE, the Metagenopolis grant ANR-11-DPBS-0001 and
 775 the ANR-10-IAHU-05, (Institute of Cardiometabolism and Nutrition),
 776 from the National Agency of Research ANR-OB MAIT, CAPTOR, and
 777 from INSERM (to CA as program "Accueil Jeune Chercheur"). JAW
 778 received grant from Institut Benjamin Delessert and Société
 779 Francophone du Diabète (SFD) and KC received an award from the
 780 Fondation de France.

781
 782 **Authors' contributions** JD and CA contributed to the research, discus-
 783 sion of content, and writing of this manuscript; J.A.W contributed to the
 784 research, discussion of content, writing, and editing of this manuscript;
 785 and K.C. contributed to the discussion of content, writing, and reviewing/
 786 editing of the manuscript before submission. All authors reviewed the
 787 manuscript.

788 Compliance with ethical standards

789 **Conflict of interest** The authors declare that they have no conflict of
 790 interest.

Q4 791 References

- 792 1. Kopelman PG (2000) Obesity as a medical problem. *Nature* 404:
793 635–643
- 794 2. Tordjman J et al (2009) Association between omental adipose
795 tissue macrophages and liver histopathology in morbid obesity:
796 influence of glycemic status. *J Hepatol* 51:354–362
- 797 3. Skurk T, Alberti-Huber C, Herder C, Hauner H (2007)
798 Relationship between adipocyte size and adipokine expression
799 and secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 92:1023–1033
- 800 4. Engin AB (2017) Adipocyte-macrophage cross-talk in obesity.
801 *Adv Exp Med Biol* 960:327–343
- 802 5. Cencello R et al (2006) Increased infiltration of macrophages in
803 omental adipose tissue is associated with marked hepatic lesions in
804 morbid human obesity. *Diabetes* 55:1554–1561
- 805 6. Harman-Boehm I et al (2007) Macrophage infiltration into omen-
806 tal versus subcutaneous fat across different populations: effect of
807 regional adiposity and the comorbidities of obesity. *J Clin*
808 *Endocrinol Metab* 92:2240–2247
- 809 7. Dalmas E, Clément K, Guerre-Millo M (2011) Defining macro-
810 phage phenotype and function in adipose tissue. *Trends Immunol*
811 32:307–314
- 812 8. Aron-Wisnewsky J et al (2009) Human adipose tissue macro-
813 phages: m1 and m2 cell surface markers in subcutaneous and
814 omental depots and after weight loss. *J Clin Endocrinol Metab*
815 94:4619–4623
- 816 9. Lumeng CN, Bodzin JL, Saltiel AR (2007) Obesity induces a
817 phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *J*
818 *Clin Invest* 117:175–184
- 819 10. Huber J et al (2008) CC chemokine and CC chemokine receptor
820 profiles in visceral and subcutaneous adipose tissue are altered in
821 human obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 93:3215–3221
11. Wentworth JM et al (2010) Pro-inflammatory CD11c+CD206+
822 adipose tissue macrophages are associated with insulin resistance
823 in human obesity. *Diabetes* 59:1648–1656
- 824 12. Pasarica M et al (2009) Lower total adipocyte number but no
825 evidence for small adipocyte depletion in patients with type 2
826 diabetes. *Diabetes Care* 32:900–902
- 827 13. Després J-P, Lemieux I (2006) Abdominal obesity and metabolic
828 syndrome. *Nature* 444:881–887
- 829 14. Stienstra R et al (2011) Inflammasome is a central player in the
830 induction of obesity and insulin resistance. *Proc Natl Acad Sci U S*
831 *A* 108:15324–15329
- 832 15. Dalmas E et al (2014) T cell-derived IL-22 amplifies IL-1 β -driven
833 inflammation in human adipose tissue: relevance to obesity and
834 type 2 diabetes. *Diabetes* 63:1966–1977
- 835 16. Divoux A et al (2012) Mast cells in human adipose tissue: link
836 with morbid obesity, inflammatory status, and diabetes. *J Clin*
837 *Endocrinol Metab* 97:E1677–E1685
- 838 17. Rouault C et al (2013) Roles of chemokine ligand-2 (CXCL2) and
839 neutrophils in influencing endothelial cell function and inflamma-
840 tion of human adipose tissue. *Endocrinology* 154:1069–1079
- 841 18. Viardot A et al (2012) Obesity is associated with activated and
842 insulin resistant immune cells. *Diabetes Metab Res Rev* 28:447–
843 454
- 844 19. Nishimura S et al (2009) CD8+ effector T cells contribute to mac-
845 rophage recruitment and adipose tissue inflammation in obesity.
846 *Nat Med*:914–915, 920
- 847 20. Sell H, Habich C, Eckel J (2012) Adaptive immunity in obesity
848 and insulin resistance. *Nat Rev Endocrinol* 8:709–716
- 849 21. Bäckhed F et al (2004) The gut microbiota as an environmental
850 factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:
851 15718–15723
- 852 22. Ridaura VK et al (2013) Gut microbiota from twins discordant for
853 obesity modulate metabolism in mice. *Science* 341:1241214
- 854 23. Bohan R et al (2018) Gut microbiota: a potential manipulator for
855 host adipose tissue and energy metabolism. *J Nutr Biochem* 64:
856 206–217
- 857 24. Cotillard A et al (2013) Dietary intervention impact on gut micro-
858 bial gene richness. *Nature* 500:585–588
- 859 25. Le Chatelier E et al (2013) Richness of human gut microbiome
860 correlates with metabolic markers. *Nature* 500:541–546
- 861 26. Aron-Wisnewsky J et al (2018) Major microbiota dysbiosis in
862 severe obesity: fate after bariatric surgery. *Gut*. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2018-316103>
- 863 27. Cani PD et al (2007) Metabolic endotoxemia initiates obesity and
864 insulin resistance. *Diabetes* 56:1761–1772
- 865 28. Cani PD et al (2009) Changes in gut microbiota control inflam-
866 mation in obese mice through a mechanism involving GLP-2-
867 driven improvement of gut permeability. *Gut* 58:1091–1103
- 868 29. Cani PD et al (2008) Changes in gut microbiota control metabolic
869 endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obe-
870 sity and diabetes in mice. *Diabetes* 57:1470–1481
- 871 30. Genser L et al (2018) Increased jejunal permeability in human
872 obesity is revealed by a lipid challenge and is linked to inflamma-
873 tion and type 2 diabetes. *J Pathol*. <https://doi.org/10.1002/path.5134>
- 874 31. Dyson PA (2010) The therapeutics of lifestyle management on
875 obesity. *Diabetes Obes Metab* 12:941–946
- 876 32. Wing RR, Phelan S (2005) Long-term weight loss maintenance.
877 *Am J Clin Nutr* 82:222S–225S
- 878 33. Sturm R, Hattori A (2013) Morbid obesity rates continue to rise
879 rapidly in the United States. *Int J Obes*. 2005 37:889–891
- 880 34. Angrisani L et al (2017) Bariatric surgery and endoluminal proce-
881 dures: IFSO Worldwide Survey 2014. *Obes Surg* 27:2279–2289
- 882 35. Fried M et al (2014) Interdisciplinary European guidelines on
883 metabolic and bariatric surgery. *Obes Surg* 24:42–55

36. Rubino F et al (2016) Metabolic surgery in the treatment algorithm for type 2 diabetes: a joint statement by international diabetes organizations. *Diabetes Care* 39:861–877
37. Dixon JB, Straznicki NE, Lambert EA, Schlaich MP, Lambert GW (2011) Surgical approaches to the treatment of obesity. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 8:429–437
38. Zellmer JD, Mathiason MA, Kallies KJ, Kothari SN (2014) Is laparoscopic sleeve gastrectomy a lower risk bariatric procedure compared with laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass? A meta-analysis. *Am J Surg* 208:903–910; discussion 909–910
39. Osland E, Yunus RM, Khan S, Memon B, Memon MA (2017) Weight loss outcomes in laparoscopic vertical sleeve gastrectomy (LVSG) versus laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass (LRYGB) procedures: a meta-analysis and systematic review of randomized controlled trials. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech* 27:8–18
40. Sjöström L et al (2012) Bariatric surgery and long-term cardiovascular events. *JAMA J Am Med Assoc* 307:56–65
41. Adams TD et al (2017) Weight and metabolic outcomes 12 years after gastric bypass. *N Engl J Med* 377:1143–1155
42. Courcoulas AP et al (2017) Seven-year weight trajectories and health outcomes in the Longitudinal Assessment of Bariatric Surgery (LABS) Study. *JAMA Surg*. <https://doi.org/10.1001/jamasurg.2017.5025>
43. Adams TD et al (2007) Long-term mortality after gastric bypass surgery. *N Engl J Med* 357:753–761
44. Schauer PR, Mingrone G, Ikramuddin S, Wolfe B (2016) Clinical outcomes of metabolic surgery: efficacy of glycemic control, weight loss, and remission of diabetes. *Diabetes Care* 39:902–911
45. Buse JB et al (2009) How do we define cure of diabetes? *Diabetes Care* 32:2133–2135
46. Pournaras DJ et al (2012) Effect of the definition of type II diabetes remission in the evaluation of bariatric surgery for metabolic disorders. *Br J Surg* 99:100–103
47. Schauer PR et al (2017) Bariatric surgery versus intensive medical therapy for diabetes—5-year outcomes. *N Engl J Med* 376:641–651
48. Debédat J et al (2018) Long-term relapse of type 2 diabetes after Roux-en-Y gastric bypass: prediction and clinical relevance. *Diabetes Care*. <https://doi.org/10.2337/dc18-0567>
49. Mingrone G et al (2012) Bariatric surgery versus conventional medical therapy for type 2 diabetes. *N Engl J Med* 366:1577–1585
50. Thereaux J et al (2017) Long-term follow-up after bariatric surgery in a national cohort. *Br J Surg* 104:1362–1371
51. Mingrone G et al (2015) 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* 386:964–973
52. Courcoulas AP et al (2015) Three-year outcomes of bariatric surgery vs lifestyle intervention for type 2 diabetes mellitus treatment: a randomized clinical trial. *JAMA Surg* 150:931–940
53. Brethauer SA et al (2013) Can diabetes be surgically cured? Long-term metabolic effects of bariatric surgery in obese patients with type 2 diabetes mellitus. *Ann Surg* 258:628–636; discussion 636–637
54. Aminian A, Brethauer SA, Kashyap SR, Kirwan JP, Schauer PR (2014) DiaRem score: external validation. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2:12–13
55. Mehaffey JH et al (2017) Type 2 diabetes remission following gastric bypass: does diarem stand the test of time? *Surg Endosc* 31:538–542
56. Still CD et al (2014) Preoperative prediction of type 2 diabetes remission after Roux-en-Y gastric bypass surgery: a retrospective cohort study. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2:38–45
57. Lee W-J et al (2013) Predicting success of metabolic surgery: age, body mass index, C-peptide, and duration score. *Surg Obes Relat Dis Off J Am Soc Bariatr Surg* 9:379–384
58. Aron-Wisniewsky J et al (2017) The advanced-DiaRem score improves prediction of diabetes remission 1 year post-Roux-en-Y gastric bypass. *Diabetologia*. <https://doi.org/10.1007/s00125-017-4371-7>
59. Pucci A et al (2018) Type 2 diabetes remission 2 years post Roux-en-Y gastric bypass and sleeve gastrectomy: the role of the weight loss and comparison of DiaRem and DiaBetter scores. *Diabet Med J Br Diabet Assoc* 35:360–367
60. Cotillard A et al (2015) Type 2 diabetes remission after gastric bypass: what is the best prediction tool for clinicians? *Obes Surg* 25:1128–1132
61. Lee MH et al (2015) Predictors of long-term diabetes remission after metabolic surgery. *J Gastrointest Surg Off J Soc Surg Aliment Tract* 19:1015–1021
62. Wood GC, Mirshahi T, Still CD, Hirsch AG (2016) Association of DiaRem score with cure of type 2 diabetes following bariatric surgery. *JAMA Surg* 151:779–781
63. Dicker D, Yahalom R, Comaneshter DS, Vinker S (2016) Long-term outcomes of three types of bariatric surgery on obesity and type 2 diabetes control and remission. *Obes Surg* 26:1814–1820
64. Ashrafian H et al (2011) Diabetes resolution and hyperinsulinaemia after metabolic Roux-en-Y gastric bypass. *Obes Rev Off J Int Assoc Study Obes* 12:e257–e272
65. Pories WJ et al (1995) Who would have thought it? An operation proves to be the most effective therapy for adult-onset diabetes mellitus. *Ann Surg* 222:339–350; discussion 350–352
66. Laurenus A et al (2012) Changes in eating behaviour and meal pattern following Roux-en-Y gastric bypass. *Int J Obes*. 2005 36: 348–355
67. Verger EO et al (2015) Micronutrient and protein deficiencies after gastric bypass and sleeve gastrectomy: a 1-year follow-up. *Obes Surg*. <https://doi.org/10.1007/s11695-015-1803-7>
68. Aron-Wisniewsky J et al (2016) Nutritional and protein deficiencies in the short term following both gastric bypass and gastric banding. *PLoS One* 11:e0149588
69. Gras-Mirallès B et al (2014) Caloric intake capacity as measured by a standard nutrient drink test helps to predict weight loss after bariatric surgery. *Obes Surg* 24:2138–2144
70. le Roux CW et al (2006) Gut hormone profiles following bariatric surgery favor an anorectic state, facilitate weight loss, and improve metabolic parameters. *Ann Surg* 243:108–114
71. Lips MA et al (2014) Calorie restriction is a major determinant of the short-term metabolic effects of gastric bypass surgery in obese type 2 diabetic patients. *Clin Endocrinol* 80:834–842
72. Steinert RE et al (2017) Ghrelin, CCK, GLP-1, and PYY(3-36): secretory controls and physiological roles in eating and glycemia in health, obesity, and after RYGB. *Physiol Rev* 97:411–463
73. Yousseif A et al (2014) Differential effects of laparoscopic sleeve gastrectomy and laparoscopic gastric bypass on appetite, circulating acyl-ghrelin, peptide YY3-36 and active GLP-1 levels in non-diabetic humans. *Obes Surg* 24:241–252
74. Laferrère B et al (2008) Effect of weight loss by gastric bypass surgery versus hypocaloric diet on glucose and incretin levels in patients with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 93:2479–2485
75. Laferrère B et al (2010) Rise of oxyntomodulin in response to oral glucose after gastric bypass surgery in patients with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 95:4072–4076
76. Cummings DE et al (2002) Plasma ghrelin levels after diet-induced weight loss or gastric bypass surgery. *N Engl J Med* 346:1623–1630
77. Holter MM et al (2017) Glucose metabolism after gastric banding and gastric bypass in individuals with type 2 diabetes: weight loss effect. *Diabetes Care* 40:7–15

78. Gastaldelli A et al (2016) Short-term effects of laparoscopic adjustable gastric banding versus Roux-en-Y gastric bypass. *Diabetes Care* **39**:2528–2533. <https://doi.org/10.2337/dc15-2823>
79. Dimitriadis GK, Randeve MS, Miras AD (2017) Potential hormone mechanisms of bariatric surgery. *Curr Obes Rep* **6**:253–265
80. Laferrière B, Pattou F (2018) Weight-independent mechanisms of glucose control after Roux-en-Y gastric bypass. *Front Endocrinol* **9**
81. Castagneto Gissery L, Casella Mariolo J, Mingrone G (2018) Intestinal peptide changes after bariatric and minimally invasive surgery: relation to diabetes remission. *Peptides* **100**:114–122
82. Wang G et al (2012) Accelerated gastric emptying but no carbohydrate malabsorption 1 year after gastric bypass surgery (GBP). *Obes Surg* **22**:1263–1267
83. Stano S et al (2017) Effect of meal size and texture on gastric pouch emptying and glucagon-like peptide 1 after gastric bypass surgery. *Surg Obes Relat Dis Off J Am Soc Bariatr Surg* **13**:1975–1983
84. Jacobsen SH et al (2013) Effects of gastric bypass surgery on glucose absorption and metabolism during a mixed meal in glucose-tolerant individuals. *Diabetologia* **56**:2250–2254
85. Vilsbøll T, Krarup T, Deacon CF, Madsbad S, Holst JJ (2001) Reduced postprandial concentrations of intact biologically active glucagon-like peptide 1 in type 2 diabetic patients. *Diabetes* **50**:609–613
86. Knop FK et al (2007) Reduced incretin effect in type 2 diabetes: cause or consequence of the diabetic state? *Diabetes* **56**:1951–1959
87. Xu G, Stoffers DA, Habener JF, Bonner-Weir S (1999) Exendin-4 stimulates both beta-cell replication and neogenesis, resulting in increased beta-cell mass and improved glucose tolerance in diabetic rats. *Diabetes* **48**:2270–2276
88. Vetter ML et al (2015) GLP-1 plays a limited role in improved glycemia shortly after Roux-en-Y gastric bypass: a comparison with intensive lifestyle modification. *Diabetes* **64**:434–446
89. Shah M et al (2014) Contribution of endogenous glucagon-like peptide 1 to glucose metabolism after Roux-en-Y gastric bypass. *Diabetes* **63**:483–493
90. Mokadem M, Zechner JF, Margolske RF, Drucker DJ, Aguirre V (2014) Effects of Roux-en-Y gastric bypass on energy and glucose homeostasis are preserved in two mouse models of functional glucagon-like peptide-1 deficiency. *Mol Metab* **3**:191–201
91. Wilson-Pérez HE et al (2013) Vertical sleeve gastrectomy is effective in two genetic mouse models of glucagon-like Peptide 1 receptor deficiency. *Diabetes* **62**:2380–2385
92. Garibay D et al (2016) β -Cell glucagon-like peptide-1 receptor contributes to improved glucose tolerance after vertical sleeve gastrectomy. *Endocrinology* **157**:3405–3409
93. Chambers AP et al (2017) The role of pancreatic preproglucagon in glucose homeostasis in mice. *Cell Metab* **25**:927–934.e3
94. Marchetti P et al (2012) A local glucagon-like peptide 1 (GLP-1) system in human pancreatic islets. *Diabetologia* **55**:3262–3272
95. Garibay D et al (2018) β Cell GLP-1R signaling alters α cell proglucagon processing after vertical sleeve gastrectomy in mice. *Cell Rep* **23**:967–973
96. Service GJ et al (2005) Hyperinsulinemic hypoglycemia with nesidioblastosis after gastric-bypass surgery. *N Engl J Med* **353**:249–254
97. Dadheech N, Garrel D, Buteau J (2018) Evidence of unrestrained beta-cell proliferation and neogenesis in a patient with hyperinsulinemic hypoglycemia after gastric bypass surgery. *Islets* **10**:213–220
98. Meier JJ, Butler AE, Galasso R, Butler PC (2006) Hyperinsulinemic hypoglycemia after gastric bypass surgery is not accompanied by islet hyperplasia or increased-cell turnover. *Diabetes Care* **29**:1554–1559
99. Lautenbach A et al (2018) Adaptive changes in pancreas post Roux-en-Y gastric bypass induced weight loss. *Diabetes Metab Res Rev* **34**:e3025
100. Gaborit B et al (2015) Ectopic fat storage in the pancreas using ¹H-MRS: importance of diabetic status and modulation with bariatric surgery-induced weight loss. *Int J Obes* **39**(480):480–487
101. Zhou X, Qian B, Ji N, Lui C, Liu Z, Li B, Zhou H, Yan C (2016) Pancreatic hyperplasia after gastric bypass surgery in a GK rat model of non-obese type 2 diabetes. *J Endocrinol* **228**:13–23
102. Zhang S, Guo W, Wu J, Gong L, Li Q, Xiao X, Zhang J, Wang Z (2017) Increased β -cell mass in obese rats after gastric bypass: a potential mechanism for improving glycemic control. *Med Sci Monit* **23**:2151–2158
103. McGavigan AK, Garibay D, Henseler ZM, Chen J, Bettaieb A, Haj FG, Ley RE, Chouinard ML, Cummings BP (2017) TGR5 contributes to glucoregulatory improvements after vertical sleeve gastrectomy in mice. *Gut* **66**:226–234
104. Cummings BP, Bettaieb A, Graham JL, Kim J, Ma F, Shibata N, Stanhope KL, Giulivi C, Hansen F, Jelsing J, Vrang N, Kowala M, Chouinard ML, Haj FG, Havel PJ (2013) Bile-acid-mediated decrease in endoplasmic reticulum stress: a potential contributor to the metabolic benefits of ileal interposition surgery in UCD-T2DM rats. *Dis Model Mech* **6**:443–456
105. Dutia R, Brakoniecki K, Bunker P, Paultre F, Homel P, Carpentier AC, McGinty J, Laferrière B (2014) Limited recovery of β -cell function after gastric bypass despite clinical diabetes remission. *Diabetes* **63**:1214–1223
106. Drucker DJ, Shi Q, Crivici A, Sumner-Smith M, Tavares W, Hill M, DeForest L, Cooper S, Brubaker PL (1997) Regulation of the biological activity of glucagon-like peptide 2 in vivo by dipeptidyl peptidase IV. *Nat Biotechnol* **15**:673–677
107. Drucker DJ, Erlich P, Asa SL, Brubaker PL (1996) Induction of intestinal epithelial proliferation by glucagon-like peptide 2. *Proc Natl Acad Sci U S A* **93**:7911–7916
108. le Roux CW, Borg C, Wallis K, Vincent RP, Bueter M, Goodlad R, Ghatei MA, Patel A, Bloom SR, Aylwin SJB (2010) Gut hypertrophy after gastric bypass is associated with increased glucagon-like peptide 2 and intestinal crypt cell proliferation. *Ann Surg* **252**:50–56
109. Cazzo E, Pareja JC, Chaim EA, Geloneze B, Barreto MRL, Magro DO (2017) GLP-1 and GLP-2 levels are correlated with satiety regulation after Roux-en-Y gastric bypass: results of an exploratory prospective study. *Obes Surg* **27**:703–708
110. Jeppesen PB, Hartmann B, Thulesen J, Graff J, Lohmann J, Hansen BS, Tofte F, Poulsen SS, Madsen JL, Holst JJ, Mortensen PB (2001) Glucagon-like peptide 2 improves nutrient absorption and nutritional status in short-bowel patients with no colon. *Gastroenterology* **120**:806–815
111. Iqbal CW, Qandeel HG, Zheng Y, Duenes JA, Sarr MG (2008) Mechanisms of ileal adaptation for glucose absorption after proximal-based small bowel resection. *J Gastrointest Surg Off J Soc Surg Aliment Tract* **12**:1854–1864; discussion 1864–1865
112. Li B, Lu Y, Srikant CB, Gao Z-H, Liu J-L (2013) Intestinal adaptation and Reg gene expression induced by antidiabetic duodenal-jejunal bypass surgery in Zucker fatty rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* **304**:G635–G645
113. Taqi E, Wallace LE, de Heuvel E, Chelikani PK, Zheng H, Berthoud HR, Holst JJ, Sigalet DL (2010) The influence of nutrients, biliary-pancreatic secretions, and systemic trophic hormones on intestinal adaptation in a Roux-en-Y bypass model. *J Pediatr Surg* **45**:987–995
114. Cavin J-B, Voitelier E, Cluzeaud F, Kapel N, Marmuse JP, Chevallier JM, Msika S, Bado A, le Gall M (2016) Malabsorption and intestinal adaptation after one anastomosis gastric bypass compared with Roux-en-Y gastric bypass in rats. *Am J Physiol-Gastrointest Liver Physiol* **311**:G492–G500

- 1149 115. Cavin J-B et al (2016) Differences in alimentary glucose absorp- 1214
1150 tion and intestinal disposal of blood glucose after Roux-en-Y gas- 1215
1151 tric bypass vs sleeve gastrectomy. *Gastroenterology* 150:454– 1216
1152 464.e9 1217
- 1153 116. Troy S, Soty M, Ribeiro L, Laval L, Migrenne S, Fioramonti X, 1218
1154 Pillot B, Fauveau V, Aubert R, Viollet B, Foretz M, Leclerc J, 1219
1155 Duchamp A, Zitoun C, Thorens B, Magnan C, Mithieux G, 1220
1156 Andreelli F (2008) Intestinal gluconeogenesis is a key factor for 1221
1157 early metabolic changes after gastric bypass but not after gastric 1222
1158 lap-band in mice. *Cell Metab* 8:201–211 1223
- 1159 117. Saeidi N, Meoli L, Nestoridi E, Gupta NK, Kvas S, Kucharczyk J, 1224
1160 Bonab AA, Fischman AJ, Yarmush ML, Stylopoulos N (2013) 1225
1161 Reprogramming of intestinal glucose metabolism and glycemic 1226
1162 control in rats after gastric bypass. *Science* 341:406–410 1227
- 1163 118. Baud G, Daoudi M, Hubert T, Raverdy V, Pigeyre M, Hervieux E, 1228
1164 Devienne M, Ghunaim M, Bonner C, Quenon A, Pigny P, Klein 1229
1165 A, Kerr-Conte J, Gmyr V, Caiazzo R, Pattou F (2016) Bile diver- 1230
1166 sion in Roux-en-Y gastric bypass modulates sodium-dependent 1231
1167 glucose intestinal uptake. *Cell Metab* 23:547–553 1232
- 1168 119. Thomas C, Gioiello A, Noriega L, Strehle A, Oury J, Rizzo G, 1233
1169 Macchiarulo A, Yamamoto H, Matakis C, Pruzanski M, Pellicciari 1234
1170 R, Auwerx J, Schoonjans K (2009) TGR5-mediated bile acid sens- 1235
1171 ing controls glucose homeostasis. *Cell Metab* 10:167–177 1236
- 1172 120. Kohli R, Bradley D, Setchell KD, Eagon JC, Abumrad N, Klein S 1237
1173 (2013) Weight loss induced by Roux-en-Y gastric bypass but not 1238
1174 laparoscopic adjustable gastric banding increases circulating bile 1239
1175 acids. *J Clin Endocrinol Metab* 98:E708–E712 1240
- 1176 121. Patti M-E, Houten SM, Bianco AC, Bernier R, Larsen PR, Holst 1241
1177 JJ, Badman MK, Maratos-Flier E, Mun EC, Pihlajamaki J, 1242
1178 Auwerx J, Goldfine AB (2009) Serum bile acids are higher in 1243
1179 humans with prior gastric bypass: potential contribution to im- 1244
1180 proved glucose and lipid metabolism. *Obes Silver Spring Md* 17:1671–1677 1245
- 1182 122. Ryan KK, Tremaroli V, Clemmensen C, Kovatcheva-Datchary P, 1246
1183 Myronovych A, Karns R, Wilson-Pérez HE, Sandoval DA, Kohli 1247
1184 R, Bäckhed F, Seeley RJ (2014) FXR is a molecular target for the 1248
1185 effects of vertical sleeve gastrectomy. *Nature* 509:183–188 1249
- 1186 123. Albaugh VL, Flynn CR, Cai S, Xiao Y, Tamboli RA, Abumrad 1250
1187 NN (2015) Early increases in bile acids post Roux-en-Y gastric 1251
1188 bypass are driven by insulin-sensitizing, secondary bile acids. *J 1252
1189 Clin Endocrinol Metab* 100:E1225–E1233 1253
- 1190 124. Duboc H et al (2018) Roux-en-Y gastric-bypass and sleeve gas- 1254
1191 trectomy induces specific shifts of the gut microbiota without al- 1255
1192 tering the metabolism of bile acids in the intestinal lumen. *Int J 1256
1193 Obes* 1. <https://doi.org/10.1038/s41366-018-0015-3> 1257
- 1194 125. Wu T, Bound MJ, Standfield SD, Jones KL, Horowitz M, Rayner 1258
1195 CK (2013) Effects of taurocholic acid on glycemic, glucagon-like 1259
1196 peptide-1, and insulin responses to small intestinal glucose infu- 1260
1197 sion in healthy humans. *J Clin Endocrinol Metab* 98:E718–E722 1261
- 1198 126. Li F, Jiang C, Krausz KW, Li Y, Albert I, Hao H, Fabre KM, 1262
1199 Mitchell JB, Patterson AD, Gonzalez FJ (2013) Microbiome re- 1263
1200 modelling leads to inhibition of intestinal farnesoid X receptor 1264
1201 signalling and decreased obesity. *Nat Commun* 4:2384 1265
- 1202 127. Sun L et al (2018) Gut microbiota and intestinal FXR mediate the 1266
1203 clinical benefits of metformin. *Nat Med* 1. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0222-4> 1267
- 1205 128. Fang S, Suh JM, Reilly SM, Yu E, Osborn O, Lackey D, 1268
1206 Yoshihara E, Perino A, Jacinto S, Lukasheva Y, Atkins AR, 1269
1207 Khvat A, Schnabl B, Yu RT, Brenner DA, Coulter S, Liddle C, 1270
1208 Schoonjans K, Olefsky JM, Saltiel AR, Downes M, Evans RM 1271
1209 (2015) Intestinal FXR agonism promotes adipose tissue browning 1272
1210 and reduces obesity and insulin resistance. *Nat Med* 21:159–165 1273
- 1211 129. Sayin SI, Wahlström A, Felin J, Jäntti S, Marschall HU, Bamberg 1274
1212 K, Angelin B, Hyötyläinen T, Orešić M, Bäckhed F (2013) Gut 1275
1213 microbiota regulates bile acid metabolism by reducing the levels 1276
1277 of tauro-beta-muricholic acid, a naturally occurring FXR antago- 1278
1279 nist. *Cell Metab* 17:225–235 1279
130. Furet J-P, Kong LC, Tap J, Poitou C, Basdevant A, Bouillot JL, 1280
131. Mariat D, Corthier G, Dore J, Henegar C, Rizkalla S, Clement K 1281
132. (2010) Differential adaptation of human gut microbiota to bariatric 1282
133. surgery-induced weight loss. *Diabetes* 59:3049–3057 1283
131. Kong L-C, Tap J, Aron-Wisnewsky J, Pelloux V, Basdevant A, 1284
132. Bouillot JL, Zucker JD, Doré J, Clément K (2013) Gut microbiota 1285
133. after gastric bypass in human obesity: increased richness and as- 1286
134. sociations of bacterial genera with adipose tissue genes. *Am J Clin 1287
135. Nutr* 98:16–24 1288
132. Guo Y et al. (2017) Modulation of the gut microbiome: a system- 1289
133. atic review of the effect of bariatric surgery. *Eur J Endocrinol EJE- 1290
134. 17-0403*. <https://doi.org/10.1530/EJE-17-0403> 1291
133. Graessler J, Qin Y, Zhong H, Zhang J, Licinio J, Wong ML, Xu A, 1292
134. Chavakis T, Bornstein AB, Ehrhart-Bornstein M, Lamounier- 1293
135. Zepter V, Lohmann T, Wolf T, Bornstein SR (2013) 1294
136. Metagenomic sequencing of the human gut microbiome before 1295
137. and after bariatric surgery in obese patients with type 2 diabetes: 1296
138. correlation with inflammatory and metabolic parameters. *Pharm J 1297
139. 13:514–522* 1298
134. Tremaroli V, Karlsson F, Werling M, Ståhlman M, Kovatcheva- 1299
135. Datchary P, Olbers T, Fändriks L, le Roux CW, Nielsen J, Bäckhed 1300
136. F (2015) Roux-en-Y gastric bypass and vertical banded 1301
137. gastropasty induce long-term changes on the human gut 1302
138. microbiome contributing to fat mass regulation. *Cell Metab* 22: 1303
139. 228–238 1304
135. Zhang H, DiBaise JK, Zuccolo A, Kudrna D, Braidotti M, Yu Y, 1305
136. Parameswaran P, Crowell MD, Wing R, Rittmann BE, 1306
137. Krajmalnik-Brown R (2009) Human gut microbiota in obesity 1307
138. and after gastric bypass. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106:2365– 1308
139. 2370 1309
136. Aron-Wisnewsky J, Doré J, Clement K (2012) The importance of 1310
137. the gut microbiota after bariatric surgery. *Nat Rev Gastroenterol 1311
138. Hepatol* 9:590–598 1312
137. Rothschild D, Weissbrod O, Barkan E, Kurilshikov A, Korem T, 1313
138. Zeevi D, Costea PI, Godneva A, Kalka IN, Bar N, Shilo S, Lador 1314
139. D, Vila AV, Zmora N, Pevsner-Fischer M, Israeli D, Kosower N, 1315
140. Malka G, Wolf BC, Avnit-Sagi T, Lotan-Pompan M, Weinberger 1316
141. A, Halpern Z, Carmi S, Fu J, Wijmenga C, Zhernakova A, Elinav 1317
142. E, Segal E (2018) Environment dominates over host genetics in 1318
143. shaping human gut microbiota. *Nature* 555:210–215 1319
138. Shin N-R, Lee JC, Lee HY, Kim MS, Whon TW, Lee MS, Bae JW 1320
139. (2014) An increase in the *Akkermansia* spp. population induced 1321
140. by metformin treatment improves glucose homeostasis in diet- 1322
141. induced obese mice. *Gut* 63:727–735 1323
139. Forslund K et al (2015) Disentangling the effects of type 2 diabe- 1324
140. tes and metformin on the human gut microbiota. *Nature* 528:262– 1325
141. 266 1326
140. Jackson MA, Verdi S, Maxan ME, Shin CM, Zierer J, Bowyer 1327
141. RCE, Martin T, Williams FMK, Menni C, Bell JT, Spector TD, 1328
142. Steves CJ (2018) Gut microbiota associations with common dis- 1329
143. eases and prescription medications in a population-based cohort. 1330
144. *Nat Commun* 9:2655 1331
141. Vesper B, Jawdi A, Altman K, Haines III G, Tao L, Radosevich J 1332
142. (2009) The effect of proton pump inhibitors on the human micro- 1333
143. biota. *Curr Drug Metab* 10:84–89 1334
142. Imhann F, Bonder MJ, Vich Vila A, Fu J, Mujagic Z, Vork L, 1335
143. Tigchelaar EF, Jankipersadsing SA, Cenit MC, Harmsen HJM, 1336
144. Dijkstra G, Franke L, Xavier RJ, Jonkers D, Wijmenga C, 1337
145. Weersma RK, Zhernakova A (2016) Proton pump inhibitors affect 1338
146. the gut microbiome. *Gut* 65:740–748 1339
143. Ward EK, Schuster DP, Stowers KH, Royse AK, Ir D, Robertson 1340
144. CE, Frank DN, Austin GL (2014) The effect of PPI use on human 1341
145. gut microbiota and weight loss in patients undergoing laparoscop- 1342
146. ic Roux-en-Y gastric bypass. *Obes Surg* 24:1567–1571 1343

- 1280 144. Plovier H, Everard A, Druart C, Depommier C, van Hul M, Geurts
1281 L, Chilloux J, Ottman N, Duparc T, Lichtenstein L, Myridakis A,
1282 Delzenne NM, Klievink J, Bhattacharjee A, van der Ark KCH,
1283 Aalvink S, Martinez LO, Dumas ME, Maiter D, Loumaye A,
1284 Hermans MP, Thissen JP, Belzer C, de Vos WM, Cani PD
1285 (2016) A purified membrane protein from *Akkermansia*
1286 *muciniphila* or the pasteurized bacterium improves metabolism
1287 in obese and diabetic mice. *Nat Med* 23:107–113. <https://doi.org/10.1038/nm.4236>
1288
1289 145. Dao MC et al. (2015) *Akkermansia muciniphila* and improved
1290 metabolic health during a dietary intervention in obesity: relation-
1291 ship with gut microbiome richness and ecology. *Gut* *gutjnl-2014-*
1292 *308778*. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2014-308778>
1293 146. de la Cuesta-Zuluaga J, Mueller NT, Corrales-Agudelo V,
1294 Velásquez-Mejía EP, Carmona JA, Abad JM, Escobar JS (2017)
1295 Metformin is associated with higher relative abundance of mucin-
1296 degrading *Akkermansia muciniphila* and several short-chain fatty
1297 acid-producing microbiota in the gut. *Diabetes Care* 40:54–62
1298 147. Murphy R et al. (2017) Laparoscopic sleeve gastrectomy versus
1299 banded Roux-en-Y gastric bypass for diabetes and obesity: a pro-
1300 spective randomised double-blind trial. *Obes Surg*. 1–10. <https://doi.org/10.1007/s11695-017-2872-6>
1301 148. Liou AP et al (2013) Conserved shifts in the gut microbiota due to
1302 gastric bypass reduce host weight and adiposity. *Sci Transl Med* 5:
1303 178ra41
1304 149. Arora T, Seyfried F, Docherty NG, Tremaroli V, le Roux CW,
1305 Perkins R, Bäckhed F (2017) Diabetes-associated microbiota in
1306 fa/fa rats is modified by Roux-en-Y gastric bypass. *ISME J* 11:
1307 2035–2046
1308 150. Casselbrant A, Elias E, Fändriks L, Wallenius V (2015)
1309 Expression of tight-junction proteins in human proximal small
1310 intestinal mucosa before and after Roux-en-Y gastric bypass sur-
1311 gery. *Surg Obes Relat Dis* 11:45–53
1312 151. Monte SV, Caruana JA, Ghanim H, Sia CL, Korzeniewski K,
1313 Schentag JJ, Dandona P (2012) Reduction in endotoxemia, oxi-
1314 dative and inflammatory stress, and insulin resistance after Roux-
1315 en-Y gastric bypass surgery in patients with morbid obesity and
1316 type 2 diabetes mellitus. *Surgery* 151:587–593
1317 152. Yang P-J, Lee WJ, Tseng PH, Lee PH, Lin MT, Yang WS (2014)
1318 Bariatric surgery decreased the serum level of an endotoxin-
1319 associated marker: lipopolysaccharide-binding protein. *Surg*
1320 *Obes Relat Dis* 10:1182–1187
1321 153. Trøseid M et al (2013) Plasma lipopolysaccharide is closely asso-
1322 ciated with glycemic control and abdominal obesity: evidence
1323 from bariatric surgery. *Diabetes Care* 36:3627–3632
1324 154. Clemente-Postigo M, Roca-Rodriguez MM, Camargo A, Ocaña-
1325 Wilhelmi L, Cardona F, Tinahones FJ (2014) Lipopolysaccharide
1326 and lipopolysaccharide-binding protein levels and their relation-
1327 ship to early metabolic improvement after bariatric surgery. *Surg*
1328 *Obes Relat Dis Off J Am Soc Bariat Surg* 11:933–939. <https://doi.org/10.1016/j.soard.2014.11.030>
1329 155. Guo Y, Liu C-Q, Liu G-P, Huang Z-P, Zou D-J (2019) Roux-en-Y
1330 gastric bypass decreases endotoxemia and inflammatory stress in
1331 association with improvement of gut permeability in obese diabet-
1332 ic rats. *J Diabetes*. <https://doi.org/10.1111/1753-0407.12906>
1333 156. le Roux CW, Bueter M, Theis N, Werling M, Ashrafian H,
1334 Löwenstein C, Athanasios T, Bloom SR, Spector AC, Olbers T,
1335 Lutz TA (2011) Gastric bypass reduces fat intake and preference.
1336 *Am J Physiol-Regul Integr Comp Physiol* 301:R1057–R1066
1337 157. Kuribayashi H, Miyata M, Yamakawa H, Yoshinari K, Yamazoe Y
1338 (2012) Enterobacteria-mediated deconjugation of taurocholic acid
1339 enhances ileal farnesoid X receptor signaling. *Eur J Pharmacol*
1340 697:132–138
1341 158. Qin J, Li Y, Cai Z, Li S, Zhu J, Zhang F, Liang S, Zhang W, Guan
1342 Y, Shen D, Peng Y, Zhang D, Jie Z, Wu W, Qin Y, Xue W, Li J,
1343 Han L, Lu D, Wu P, Dai Y, Sun X, Li Z, Tang A, Zhong S, Li X,
1344 Chen W, Xu R, Wang M, Feng Q, Gong M, Yu J, Zhang Y, Zhang
1345 M, Hansen T, Sanchez G, Raes J, Falony G, Okuda S, Almeida M,
1346 LeChatelier E, Renault P, Pons N, Batto JM, Zhang Z, Chen H,
1347 Yang R, Zheng W, Li S, Yang H, Wang J, Ehrlich SD, Nielsen R,
1348 Pedersen O, Kristiansen K, Wang J (2012) A metagenome-wide
1349 association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature* 490:
1350 55–60
1351 159. Torres-Leal FL, Fonseca-Alaniz MH, Teodoro GFR, de Capitani
1352 MD, Vianna D, Pantaleão LC, Matos-Neto EM, Rogero MM,
1353 Donato J, Tirapegui J (2011) Leucine supplementation improves
1354 adiponectin and total cholesterol concentrations despite the lack of
1355 changes in adiposity or glucose homeostasis in rats previously
1356 exposed to a high-fat diet. *Nutr Metab* 8:62
1357 160. Cota D et al (2006) Hypothalamic mTOR signaling regulates food
1358 intake. *Science* 312:927–930
1359 161. Binder E, Bermúdez-Silva FJ, Elie M, Leste-Lasserre T, Belluomo
1360 I, Clark S, Duchamp A, Mithieux G, Cota D (2014) Leucine
1361 supplementation modulates fuel substrates utilization and glucose
1362 metabolism in previously obese mice. *Obes Silver Spring Md* 22:
1363 713–720
1364 162. Newgard CB, An J, Bain JR, Muehlbauer MJ, Stevens RD, Lien
1365 LF, Haqq AM, Shah SH, Arlotto M, Slentz CA, Rochon J, Gallup
1366 D, Ilkayeva O, Wenner BR, Yancy WS Jr, Eissensohn H, Musante G,
1367 Surwit RS, Millington DS, Butler MD, Svetkey LP (2009) A
1368 branched-chain amino acid-related metabolic signature that differ-
1369 entiates obese and lean humans and contributes to insulin resis-
1370 tance. *Cell Metab* 9:311–326
1371 163. Pedersen HK, Gudmundsdottir V, Nielsen HB, Hyötyläinen T,
1372 Nielsen T, Jensen BAH, Forslund K, Hildebrand F, Prifti E,
1373 Falony G, le Chatelier E, Levenez F, Doré J, Mattila I, Plichta
1374 DR, Pöhö P, Hellgren LI, Arumugam M, Sunagawa S, Vieira-
1375 Silva S, Jørgensen T, Holm JB, Tröst K, Consortium MHIT,
1376 Kristiansen K, Brix S, Raes J, Wang J, Hansen T, Bork P,
1377 Brunak S, Oresic M, Ehrlich SD, Pedersen O (2016) Human gut
1378 microbes impact host serum metabolome and insulin sensitivity.
1379 *Nature* 535:376–381
1380 164. Stancáková A et al (2012) Hyperglycemia and a common variant
1381 of GCKR are associated with the levels of eight amino acids in 9,
1382 369 Finnish men. *Diabetes* 61:1895–1902
1383 165. Cheng S, Rhee EP, Larson MG, Lewis GD, McCabe EL, Shen D,
1384 Palma MJ, Roberts LD, Dejam A, Souza AL, Deik AA,
1385 Magnusson M, Fox CS, O'Donnell CJ, Vasan RS, Melander O,
1386 Clish CB, Gerszten RE, Wang TJ (2012) Metabolite profiling
1387 identifies pathways associated with metabolic risk in humans.
1388 *Circulation* 125:2222–2231
1389 166. Lanza IR, Zhang S, Ward LE, Karakelides H, Raftery D, Nair KS
1390 (2010) Quantitative metabolomics by 1H-NMR and LC-MS/MS
1391 confirms altered metabolic pathways in diabetes. *PLoS One* 5:
1392 e10538
1393 167. Wang TJ, Larson MG, Vasan RS, Cheng S, Rhee EP, McCabe E,
1394 Lewis GD, Fox CS, Jacques PF, Fernandez C, O'Donnell CJ, Carr
1395 SA, Mootha VK, Florez JC, Souza A, Melander O, Clish CB,
1396 Gerszten RE (2011) Metabolite profiles and the risk of developing
1397 diabetes. *Nat Med* 17:448–453
1398 168. Yoon M-S (2016) The emerging role of branched-chain amino
1399 acids in insulin resistance and metabolism. *Nutrients* 8
1400 169. Melnik BC (2012) Leucine signaling in the pathogenesis of type 2
1401 diabetes and obesity. *World J Diabetes* 3:38–53
1402 170. Morales NB & Plata CA. de. (2012) Role of AKT/mTORC1 path-
1403 way in pancreatic β -cell proliferation. *Colomb Médica* 43, 235–
1404 243
1405 171. Wei X, Yan X, Zou D, Yang Z, Wang X, Liu W, Wang S, Li X,
1406 Han J, Huang L, Yuan J (2013) Abnormal fecal microbiota com-
1407 munity and functions in patients with hepatitis B liver cirrhosis as
1408 revealed by a metagenomic approach. *BMC Gastroenterol* 13:175
1409 1410

- 1411 172. Laferrère B et al (2011) Differential metabolic impact of gastric
1412 bypass surgery versus dietary intervention in obese diabetic sub-
1413 jects despite identical weight loss. *Sci Transl Med* 3:80re2–80re2
1414 173. Gralka E, Luchinat C, Tenori L, Ernst B, Thumheer M, Schultes B
1415 (2015) Metabolomic fingerprint of severe obesity is dynamically
1416 affected by bariatric surgery in a procedure-dependent manner.
1417 *Am J Clin Nutr* 102:1313–1322
1418 174. Lips MA, van Klinken JB, van Harmelen V, Dharuri HK, 't Hoen
1419 PAC, Laros JFJ, van Ommen GJ, Janssen IM, van Ramshorst B,
1420 van Wagenveld BA, Swank DJ, van Dielen F, Dane A, Harms A,
1421 Vreeken R, Hankemeier T, Smit JWA, Pijl H, Willems van Dijk K
1422 (2014) Roux-en-Y gastric bypass surgery, but not calorie restric-
1423 tion, reduces plasma branched-chain amino acids in obese women
1424 independent of weight loss or the presence of type 2 diabetes.
1425 *Diabetes Care* 37:3150–3156
1426 175. Lopes TIB, Geloneze B, Pareja JC, Calixto AR, Ferreira MMC,
1427 Marsaioli AJ (2016) “Omics” prospective monitoring of bariatric
1428 surgery: Roux-En-Y gastric bypass outcomes using mixed-meal
1429 tolerance test and time-resolved 1H NMR-based metabolomics.
1430 *OMICS J Integr Biol* 20:415–423
1431 176. Magkos F, Bradley D, Schweitzer GG, Finck BN, Eagon JC,
1432 Ilkayeva O, Newgard CB, Klein S (2013) Effect of Roux-en-Y
1433 gastric bypass and laparoscopic adjustable gastric banding on
1434 branched-chain amino acid metabolism. *Diabetes* 62:2757–2761
1435 177. Narath SH, Mautner SI, Svehlikova E, Schultes B, Pieber TR,
1436 Sinner FM, Gander E, Libiseller G, Schimek MG, Sourij H,
1437 Magnes C (2016) An untargeted metabolomics approach to char-
1438 acterize short-term and long-term metabolic changes after bariatric
1439 surgery. *PLoS One* 11:e0161425
1440 178. Arora T, Velagapudi V, Poumaras DJ, Welbourn R, le Roux CW,
1441 Orešič M, Bäckhed F (2015) Roux-en-Y gastric bypass surgery
1442 induces early plasma metabolomic and lipidomic alterations in
1443 humans associated with diabetes remission. *PLoS One* 10:
1444 e0126401
1445 179. De Haes W et al (2014) Metformin promotes lifespan through
1446 mitohormesis via the peroxiredoxin PRDX-2. *Proc Natl Acad*
1447 *Sci* 111:E2501–E2509
1448 180. Walford GA, Davis J, Warner AS, Ackerman RJ, Billings LK,
1449 Chamarthi B, Fanelli RR, Hernandez AM, Huang C, Khan SQ,
1450 Littleton KR, Lo J, McCarthy RM, Rhee EP, Deik A, Stoleran E,
1451 Taylor A, Hudson MS, Wang TJ, Altschuler D, Grant RW, Clish
1452 CB, Gerszten RE, Florez JC (2013) Branched chain and aromatic
1453 amino acids change acutely following two medical therapies for
1454 type 2 diabetes mellitus. *Metabolism* 62:1772–1778
1455 181. Cotillard A, Poitou C, Torcivia A, Bouillot JL, Dietrich A, Klöting
1456 N, Grégoire C, Lolmede K, Blüher M, Clément K (2014)
1457 Adipocyte size threshold matters: link with risk of type 2 diabetes
1458 and improved insulin resistance after gastric bypass. *J Clin*
1459 *Endocrinol Metab* 99:E1466–E1470
1460 182. Dalmas E, Rouault C, Abdenour M, Rovere C, Rizkalla S, Bar-
1461 Hen A, Nahon JL, Bouillot JL, Guerre-Millo M, Clément K,
1462 Poitou C (2011) Variations in circulating inflammatory factors
1463 are related to changes in calorie and carbohydrate intakes early
1464 in the course of surgery-induced weight reduction. *Am J Clin*
1465 *Nutr* 94:450–458
1466 183. Canello R, Henegar C, Viguerie N, Taleb S, Poitou C, Rouault C,
1467 Coupaye M, Pelloux V, Hugol D, Bouillot JL, Bouloumie A,
1468 Barbatelli G, Cinti S, Svensson PA, Barsh GS, Zucker JD,
1469 Basdevant A, Langin D, Clément K (2005) Reduction of macro-
1470 phage infiltration and chemoattractant gene expression changes in
1471 white adipose tissue of morbidly obese subjects after surgery-
1472 induced weight loss. *Diabetes* 54:2277–2286
1473 184. Liu Y, Aron-Wisniewsky J, Marcelin G, Genser L, le Naour G,
1474 Torcivia A, Bauvois B, Bouchet S, Pelloux V, Sasso M, Miette
1475 V, Tordjman J, Clément K (2016) Accumulation and changes in
1476 composition of collagens in subcutaneous adipose tissue after bar-
1477 iatric surgery. *J Clin Endocrinol Metab* 101:293–304
1478 185. García-Rubio J, León J, Redruello-Romero A, Pavón E, Cozar A,
1479 Tamayo F, Caba-Molina M, Salmerón J, Carazo Á (2018)
1480 Cytometric analysis of adipose tissue reveals increments of adipo-
1481 cyte progenitor cells after weight loss induced by bariatric surgery.
1482 *Sci Rep* 8:15203
1483 186. Faria G, Pestana D, Aral M, Preto J, Norberto S, Calhau C,
1484 Guimarães JT, Taveira-Gomes A (2014) Metabolic score: insights
1485 on the development and prediction of remission of metabolic syn-
1486 drome after gastric bypass. *Ann Surg* 260:279–286
1487 187. Zamarron BF et al. (2016) Macrophage proliferation sustains ad-
1488 ipose tissue inflammation in formerly obese mice. *Diabetes*
1489 db160500. <https://doi.org/10.2337/db16-0500>
1490 188. Poitou C, Dalmas E, Renovato M, Benhamo V, Hajdich F,
1491 Guimaraes JT, Taveira-Gomes A (2014) Metabolic score: insights
1492 on the development and prediction of remission of metabolic syn-
1493 drome after gastric bypass. *Ann Surg* 260:279–286
1494 189. Rogacev KS, Ulrich C, Blomer L, Hornof F, Oster K, Ziegelin M,
1495 Cremers B, Grenner Y, Geisel J, Schlitt A, Kohler H, Fliser D,
1496 Girmdt M, Heine GH (2010) Monocyte heterogeneity in obesity
1497 and subclinical atherosclerosis. *Eur Heart J* 31:369–376
1498 190. Pecht T, Haim Y, Bashan N, Shapiro H, Harman-Boehm I,
1499 Kirshtein B, Clément K, Shai I, Rudich A (2016) Circulating
1500 blood monocyte subclasses and lipid-laden adipose tissue macro-
1501 phages in human obesity. *PLoS One* 11:e0159350
1502 191. Chen H et al. Change in gut microbiota is correlated with altera-
1503 tions in the surface molecule expression of monocytes after
1504 Roux-en-Y gastric bypass surgery in obese type 2 diabetic pa-
1505 tients. 12
1506 192. Viardot A, Lord RV, Samaras K (2010) The effects of weight loss
1507 and gastric banding on the innate and adaptive immune system in
1508 type 2 diabetes and prediabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 95:
1509 2845–2850
1510 193. Samaras K, Viardot A, Botelho NK, Jenkins A, Lord RV (2013)
1511 Immune cell-mediated inflammation and the early improvements
1512 in glucose metabolism after gastric banding surgery. *Diabetologia*
1513 56:2564–2572
1514 194. Magalhaes I, Pingris K, Poitou C, Bessoles S, Venteclef N, Kiaf B,
1515 Beaudoin L, da Silva J, Allatif O, Rossjohn J, Kjer-Nielsen L,
1516 McCluskey J, Ledoux S, Genser L, Torcivia A, Soudais C,
1517 Lantz O, Boitard C, Aron-Wisniewsky J, Larger E, Clément K,
1518 Lehuen A (2015) Mucosal-associated invariant T cell alterations
1519 in obese and type 2 diabetic patients. *J Clin Invest* 125:1752–1762
1520 195. Touch S et al. (2018) Mucosal-associated invariant T (MAIT) cells
1521 are depleted and prone to apoptosis in cardiometabolic disorders.
1522 *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol* fj201800052RR. <https://doi.org/10.1096/fj.201800052RR>
1523 196. Tasthan C, Karhan E, Zhou W, Fleming E, Voigt AY, Yao X, Wang
1524 L, Home M, Placek L, Kozhaya L, Oh J, Unutmaz D (2018)
1525 Tuning of human MAIT cell activation by commensal bacteria
1526 species and MR1-dependent T-cell presentation. *Mucosal*
1527 *Immunol* 11:1591–1605
1528
1529
1530
1531
1532
1533
1534

Rôle des micro ARN dans la fonctionnalité bêta cellulaire

Synthèse des micro ARN

Les micro ARN (miR) sont de petits ARN monobranches, non codant d'environ 22 nucléotides, hautement conservés entre les espèces. Différentes étapes de maturation sont nécessaires à la synthèse d'un miR (Figure 10) (126). Tout d'abord, transcrit par la polymérase II, le pri-miR double branche, en épingle à cheveux, est ensuite clivé en intra nucléaire par le complexe composé de la Ribonucléase II (Drosha) et le cofacteur de Di George (étape 1, Figure 14). Le précurseur pre-miR nouvellement formé est exporté vers le cytoplasme par un pore nucléaire où sa boucle est alors clivée par la ribonucléase Dicer (Ribonucléase III) (étape 2, Figure 14). L'ARN double brin mature non codant ainsi formé peut s'associer au complexe RISC (RNA-induced silencing complex), qui contient la protéine argonaute ou Ago2 (étape 3, Figure 14). Lors de la formation de ce complexe, la branche du double brin du miR qui n'est pas complémentaire à l'ARN messenger (ARNm) cible est dégradé : le miR devient monobranche. Le complexe RISC est nécessaire pour fixer le miR à la séquence 3' (3'UTR) non traduite de l'ARNm complémentaire cible (étape 4, Figure 14). La complémentarité est en général partielle chez l'homme et l'animal.

Les miRs ont une action de régulation post transcriptionnelle de l'expression des gènes. En effet, en se fixant sur l'ARNm cible, le miR associé au complexe RISC engendre soit une dégradation de l'ARNm, soit une interruption de sa traduction (étape 5, Figure 14). Environ 60% des gènes semblent régulés par des miRs (127). Plusieurs miRs peuvent cibler le même ARNm. En contexte pathologique, cette importante régulation post transcriptionnelle des gènes peut être altérée si l'expression des miRs est dérégulée (126).

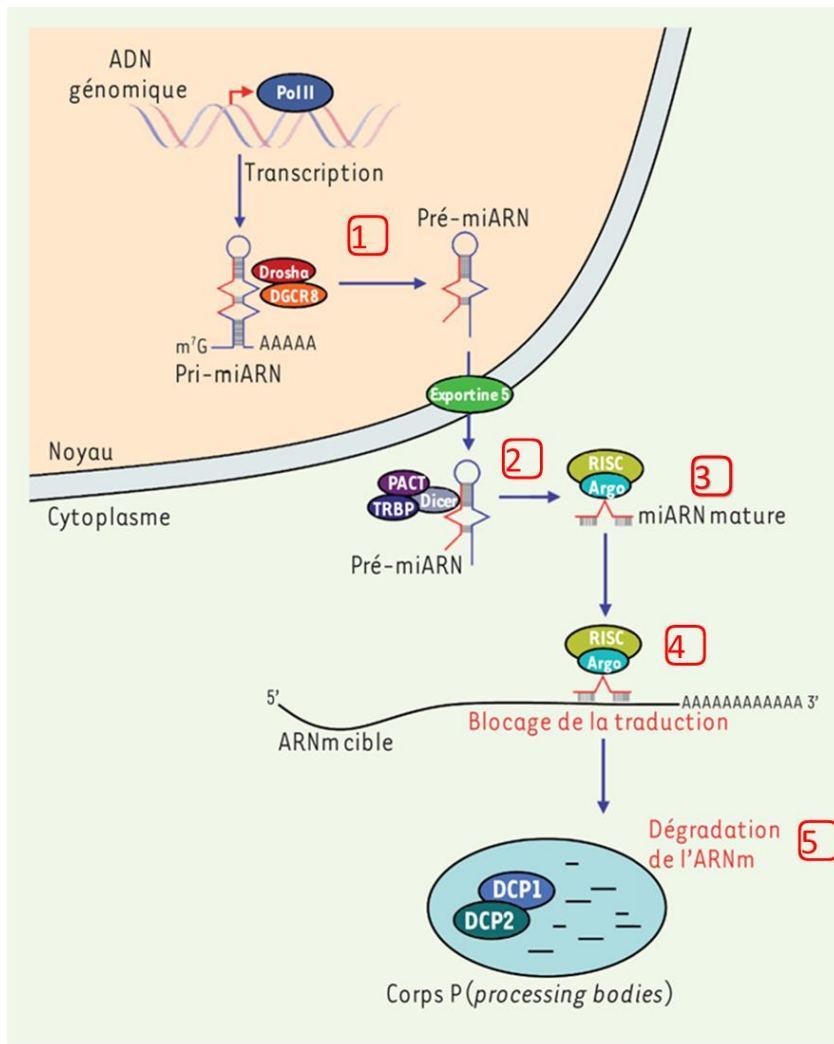


Figure 14 : Schéma explicatif, miR, Extrait de Baulande S et al. (128) .

Sécrétion des miRs dans le milieu extra cellulaire

Une propriété importante de ces micro-ARN réside dans leur capacité à circuler dans le milieu extra cellulaire. La grande majorité des miRs circulants sont uniquement associés à la protéine argonaute (129), une minorité circulent au sein de structures lipidiques (Figure 15) (128) qui peuvent être :

- des exosomes (40-100 nm). Ce sont des microvésicules lipidiques formées suite à une invagination de la membrane cytoplasmique de la cellule. Leur contenu, contrôlé par la cellule se compose de protéines, ARNm et miR.

- des microvésicules plus grandes que les exosomes (0,1-1 μm). Ces microvésicules se forment à partir d'un bourgeonnement de la membrane plasmique, leur contenu non contrôlé est similaire à celui de la cellule.
- des corps apoptotiques formés à des stades précoces de l'apoptose peuvent contenir des miRs circulants.
- des lipoprotéines : HDL [high density lipoprotein] et LDL [low density lipoprotein].

De façon intéressante, les miRs circulants particulièrement transportés par les exosomes ou les lipoprotéines peuvent être transférés sous leur forme active. Leur incorporation par les cellules ciblées se fait par phagocytose ou fusion soulevant donc la possibilité d'une communication inter-organe (130,131). Les miRs circulants, complexés aux protéines Ago2 n'ont pas montré à l'heure actuelle de fonctionnalité.

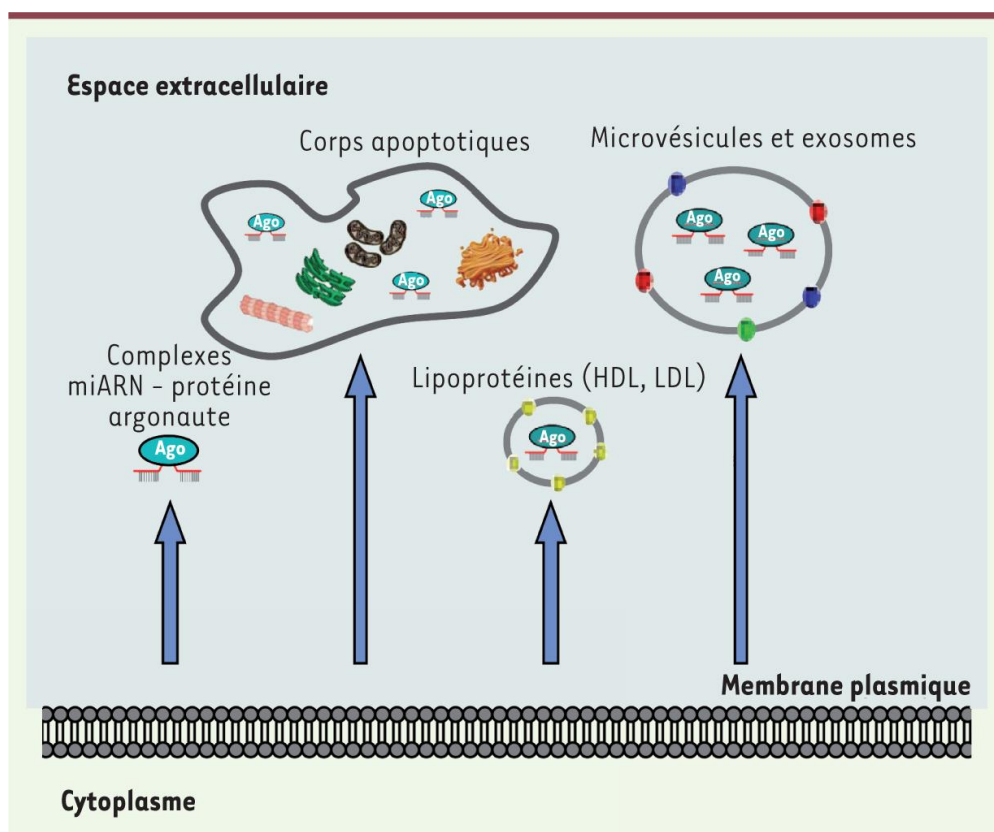


Figure 15 : Export dans le milieu extra cellulaire des miRs, Extrait de Baulande S et al. (128)

Micro ARN et fonctionnalité bêta cellulaire

Depuis la découverte des miRs au début des années 2000, une littérature abondante a vu le jour, dévoilant l'importance de ces ARNs non codants dans la régulation post transcriptionnelle des gènes. De nombreuses équipes ont montré leur rôle fondamental sur le développement, le métabolisme et la fonctionnalité de la cellule bêta pancréatique. Plusieurs revues récentes de la littérature ont décrit en détail les différents miRs impliqués ainsi que leurs actions régulatrices au sein de la cellule bêta pancréatique (126,132,133).

Tout d'abord, les miRs semblent indispensables au développement du pancréas endocrine. En effet, la perte cellulaire des miR au niveau pancréatique à l'état embryonnaire entraîne la mort des animaux en période post natale ou au mieux provoque de graves anomalies du métabolisme glucidique à l'âge adulte (134–136). Les miRs sont également impliqués dans la régulation de la masse bêta pancréatique à l'âge adulte, comme l'illustre l'adaptation physiologique de la masse bêta cellulaire à certaines situations comme la grossesse ou l'obésité (et plus particulièrement l'insulinorésistance). Dans ces situations, la masse bêta pancréatique ne peut s'adapter lorsque l'expression de certains miRs est modifiée comme le miR-338-3p, le miR-375, miR-106b-5p (137–141).

Dans la littérature, plus d'une vingtaine de miRs semblent être capables de moduler la prolifération et/ou l'apoptose des cellules bêta pancréatiques comme les miR-30b, miR-101a, miR-210, miR-203, miR-34a et bien d'autres, cf Figure 16 (126,132,133,142,143).

La synthèse et la sécrétion de l'insuline dans la cellule bêta pancréatique semblent être contrôlées par les micro ARNs non codants. Même si l'ARNm de l'insuline n'apparaît pas être une cible directe de miRs, l'expression du gène de l'insuline reste sous l'influence de l'expression de plusieurs miRs qui ont pour cible des facteurs de transcription essentiels comme SOX6 (144), MafA (143,145), PDX1(146). En ce qui concerne la sécrétion d'insuline, toutes les étapes nécessaires à sa maturation et sa libération semblent également être régulées par les miRs. En effet, les protéines indispensables à l'exocytose de l'insuline dont les membres de la famille SNARE, Syntaxin 1A, VAMP2 tout comme la Granuphilin (régulateur négatif de l'exocytose) sont également la cible de nombreux ARNs non codants (133).

Enfin, la captation du glucose par le transporteur GLUT2, la glycolyse via la glucokinase ainsi que le métabolisme oxydatif mitochondrial semblent être ciblés par les miR 130 (a/b) et 152 qui sont par ailleurs dérégulés dans les ilots de patients DT2 (147).

La Figure 16 illustre les principaux miRs décrits dans la littérature, capables de réguler la fonctionnalité de la cellule bêta pancréatique.

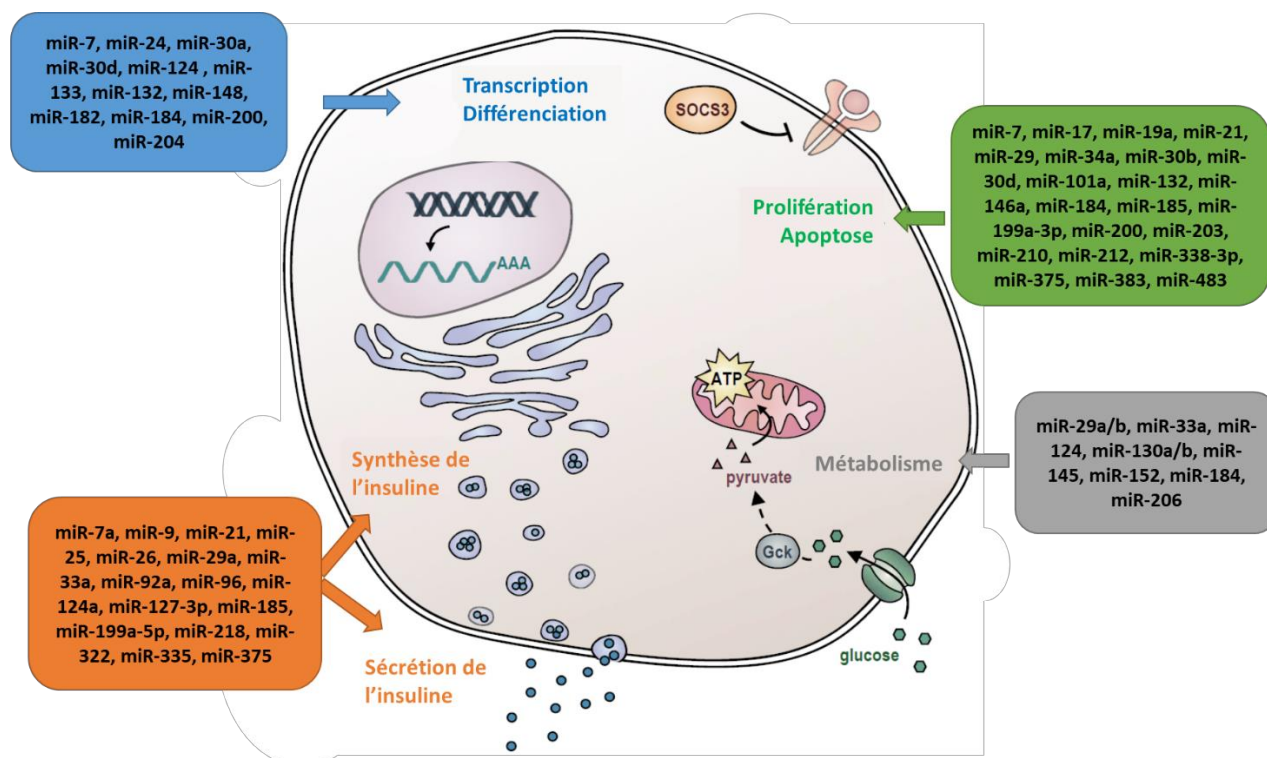


Figure 16 : miRs impliqués dans la fonctionnalité bêta pancréatique. Adapté de Lapierre et al (132), Osmi et al (126), Esguerra et al (133)

Micro ARN circulants, biomarqueurs de diabète de type 2 ?

Les miRs sont très stables et peu sensibles aux ribonucléases ainsi qu'aux cycles de congélation/décongélation du sérum ou du plasma (148). En conséquence, la conservation du plasma ou du sérum à -20°C ou -80°C ne semble pas altérer la mesure des miRs et pourrait permettre ainsi leur utilisation comme biomarqueurs éventuels. De plus, les miRs sont retrouvés dans beaucoup d'autres fluides que le sang (urine, salive, liquide amniotique, lait maternel...). Ils sont conservés à travers les espèces, permettant la comparaison entre les études animales et humaines et enfin leur dosage est constant et stable au moins sur une durée de 24h (149). Différentes études (150–157), concernant de petits échantillons (ne dépassant pas les 30 patients par groupe dans la plus part des cas) ainsi que plusieurs méta-analyses récentes (158–160) ont cherché à identifier des miRs circulants pouvant servir de biomarqueurs du DT2.

Malheureusement, selon les études, les résultats sont souvent discordants, la dérégulation allant parfois en sens inverse d'une étude à l'autre. Ceci souligne la difficulté d'interprétation de ces données, pouvant différer du fait de biais d'étude, de conditions de prélèvement et de détection non comparables, de cohortes de patients aux conditions physiologiques différentes. Récemment, plusieurs miRs circulants ont été identifiés au cours de différentes méta-analyses (158–160) comme potentiels biomarqueurs du DT2. Parmi ces miRs, 15 sont exprimés au sein de la cellule bêta pancréatique et leur rôle fonctionnel a déjà été identifié (miR-7, miR-9, miR-19a, miR-21, miR-26, miR-29a, miR-30d, miR-34a, miR-124, miR-130a/b, miR-132, miR-146a, miR-148, miR-199a-5p, miR-375), (Figure 17).

Également, plusieurs équipes ont cherché à identifier les miRs circulants après une chirurgie bariatrique (161–168). On constate que 7 miRs circulants, dont la fonctionnalité au sein de la cellule bêta est connue et qui dont leur taux circulant est dérégulé dans le diabète de type 2, semblent significativement différentiellement exprimés après chirurgie bariatrique (miR7, miR-21, miR-26, miR-29a, miR-124, miR-130a/b, miR-146a). L'interprétation de ces données doit se faire avec prudence contenu du fait que ces études, peu nombreuses, sont très hétérogènes dans leur construction, particulièrement concernant la cohorte d'étude et le timing post opératoire choisi pour l'analyse des miRs circulants (161–168).

Modèles animaux, effet de la chirurgie bariatrique sur la cellule bêta pancréatique

Cette dernière décennie, plusieurs équipes ont porté leurs recherches sur l'impact de la chirurgie bariatrique sur le pancréas endocrine en utilisant différents modèles animaux (cf Tableau 2).

Plusieurs questions ont été posées par les différents auteurs :

- L'augmentation des hormones digestives circulantes observée après chirurgie bariatrique (SG et RYGB principalement), plus particulièrement les incrétines (GLP-1, GIP), participe-t-elle à l'amélioration de l'insulinosécrétion en post opératoire par une action directe sur la cellule bêta pancréatique ?
- Y a-t-il une modulation qualitative et quantitative du pancréas endocrine post chirurgie bariatrique : masse bêta cellulaire, prolifération, apoptose, répartition cellulaire ?
- La fonctionnalité propre de la cellule bêta pancréatique est-elle modifiée par la chirurgie bariatrique ?

Une revue de la littérature concernant ce sujet (Tableau 2) montre que les différents articles apportent souvent des réponses contradictoires, ce qui peut sans doute s'expliquer par la diversité des modèles animaux et des techniques chirurgicales utilisées.

Comme nous l'avons évoqué ci-dessus, il est maintenant bien décrit que les taux circulants des incrétines s'élèvent après chirurgie bariatrique. Figure de proue des incrétines, le GLP-1 a suscité de nombreuses investigations. Cette hormone a de nombreuses actions physiologiques, avec notamment la potentialisation de l'insulinosécrétion et de la sensibilité à l'insuline ainsi que de la production hépatique en glucose (169).

La sécrétion de GLP-1 est stimulée au cours de l'absorption digestive de glucose, de fructose, de certains peptides et d'acides gras libres et est fortement réduite par la restriction calorique (169). L'altération de la sécrétion post prandiale de GLP-1 chez le diabétique de type 2 est considérée par certains auteurs comme participant à l'insulinopénie relative observée chez ces patients (170).

Dans un contexte d'amélioration métabolique post-chirurgie bariatrique, cette hormone intestinale est qualifiée comme le candidat idéal permettant d'expliquer, du moins en partie, les effets de la chirurgie bariatrique sur l'insulinosécrétion. En effet, outre l'élévation de son taux circulant post opératoire, le blocage de son action systémique par son agoniste compétitif, l'exendine 9-39 après un RYGB induit une altération partielle de l'insulinosécrétion chez les patients (171,172), ce qui n'a cependant aucune conséquence sur la tolérance au glucose des

patients (173,174). De plus, des études chez l'animal mettent en doute le rôle fondamental du GLP1 dans l'amélioration glucidique, puisque des études sur des modèles animaux délétés totalement ou partiellement (au sein des cellules bêta) pour le récepteur du GLP-1 ont récemment démontrées que le récepteur du GLP-1 n'était pas indispensable aux effets bénéfiques de la SG sur l'homéostasie glucidique des animaux (175–177). Cependant, d'autres récents travaux suggèrent qu'une synthèse paracrine de GLP-1 par les cellules alpha des îlots de Langerhans pourrait participer à la stimulation de l'insulinosécrétion après SG et serait dépendante de la présence du récepteur au GLP-1 des cellules bêta pancréatiques (178,179).

Par ailleurs, la découverte de cas de nésioblastoses pancréatiques chez les patients atteints d'hypoglycémies hyperinsuliniques post RYGB, au début des années 2000, a soulevé la question d'une adaptation des îlots pancréatiques après chirurgie bariatrique (180). Cependant, un effet direct de la chirurgie bariatrique sur la masse cellulaire bêta pancréatique chez l'homme reste difficile à prouver, certaines équipes confirmant les premiers résultats observés par Service et al (181) alors que d'autres non (182,183). La difficulté d'accès à l'organe du pancréas rend difficile les investigations en dehors de situations pathologiques ou post-mortem chez l'homme. Pour essayer de répondre à cette question, l'utilisation de modèles animaux s'avère nécessaire.

Nous avons recensé 16 études animales ayant étudié l'évolution de la masse bêta pancréatique après une chirurgie bariatrique (cf Tableau 3). Dans ces travaux, le modèle animal prépondérant est le rat, et le modèle chirurgical le plus utilisé est le RYGB ou un dérivé (duodéno-jéjunale bypass : DJB), la minorité des études utilisent la SG ou la transposition iléale (IT). Là encore, les résultats divergent, la masse bêta est parfois augmentée (184,184–192), réduite (116,193–195) ou inchangée (191,196). Certains auteurs ont également relevé la taille, le nombre d'îlots, les paramètres d'apoptose, de prolifération bêta cellulaire, le contenu en insuline pancréatique ou par îlots et la répartition cellulaire intra îlot (rapport bêta/alpha cellulaire) et les divergences de résultats sont là encore présentes (cf Tableau 3). Il semblerait que l'évolution du poids et par conséquent, de la sensibilité à l'insuline post chirurgicale ait une influence majeure sur l'évolution des différents paramètres pancréatiques post chirurgicaux et puisse masquer un effet direct de la chirurgie sur cet organe. Ceci pourrait expliquer au moins en partie les résultats opposés des différents travaux. En effet, cette observation est très joliment illustrée dans l'étude de Cummings et al (195) qui après une IT chez le rat observe, 45 jours après la chirurgie, période au cours de laquelle les animaux ont perdu beaucoup de poids, une baisse de la masse bêta pancréatique en comparaison aux contrôles. Or, chez ces mêmes animaux sacrifiés plus

tardivement (4 mois après la chirurgie) et après reprise de poids, la masse bêta pancréatique devient cette fois significativement plus élevée que celle des contrôles témoignant de la plasticité du pancréas endocrine.

En dehors du nombre de cellules bêta pancréatiques, certains auteurs soulignent aussi une amélioration de la fonctionnalité bêta cellulaire après chirurgie bariatrique à travers des études sur ilots isolés (cf Tableau 3). En revanche, il semble là encore que l'évolution du poids et de la sensibilité à l'insuline des différents modèles animaux utilisés soit un biais important. En effet, en fonction des différents modèles animaux utilisés, la sécrétion d'insuline stimulée par le glucose au sein d'ilots isolés (GSIS) est soit augmentée (177,197,198) ou bien abaissée (194,199). Chez l'homme, seules les études in vivo sont possibles et certaines équipes retrouvent une amélioration qualitative de l'insulinosécrétion stimulée par la charge en glucose : restauration de la phase précoce d'insulinosécrétion dès le premier mois qui suit la chirurgie bariatrique objectivée par un test de tolérance au glucose délivré par voie veineuse (IVGTT) (200), d'autres montrent que cette amélioration fonctionnelle ne serait que partielle (201).

Tableau 3 : Modèles animaux de chirurgie bariatrique portant sur l'effet de la chirurgie bariatrique sur le pancréas endocrine

Article	Modèle animal	Chirurgie	Durée suivie	Masse β cellulaire	Contenu en insuline	Taille/ nombre des îlots	Apoptose β cellulaire	Prolifération β cellulaire	Rapport cellule β/α	GSIS	Expression du gène de l'insuline	Autre
Camacho-ramirez, et al. (185)	Rat wistar	RYGB, VSG		↗								
Cantelli, et al. (199)	Rat, obèse	DJB	2 mois					↘		↘		
Chai et al. (202)	Rat GK	RYGB	30 jours				↘					
Cummings, et al. (195)	Rat UCD-T2D	IT	1,5 mois et 4,5 mois	↘ à 1,5 mois, ↗ à 4 mois								↘ baisse stress du RE
Cummings, et al. (203)	Rat UCD-T2D	IT	2 mois		↗							
De Luis, et al. (197)	Rat GK	DJB	2 mois		=					↗	↗	
Douros, et al. (177)	Souris β cell GLP1r -/-	VSG	5 semaines		↗					↗		VSG sur souris cellule bêta ko GLP1r (poids, OGTT, IPGTT) : pas de modification de la réponse
Douros, et al. (198)	Souris HFD	VSG	2 semaines		=				=	↗		↗ pulse des oscillations calciques stimulées par le glucose. Synthèse d'ATP intra îlot identique
Garibay, et al. (178)	Souris β cell GLP1r -/-	VSG	6 semaines						↘			↗ expression GLP-1 alpha cellulaire, ↗ expression des Proconvertases 1/3 dans les cellules alpha (perdu dans le modèle GLP1r KO)
Grong, et al. (186)	Rat GK	VSG	46 semaines	↗		↗						
Guida, et al. (204)	Rat GK	RYGB										↗ PYY intra îlot, et ↗ GLP1 mais en moins grande quantité
Li, et al. (205)	Rat GK	RYGB	12 semaines									↗ expression du gène et de la protéine PDX1 dans les cellules bêta
Lindqvist, et al. (187)	Porc	RYGB	2 semaines	↗		↗					↗	↗ expression gène du glucagon dans les îlots
Liu, et al. (188)	Rat HFD, STZ	VSG et DJB	4 semaines	↗			↘					marquage insuline plus intense,
Mc Gavigan et al. (116)	Souris WT et Souris TGR5-/-	VSG	6 mois	↘								↗ acides biliaires circulants, effets moins marqués de la VSG si TGR5-/- sur tolérance au glucose, sensibilité à insuline,
Mendes, et al. (206)	Rat western diet	DJB	2 mois	↘		↘						↘ sécrétion d'insuline in vitro en réponse à l'acide cholinergique et cAMP, ↗ syntaxin-1
Méndez-guiménez, et al. (194)	Rat HFD	VSG	4 semaines	↘			↘			↘		↘ stéatose intra îlots, ↗ expression aquaporine 7 (canal pour glycérol) positivement corrélé avec GSIS induit par GLP1
Qian, et al. (189)	Rat GK	RYGB	3 mois	↗	↗							↘ cellule bêta différenciées, ↗ rapport sécrétion d'insuline/glucagon,
Seyfried, et al. (190)	Rat fa/fa	RYGB	30 jours	↗ (vs Rat sham ad libidum)								masse bêta cellulaire identique aux rats pairfed, ↗ expression de GLP1 et PDX1 dans les îlots
Sun, et al. (193)	Rat GK	IT	4 semaines	↘			↘					↗ expression du GLP1 rdans le pancreas,

Tableau 3 suite

Article	Modèle animal	Chirurgie	Durée suivi	Masse β cellulaire	Contenu en insuline	Taille/ nombre des îlots	Apoptose β cellulaire	Prolifération β cellulaire	Rapport cellule β/α	GSIS	Expression du gène de l'insuline	Autre
Wang, et al. (191)	Rat Sprague-Dawley, STZ	DJB	4 semaines post STZ	↗		↗	↘					
Wang, et al. (207)	Rat Sprague-Dawley, STZ	RYGB vs SADI-S	8 semaines	=								
Woods, et al. (196)	Souris HFD	DJB	4 semaines	=				↘				↗ expression PDX1, GLP1, PP, synaptophysin des îlots
Wu, et al. (208)	Rat Sprague-Dawley, STZ	DJB	16 semaines				↘			↗		↘ infiltration macrophagique intra îlots et de l'expression de NLRP3 =inflammasome
Yu, et al (209)	Rat diabétiques	RYGB	4 semaines									Transcriptomique : RYGB module l'expression de gènes de la régulation métabolique de la cellule bêta. Corrélation entre l'intensité du contenu en insuline intra cellulaire et du contenu calcique.
Zhang, et al (184)	Rat HFD	RYGB	8 semaines	↗								
Zhou, et al (192)	Rat GK	RYGB	3 mois	↗		↗	=	=	=			
HFD : high fat diet, WT : wild type, GK : Goto-Kakizaki, UCD-T2D : UC Davis type 2 diabetes mellitus , RE : réticulum endoplasmique, GLP1r : récepteur du Glucagon like peptide 1, STZ : streptozotocine												
DJB : duodeno-jenunal bypass, RYGB : Roux en Y gastric bypass, IT : transposition iléale, VSG : vertical sleeve gastrectomy, SADI-S : Single-anastomosis duodeno-ileal bypass -sleeve gastrectomy, GB : gastric banding, BPD : biliopancreatic diversion												
GSIS : glucose stimulated index (des îlots isolés)												
PYY : peptide YY, GLP1 : glucagon like peptide 1, PDX1 : pancreatic and duodenal homeobox 1, NLRP3 : Nod-like receptor family pyrin domain containing 3, PP : polypeptide pancreatic												
OGTT : oral glucose tolerance test, IPGTT : intra péritonéal glucose tolérance test.												

A travers les différents résultats de ces études, la question de l'effet direct de la chirurgie bariatrique sur le pancréas endocrine et particulièrement sur la cellule bêta pancréatique (fonctionnalité, nombre) reste ouverte. Il est très difficile d'affirmer à l'heure actuelle que les effets observés sur la masse bêta cellulaire, le GSIS soient indépendant de l'évolution du poids de la sensibilité à l'insuline après chirurgie bariatrique. Un modèle permettant de dissocier effet de la chirurgie sur le poids et la glycémie serait un atout pour essayer de répondre à ces questions.

Afin d'étudier les différents mécanismes impliqués dans l'amélioration de l'homéostasie glucidique après chirurgie bariatrique, notre équipe a mis au point il y a plusieurs années, un modèle de bypass duodéno-jéjunal chez la souris, l'entéro-gastro-anastomose (EGA) que nous décrivons dans le chapitre suivant.

EGA, modèle animal de chirurgie bariatrique

Le montage chirurgical

Le Pr ANDREELLI a mis au point une technique de bypass gastrique adaptée au modèle murin. Dans ce montage chirurgical, contrairement à la technique du RYGB chez l'homme, le volume gastrique n'est pas réduit, mais le duodénum et le jéjunum proximal restent bien exclus du circuit alimentaire (Figure 18). La mise au point récente de cette technique chirurgicale chez la souris permet d'aborder la problématique des mécanismes impliqués dans l'amélioration de l'homéostasie glucidique après cette intervention. L'entéro-gastro-anastomose (EGA), qui est un bypass duodéno-jéjunale, consiste en une suture du pylore et une anastomose du jéjunum sur l'estomac (210). Il en résulte que le bol alimentaire n'est plus adressé au duodénum qui est exclu du circuit alimentaire et qu'une nouvelle anse alimentaire est créée.

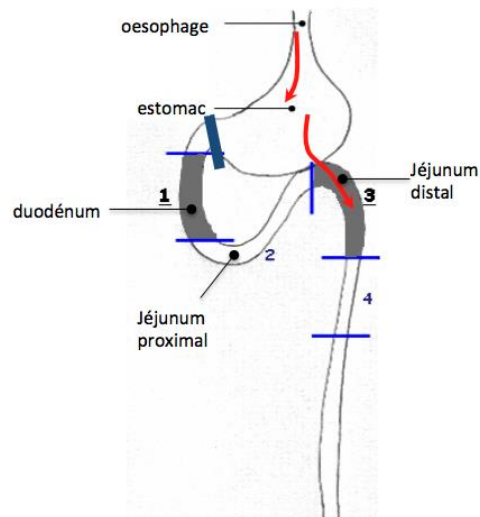


Figure 18 : Schéma de l'entéro-gastro-anastomose : EGA

Les effets de cette technique sur la réduction pondérale, la réduction de la prise alimentaire et l'amélioration de la sécrétion d'insuline et de l'insulinorésistance sont similaires aux effets du RYGB chez l'homme (210). Il est intéressant de constater que contrairement au RYGB chez l'homme, la technique d'EGA n'exclue pas l'estomac. Ceci renforce l'idée que l'exclusion de l'estomac n'est probablement pas indispensable aux effets généraux du RYGB chez l'homme.

Modèle de l'EGA chez la souris soumise au régime gras

Au cours d'une étude précédente, les effets de l'EGA ont été comparés à la chirurgie par anneau gastrique chez des souris C57Bl6 soumises à un régime gras et ceci afin de mettre en évidence les effets spécifiques de la technique EGA (210). Au 7ème jour post-opératoire, seul le groupe de souris EGA (et non le groupe anneau gastrique) présentait une réduction de l'insulinorésistance hépatique et une hausse de la sécrétion d'insuline lors du test de tolérance au glucose par voie orale (OGTT). Les groupes d'animaux étant pair-fed, les effets de l'EGA ne pouvaient donc s'expliquer par la restriction calorique induite par cette chirurgie. Ceci était en accord avec les données humaines et permettait également de montrer qu'à perte de poids identique, seules les souris EGA avaient un métabolisme amélioré. Parmi les mécanismes rendant compte des effets de l'EGA, notre laboratoire a montré que cette technique stimulait spécifiquement la néoglucogenèse intestinale et que la vagotomie annulait tous les effets de l'EGA tant sur la prise alimentaire que sur le métabolisme glucidique. Enfin, parce que le bypass gastrique est connu pour induire une sécrétion accrue de GLP-1 chez l'homme (170), il

était intéressant de mieux comprendre les actions spécifiques du GLP-1 dans le modèle murin d'EGA. Pour cela, il a d'abord été vérifié que seule l'EGA (et non l'anneau gastrique) augmentait bien la sécrétion de GLP-1 en situation post-prandiale dans ce modèle murin. Ensuite, les souris EGA furent traitées par un agoniste compétitif du GLP-1 [Exendine 9-39 amide] pendant 10 jours, dès l'entéro-gastro-anastomose effectuée. Il a pu être observé que les effets satiétogènes et l'amélioration de la sensibilité à l'insuline induits par la chirurgie étaient préservés malgré la réduction du GLP-1 suggérant que ces deux effets chirurgicaux étaient indépendants du GLP-1. Par contre, on notait une réduction partielle (et non totale) de l'amélioration induite par la chirurgie de l'insulinosécrétion lors de l'OGTT, d'environ 30%, suggérant d'une part que la hausse de GLP-1 post-opératoire participait bien à l'amélioration de l'insulinosécrétion et que d'autre part, d'autres facteurs que les incrétines étaient impliqués dans la régulation de l'insulinosécrétion par cette chirurgie.

C'est pour connaître les autres mécanismes impliqués dans l'amélioration de la sécrétion d'insuline que nous avons décidé d'étudier les effets de la chirurgie EGA sur les souris ob-ob.

Modèle de l'EGA chez la souris leptine déficiente (ob-ob)

Lors de mes travaux de thèse, nous avons choisi d'utiliser le modèle de l'EGA chez la souris ob-ob mutée pour la leptine (dont les caractéristiques sont décrites ci-dessous). Au cours de travaux préliminaires nous avons pu constater que l'EGA dans ce modèle n'induisait pas de perte de poids durable mais était capable d'améliorer l'hyperglycémie de ces animaux par une stimulation drastique de l'insulinosécrétion sans que l'insulinorésistance ne soit modifiée. Nous assistions ainsi à une dissociation poids/glycémie avec de plus, un effet majeur sur l'insulinosécrétion. Nous avons donc décidé de porter mes travaux de thèse sur ce modèle et d'étudier l'effet de l'EGA sur le métabolisme de la souris déficiente en leptine et plus précisément sur le pancréas endocrine de ces animaux.

La souris leptine déficiente

La souris ob/ob est déficiente en leptine. Elle présente une hyperphagie dès le plus jeune âge (2 semaines) conduisant à une obésité massive, une dyslipidémie, une hyperglycémie et une hyperinsulinémie particulièrement prononcée pendant la période de prise de poids rapide (jusqu'à 5 mois de vie) (211). L'insulinorésistance est sévère dans ce modèle. Les îlots bêta pancréatiques sont hyperplasiés (volume jusqu'à 10 fois ceux d'animaux contrôles wild type WT) sans augmentation de leur nombre total (212). Parmi les cellules endocrines de l'îlot

pancréatique, la cellule bêta y est en proportion plus élevée que chez des animaux WT (213). Les ilots pancréatiques de souris ob/ob présentent plusieurs anomalies fonctionnelles. Tout d'abord, leur sécrétion d'insuline en réponse au glucose est exagérée et le seuil de sécrétion d'insuline est nettement abaissé par rapport à des ilots de souris WT (214). En effet, in vitro, la sécrétion d'insuline est déjà stimulée par une concentration inférieure à 1mmol/l de glucose (214). Également, la réponse calcique au glucose est augmentée mais désynchronisée au sein des ilots (215,216) et l'expression du transporteur non sélectif de cation, TRPM5 (Transient receptor potential melastatin 5) qui joue un rôle important dans l'activité électrique de la cellule bêta est abaissée (217). L'activité UCP-2 (uncoupling protein-2 : régulateur négatif de l'insulinosécrétion, impliqué dans le métabolisme oxydatif des acides gras) est augmentée dans les cellules bêta des souris mutées pour le gène de la leptine (218). Le stress du réticulum endoplasmique bêta cellulaire est important mais la réponse adaptative UPR l'est aussi ce qui en limite probablement la perte de fonctionnalité (219,220). D'autre part, le transporteur du glucose GLUT2 est moins exprimé et l'activité glucokinase est parfois décrite comme abaissée ou élevée dans les cellules bêta des souris ob/ob (221,222). Ce modèle animal est très utilisé dans la littérature comme modèle de diabète de type 2 avec obésité massive.

Malgré l'absence de leptine, ce modèle a tout de même l'avantage de présenter de manière plus prononcée et homogène que les souris nourries au régime gras : une obésité avec lipotoxicité et inflammation, une insulino-résistance importante avec adaptation pancréatique à l'insulino-résistance, une dysfonction bêta cellulaire à l'origine d'une hyperglycémie sévère, anomalies similaires au diabète de type 2 humain.

Comme évoqué ci-dessus, le modèle d'EGA chez la souris ob-ob est un cas rare de dissociation poids/amélioration du métabolisme glucidique. Il apparaît très utile pour identifier les facteurs spécifiques issus de la chirurgie et capables de guérir le diabète indépendamment du poids.

Hypothèses de travail et objectifs de la thèse

Question posée.

Comment expliquer quels sont les mécanismes mis en jeu dans l'îlot pancréatique des souris ob-ob expliquant l'amélioration de la sécrétion d'insuline indépendamment du poids et de la résistance à l'insuline ?

Hypothèses de travail.

Les modifications induites par la chirurgie bariatrique sur le pancréas endocrine en terme de masse cellulaire et de la fonctionnalité des cellules bêta restent mal déterminées et font l'objet de cette étude. Pour cela, nous nous sommes intéressés au pancréas endocrine après by-pass gastrique chez un modèle murin d'obésité associée au diabète de type 2, la souris ob-ob.

Nous avons fait 3 hypothèses de travail :

- 1- L'amélioration de la sécrétion d'insuline après EGA chez les souris ob nécessite un changement de fonctionnalité (plus probable) qu'un changement du nombre de cellules beta pancréatiques (moins probable).
- 2- La chirurgie EGA améliore la fonctionnalité des cellules bêta pancréatiques en diminuant l'inflammation intra ilot.
- 3- La chirurgie EGA améliore la fonctionnalité des cellules bêta pancréatiques via un changement d'expression des miRs insulaires et secondairement de gènes impliqués dans la synthèse, la maturation, l'exocytose de l'insuline.

Objectifs de la thèse

L'objectif principal du projet est de préciser les effets de la technique d'entéro-gastro-anastomose, EGA sur le pancréas endocrine de la souris Ob/Ob, indépendamment du poids.

Afin de confirmer les résultats de nos travaux préliminaires, une première partie du travail a consisté à en analyser les effets sur la prise alimentaire, le poids, la composition corporelle, les paramètres biochimiques et hormonaux.

Dans une seconde partie, nous avons étudié les effets de l'EGA sur la masse anatomique β cellulaire, le contenu en insuline des ilots, la répartition cellulaire intra ilots et la fonctionnalité bêta cellulaire in vivo et in vitro.

Enfin nous avons procédé à des analyses transcriptomiques et étudié l'expression des miRs insulaires après l'EGA.

Résultats

Article 2 : β -cells pathways regulation by bariatric surgery in ob/ob mice

Chloé Amouyal, Julien Castel, Claudiane Guay, Amélie Lacombe, Jessica Denom, Stéphanie Migrenne, Jonathan Sobel, Christine Rouault, Florian Marquet, Serge Luquet, Raphael Scharfmann, Karine Clément, Olivier Taboureau, Christophe Magnan, Romano Regazzi, Fabrizio Andreelli, à soumettre à Cell metabolism, 2019.

Contexte :

Le diabète de type 2, maladie endémique, est la conséquence d'une insulino-résistance associée à une défaillance bêta cellulaire progressive. Restaurer la fonction beta pancréatique reste un enjeu majeur dans la prise en charge des patients DT2. La chirurgie bariatrique (et particulièrement la SG et le RYGB) a démontré ces dernières années, la capacité de restaurer l'insulinosécrétion physiologique de patients massivement obèses et diabétique très précocement en association à une baisse drastique de l'insulino-résistance à moyen terme, secondairement à la perte de poids. De nombreux mécanismes pouvant être impliqués dans l'amélioration de l'homéostasie glucidique post chirurgie bariatrique ont été évoqués. Parmi ceux-ci, l'augmentation de sécrétion du GLP-1 semble participer à l'élévation de l'insulinosécrétion sans être indispensable à l'amélioration de l'homéostasie glucidique comme le démontre les études portant sur des modèles de souris invalidés pour le récepteur du GLP-1. Plusieurs études ont porté sur l'évolution du pancréas endocrine après chirurgie mais l'évolution du poids après chirurgie reste un facteur confondant important ne permettant pas de conclure à un éventuel effet direct de la chirurgie bariatrique sur le pancréas endocrine. Nous avons précédemment validé et publié un modèle de bypass duodéno-jénunal (entéro-gastro-anastomose : EGA), capable dans un modèle de souris C57Bl6 nourries au régime gras, d'améliorer la tolérance au glucose des animaux en stimulant l'insulinosécrétion et en améliorant l'insulino-résistance hépatique des animaux, 10 jours post opératoire.

Résumé du travail :

Nous réalisons désormais l'EGA chez la souris invalidée pour le gène de la leptine, massivement obèse et hyperglycémique. Nous démontrons que les souris leptine déficientes ob-ob opérées de l'EGA (groupe ob-EGA) sont guéries en post-opératoire de leur diabète alors

qu'aucune perte de poids n'est observée. Cette amélioration de l'homéostasie glucidique est liée à une augmentation de la sécrétion d'insuline et de C-peptide témoignant d'une amélioration probable de toutes les étapes de l'insulinosécrétion alors que la sensibilité à l'insuline n'est pas améliorée de manière significative, probablement du fait de la persistance de l'obésité massive. Nous venons donc de réaliser pour la première fois la dissociation perte de poids-guérison du diabète.

Une étude histologique des pancréas prélevés à 1 mois post-chirurgie révèle que les îlots des souris ob/ob ont un volume très important par rapport à ceux de souris C57Bl6 de poids normal. Nous n'avons pas constaté de modification de leur nombre ni de leur taille dans le groupe de souris ob-EGA une fois le diabète guéri par la chirurgie. Par contre, le contenu en insuline des îlots est significativement augmenté par la chirurgie bariatrique. De plus, l'analyse transcriptomique des gènes, révèle que l'EGA régule certaines fonctions biologiques impliqués dans les processus d'insulinosécrétion. Un microarray de microARN a été réalisé et retrouve 27 miRs dont l'expression est significativement modifiée par la chirurgie bariatrique. Ces miRs sont en relation avec 193 ARNm également différentiellement exprimés par l'EGA.

Title

Bariatric surgery regulates multiple β -cell pathways during resolution of diabetes

Authors and affiliations

Chloé Amouyal¹, Julien Castel², Claudiane Guay³, Amélie Lacombe⁴, Jessica Denom², Stéphanie Migrenne², Jonathan Sobel³, Christine Rouault¹, Florian Marquet¹, Serge Luquet², Raphael Scharfmann⁵, Karine Clément¹, Olivier Taboureau⁶, Christophe Magnan^{*2}, Romano Regazzi^{*3}, Fabrizio Andreelli^{*1}.

*These authors contributed equally to this work

1 Sorbonne Université, INSERM, Nutrition and Obesities ; Systemic approaches (NutriOmics), Paris, France

2-Unité de Biologie Fonctionnelle et Adaptative, Sorbonne Paris Cité, CNRS UMR 8251, University of Paris Diderot, Paris, France.

3-Department of Fundamental Neurosciences, University of Lausanne, Rue du Bugnon 9, CH-1005, Lausanne, Switzerland.

4- PreclinICAN Institute of Cardiometabolism and Nutrition (IHU-ICAN, ANR-10-IAHU-05), Paris, France

5- Department of Endocrinology, Metabolism and Diabetes, Inserm U1016, Cochin Institute, University of Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Paris 75014, France

6- Team CMPLI, Inserm U1133, Unité de Biologie Fonctionnelle et Adaptative, Sorbonne Paris Cité, CNRS UMR 8251, University of Paris Diderot, Paris, France.

Corresponding Author:

Fabrizio Andreelli, MD-PhD (Fabrizio.andreelli@aphp.fr)

Address: 47-83 Bd de l'hôpital, 75013 Paris

Phone: + 33 1 42 17 80 59

Conflict of interest statement

The authors have declared that no conflict of interest exists.

Financial support

Funding support from INSERM (to CA as program “Poste d’accueil Jeune Chercheur”) were obtained. CA received grant from Institut Benjamin Delessert, and Société Francophone du Diabète (SFD) and FA received a grant from the Fondation de l’Avenir.

Abstract

Bariatric surgery in ob/ob mice resolved diabetes by increasing pancreatic insulin content and glucose stimulated insulin secretion in vivo without persistent body weight loss. Transcriptomic analysis of pancreatic islets showed that bariatric surgery differentially regulate 193 genes and 27 miRs. Interestingly, the surgery normalized molecular defects (down regulation of TRPM5, GLUT2, GCK, connexin 36) and functional alteration (high sensitivity of islets to low glucose levels) observed in diabetic ob pancreatic islets. In addition, the surgery promoted the enrichment of 227 biological process, composed of genes with known or undetermined beta cell function, especially 21 genes are involved in the hormone transport and 20 genes in the hormone secretion biological process. Computational analysis predicted that 7 of 27 miRs (324-3p, 380-3p, 671-5p, 1927, 6904-5p, 6918-5p and 7682-3p) are hubs in the miRs-gene interaction network. Altogether, our data highlighted novel molecular mechanisms in the resolution of diabetes after bariatric surgery.

Introduction.

The restoration of pancreatic beta cell functionality is an important challenge in the field of diabetology. Bariatric surgery methods have demonstrated important capacities to promote restoration of physiological insulin secretion and resolution of insulin resistance during the long-term follow-up (Andreelli et al., 2009; Frühbeck, 2015). Consequently, the context of bariatric surgery can be helpful to consider this important issue. Shortly after surgery, improvement of insulin secretion has been observed particularly with surgical procedures with both restrictive and malabsorptive components (the Roux-en-Y gastric bypass (RYGBP), the duodenal switch or the biliopancreatic diversion) independently of body weight loss (Cohen et al., 2012; Pories et al., 1995). Various mechanisms have been proposed to explain how surgery may contribute to a reduction of hyperglycemia (Arble et al., 2015; Evers et al., 2017). Among them, restoration of glucagon like peptide 1 (GLP-1) secretion has been emphasized as key factor for beta cell recovery after bariatric surgery (Amouyal and Andreelli, 2016; Laferrère, 2011). But, improvement of glucose homeostasis after bariatric surgery despite continuous infusion of the GLP-1 competitive agonist exendine [9-39]-amide and in mice models with GLP-1 signaling deficiency suggested that other unknown mechanisms may be involved in the recovery of pancreatic beta-cell functionality (Douros et al., 2018; Mokadem et al., 2014; Wilson-Pérez et al., 2013).

We have previously developed and validated a model of bariatric surgery that demonstrated the capacity to cure diabetes in a high fat diet-feed mice model (Troy et al., 2008). In summary, this surgery was based on an entero-gastro-anastomosis (EGA) with pyloric ligation as a surrogate of Roux-en-Y gastric bypass (RYGB) in humans (Troy et al., 2008). We now performed the EGA procedure in leptin deficient ob/ob mice, a known model with diabetes and altered insulin secretion capacities in a context of massive obesity, inflammation and lipotoxicity. We showed that the EGA procedure failed to decrease permanently hyperphagia and excess of body weight of this rodent model. In contrast, glucose tolerance during an oral glucose challenge was normalized when compared to lean C57Bl6 wild type mice, largely because of increased insulin secretion after surgery. In view of these findings, we studied how EGA surgery modifies mRNA and microRNAs expression in pancreatic islets. For this purpose, we compared molecular data sets from islets of normoglycemic ob mice after surgery (EGA-ob mice), ob mice with persistent diabetes (sham surgery, Sham ob-mice) and lean C57Bl6 wild type mice, (WT mice). This revealed that bariatric surgery modified the expression of *Trpm5*, GLUT2 (*Scl2a2*), Glucokinase (*Gck*), Connexin 36 (*Gjd2*) and of several other genes involved in the regulation of insulin secretion, calcium signaling and glucose and lipids metabolism. Regulation of these pathways is partly dependent on 27 microRNAs differentially expressed after the surgery, 7 of them located in hubs in the miRs-gene interaction network. These molecular changes correlated not only with increased insulin content and improved glucose-stimulated insulin secretion (GSIS) in vivo and in vitro but also with changes in GSIS threshold in vitro suggesting important modifications in beta cell glucose metabolism.

Results

EGA procedure does not modify body weight, food intake and energy expenditure in ob/ob mice.

In our previous publication, EGA procedure strongly reduced food intake and body weight in high fat diet-fed mice (Troy et al., 2008). In contrast, a transient decrease of both parameters was observed in ob/ob mice during 10 days following surgery, both in EGA ob-mice and in the pair-fed sham group (figure 1A-B). After this period, food intake and body weight recovered and at the end of the follow-up (28 days) period they reached the level observed before surgery (figure 1A), with a similar evolution until 80 days after the surgery (figure 1B). This biphasic evolution could be linked to the post-operative stress, as this model is known to be particularly stressful (Surwit et al., 1984). Because similar body weight does not exclude changes in fat and lean mass, we studied the body composition before and 30 days after the surgery. At both time points, fat and lean mass were not different between EGA-ob mice and sham-operated ob mice (figure S1A). Additionally, lack of changes in body fat distribution was also confirmed by similar fat pad depots in both groups (data not

shown). Ob/ob mice are deficient for leptin, a satiety hormone synthesized mainly by the white adipose tissue. Monitoring of daily food intake demonstrated that the EGA procedure was not sufficient to reduce food intake in ob/ob mice, suggesting that leptin is an important mediator for the satietogenic effect of EGA surgery (figure 1A). Energy expenditure is an important parameter of whole body energetics and can be modified after various bariatric procedures (Arble et al., 2015; Carrasco et al., 2007; Stefater et al., 2010, 2012; Stylopoulos et al., 2009; Wardé-Kamar et al., 2004). To decipher potential consequences of EGA procedure on whole body energy regulation, locomotor activity and 24h energy expenditure were assessed 30 days after surgery. We found that the surgery had no significant effect on locomotor activity in both day and night periods (figure S1B). In addition, total energy expenditure and RER were similar in both groups (figure S1C). Collectively, these data demonstrate that, in contrast to what previously observed in high fat diet-feed mice (Troy et al., 2008), ob/ob mice are resistant to the modifications induced by the EGA procedure on food intake, body composition and energy expenditure. Consequently, most of the biochemical blood parameters (triglycerides, free fatty acids, glycerol, β hydroxy-butyrate) measured at the beginning and at the end of the follow-up period were similar in EGA-ob mice and sham-ob mice (Table S1).

EGA procedure normalizes both basal glycemia and glucose tolerance despite persistent whole body insulin resistance in ob/ob mice.

Bariatric procedures are known to increase insulin sensitivity in a context of body weight loss both in humans and rodents, as we demonstrated using the EGA procedure in the high fat diet-fed mice model (Troy et al., 2008). Contrasting with these observations, HOMA-IR index and intraperitoneal insulin tolerance test (IPITT, 0.75 UI/kg of insulin) were similar in ob/ob mice before surgery (ob-ob), in EGA-ob mice and in sham-ob mice at the end of the follow-up, suggesting a weak effect of the EGA procedure on this parameter in ob/ob mice model (figure 1C-D). Basal glycemia was significantly decreased in EGA-ob compared to sham-ob mice during the follow-up (figure 2A). In addition, glycemia during an oral glucose tolerance test (OGTT) in EGA-ob mice was similar to that of WT mice and was significantly different from that of animals before the surgery (ob-ob) and of sham-ob mice (figure 2B-C). This important improvement of glucose homeostasis was linked to a significant increase in insulin and C-peptide secretions during the glucose challenge (figure 2D-E). This first indicates that EGA improves the secretory capacities of β cells. Beyond these quantitative aspects, the shape of the post-surgical glucose curve during OGTT paralleled that of lean mice, suggesting that the EGA procedure improved the threshold of glucose sensitivity of β cells and/or corrected the kinetics parameters of insulin secretion (figure 2B). To confirm that the main effect of EGA surgery was an improvement of insulin secretion rather than a reduction of whole body insulin resistance, we performed a 2UI/kg IPITT (figure S1D), by assessing the dose of insulin able to reproduce the peak of insulinemia during the OGTT (30 ng/ml at time 15mn, figure 2D, figure S1E). In this situation, we showed that the decrease of blood glucose levels was similar between sham and EGA-ob mice, suggesting that EGA does not improve whole body insulin sensitivity (figure S1D). Lastly, glucagon is an important contributor of glucose homeostasis. Despite a tendency for higher blood glucagon levels in the fasting state in EGA-ob mice, blood glucagon levels during OGTT were similar in ob-ob mice before surgery, in sham ob mice and in EGA ob mice (figure 2F). Taken together, these findings indicate that the EGA procedure promotes a significant improvement of pancreatic β cell functionality which is independent of body weight loss.

Contribution of GLP-1.

An abundant literature suggests that some bariatric procedures increase GLP-1 action and secretion in populations with type 2 diabetes (T2D) and in rodent models (Amouyal and Andreelli, 2016; Evers et al., 2017; Laferrère, 2011). Increased GLP-1 availability may be an important mechanism contributing to better β cell functionality after bariatric surgery. To assess whether this can explain the dramatic improvement of glucose homeostasis observed in EGA-ob mice, we first measured GLP-1 circulating levels in the basal state and during OGTT. We showed that EGA surgery fails to restore GLP-1 secretion during OGTT in ob mice in contrast to what observed in wild type C57Bl6 mice that were used as positive controls (figure S2A). We know that blood

GLP-1 levels are not predictive of GLP-1 action. Therefore, we studied the consequences of whole body reduction of GLP-1 action by a continuous intra-peritoneal infusion of exendine [9-39] amide (or saline) during 28 days in EGA-ob mice (Troy et al., 2008). First, systemic blockade of GLP-1 action did not modify the evolution of body weight and food intake in EGA-ob mice in comparison to EGA-ob mice infused with saline (figure S2B-C). Additionally, the glucose excursion during OGTT was unchanged when EGA-ob mice injected with saline and exendine [9-39] amide were compared (figure 2D). Taken together, these data suggest that GLP-1 has probably only minor effects on diabetes resolution in this model.

Anatomical changes in endocrine pancreas following EGA surgery.

To better delineate the effects of the surgery on insulin secretion, we studied the anatomical changes occurring in the endocrine pancreas of EGA-ob mice cured for their diabetes and in sham-operated mice remaining diabetic. First, in agreement with data in the literature (Baetens et al., 1978; Bock et al., 2003), pancreatic islets of ob/ob mice were found to be extremely large (figure S3A-C) but containing a relatively low level of insulin, as assessed by immunochemistry (figure S3A-B, D) or immunofluorescence staining (figure 3A-B). After resolution of diabetes, insulin content in pancreatic islets was significantly increased in ob-EGA mice (figure 3C) as well as the insulin positive area (figure S3C-D). We next studied to what extent the surgery could modify the expression of *Ins1* and *Ins2* genes in pancreatic islets. Expression of both genes was higher compared to WT mice but was not significantly different between EGA-ob mice and sham-ob mice (figure 3D). Thus, the increase in insulin content observed after surgery is probably not the consequence of changes in *Ins1/2* genes expression. We next questioned if bariatric surgery raises islet insulin content by enhancing beta cell proliferation. First, immunochemistry studies showed that surgery did not change the number of islets/mm² nor pancreatic islet size distribution in ob mice (figure S3E-F). We then studied islet cellular composition of EGA-ob and sham-ob mice by a flow cytometry gating strategy (FACs) that differentiates α , β and a third population of PP and somatostatin cells (figure 3E). In comparison to sham-ob mice, EGA-ob mice islets were characterized by a lower percentage of insulin+ cells/islet and a modest but significantly higher percentage of glucagon + cells/islet (figure 3F). Taken together, these data suggest that the surgery did not induce β cell proliferation. This was also confirmed by a similar number of Ki67+/insulin+ cells among both groups (figure 3G). In addition, no proliferation of glucagon + cells was observed after surgery (figure 3H). Changes in alpha and β cell ratio after EGA surgery could be the consequence of a reversible process of β cell dedifferentiation. To test this hypothesis, we measured by qPCR the expression of *Slc30A8* and *Mafa* genes, two key β cell markers (Diedisheim et al., 2018). We found that none of these genes is affected by the EGA procedure (figure 3I).

Systemic and intra-islets inflammation.

Accumulating evidence points to tissular and systemic low-grade inflammation as a primary force contributing to the development of insulin resistance and β cell dysfunction (Asghar and Sheikh, 2017; Khodabandehloo et al., 2016). Low-grade inflammation is a hallmark of ob mice (Chan et al., 2013) and we next questioned if surgery displayed anti-inflammatory properties that could contribute to the observed metabolic improvement. We first assessed systemic low-grade inflammation by measuring different circulating cytokines. IL-6, TNF α , resistin and MCP-1 levels were similar in EGA-and in sham-ob mice, demonstrating persistence of systemic inflammation after surgery (figure S4 A-D). Beyond systemic low-grade inflammation, islet inflammation plays a key role in the development of islet dysfunction (Eguchi et al., 2012). We then assessed the percentage of CD45+cells/pancreatic islet by FACs and observed no difference between sham- and EGA-ob mice (figure S4E). Furthermore, expression of *IL-6* and *IL-1 β* genes in pancreatic islets was similar in either ob mice groups, suggesting that surgery did not improve systemic or intra-islet inflammation (figure S4F). Ob/ob mice are characterized by endoplasmic reticulum (ER) stress (Chan et al., 2013). In agreement with the lack of beneficial effects of EGA procedure on inflammation, the expression of genes involved in ER stress was not significantly changed after the procedure (figure S4G).

Bariatric surgery regulates the expression of a wide range of genes associated with β -cell function.

For a better understanding of the influences of bariatric surgery on β cell integrity, we determined the global gene expression profile of pancreatic islets of EGA-ob mice, sham-ob mice and C57Bl6 wild type mice. All islets were analyzed one month after the surgery, when glucose tolerance was normalized in EGA-ob mice. Global analysis of the islets' transcriptome of EGA- and sham-ob mice identified 555 genes differentially expressed between the two groups ($\log_{2}FC > 1$ and < -1 , p value ≤ 0.05 , $FDR \leq 0.001$ as thresholds) (figure 4A). After manually removing the probes without gene names, duplicate genes and genes without known physiological functions, 193 genes were differentially expressed between EGA-ob and sham-ob mice (figure 4B). Expression of 17 of them was confirmed by qPCR (figure 3D and I, figure S4F-G, figure S5D) [*Ins1*, *Ins2*, *Slc30A8*, *Mafa*, *IL1b*, *IL-6*, *Xbp1*, *Edem*, *BIP*, *Chop*, *Neurog-3*, *Connexin 36 (Gjd2)*, *Socs3*, *Ucp2*, *Trpm5*, *Trpm2*, *Aldob* B]. When compared to the islets of C57Bl6 wild type mice, 105 of the 193 selected genes were returned to normal levels, 47 were up-regulated and 41 were down-regulated in EGA-ob mice (figure 4B). Among the top 30 up- or down-regulated genes differing between EGA- and sham-ob mice, surgery affected the level of several genes previously linked to important β -cell functions or involved in diabetes pathophysiology such as *Trpm5*, *Cnr1*, *Fos*, *Gad1*, *Reg3b*, *Kcnf1*, *Nnat*, *Dbp* and *Reg2* (for the first 10 up-regulated genes in EGA-ob mice, Table S2) and *Aldob*, *Ptger3*, *Calb2*, *Rgs8*, *Rgs16*, *Olfm1*, *Cartpt*, *Txnip* and *Kcnk10* (for the first 10 down-regulated genes in EGA-ob mice, Table S3). Of note, *Gm129*, *Olfm56*, *Cdh22*, *Celsr1*, *Wnt2*, *C1qtnf1* and *Gins2* which have not yet been linked to β -cell functions or diabetes showed significant changes in expression after surgery (Table S2 and Table S3). Next, we showed that among the 30 up-regulated genes and the 30 down-regulated genes cited above, 14 and 11 genes, respectively, were not significantly different between EGA-ob mice and WT mice, suggesting that the EGA procedure tends to restore a normal pattern of gene expression (figure 4C).

Then, we performed a Go Term enrichment analysis and identified 227 biological processes significantly modified after the surgery (enrichment adjusted p -value < 0.05). The most enriched one (classified by enrichment adjusted p -value or by gene ratio) associated 21 genes (*Cnr1/Nnat/Acvr1c/Trpm2/Sox4/Hmgcr/Pim3/Adora1/Gipr/Syt14/Ccl5/Adora3/Aqp1/Tiam1/Gpr68/Arntl/Serpina7/Vgf/C1qtnf1/Cartpt/Ptger3*: “hormone transport”, GO term identification number: GO:0009914), which plays a substantial role in the regulation of insulin secretion (figure 4D, Table S4). Classification of 227 biological processes by functional categories are represented in figure 4E. Intriguingly, 30 biological processes (13% of the total) were associated with striated muscle metabolism / muscle cell differentiation. This finding was unexpected. The most differentially enriched one (called “striated muscle tissue development”, GO GO:0014706) combined 19 genes (*Fos/Egr1/Nr4a1/Actn3/Cyp26b1/Rgs2/Hspg2/Hmgcr/Nr1d2/Rara/Dsg2/Tpm1/Hdac9/Ppara/Arntl/Atf3/Cdk1/Sik1/Wnt2*). Comparison of “hormone transport” and of “striated muscle tissue development” biological processes showed only one common gene (*Hmgcr*). The analysis of the literature showed that 13 genes of the 19 presents in the “striated muscle tissue development” biological process have established role in beta cell physiology and insulin secretion. Thus, we proposed that this biological process (and the additional 29 regulations of the same Go term family) could be added to the 28 biological systems linked to insulin secretion. Altogether, we showed that bariatric surgery in ob/ob mice affects the regulation of various molecular pathways, mainly involved in the regulation of insulin secretion.

Bariatric surgery and beta cell functionality

In the ob/ob mice model, glucose stimulated insulin secretion (GSIS) is known to be altered both in vivo and in vitro and this correlates with various molecular defects in islets. Ob/ob islets are characterized by loss of high frequency glucose-induced Ca^{++} oscillations, partly explained by down-regulation of the nonselective cation channel *Trpm5* (Colasoul et al., 2014). In our data set, *Trpm5* was the most up-regulated gene in pancreatic islets after the surgery. We showed that GSIS in vitro and in vivo and islet insulin content strongly

correlated with *Trpm5* expression (figure 5 A-C). Particularly, the highest expression of *Trpm5* (as observed in EGA-ob mice) correlated with the highest beta cell functional capacities both in vivo and in vitro. This was also observed with the *Trpm2* gene, suggesting that the TRPM family of ion channels is regulated by the surgery and is an important contributor for beta cell recovery both in vitro and in vivo (figure 5D-F). Ob/ob islets are also characterized by impaired ATP generation (and increased islet expression of *Ucp2* (Saleh, 2006)), altered beta-cell coupling (and reduced connexin 36 (*Gjd2*) (Irles et al., 2015)), down-regulation of early metabolic steps of insulin secretion (and reduced *Slc2a2* (GLUT2) and *Gck* gene expression (Irles et al., 2015; Jetton et al., 2001)). Interestingly, EGA procedure tended to correct these defects and insulin secretion in vivo correlated with up-regulation of *Gck*, GLUT2 and connexin 36 genes and down-regulation of UCP2 expression in EGA-ob mice (figure 5G-R). These data indicate that EGA surgery improves GSIS by targeting multiple molecular pathways that are altered in the islets of ob/ob mice. Importantly, we observed that high sensitivity for GSIS in vitro for 1mM glucose (a hallmark of ob/ob beta cell physiology) is shifted toward higher glucose levels, suggesting changes in the threshold of GSIS (figure S5E). As a consequence, it could be postulated that inappropriate insulin secretion at low glucose levels (one of the well characterized defect of pancreatic islets of ob mice (Irles et al., 2015)) will be reversed contributing to increase insulin content as observed after the EGA procedure.

EGA surgery changes the microRNA expression profile of pancreatic islets.

MicroRNAs (miRs) have emerged as important regulators of beta cell functions (Plaisance et al., 2014). To elucidate the mechanisms by which β cell functionality is dramatically improved in EGA-ob mice group, we next compared the global islet miR expression profile of EGA-ob mice, sham-ob mice and C57Bl6 wild type mice. We were able to analyse the expression of 417 miRs in these 3 conditions. We found that 22 of them were differentially up-regulated when EGA-ob mice and sham-ob mice were compared (extreme fold change from 25 to 1.27, adjusted p-value <0.05) (figure 6A, Table S5). In addition, 5 miRs (106b-5p, 671-5p, 152-3p, 455-5p, 494-3p) were differentially down-regulated when EGA-ob mice and sham-ob mice were compared (extreme fold change from -1,58 to -1,42, adjusted p-value <0.05) (figure 6A, Table S5). We next focused our analysis on few miRs with known functions in β cell physiology which are significantly up-regulated in EGA-ob mice (such as miR-203-3p with anti-apoptotic properties and miR-184-3p which regulates favourably insulin secretion) or down-regulated in these groups (such as miR-106b-5p with proliferative properties) (Plaisance et al., 2014). We compared the expression of these 3 miRs by qPCR in the islets of EGA-ob and C57Bl6 wild type mice and observed that surgery tends to normalise their expression in diabetic ob-mice (figure 6B).

Integration of microRNAs and gene array data set.

MiRs are essential for the regulation of gene expression in pancreatic islets, and by this way participate to the maintenance of β cell integrity (Plaisance et al., 2014). We next performed a computational analysis to unravel the interactions between the 27 miRs and the 193 genes differentially expressed after the surgery. First, bioinformatics analysis predicted that 15 of the 27 miRs (miR-30c-1-3p, 380-3p, 434-3p, 671-5p, 6904-5p, 7682-3p, 324-3p, 26b-5p, 494-3p, 1927, 106b-5p, 338-3p, 26a-5p, 6918-5p and 3099-3p) regulate the biological process (GO:0009914) that is most enriched after the surgery. Of note, 7 of the 27 miRs (324-3p, 380-3p, 671-5p, 1927, 6904-5p, 6918-5p and 7682-3p) contribute to the regulation of the largest panel of the 193 genes of interest (from 46 to 23 genes for each of them, figure 6C, figure S6), demonstrating their important contribution as regulators of gene expression in the context of bariatric surgery.

Discussion

The present study identified a molecular signature in pancreatic islets related to diabetes resolution after bariatric surgery, capable of discriminating between ob/ob mice with diabetes and ob/ob mice after resolution

of diabetes. We demonstrated that bariatric surgery promotes changes in the expression of 193 islet genes. Among them, we showed that bariatric surgery corrects the expression of some of the gene known to contribute to beta-cell dysfunction in ob mice (such as down regulation of GLUT-2 (*Slc2a2*), *Gck*, *Trpm 5* and 2, connexin-36 (*Gjd2*) and up-regulation of *Ucp-2*). Changes in the expression of these genes correlated with improved GSIS, both in vitro and in vivo, and probably contributed to modify the GSIS threshold in isolated islets, pointing to a causal relationship between transcriptional regulation of these key genes and recovery of beta cell function. Non-coding miRs play important roles in the transcriptional control and in the function of pancreatic beta cells. We found that surgery modifies the expression of 27 islet miRs, most of them predicted to regulate the expression of the 193 genes in a global network interaction. In addition, a GO term analysis revealed that bariatric surgery regulates multiple pathways in islets, the most affected being involved in the regulation of insulin secretion. Collectively, our data provide a global identification of non-coding RNAs, genes and pathways targeted by the bariatric surgery in pancreatic islets during diabetes resolution in ob/ob mice.

The various techniques of bariatric surgery (especially those with malabsorptive component) improve insulin secretion and insulin sensitivity. We hypothesized that one way to identify new specific mechanisms targeting pancreatic islets after bariatric surgery was to minimize the contribution of confounding factors such as the reduction of food intake and body weight. Here, we took advantage of ob/ob mice in which resolution of diabetes was independent of changes in diet and body weight. Studies about bariatric surgery in ob/ob mice have shown conflicting results on diabetes resolution depending on the surgical technique, the duration of follow-up and the protocols used for the metabolic evaluation. Mokadem M et al. showed that RYGBP is able to reduce body weight in ob/ob mice but fails to restore normal glucose homeostasis, suggesting that leptin is important for the regulation of glucose levels and not for the regulation of body weight in post-surgical period (Mokadem et al., 2015). In contrast, Hao Z et al., published that in ob/ob mice, body weight was reduced by RYGB transiently in the first week, recovered in the second week and increased over the baseline thereafter (Hao et al., 2015). These data that are similar to our observations suggest an important role for leptin for the maintenance of body weight loss after the surgery. Furthermore, in the paper of Hao Z et al., lack of significant body weight loss probably explained why insulin sensitivity was not improved during the follow-up (no glucose tolerance test is available in this paper). Here, in ob/ob mice, we showed that normalization of glucose excursion after the EGA procedure is mainly driven by an increased insulin secretion and is independent of any significant changes in body weight, food intake, obesity-induced inflammation or insulin sensitivity, which is in good agreement with the findings reported by Hao Z et al. Thus, our data suggest that leptin signaling is more important for the regulation of body weight rather than for the improvement of glucose homeostasis in the context of EGA surgery in ob/ob mice.

Transcriptomic analysis of EGA and sham-ob mice islets showed that 193 selected genes are affected by the surgery. Among the 193 selected genes, 105 were normalized, 47 were up-regulated and 41 were down regulated when comparing EGA-ob mice to C57Bl6 wild type mice, suggesting an important contribution of the surgery in the recovery in beta cell transcriptomic profile. We next questioned to what extent the EGA procedure permits to correct the level of genes and molecular pathways known to be involved in pancreatic beta cell dysfunction in ob/ob mice. In comparison to C57Bl6 wild type mice, insulin secretion in ob/ob mice is elevated but nonetheless insufficient to maintain euglycemia (Zhang et al., 2001) despite the presence of large islets of Langerhans (Bleisch et al., 1952) with a high proportion of beta cells (Baetens et al., 1978). But morphological analysis of pancreatic islets of ob/ob mice showed beta cells with degranulation (Baetens et al., 1978) or weak immunoreactivity for insulin (in proportion of the surface of pancreatic islets) when compared to controls (Starich et al., 1991). This has been proposed to be the consequence of enhanced insulin secretion due to augmented exocytosis at the single cell level (Irles et al., 2015). This was partly explained by higher Ca^{2+} signals in response to 2.8, 5.6 and 8mM glucose compared with controls while no differences were found at 16mM, demonstrating that in ob/ob mice beta cells have a higher sensitivity to low rather than high glucose levels (Irles et al., 2015; Saleh, 2006). This feature has been linked to increased glucose-induced mitochondrial

activity reflected by enhanced NAD(P)H production and mitochondrial membrane hyperpolarization at low glucose levels and reduced ATP production at high glucose concentrations (Irles et al., 2015). All together, these processes lead to increased GSIS in ob/ob mice, degranulation and low pancreatic insulin content, despite expansion of the total islet mass. At a molecular level, loss of insulin secretion of ob/ob beta cells in response to elevated glucose levels coincided with up-regulation of *Ucp2* (by non-esterified fatty acids), down-regulation of GLUT2 (*Slc2a2*) and glucokinase (*Gck*) (Saleh, 2006). Additionally, beta-cell coupling and synchronicity were altered in the islets of ob/ob mice by down-regulation of connexin36 (the major component of gap junction in ob/ob beta cells (Irles et al., 2015) and of TRPM5 (a non-selective monovalent cation channel that is an important player in the control of the electrical activity of beta cells and in GSIS) (Colsoul et al., 2014). Lastly, lipotoxicity-mediated endoplasmic reticulum stress contributes to reduce insulin secretion adaptation during obesity development in ob/ob mice (Chan et al., 2013). In our model, the EGA procedure primarily enhanced insulin secretion capacities, overcoming persistent insulin resistance, lipotoxicity and low-grade inflammation. In other words, after the surgery, β cells displayed an improved capacity to adapt insulin secretion to a persistent altered metabolic environment. Therefore, EGA-ob mice and WT mice displayed similar glucose excursion patterns during OGTT, despite a significant difference in whole body insulin resistance. Interestingly, we showed that EGA surgery corrected many defects of ob/ob beta cell listed above. First, EGA reversed the down-regulation of *Glut-2*, *Gck*, *Trpm 5* and 2 and connexin-36 (*Gjd2*) ($p < 0.05$ when compared to ob-sham mice) in islets of ob/ob mice. Changes in the expression of these key genes after the surgery correlated with higher GSIS both in vivo and in vitro. A causal relationship was suggested by the observation that in ob/ob mice, up-regulation of intra-islet *Gck* and of *Glut2* expression (after a treatment with a sympatholytic dopamine agonist) (Jetton et al., 2001) or up-regulation of pancreatic *Trpm5* by leptin treatment (Colsoul et al., 2014) improved GSIS. Collectively, our data highlighted *Glut-2*, *Gck*, *Trpm 5* and 2 and connexin-36 (*Gjd2*) as important genes regulated by the surgery. More surprisingly, EGA procedure reduced the sensitivity of isolated pancreatic islets at low glucose concentration, suggesting a shift in the metabolism of glucose and in ATP synthesis. To explain this effect, we first excluded a reduction of systemic and intra-islet inflammation as a driver of the metabolic shift. Indeed, inflammatory cytokines in the blood, CD45+cells in islets, the expression of IL1b and IL6 and of genes related to endoplasmic reticulum stress in islets were not modified by the surgery. Furthermore, *UCP2* expression (a negative regulator of insulin secretion) was similar in ob-EGA and sham-ob, demonstrating persistence of lipotoxicity in islets of both groups. We next discussed the role of incretins. GLP-1 has been considered as the key and perhaps unique factor for diabetes resolution after bariatric surgery as discussed elsewhere (Amouyal and Andreelli, 2016; Vidal et al., 2016). Furthermore, it has been demonstrated after a gastric bypass in the Obese Zucker Rat (Seyfried et al., 2016) or after an ileal transposition in the GK rats (Sun et al., 2014) that post-surgical rises of blood GLP-1 levels and up-regulation of GLP-1 receptor in pancreatic islets are important for the resolution of diabetes. Our data indicate a different mechanism since GLP-1 levels in blood during OGTT were similar in sham and EGA-ob mice. Furthermore, glucose excursion deteriorated only 15 min after the oral glucose load when [9-39] exendin amide was infused during 28 days after the surgery. Lastly, neither GLP-1 nor GLP-1 receptor expression in pancreatic islets was modified by the surgery. Thus, agreement with the observations of a persistent beneficial effect of bariatric surgery in rodent models lacking GLP-1 signaling (Dourois et al., 2018; Mokadem et al., 2014), GLP-1 may participate to the improvement of beta cell functionality in ob/ob mice after the EGA but cannot be considered as the unique driving factor in the recovery of beta cell functionality. Modifications in intra-islet cells repartition may contribute to changes in islet metabolism. However, we did not observe variations in beta / alpha cell ratio after the surgery and we did not have evidence that surgery reverses beta cell dedifferentiation. It has been hypothesized that glucokinase (*Gck*) is the glucose sensor for the regulation of insulin release by pancreatic β -cells (Matschinsky and Wilson, 2019). Glucokinase is responsible for detecting glucose in the environment of the β cells. Glucokinase produces glucose 6-phosphate (G-6-P) in an irreversible reaction that determines glycolytic flux with NADH and pyruvate as primary products. Release of insulin correlates with increases in the rate of ATP synthesis and both parameters are fitted by a sigmoidal curve similar in rodent and human beta cells (Doliba et al., 2012). As a consequence, alteration in *Gck* expression in beta cells can cause mild hyperglycemia (in the cases of heterozygous inactivating mutations in *Gck*, as observed in the maturity-onset diabetes of the young (MODY) subtype

glucokinase) or permanent neonatal diabetes mellitus (in the cases of homozygous inactivating *Gck* mutations) or even hypoglycemia (Osbak et al., 2009). Glucokinase activity is also regulated by Fbp2 (fructose bisphosphatase 2), a neoglucogenic enzyme. Indeed, decreased Fbp2 activity led to reduced fructose 2,6-P(2) content, glucokinase activity and glucose-induced insulin secretion (Arden et al., 2008). Thus, the observation in our data that EGA surgery increased *Gck* expression ($p < 0.05$) and decreased *Fbp2* (Table S3) may explain the reduction in beta cell sensitivity at low glucose observed in EGA-ob mice. Changes in the *Gck / Fbp2* module, in addition to the recovery of defects described above, point to important metabolic changes in glucose metabolism inside the beta cell after the surgery.

Focusing on the top up- or down-regulated genes, our is the first report indicating that bariatric surgery induces the up-regulation not only of *Trpm5* but also of *Trpm2* and *Kcnf1*, all genes that when dysfunctional or invalidated can alter insulin secretion (Uchida et al., 2011). The surgery also raised the expression of *Reg2*, *Reg3d*, *Reg3b* that are involved in pancreatic islet survival and compensation in response to lipotoxic conditions and obesity (Li et al., 2017; Siddique and Awan, 2016; Xiong et al., 2011). Previous investigations have indicated that GSIS is affected by changes in cholesterol and its intermediates. Recently, Da Dalt L et al. reported that glucose clearance is significantly impaired in PCSK9 KO mice fed with a standard or a high-fat diet compared with WT animals without any changes in insulin sensitivity (Da Dalt et al., 2019). In comparison to controls, pancreas morphology of PCSK9 KO mice revealed larger islets with accumulation of cholesteryl esters, paralleled by decreased plasma insulin, and C-peptide levels, suggesting that PCSK9 is important to avoid cholesterol accumulation in beta cells and to preserve insulin secretion. Accordingly, here we observe a rise in PCSK9 expression in the islets of EGA-ob mice, supporting a role for PCSK9 as important regulator of insulin secretion after the surgery. The transcription factor c-Fos is key for the regulation of functional beta cell mass. Jason D Ray et al. published that c-Fos induced the expression of *Nr4a1* and *Nr4a3* which, in turn, increased beta cell proliferation (Ray et al., 2016). Moreover, c-Fos induced the expression of VGF which enhanced GSIS and beta cell survival. Thus, c-Fos is at the crossroad of beta cell proliferation / regulation of insulin secretion. Accordingly, our data emphasized a role for c-Fos/VGF pathway during diabetes resolution after the surgery. Indeed, both c-Fos and VGF were up-regulated in islets of EGA-ob mice, while expression of *Nr4a1* nor *Nr4a3* was unchanged. It has been demonstrated that expression of *AldoB* is negatively correlated with insulin secretion in human pancreatic islets (Gerst et al., 2018) and that increased expression of *AldoB* in murine islets causes impaired GSIS and ATP production (Ni et al., 2017). *AldoB* was the most down-regulated gene in the islets of EGA-ob mice, suggesting a possible role for this factor in the regulation of beta cell function in the context of surgery. Furthermore, we observed that after the EGA procedure, genes that negatively impact on insulin secretion or beta cell survival were reduced (such as *Txnip* and *Arrdc4* (Richards et al., 2018), *Rgs8* and *16* (Villasenor et al., 2010), *Sik1* (Kim et al., 2015), *Sv2c* (Iezzi et al., 2005), *Cartpt* (Abels et al., 2016), *Rad51* (Lim et al., 2008), *Cxcl10* (Schulthess et al., 2009) and *Dapk2* (Mao et al., 2008). Lastly, EGA procedure down-regulated genes with unknown function in beta cell physiology (*Akap12*, *C1qtnf1*, *Kcnk10*, *Slitrk3* and *Gins2*).

Publications about the impact of bariatric surgery on miRs yielded conflicting results and were almost always based on the analysis of miRs in the blood and not, as performed in the present study, in pancreatic beta cells. Among the 27 miRs differentially regulated in the islets after the surgery, 15 have unknown roles in beta cell physiology. Twelve of them were up-regulated (miR-28c, miR-30c-1-3p, miR 30e-3p, miR-129-2-3p, miR-324-3p, miR-380-3p, miR-487b-3p, miR-1927, miR-3099-3p, miR-6904-5p, miR-6918-5p, miR-7682-3) and 3 of them down-regulated (miR-455-5p, mmu-miR-494-3p, mmu-miR-671-5p). These miRs have never been described during the resolution of diabetes after bariatric surgery. For the remaining 12 miRs, the literature showed that diabetes in rodent models was associated with down-regulation of miR-26b-5p, miR-26a-5p, miR-27b-3p, miR-434-3p in blood and of, miR-184-3p, miR-338-3p, miR-203-3p and miR-210-3p in pancreatic beta cells (He et al., 2017; Liang et al., 2018; Nesca et al., 2013; Roat et al., 2017). Interestingly, upon surgery and diabetes resolution the expression of all of them was increased in the islets, with a tendency to restore the levels of miR-184-3p and 203-3p observed in the islets of C57Bl6 wild type mice. At the opposite, EGA down regulated at the level of C57Bl6 wild type mice the miR-106b-5p (which is known to be up-regulated in beta

cells in diabetic proliferative conditions) (Tsukita et al., 2017). Lastly, it has been reported that up-regulation of miR-152-3p observed in rodent diabetic islets reduced expression of *Gck*, ATP availability and GSIS (Ofori et al., 2017). EGA also down regulated the expression of miR-152-3p which may be linked with increased *Gck* expression in our data set as mentioned above (Ofori et al., 2017). Remarkably, our data showed that among the 8 miRs known to be dysregulated into pancreatic islets during diabetes (Jacovetti et al., 2012; Nesca et al., 2013; Ofori et al., 2017; Zheng et al., 2015) (miR-203-3p, miR-210-3p, miR-338-3p, miR-184-3p, miR-106b-5p, miR-152-3p, miR-30b-5p, miR-101a-3p), EGA tends to correct the altered expression observed in diabetic condition of 6 of them. To further understand the interaction between regulation of miRs and of 193 genes of interest by the surgery, we built a miRs-genes interaction network. We showed that miRs 324-3p, 380-3p, 671-5p, 1927, 6904-5p, 6918-5p and 7682-3p appeared to be important hubs, each of them regulating more than 20 genes of interest. Even if the knowledge about the physiological role of these miRs is weak our data highlighted the importance of these 7 miRs for the regulation of beta cell function during the surgery.

We undertook gene set enrichment analysis and performed an analysis of pathways enrichment (annotated by Gene ontology resource) sorting based on the number of genes involved. In accordance with the improvement of insulin secretion during OGTT (the main metabolic characteristic observed in EGA-ob mice in vivo), ten of the first 15 biological processes were related to insulin secretion, hormone transport or secretion or regulation of insulin secretion. The first differentially expressed GO term biological process consisted in 21 genes (*Cnr1/Nnat/Acvr1c/Trpm2/Sox4/Hmgcr/Pim3/Adora1/Gipr/Syt14/Ccl5/Adora3/Aqp1/Tiam1/Gpr68/Arntl/Serpina7/Vgf/C1qtnf1/Cartpt/Ptger3*). In addition to *Trpm2*, *VGF* and *Cartpt* genes mentioned above, many of these genes have established role in regulating insulin secretion such as Cannabinoid 1 receptor (*Cnr1*) (Shin et al., 2018), neuronatin (*Nnat*, regulating positively insulin secretion by increasing intracellular calcium levels), activins (*Acvr1c*, which regulated pancreas development and insulin secretion (Watanabe et al., 2008), *Sox4* (a transcription factor which mutations are associated with an increased risk of developing type 2 diabetes) (Xu et al., 2017), *Pim3* (a glucose-responsive gene in the β cell that increased insulin sensitivity when deleted) (Vlacich et al., 2010), adenosine receptors 1 and 3 (*Adora1* and 3) (Ohtani et al., 2013), *Syt14* (synaptotagmin-like 4 or granuphilin, an important member of the exocytosis machinery) (Gomi et al., 2005), guanine nucleotide exchange factors (such as *Tiam1*) (Kowluru, 2017), *Gpr68* (the predominant proton sensing receptor of human β -cells) (Chandra et al., 2016), *Arntl* (a member of the circadian clock genes family) (Rakshit et al., 2018) and *Serpina 7* (a serine (or cysteine) peptidase inhibitor family member associated with the risk to develop a MODY) (Tuerxunyiming et al., 2018). In contrast to GIP receptor (*Gipr*) gene present in the first regulated biological process, we did not show a regulation of GLP-1 gene or receptor by EGA surgery. Our data set recognized new genes regulated by the bariatric surgery such as *Hmgcr*, *C1qtnf1* complement/TNF related protein (*C1qtnf1*, which levels in blood are increased in patients with type 2 diabetes) (Xin et al., 2014), *Ptger3* (a member of the prostaglandin receptor family such as Prostaglandin E2 receptor that negatively regulated glucose- and hormone-stimulated insulin secretion) (Kimple et al., 2013) and *Aqp1* (Aquaporin1, which participation as regulator of insulin secretion has to be confirmed taking into account that aquaporin 7 is expressed in pancreatic β -cells and murine studies have confirmed its participation in insulin secretion) (Méndez-Giménez et al., 2017). Alternatively, we showed that one of the most enriched biological process, annotated as “striated muscle tissue development”, consisted in 19 genes with no overlap with the “hormone transport” described above (excepted for *Hmgcr* gene). The analysis of each gene of the this second biological regulation showed that most of them have recognized role as regulators of insulin secretion or beta cell viability or parameters linked to the risk to develop type 2 diabetes such as transcription factors (*Egr1* (Josefsen et al., 1999), *Nr4a1* (Tessem et al., 2014), *Rara* (retinoic acid receptor, alpha) (Brun et al., 2015), *Ppara* (Ravnskjaer et al., 2005), *Atf3* (Zmuda et al., 2010)), G protein-coupled receptor (*Rgs2*) (Dong et al., 2017), *Hspg2* (an heparan sulfate proteoglycans that facilitate amyloid fibril formation in beta cell) (Fukuchi et al., 2004), *Tpm1* (Savill et al., 2016), an histone deacetylase (*Hdac9*) (Lenoir et al., 2011) and a serine/threonine kinase (*Cdk1*) (Tiwari et al., 2015). The remaining genes of this biological system (*Actn3*, *Cyp26b1*, *Nr1d2*, *Dsg2* and *Wnt2*) have no characterized function in beta cell. Lastly, we showed that regulation of calcium processing in beta cells (accordingly to (Douros et al., 2019)), hexose and lipids metabolic processes were also regulations among

the most enriched by the surgery. Collectively, these data demonstrated global changes in beta cell molecular processes and functions toward near normal physiology.

Overall, we identified key genes and miRs important to restore GSIS in ob/ob mice after the bariatric surgery despite persistent obesity, hyperphagia and inflammation. Based on our computational analysis and correlation with GSIS in vivo and in vitro, our data highlighted 27 miRs and two biological processes of 21 and 19 genes respectively, some of them never described in the context of beta cell physiology, as important factors for the resolution of diabetes in the context of bariatric surgery.

Experimental procedures

Animals and Diet

Twelve weeks male *lep^{-/-}* ob mice on a pure C57BL/6J background (purchased from Janvier, Le Genest Saint Isle, France) were acclimated to our animal house under controlled temperature (22°C) and light conditions (light/dark, 12 hr/12 hr) and were fed ad libitum with standard laboratory chow diet (no. 5058; Lab-Diet). All procedures were performed in accordance with the principles and guidelines established by the European Convention for the Protection of Laboratory Animals. The experimental protocol was approved by the ethic committee of Pierre and Marie Curie University under agreement number A 751320.

Surgical Procedure

The EGA procedure was performed as previously described (Troy et al., 2008). In brief, ob/ob mice undergoing surgery were fasted for 6 h and anaesthetized with 2% isoflurane (Abbott, Rungis, France) and air/oxygen. Analgesia was delivered intraperitoneally 30 min before surgery (Buprenorphine, 0.03mg/kg, Axience SAS, France) and at the end of the procedure (Ketoprofen, Merial, 1%, diluted 1/100, 200 μ L per mouse). Antibioprophylaxis was delivered sub cutaneously at beginning of the surgery (ceftriaxone 100mg/kg, Hospira, USA). The procedure consisted in a pyloric sphincter's ligature, followed by an entero-gastric anastomosis allowing the exclusion of the duodenum and the proximal jejunum of the alimentary tract. Sham-operated mice (simple laparotomy) underwent the same duration of anaesthesia as EGA mice. In both groups, the laparotomy was repaired in two layers. All mice were maintained on a standardized post-operative protocol to monitor pain, body weight and hydration, subcutaneous injection of saline serum and additional analgesia was given as necessary. The mice had access to water and mixed chow diet right after surgery. Post-surgical survival rates were 50% in EGA-ob mice and 90% in sham-ob mice.

Study design

Twelve weeks ob/ob mice were randomized to EGA or sham surgery. Animals were followed up for one month than sacrificed. Sham-ob mice group was pair-fed to EGA-ob mice group following surgery during 10 days. After this period, both groups were provided chow diet ad libitum. Blood was collected once a week from tail vein to determine random fed glucose levels with a glucometer (Accuchek performa®, Roche), body weight and food intake were monitored daily in the morning during the follow-up in the first 15 EGA-ob mice and 15 sham-ob mice. Body composition, glucose tolerance and insulin sensitivity were assessed one week before the surgery and at the end of the follow-up. Blood was collected before the surgery and at the sacrifice for the assessment of biochemical and hormonal parameters. Specific groups of EGA and sham-ob mice were dedicated to the study in metabolic chambers (energy expenditure, locomotor activity and food intake monitoring (Labmaster; TSE Systems, Bad Homburg, Germany), intraperitoneal treatment with exendin (9-39) amide.

Exendin (9-39) amide or leptin administration.

For exendin (9-39) amide infusion experiments, the intraperitoneal cavity EGA-ob mice was continuously infused for 28 days with exendin (9-39) amide (Sigma Aldrich®, ref E7269) at the rate of 2 pmol. kg⁻¹.min⁻¹ or NaCl (0.9%) by an osmotic minipump (Alzet Model 2004; Alza, Palo Alto, CA) (Cani et al., 2006). Exendin (9-39) amide and saline infusions were started during the EGA procedure.

Body composition.

Body composition was measured in unanesthetized mice using the Bruker Minispec mq10 NMR (Bruker Optics, Billerica, MA) one week before the surgery and at day 28 after the surgery. Animals were placed in a clear plastic cylinder (50 mm in diameter) lowered into the device for the duration of the scan (<2 min). Body composition was expressed as a percentage of body weight.

Metabolic Measurements

Blood was withdrawn from the tail vein for both fed and fasted experiments using EDTA as the anticoagulant. Blood glucose levels were evaluated using a glucometer (Accuchek performa®, Roche). Serum insulin was measured by Elisa (Alpco, Eurobio). For GLP-1 determination, blood was collected into EDTA coated Microvettes (SARSTEDT) preloaded with enzyme inhibitor cocktail (p2714 Sigma-Aldrich) and Dipeptidyl peptidase-4 inhibitor (Merck, Millipore, USA). Peripheral plasma active GLP-1 was measured during oral glucose tolerance test (OGTT). Blood was immediately centrifuged at 4 °C to separate the plasma from the

whole blood and stored at -20°C until analysis. Serum glucagon, c-peptide, PYY, pancreatic polypeptide, active GLP-1, GIP, total adiponectin, TNF- α , IL6, MCP-1 and resistin concentrations were assessed by MILLIPLEX assays (MMHMAG-44K Milliplex, EMD Millipore, St. Charles, MO, USA). Serum concentrations of triglycerides, free fatty acids (FFAs), ketone bodies, and glycerol were determined using an automated Monarch device (CEFI, IFR02, Paris, France) as described previously (Viollet et al., 2003).

Glucose and Insulin Tolerance Tests

A glucose tolerance test (1.5 g/kg body weight) was performed on mice fasted over night for 14-16 hr. Blood glucose levels were determined at 0, 15, 30, 60, and 90 min. For the insulin tolerance test, animals fasted for 5 hr were injected intraperitoneally with 0.75 or 2 units of insulin/kg body weight (Novorapid®, Novo-Nordisk, La Défense, France), and glucose levels were measured 0, 15, 30, 60 and 90 min post-injection.

Measurement of food intake and energy expenditure

Mice were monitored for energy expenditure, oxygen consumption and carbon dioxide production, respiratory exchanged rate (RER; $\text{V}\cdot\text{CO}_2/\text{V}\cdot\text{O}_2$), food intake and spontaneous locomotor activity using metabolic cages (PhenoMaster/LabMaster, TSE Systems). Mice were individually housed and acclimated to the chambers for 48 h before experimental measurements. In the chambers, food and water consumption was measured automatically. All food intake is reported in kilocalories per day or kilocalories per 12-h dark or light period. Locomotor activity was recorded using infrared light beam-based locomotion monitoring system (beam breaks/h). Data analysis was carried out with Excel XP (Microsoft France, Issy-Les-Moulineaux, France) using extracted raw values of $\text{V}\cdot\text{O}_2$, $\text{V}\cdot\text{CO}_2$ (in ml/h) and energy expenditure (kJ/h). Subsequently, each value was expressed either per total body weight or whole lean tissue mass extracted from the Bruker Minispec mq10 NMR analysis.

Histological analysis of pancreas

Immunohistochemistry was performed on 7 μm sections of paraffin-embedded pancreatic tissue. With a random start between the first 50 sections, every 50th section was sampled. 10 sections, separated by 50 sections, were stained for insulin by incubation with a primary guinea pig anti-porcine insulin antibody (dilution 1:50; ICN, Irvine, CA, ref 65-104-1), followed by incubation with polyclonal rabbit anti guinea pig immunoglobulins marked with peroxidase (dilution 1:50; Dako, Glostrup Denmark, ref P0141) and subsequently visualized by diaminobenzidine (DAB, kit DAB SK-4100 Vector-Biosys) and counterstained by hematoxylin. Insulin-stained sections were used for morphometric analysis. Quantitative evaluation was performed using the Histolab 6.0.5 software (Microvision Instruments, Evry, France). Immunohistochemistry with immunofluorescent antibodies: we used primary antibodies anti-mouse insulin (1/2000, Sigma, I2018) and secondary antibodies anti-mouse Alexa Fluor 594 antibodies (1/400, Jackson ImmunoResearch). We stained the cell nuclei with the Hoechst 33342 fluorescent stain (0.3 mg/ml, Invitrogen, France).

Islet isolation and ex vivo glucose stimulated insulin secretion

At sacrifice, the whole pancreas was digested by collagenase (collagenase P, Sigma Aldrich, France) injected through the pancreatic duct. Pancreases were incubated at 37°C for 10 min to complete digestion. After several wash by cold buffer containing (HBSS: Gibco, Invitrogen, France; BSA, Interchim SA, BSA and Hepes: Gibco, Invitrogen, France); islets were separated using a Histopaque 1119 (Sigma Aldrich, France) and HBSS gradient and picked up manually. After isolation, islets were incubated for 20h in a RPMI media containing (RPMI medium 1640: Gibco, Invitrogen, France; 10% inactivated fetal calf serum (FCS), 1% Hepes, 11mmol/l glucose (D-Glucose 45%, Sigma Aldrich, France), 100 IU/ml penicillin, and 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ streptomycin). To attend insulin secretion capacities, islets were placed in separated vials to be treated in the presence of different glucose concentration.

Flow cytometry analysis

Digested islets' cells were resuspended in PBS containing 1% BSA and 2 mM EDTA. We used anti-CD45-APC-eF780 (30F11) from Biolegend, anti-insulin-A647 (C27C9) from Cell signaling, anti-glucagon-BV421 (U16-850) from BD biosciences, anti-ki67-PE (REA 183) and Viobility 405/520 Fixable dye from Miltenyi Biotec. For intracellular staining, we used Foxp3 Transcription Factor Staining Buffer Set from ebioscience. FACS analysis was performed with LSRFortessa Analyzer (BD Biosciences).

Quantitative RT-PCR

Total RNA was extracted from pancreatic islets using the miRNeasy micro kit (Qiagen). Reverse transcription was performed using Superscript IV and random hexamer (promega). We performed a Quantitative PCR with SybrGreen and normalized each transcript by 18S, beta actin and cyclinA expression to obtain relative quantification. Upon request, all primers can be provided.

miRNA and mRNA expression profiling (microarray)

Total RNA was extracted from pancreatic islets using the miRNeasy micro kit (Qiagen). Global miRNA expression profiling was carried out at the Genomic Technologies Facility of the University of Lausanne using miRNA gene microarrays (Agilent Technologies, Morges, Switzerland). Data were submitted to GEO repository. Changes of interest were confirmed by qPCR. In brief, mature miRNA levels were measured using the miRCURY LNATM Universal RT followed by microRNA PCR kit (Exiqon). Results were normalized by mmu-let-7f-5p, as determined by the NormFinder test (Vestergaard, Int J of Molecular Sciences, 2016).

Profiling of mRNA was performed by Arraystar (MD, USA) using Agilent Technologies and Agilent GeneSpring GX v12.1 software for data analysis. The sample preparation and microarray hybridization were performed based on the manufacturer's standard protocols. Briefly, total RNA from each sample was amplified and transcribed into fluorescent cRNA with using the manufacturer's Agilent's Quick Amp Labeling protocol (version 5.7, Agilent Technologies). The labeled cRNAs were hybridized onto the Whole Mouse Genome Oligo Microarray (4x44K, Agilent Technologies). After having washed the slides, the arrays were scanned by the Agilent Scanner G2505C. Data were submitted to GEO repository.

Statistical Analysis

Data are expressed as means $\pm$ SEM. Kruskal Wallis test or Mann and Whitney test or Mann and Whitney test was used in most data analysis for body weight, energy expenditure, biochemical or hormonal parameters. Two-way ANOVA was performed in the study of glucose and insulin tolerance P-values <0.05 were considered significant. Statistical analysis was performed with GraphPad Prism 7.

Multidimensional scaling (MDS): A multidimensional scaling analysis was performed using the gene expression vectors, represented by each sample for dimension reduction and representation of the sample's distribution.

Differential expressed genes analysis (DEG): Three differentially expressed genes (DEG) analysis was performed i.e. BP vs WT, Tem vs WP and BP vs Tem using edgeR package (Robinson et al., 2010) in Bioconductor. The gene expressions of the 12 samples were normalized using the TMM method for normalization of sequencing data and a Fisher's Exact Test with common dispersion was applied to determine differential expression. P value and False discovery rate (FDR) were reported by edgeR. Genes with a FDR adjusted p value ≤ 0.001 and, a log fold change (logFC) ≤ -1 and ≥ 1 were conserved. Results of down and up-regulated genes for the three DEGs analysis are depicted on Venn diagrams and volcano plot. The figure was obtained using the ggplot2 R package (Wickham, 2009).

Enrichment analysis: Pathways and GO terms enrichment analysis were performed using the "Clusterprofiler" package in R (Yu et al., 2012) in order to search shared biological functions among genes highly deregulated. The most significant genes deregulated in each DEG analysis were used and mapped to GO terms, Gene ontology Term (Yu et al., 2010) in order to identify significant biological processes, molecular functions and cellular components deregulated. P values and p adjusted values allowed to rank pathways and GO terms from the most to the less significant.

miRNA-genes network: To assess potential miR effect within target mRNAs from our studies, the targetScanMouse tool (http://www.targetscan.org/mmu_72/) was used (Agarwal et al., 2015). Basically, all the genes predicted for the 27 selected miRNAs by the targetScanMouse were downloaded. Then, a biological network was built if one of the 193 genes were annotated to one of the 27 selected miRNAs. The network was built using Cytoscape (version 3.7) (Shannon, 2003).

References

- Abels, M., Riva, M., Bennet, H., Ahlqvist, E., Dyachok, O., Nagaraj, V., Shcherbina, L., Fred, R.G., Poon, W., Söhrhede-Winzell, M., et al. (2016). CART is overexpressed in human type 2 diabetic islets and inhibits glucagon secretion and increases insulin secretion. *Diabetologia* 59.
- Agarwal, V., Bell, G.W., Nam, J.-W., and Bartel, D.P. (2015). Predicting effective microRNA target sites in mammalian mRNAs. *ELife* 4.
- Amouyal, C., and Andreelli, F. (2016). Increasing GLP-1 Circulating Levels by Bariatric Surgery or by GLP-1 Receptor Agonists Therapy: Why Are the Clinical Consequences so Different? *J. Diabetes Res.* 2016, 1–10.
- Andreelli, F., Amouyal, C., Magnan, C., and Mithieux, G. (2009). What can bariatric surgery teach us about the pathophysiology of type 2 diabetes? *Diabetes Metab.* 35, 499–507.
- Arble, D.M., Sandoval, D.A., and Seeley, R.J. (2015). Mechanisms underlying weight loss and metabolic improvements in rodent models of bariatric surgery. *Diabetologia* 58, 211–220.
- Arden, C., Hampson, L.J., Huang, G.C., Shaw, J.A.M., Aldibbiat, A., Holliman, G., Manas, D., Khan, S., Lange, A.J., and Agius, L. (2008). A role for PFK-2/FBPase-2, as distinct from fructose 2,6-bisphosphate, in regulation of insulin secretion in pancreatic beta-cells. *Biochem. J.* 411, 41–51.
- Asghar, A., and Sheikh, N. (2017). Role of immune cells in obesity induced low grade inflammation and insulin resistance. *Cell. Immunol.* 315, 18–26.
- Baetens, D., Stefan, Y., Ravazzola, M., Malaisse-Lagae, F., Coleman, D.L., and Orci, L. (1978). Alteration of islet cell populations in spontaneously diabetic mice. *Diabetes* 27, 1–7.
- Bleisch, V.R., Mayer, J., and Dickie, M.M. (1952). Familial diabetes mellitus in mice, associated with insulin resistance, obesity, and hyperplasia of the islands of langerhans. *Am. J. Pathol.* 28, 369–385.
- Bock, T., Pakkenberg, B., and Buschard, K. (2003). Increased islet volume but unchanged islet number in ob/ob mice. *Diabetes* 52, 1716–1722.
- Brun, P.-J., Grijalva, A., Rausch, R., Watson, E., Yuen, J.J., Das, B.C., Shudo, K., Kagechika, H., Leibel, R.L., and Blaner, W.S. (2015). Retinoic acid receptor signaling is required to maintain glucose-stimulated insulin secretion and β -cell mass. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 29, 671–683.
- Cani, P.D., Knauf, C., Iglesias, M.A., Drucker, D.J., Delzenne, N.M., and Burcelin, R. (2006). Improvement of glucose tolerance and hepatic insulin sensitivity by oligofructose requires a functional glucagon-like peptide 1 receptor. *Diabetes* 55, 1484–1490.
- Carrasco, F., Papapietro, K., Csendes, A., Salazar, G., Echenique, C., Lisboa, C., Díaz, E., and Rojas, J. (2007). Changes in resting energy expenditure and body composition after weight loss following Roux-en-Y gastric bypass. *Obes. Surg.* 17, 608–616.
- Chan, J.Y., Luzuriaga, J., Bensellam, M., Biden, T.J., and Laybutt, D.R. (2013). Failure of the adaptive unfolded protein response in islets of obese mice is linked with abnormalities in β -cell gene expression and progression to diabetes. *Diabetes* 62, 1557–1568.
- Chandra, V., Karamitri, A., Richards, P., Cormier, F., Ramond, C., Jockers, R., Armanet, M., Albagli-Curiel, O., and Scharfmann, R. (2016). Extracellular acidification stimulates GPR68 mediated IL-8 production in human pancreatic β cells. *Sci. Rep.* 6, 25765.
- Cohen, R.V., Rubino, F., Schiavon, C., and Cummings, D.E. (2012). Diabetes remission without weight loss after duodenal bypass surgery. *Surg. Obes. Relat. Dis. Off. J. Am. Soc. Bariat. Surg.* 8, e66–68.

- Colasoul, B., Jacobs, G., Philippaert, K., Owsianik, G., Segal, A., Nilius, B., Voets, T., Schuit, F., and Vennekens, R. (2014). Insulin downregulates the expression of the Ca²⁺-activated nonselective cation channel TRPM5 in pancreatic islets from leptin-deficient mouse models. *Pflugers Arch.* *466*, 611–621.
- Da Dalt, L., Ruscica, M., Bonacina, F., Balzarotti, G., Dhyani, A., Di Cairano, E., Baragetti, A., Arnaboldi, L., De Metrio, S., Pellegatta, F., et al. (2019). PCSK9 deficiency reduces insulin secretion and promotes glucose intolerance: the role of the low-density lipoprotein receptor. *Eur. Heart J.* *40*, 357–368.
- Diedisheim, M., Oshima, M., Albagli, O., Hultdt, C.W., Ahlstedt, I., Clausen, M., Menon, S., Aivazidis, A., Andreasson, A.-C., Haynes, W.G., et al. (2018). Modeling human pancreatic beta cell dedifferentiation. *Mol. Metab.* *10*, 74–86.
- Doliba, N.M., Qin, W., Najafi, H., Liu, C., Buettger, C.W., Sotiris, J., Collins, H.W., Li, C., Stanley, C.A., Wilson, D.F., et al. (2012). Glucokinase activation repairs defective bioenergetics of islets of Langerhans isolated from type 2 diabetics. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* *302*, E87–E102.
- Dong, H., Zhang, Y., Wang, J., Kim, D.S., Wu, H., Sjögren, B., Gao, W., Luttrell, L., and Wang, H. (2017). Regulator of G protein signaling 2 is a key regulator of pancreatic β -cell mass and function. *Cell Death Dis.* *8*, e2821.
- Douros, J.D., Lewis, A.G., Smith, E.P., Niu, J., Capozzi, M., Wittmann, A., Campbell, J., Tong, J., Wagner, C., Mahbod, P., et al. (2018). Enhanced Glucose Control Following Vertical Sleeve Gastrectomy Does Not Require a β -Cell Glucagon-Like Peptide 1 Receptor. *Diabetes* *67*, 1504–1511.
- Douros, J.D., Niu, J., Sdao, S.M., Gregg, T., Fisher-Wellman, K.H., Bharadwaj, M.S., Molina, A., Arumugam, R., Martin, M.D., Petretto, E., et al. (2019). Sleeve gastrectomy rapidly enhances islet function independently of body weight. *JCI Insight*.
- Eguchi, K., Manabe, I., Oishi-Tanaka, Y., Ohsugi, M., Kono, N., Ogata, F., Yagi, N., Ohto, U., Kimoto, M., Miyake, K., et al. (2012). Saturated fatty acid and TLR signaling link β cell dysfunction and islet inflammation. *Cell Metab.* *15*, 518–533.
- Evers, S.S., Sandoval, D.A., and Seeley, R.J. (2017). The Physiology and Molecular Underpinnings of the Effects of Bariatric Surgery on Obesity and Diabetes. *Annu. Rev. Physiol.* *79*, 313–334.
- Frühbeck, G. (2015). Bariatric and metabolic surgery: a shift in eligibility and success criteria. *Nat. Rev. Endocrinol.* *11*, 465–477.
- Fukuchi, K., Hart, M., Yan, Z., Hassell, J.R., and Li, L. (2004). Transgenic mice overexpressing both amyloid beta-protein and perlecan in pancreatic acinar cells. *Histol. Histopathol.* *19*, 845–852.
- Gerst, F., Jaghutriz, B.A., Staiger, H., Schulte, A.M., Lorza-Gil, E., Kaiser, G., Panse, M., Haug, S., Heni, M., Schütz, M., et al. (2018). The Expression of Aldolase B in Islets Is Negatively Associated With Insulin Secretion in Humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* *103*, 4373–4383.
- Gomi, H., Mizutani, S., Kasai, K., Itohara, S., and Izumi, T. (2005). Granuphilin molecularly docks insulin granules to the fusion machinery. *J. Cell Biol.* *171*, 99–109.
- Hao, Z., Münzberg, H., Rezai-Zadeh, K., Keenan, M., Coulon, D., Lu, H., Berthoud, H.-R., and Ye, J. (2015). Leptin deficient ob/ob mice and diet-induced obese mice responded differently to Roux-en-Y bypass surgery. *Int. J. Obes.* *2005* *39*, 798–805.
- He, Y., Ding, Y., Liang, B., Lin, J., Kim, T.-K., Yu, H., Hang, H., and Wang, K. (2017). A Systematic Study of Dysregulated MicroRNA in Type 2 Diabetes Mellitus. *Int. J. Mol. Sci.* *18*, 456.
- Iezzi, M., Theander, S., Janz, R., Loze, C., and Wollheim, C.B. (2005). SV2A and SV2C are not vesicular Ca²⁺ transporters but control glucose-evoked granule recruitment. *J. Cell Sci.* *118*, 5647–5660.

Irles, E., Neco, P., Lluesma, M., Villar-Pazos, S., Santos-Silva, J.C., Vettorazzi, J.F., Alonso-Magdalena, P., Carneiro, E.M., Boschero, A.C., Nadal, Á., et al. (2015). Enhanced glucose-induced intracellular signaling promotes insulin hypersecretion: pancreatic beta-cell functional adaptations in a model of genetic obesity and prediabetes. *Mol. Cell. Endocrinol.* 404, 46–55.

Jacovetti, C., Abderrahmani, A., Parnaud, G., Jonas, J.-C., Peyot, M.-L., Cornu, M., Laybutt, R., Meugnier, E., Rome, S., Thorens, B., et al. (2012). MicroRNAs contribute to compensatory β cell expansion during pregnancy and obesity. *J. Clin. Invest.* 122, 3541–3551.

Jetton, T.L., Liang, Y., and Cincotta, A.H. (2001). Systemic treatment with sympatholytic dopamine agonists improves aberrant beta-cell hyperplasia and GLUT2, glucokinase, and insulin immunoreactive levels in ob/ob mice. *Metabolism.* 50, 1377–1384.

Josefsen, K., Sørensen, L.R., Buschard, K., and Birkenbach, M. (1999). Glucose induces early growth response gene (Egr-1) expression in pancreatic beta cells. *Diabetologia* 42, 195–203.

Khodabandehloo, H., Gorgani-Firuzjaee, S., Panahi, G., and Meshkani, R. (2016). Molecular and cellular mechanisms linking inflammation to insulin resistance and β -cell dysfunction. *Transl. Res. J. Lab. Clin. Med.* 167, 228–256.

Kim, M.-J., Park, S.-K., Lee, J.-H., Jung, C.-Y., Sung, D.J., Park, J.-H., Yoon, Y.-S., Park, J., Park, K.-G., Song, D.-K., et al. (2015). Salt-Inducible Kinase 1 Terminates cAMP Signaling by an Evolutionarily Conserved Negative-Feedback Loop in β -Cells. *Diabetes* 64, 3189–3202.

Kimple, M.E., Keller, M.P., Rabaglia, M.R., Pasker, R.L., Neuman, J.C., Truchan, N.A., Brar, H.K., and Attie, A.D. (2013). Prostaglandin E2 receptor, EP3, is induced in diabetic islets and negatively regulates glucose- and hormone-stimulated insulin secretion. *Diabetes* 62, 1904–1912.

Kowluru, A. (2017). Tiam1/Vav2-Rac1 axis: A tug-of-war between islet function and dysfunction. *Biochem. Pharmacol.* 132, 9–17.

Laferrère, B. (2011). Diabetes remission after bariatric surgery: is it just the incretins? *Int. J. Obes.* 2005 35 Suppl 3, S22-25.

Lenoir, O., Flosseau, K., Ma, F.X., Blondeau, B., Mai, A., Bassel-Duby, R., Ravassard, P., Olson, E.N., Haumaitre, C., and Scharfmann, R. (2011). Specific control of pancreatic endocrine β - and δ -cell mass by class IIa histone deacetylases HDAC4, HDAC5, and HDAC9. *Diabetes* 60, 2861–2871.

Li, Q., Li, B., Miao, X., Ramgattie, C., Gao, Z.-H., and Liu, J.-L. (2017). Reg2 Expression Is Required for Pancreatic Islet Compensation in Response to Aging and High-Fat Diet-Induced Obesity. *Endocrinology* 158, 1634–1644.

Liang, Y.-Z., Li, J.-J.-H., Xiao, H.-B., He, Y., Zhang, L., and Yan, Y.-X. (2018). Identification of stress-related microRNA biomarkers in type 2 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. *J. Diabetes.*

Lim, M., Park, L., Shin, G., Hong, H., Kang, I., and Park, Y. (2008). Induction of apoptosis of Beta cells of the pancreas by advanced glycation end-products, important mediators of chronic complications of diabetes mellitus. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1150, 311–315.

Mao, J., Luo, H., and Wu, J. (2008). Drak2 overexpression results in increased beta-cell apoptosis after free fatty acid stimulation. *J. Cell. Biochem.* 105, 1073–1080.

Matschinsky, F.M., and Wilson, D.F. (2019). The Central Role of Glucokinase in Glucose Homeostasis: A Perspective 50 Years After Demonstrating the Presence of the Enzyme in Islets of Langerhans. *Front. Physiol.* 10, 148.

- Méndez-Giménez, L., Becerril, S., Camões, S.P., da Silva, I.V., Rodrigues, C., Moncada, R., Valentí, V., Catalán, V., Gómez-Ambrosi, J., Miranda, J.P., et al. (2017). Role of aquaporin-7 in ghrelin- and GLP-1-induced improvement of pancreatic β -cell function after sleeve gastrectomy in obese rats. *Int. J. Obes.* 2005 41, 1394–1402.
- Mokadem, M., Zechner, J.F., Margolskee, R.F., Drucker, D.J., and Aguirre, V. (2014). Effects of Roux-en-Y gastric bypass on energy and glucose homeostasis are preserved in two mouse models of functional glucagon-like peptide-1 deficiency. *Mol. Metab.* 3, 191–201.
- Mokadem, M., Zechner, J.F., Uchida, A., and Aguirre, V. (2015). Leptin Is Required for Glucose Homeostasis after Roux-en-Y Gastric Bypass in Mice. *PLOS ONE* 10, e0139960.
- Nesca, V., Guay, C., Jacovetti, C., Menoud, V., Peyot, M.-L., Laybutt, D.R., Prentki, M., and Regazzi, R. (2013). Identification of particular groups of microRNAs that positively or negatively impact on beta cell function in obese models of type 2 diabetes. *Diabetologia* 56, 2203–2212.
- Ni, Q., Gu, Y., Xie, Y., Yin, Q., Zhang, H., Nie, A., Li, W., Wang, Y., Ning, G., Wang, W., et al. (2017). Raptor regulates functional maturation of murine beta cells. *Nat. Commun.* 8, 15755.
- Ofori, J.K., Salunkhe, V.A., Bagge, A., Vishnu, N., Nagao, M., Mulder, H., Wollheim, C.B., Eliasson, L., and Esguerra, J.L.S. (2017). Elevated miR-130a/miR130b/miR-152 expression reduces intracellular ATP levels in the pancreatic beta cell. *Sci. Rep.* 7.
- Ohtani, M., Oka, T., and Ohura, K. (2013). Possible involvement of A_{2A} and A₃ receptors in modulation of insulin secretion and β -cell survival in mouse pancreatic islets. *Gen. Comp. Endocrinol.* 187, 86–94.
- Osbak, K.K., Colclough, K., Saint-Martin, C., Beer, N.L., Bellanné-Chantelot, C., Ellard, S., and Gloyn, A.L. (2009). Update on mutations in glucokinase (GCK), which cause maturity-onset diabetes of the young, permanent neonatal diabetes, and hyperinsulinemic hypoglycemia. *Hum. Mutat.* 30, 1512–1526.
- Plaisance, V., Waeber, G., Regazzi, R., and Abderrahmani, A. (2014). Role of MicroRNAs in Islet Beta-Cell Compensation and Failure during Diabetes. *J. Diabetes Res.* 2014.
- Pories, W.J., Swanson, M.S., MacDonald, K.G., Long, S.B., Morris, P.G., Brown, B.M., Barakat, H.A., deRamon, R.A., Israel, G., and Dolezal, J.M. (1995). Who would have thought it? An operation proves to be the most effective therapy for adult-onset diabetes mellitus. *Ann. Surg.* 222, 339–350; discussion 350–352.
- Rakshit, K., Qian, J., Gaonkar, K.S., Dhawan, S., Colwell, C.S., and Matveyenko, A.V. (2018). Postnatal Ontogenesis of the Islet Circadian Clock Plays a Contributory Role in β -Cell Maturation Process. *Diabetes* 67, 911–922.
- Ravnskjaer, K., Boergesen, M., Rubi, B., Larsen, J.K., Nielsen, T., Fridriksson, J., Maechler, P., and Mandrup, S. (2005). Peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPARalpha) potentiates, whereas PPARgamma attenuates, glucose-stimulated insulin secretion in pancreatic beta-cells. *Endocrinology* 146, 3266–3276.
- Ray, J.D., Kener, K.B., Bitner, B.F., Wright, B.J., Ballard, M.S., Barrett, E.J., Hill, J.T., Moss, L.G., and Tessem, J.S. (2016). Nkx6.1-mediated insulin secretion and β -cell proliferation is dependent on upregulation of c-Fos. *FEBS Lett.* 590, 1791–1803.
- Richards, P., Rachdi, L., Oshima, M., Marchetti, P., Bugliani, M., Armanet, M., Postic, C., Guilmeau, S., and Scharfmann, R. (2018). MondoA Is an Essential Glucose-Responsive Transcription Factor in Human Pancreatic β -Cells. *Diabetes* 67, 461–472.
- Roat, R., Hossain, M.M., Christopherson, J., Free, C., Jain, S., Guay, C., Regazzi, R., and Guo, Z. (2017). Identification and Characterization of microRNAs Associated With Human β -Cell Loss in a Mouse Model. *Am. J. Transplant. Off. J. Am. Soc. Transplant. Am. Soc. Transpl. Surg.* 17, 992–1007.

- Robinson, M.D., McCarthy, D.J., and Smyth, G.K. (2010). edgeR: a Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data. *Bioinformatics* 26, 139–140.
- Saleh, M.C. (2006). Endogenous islet uncoupling protein-2 expression and loss of glucose homeostasis in ob/ob mice. *J. Endocrinol.* 190, 659–667.
- Savill, S.A., Leitch, H.F., Harvey, J.N., and Thomas, T.H. (2016). Inflammatory Adipokines Decrease Expression of Two High Molecular Weight Isoforms of Tropomyosin Similar to the Change in Type 2 Diabetic Patients. *PloS One* 11, e0162908.
- Schulthess, F.T., Paroni, F., Sauter, N.S., Shu, L., Ribaux, P., Haataja, L., Strieter, R.M., Oberholzer, J., King, C.C., and Maedler, K. (2009). CXCL10 impairs beta cell function and viability in diabetes through TLR4 signaling. *Cell Metab.* 9, 125–139.
- Seyfried, F., Miras, A.D., Rotzinger, L., Nordbeck, A., Corteville, C., Li, J.V., Schlegel, N., Hankir, M., Fenske, W., Otto, C., et al. (2016). Gastric Bypass-Related Effects on Glucose Control, β Cell Function and Morphology in the Obese Zucker Rat. *Obes. Surg.* 26, 1228–1236.
- Shannon, P. (2003). Cytoscape: A Software Environment for Integrated Models of Biomolecular Interaction Networks. *Genome Res.* 13, 2498–2504.
- Shin, H., Han, J.H., Yoon, J., Sim, H.J., Park, T.J., Yang, S., Lee, E.K., Kulkarni, R.N., Egan, J.M., and Kim, W. (2018). Blockade of cannabinoid 1 receptor improves glucose responsiveness in pancreatic beta cells. *J. Cell. Mol. Med.* 22, 2337–2345.
- Siddique, T., and Awan, F.R. (2016). Effects of Reg3 Delta Bioactive Peptide on Blood Glucose Levels and Pancreatic Gene Expression in an Alloxan-Induced Mouse Model of Diabetes. *Can. J. Diabetes* 40, 198–203.
- Starich, G.H., Zafirova, M., Jablenska, R., Petkov, P., and Lardinois, C.K. (1991). A morphological and immunohistochemical investigation of endocrine pancreata from obese ob+/ob+ mice. *Acta Histochem.* 90, 93–101.
- Stefater, M.A., Pérez-Tilve, D., Chambers, A.P., Wilson-Pérez, H.E., Sandoval, D.A., Berger, J., Toure, M., Tschöp, M., Woods, S.C., and Seeley, R.J. (2010). Sleeve gastrectomy induces loss of weight and fat mass in obese rats, but does not affect leptin sensitivity. *Gastroenterology* 138, 2426–2436, 2436.e1-3.
- Stefater, M.A., Wilson-Pérez, H.E., Chambers, A.P., Sandoval, D.A., and Seeley, R.J. (2012). All bariatric surgeries are not created equal: insights from mechanistic comparisons. *Endocr. Rev.* 33, 595–622.
- Stylopoulos, N., Hoppin, A.G., and Kaplan, L.M. (2009). Roux-en-Y gastric bypass enhances energy expenditure and extends lifespan in diet-induced obese rats. *Obes. Silver Spring Md* 17, 1839–1847.
- Sun, X., Zheng, M., Song, M., Bai, R., Cheng, S., Xing, Y., Yuan, H., and Wang, P. (2014). Ileal interposition reduces blood glucose levels and decreases insulin resistance in a type 2 diabetes mellitus animal model by up-regulating glucagon-like peptide-1 and its receptor. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 7, 4136–4142.
- Surwit, R.S., Feinglos, M.N., Livingston, E.G., Kuhn, C.M., and McCubbin, J.A. (1984). Behavioral manipulation of the diabetic phenotype in ob/ob mice. *Diabetes* 33, 616–618.
- Tessem, J.S., Moss, L.G., Chao, L.C., Arlotto, M., Lu, D., Jensen, M.V., Stephens, S.B., Tontonoz, P., Hohmeier, H.E., and Newgard, C.B. (2014). Nkx6.1 regulates islet β -cell proliferation via Nr4a1 and Nr4a3 nuclear receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 111, 5242–5247.
- Tiwari, S., Roel, C., Wills, R., Casinelli, G., Tanwir, M., Takane, K.K., and Fiaschi-Taesch, N.M. (2015). Early and Late G1/S Cyclins and Cdks Act Complementarily to Enhance Authentic Human β -Cell Proliferation and Expansion. *Diabetes* 64, 3485–3498.

- Troy, S., Soty, M., Ribeiro, L., Laval, L., Migrenne, S., Fioramonti, X., Pillot, B., Fauveau, V., Aubert, R., Viollet, B., et al. (2008). Intestinal gluconeogenesis is a key factor for early metabolic changes after gastric bypass but not after gastric lap-band in mice. *Cell Metab.* *8*, 201–211.
- Tsukita, S., Yamada, T., Takahashi, K., Munakata, Y., Hosaka, S., Takahashi, H., Gao, J., Shirai, Y., Kodama, S., Asai, Y., et al. (2017). MicroRNAs 106b and 222 Improve Hyperglycemia in a Mouse Model of Insulin-Deficient Diabetes via Pancreatic β -Cell Proliferation. *EBioMedicine* *15*, 163–172.
- Tuerxunyiming, M., Xian, F., Zi, J., Yimamu, Y., Abuduwayite, R., Ren, Y., Li, Q., Abudula, A., Liu, S., and Mohemaiti, P. (2018). Quantitative Evaluation of Serum Proteins Uncovers a Protein Signature Related to Maturity-Onset Diabetes of the Young (MODY). *J. Proteome Res.* *17*, 670–679.
- Uchida, K., Dezaki, K., Damdindorj, B., Inada, H., Shiuchi, T., Mori, Y., Yada, T., Minokoshi, Y., and Tominaga, M. (2011). Lack of TRPM2 impaired insulin secretion and glucose metabolisms in mice. *Diabetes* *60*, 119–126.
- Vidal, J., de Hollanda, A., and Jiménez, A. (2016). GLP-1 is not the key mediator of the health benefits of metabolic surgery. *Surg. Obes. Relat. Dis.* *12*, 1225–1229.
- Villasenor, A., Wang, Z.V., Rivera, L.B., Ocal, O., Asterholm, I.W., Scherer, P.E., Brekken, R.A., Cleaver, O., and Wilkie, T.M. (2010). Rgs16 and Rgs8 in embryonic endocrine pancreas and mouse models of diabetes. *Dis. Model. Mech.* *3*, 567–580.
- Viollet, B., Andreelli, F., Jørgensen, S.B., Perrin, C., Geloën, A., Flamez, D., Mu, J., Lenzner, C., Baud, O., Bennoun, M., et al. (2003). The AMP-activated protein kinase $\alpha 2$ catalytic subunit controls whole-body insulin sensitivity. *J. Clin. Invest.* *111*, 91–98.
- Vlacich, G., Nawijn, M.C., Webb, G.C., and Steiner, D.F. (2010). Pim3 negatively regulates glucose-stimulated insulin secretion. *Islets* *2*, 308–317.
- Wardé-Kamar, J., Rogers, M., Flancbaum, L., and Laferrère, B. (2004). Calorie intake and meal patterns up to 4 years after Roux-en-Y gastric bypass surgery. *Obes. Surg.* *14*, 1070–1079.
- Watanabe, R., Shen, Z.-P., Tsuda, K., and Yamada, Y. (2008). Insulin gene is a target in activin receptor-like kinase 7 signaling pathway in pancreatic beta-cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* *377*, 867–872.
- Wickham, H. (2009). *Ggplot2: elegant graphics for data analysis* (New York: Springer).
- Wilson-Pérez, H.E., Chambers, A.P., Ryan, K.K., Li, B., Sandoval, D.A., Stoffers, D., Drucker, D.J., Pérez-Tilve, D., and Seeley, R.J. (2013). Vertical sleeve gastrectomy is effective in two genetic mouse models of glucagon-like Peptide 1 receptor deficiency. *Diabetes* *62*, 2380–2385.
- Xin, Y., Lyu, X., Wang, C., Fu, Y., Zhang, S., Tian, C., Li, Q., and Zhang, D. (2014). Elevated circulating levels of CTRP1, a novel adipokine, in diabetic patients. *Endocr. J.* *61*, 841–847.
- Xiong, X., Wang, X., Li, B., Chowdhury, S., Lu, Y., Srikant, C.B., Ning, G., and Liu, J.-L. (2011). Pancreatic islet-specific overexpression of Reg3 β protein induced the expression of pro-islet genes and protected the mice against streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* *300*, E669–680.
- Xu, E.E., Sasaki, S., Speckmann, T., Nian, C., and Lynn, F.C. (2017). SOX4 Allows Facultative β -Cell Proliferation Through Repression of Cdkn1a. *Diabetes* *66*, 2213–2219.
- Yu, G., Li, F., Qin, Y., Bo, X., Wu, Y., and Wang, S. (2010). GOSemSim: an R package for measuring semantic similarity among GO terms and gene products. *Bioinformatics* *26*, 976–978.

Yu, G., Wang, L.-G., Han, Y., and He, Q.-Y. (2012). clusterProfiler: an R Package for Comparing Biological Themes Among Gene Clusters. *OMICS J. Integr. Biol.* 16, 284–287.

Zhang, C.Y., Baffy, G., Perret, P., Krauss, S., Peroni, O., Grujic, D., Hagen, T., Vidal-Puig, A.J., Boss, O., Kim, Y.B., et al. (2001). Uncoupling protein-2 negatively regulates insulin secretion and is a major link between obesity, beta cell dysfunction, and type 2 diabetes. *Cell* 105, 745–755.

Zheng, Y., Wang, Z., Tu, Y., Shen, H., Dai, Z., Lin, J., and Zhou, Z. (2015). miR-101a and miR-30b contribute to inflammatory cytokine-mediated β -cell dysfunction. *Lab. Invest.* 95, 1387–1397.

Zmuda, E.J., Qi, L., Zhu, M.X., Mirmira, R.G., Montminy, M.R., and Hai, T. (2010). The roles of ATF3, an adaptive-response gene, in high-fat-diet-induced diabetes and pancreatic beta-cell dysfunction. *Mol. Endocrinol. Baltim. Md* 24, 1423–1433.

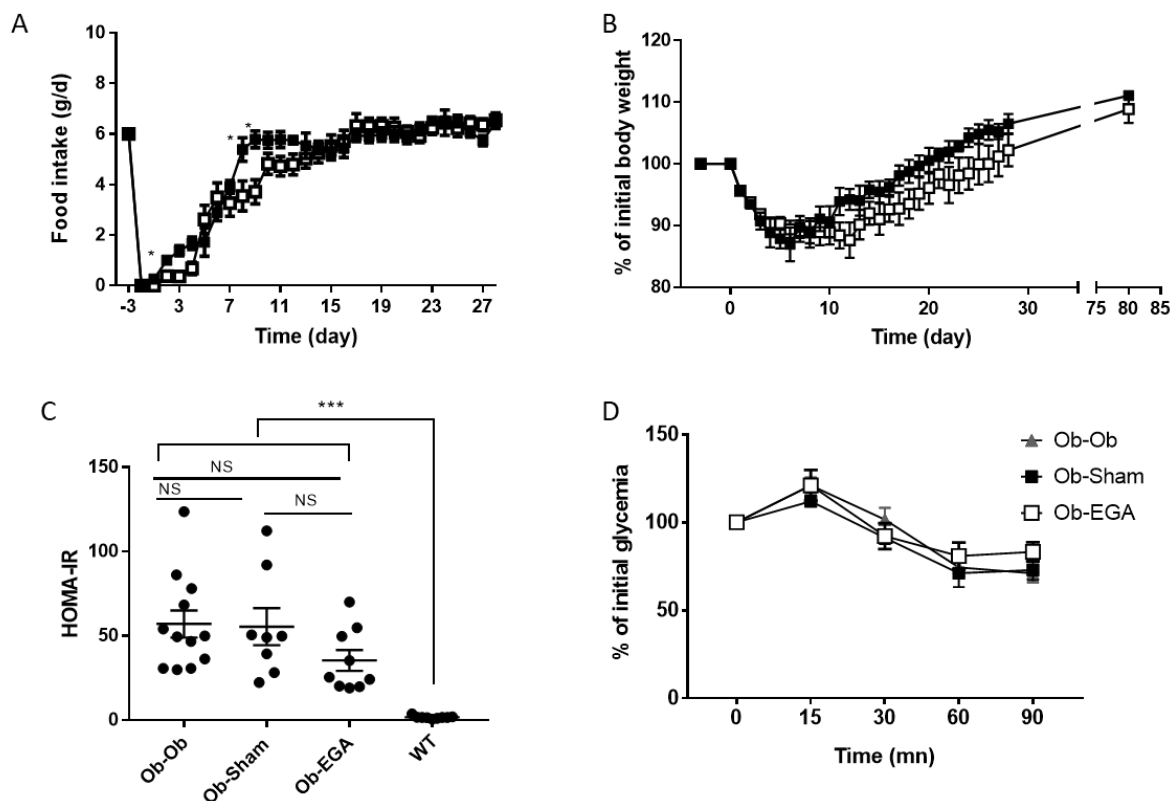


Figure 1: Effects of EGA procedure on body weight and systemic inflammation in ob/ob mice

A: Daily food intake(g/day), (n=18-17 per group), B: Percentage of initial body weight (n=18-17 per group), C: HOMA-IR insulin resistance index 30 days after surgery, D: intraperitoneal insulin tolerance test (IPITT) 0,75 units/kg of insulin (n=9-10). Data are represented as mean $\pm$ SEM (*p < 0,05, ** p < 0,01, ***p < 0,001 by Kruskal Wallis test or Mann and Whitney test).

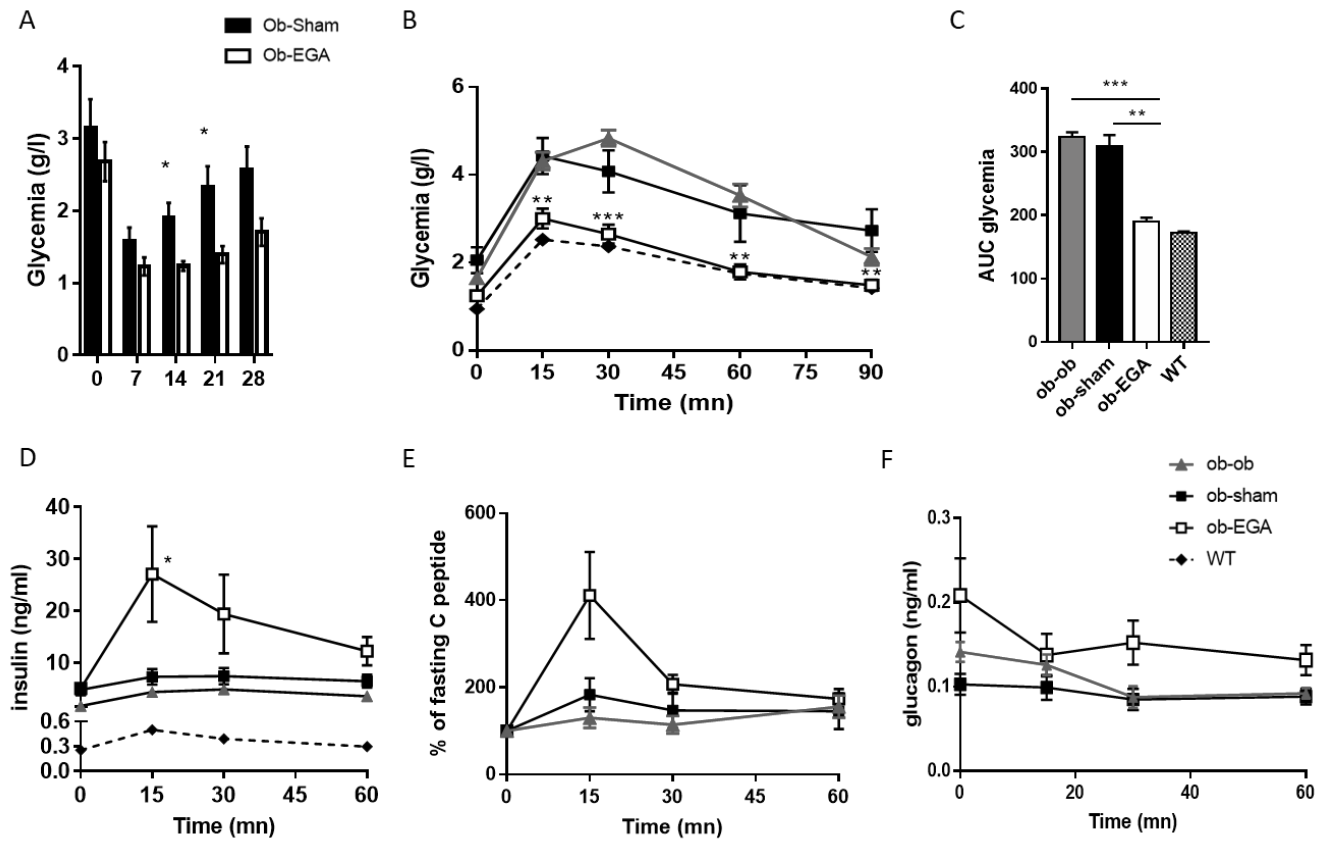


Figure 2: Consequences of EGA surgery on glucose homeostasis in ob/ob mice

A: Morning basal glycemia (n=11-15), B: Oral glucose tolerance test (OGTT 1,5g/kg) (n=8-9), C: Area under the curve during OGTT, D: Insulin secretion (ng/ml) during OGTT (n=8-9), E: % of fasting C peptide during OGTT (n=4-8), F: Glucagon secretion during OGTT (n=12-15). Data are represented as mean $\pm$ SEM (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ by Kruskal Wallis test)

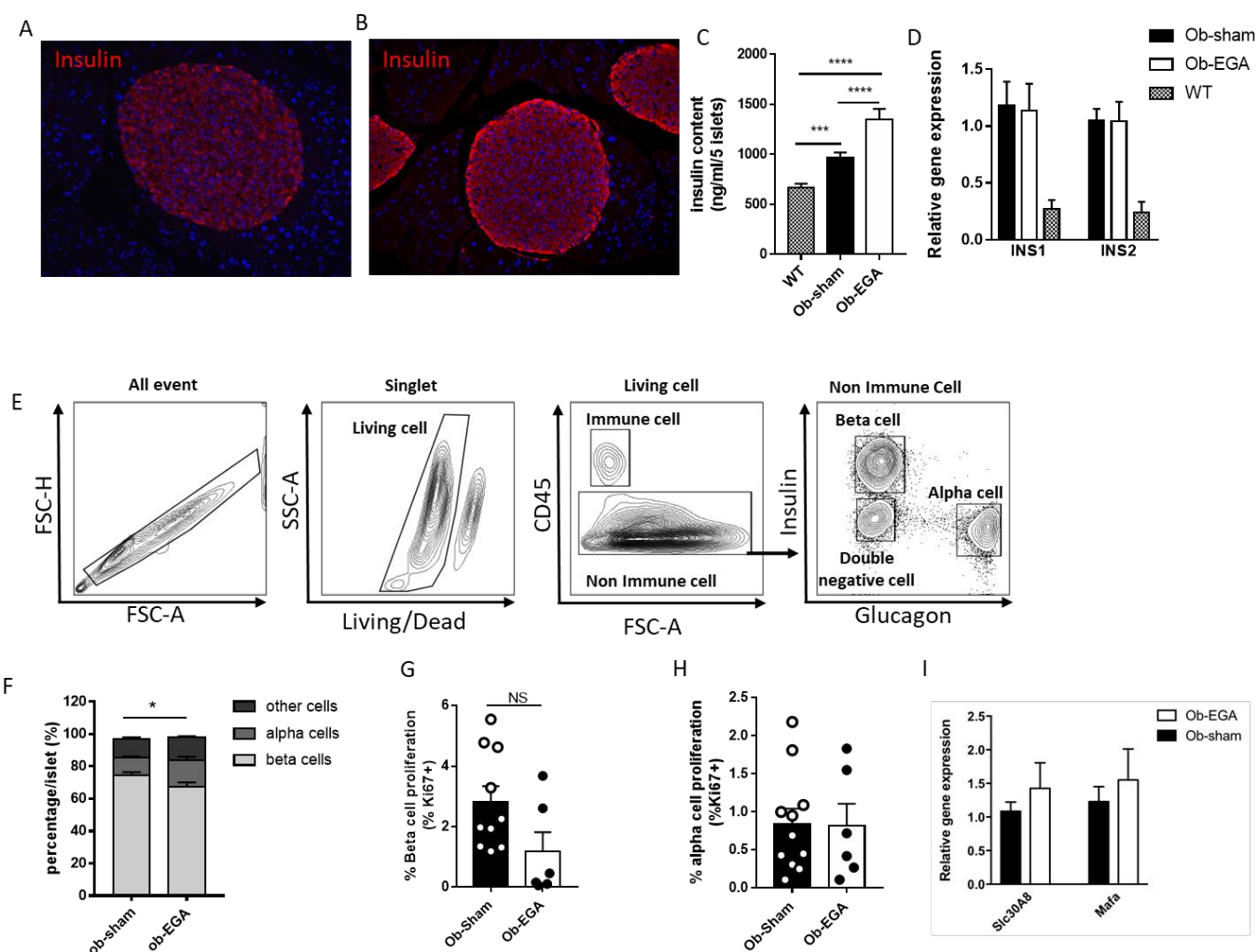


Figure 3: Changes in endocrine pancreas anatomy, islet cell repartition and beta cell differentiation gene expression following EGA surgery

A, B: Immunostaining for insulin (red) in EGA ob mice 30 days after the surgery (x100), Hoechst in blue. C: insulin content in 5 islets of sham-ob mice and EGA-ob mice and WT mice (n=3-6). D : INS1 and INS2 gene expression : at the end of the follow-up (qPCR fold change vs Sham normalized to 18S, cyclin A, beta actin) (n=7-9). E: Flow cytometry plot showing the gating strategy for immune cells, beta cells, alpha cells and insulin and glucagon double negative cells obtained from Langerhans islets of C57/B6 mice (n=11-7) F: Beta and alpha cell repartition in pancreatic islets of ob-Sham and ob-EGA G-H: Beta (G) and alpha (H) cell proliferation (proportion of Ki67 positives cells) I: Expression of GLUT2, GCK (glucokinase), Slc30A8 and Mafa genes in EGA-ob mice (qPCR, fold change vs Sham, data were normalized to 18S, cyclin A, beta actin) (n=7-9). Data are represented as mean $\pm$ SEM (* p < 0,05 ** p < 0,01, *** p < 0,001 by Kruskal Wallis test or Mann and Whitney test)

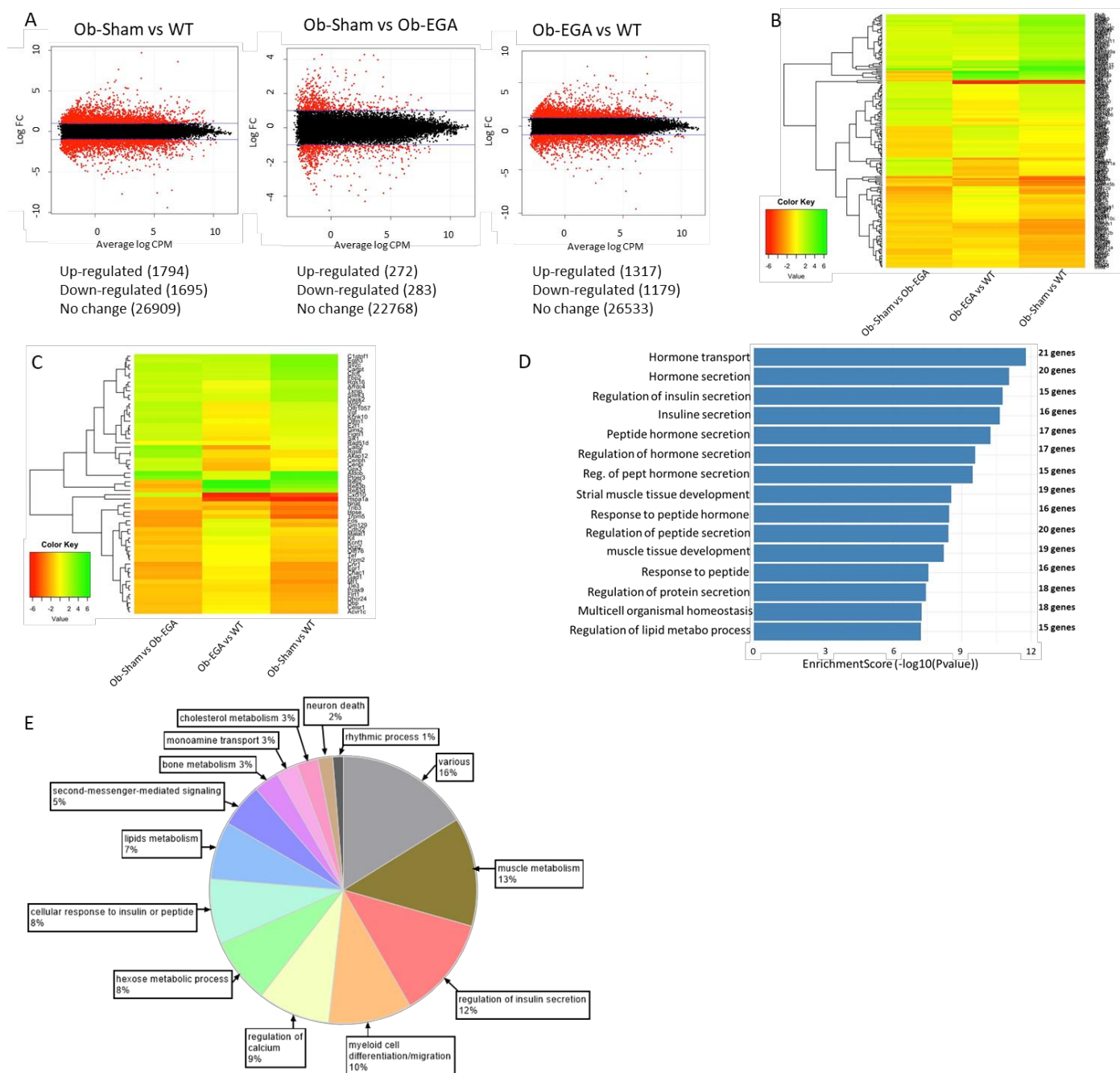


Figure 4: Molecular analysis of islets after the surgery

A: Volcano Plots showing genes differentially expressed in pancreatic islets of C57Bl6 wild type (WT), sham ob mice and EGA-ob mice ($\log_{2}FC > 1$ and < -1 , p value ≤ 0.05 , FDR ≤ 0.001 as thresholds). B: Heat map analysis of 193 selected genes for C57Bl6 wild type, sham ob mice and EGA-ob mice C: Heat map analysis of the 30 up- and down-regulated genes after the surgery for C57Bl6 wild type, sham ob mice and EGA-ob mice D: Genes regulated by the surgery in sham- and EGA-ob mice are enriched for beta cell function-related of the GO term. The significance of pathway enrichment is shown as the $-\log_{10}(\text{enrichment } p \text{ value})$ for the 193 significantly differentially expressed genes. E: Distribution of 227 enriched pathways accordingly to their functions

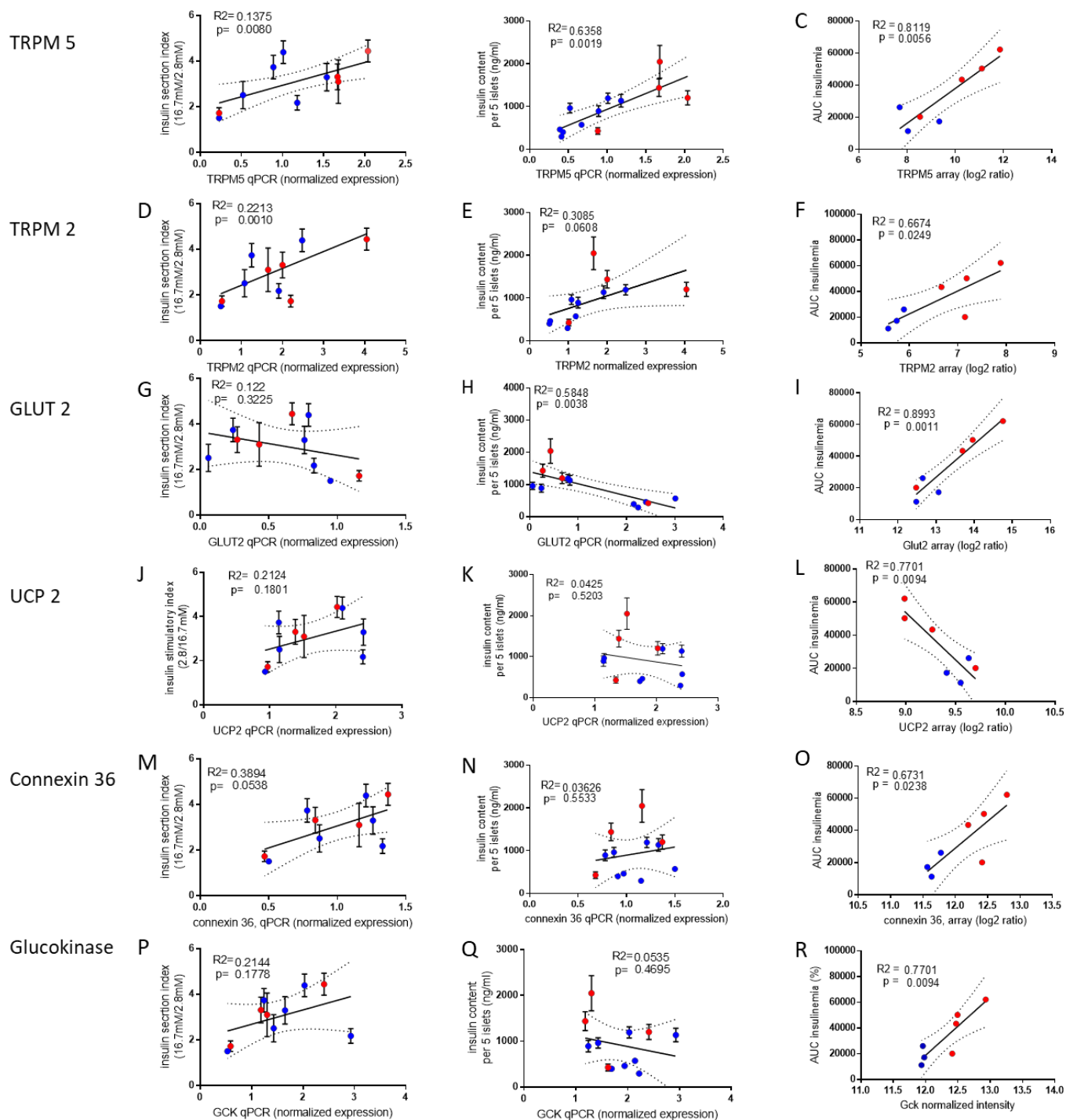


Figure 5: Functional analysis of beta cells after the surgery

Linear regression between isolated islets insulin secretion index (16.7/2.8mM), quadruplicate mesures per animals (A, D, G, J, M, P), insulin content per 5 islets (B,E,H,K,N, Q), quadruplicate mesures per animals and AUC insulinemia during OGTT (1.5 g/kg body weight) (C, F, I, L,O, R) with *Trpm2*, *Trpm5*, *GLUT2* (*Scl2a2*), *Ucp2*, *Connexin 36* (*Gjd2*) and *Glucokinase* (*Gck*) expression in islets (qPCR or array intensities). In blue are the Ob-sham animals and in red are the Ob-EGA animals.

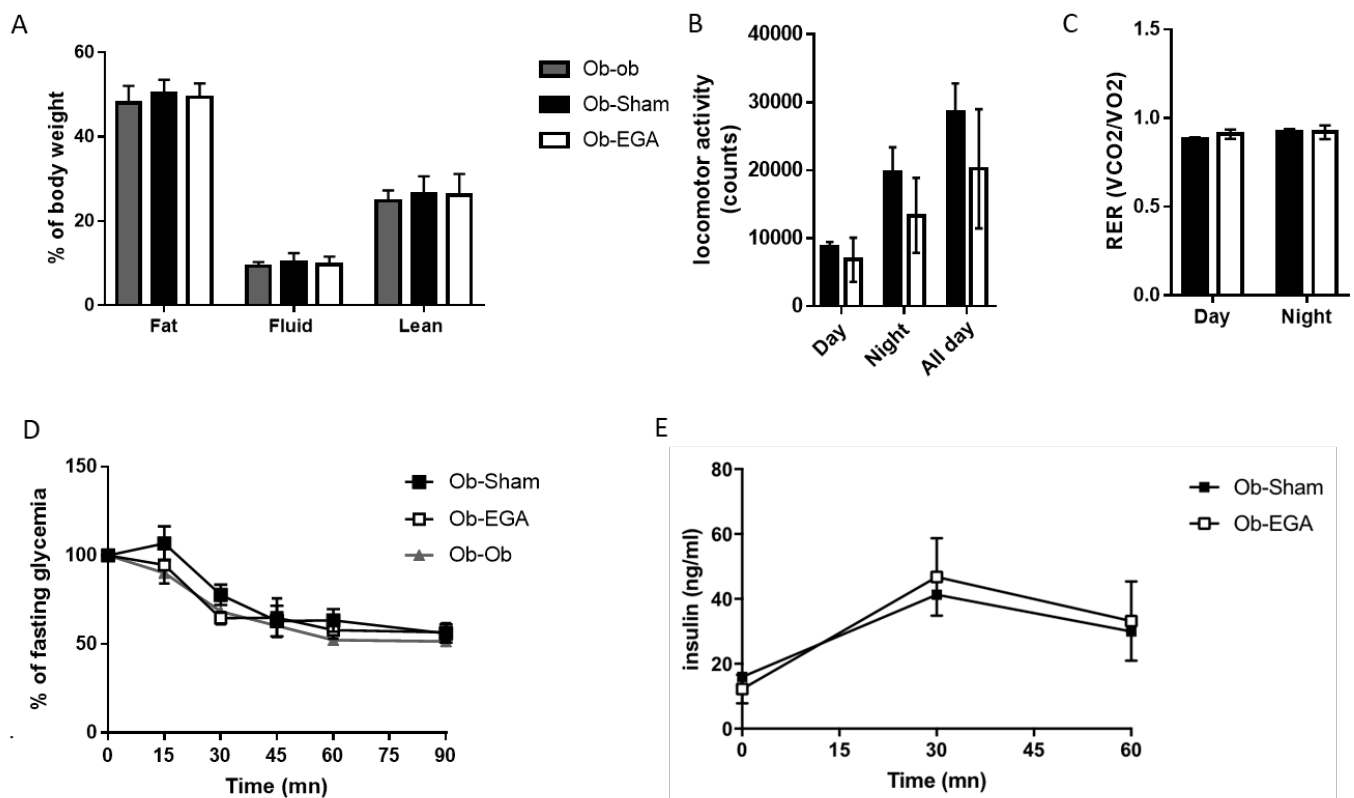


Figure S1: Body composition and insulin tolerance test (2ui/kg)

A: Body composition, n=15 per group, B: Locomotor activity, n=6 per group, C: RER n=6 per group, Insulin tolerance test (2ui/kg with insulin asparte). D: Glycemia, % of initial glycemia (n=9-11). E: Insulinemia during IPITT (2ui/kg with insulin asparte). (n=5)

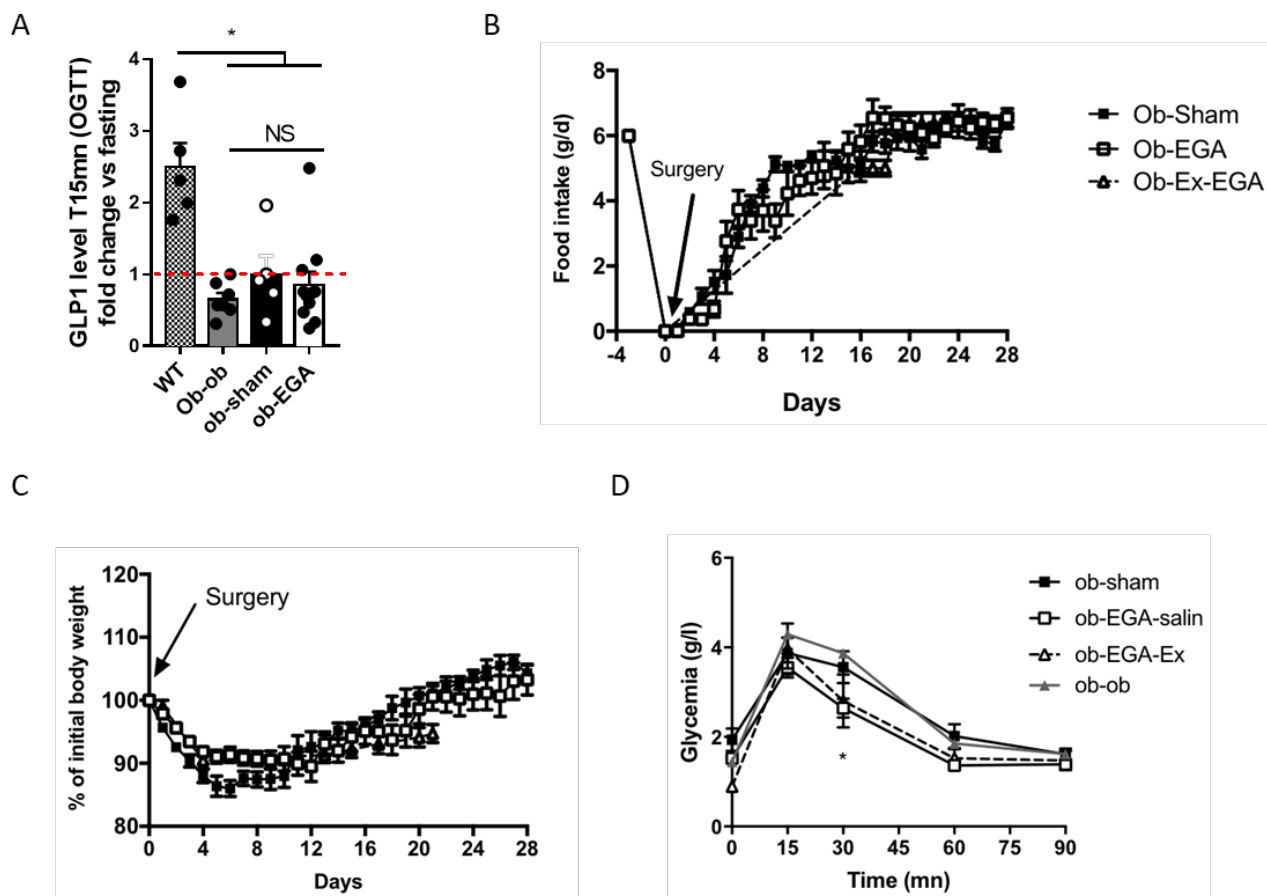


Figure S2: GLP-1 contribution:

A: GLP-1 levels 15 min after glucose gavage of 1.5g/kg (fold change vs fasting level), Consequences of intraperitoneal continuous infusion during 28 days of 9-39 exendin amide in EGA_ob mice (ob-Ex-EGA) on food intake (B), body weight (C), glucose tolerance (D), n= 5-10 per group between Ob-ob and Ob-EGA ; (*p< 0,05 **p<0,01 by Mann and Whitney test or Kruskal Wallis test)

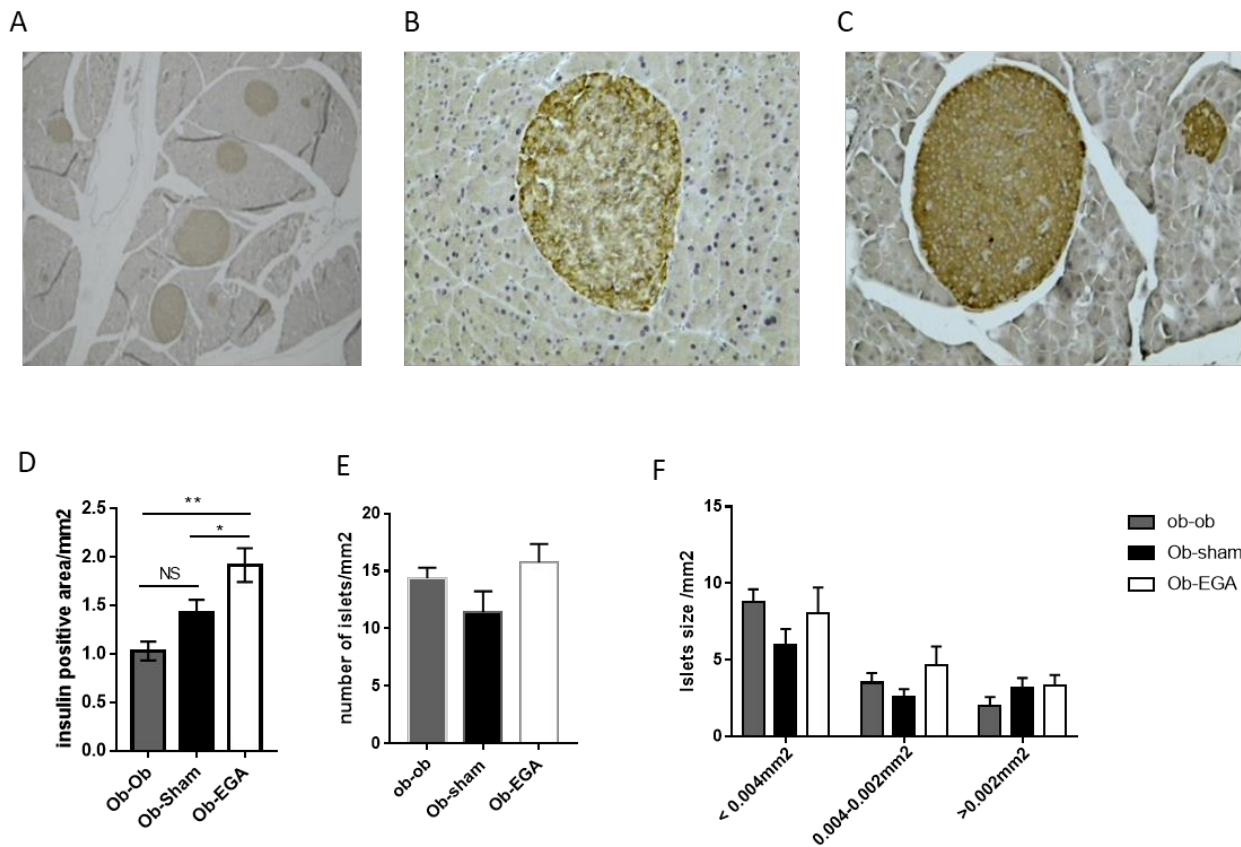


Figure S3: Histological characteristics of endocrine pancreas after EGA

Immunohistochemical staining with anti-insulin antibodies studies. A: pancreatic islets of ob mice (x40) B and C: representative pancreatic islets in sham ob mice (B) and EGA-ob mice (C) (x100) D: Insulin positive area/mm² of pancreas in ob/ob, Sham- and EGA-ob mice E: number of islets /mm² in ob/ob, Sham- and EGA-ob mice F: distribution of the islets size in ob/ob, Sham- and EGA-ob mice. n= 3-7 per group. (*p< 0,05 **p< 0,01, by Kruskal Wallis test)

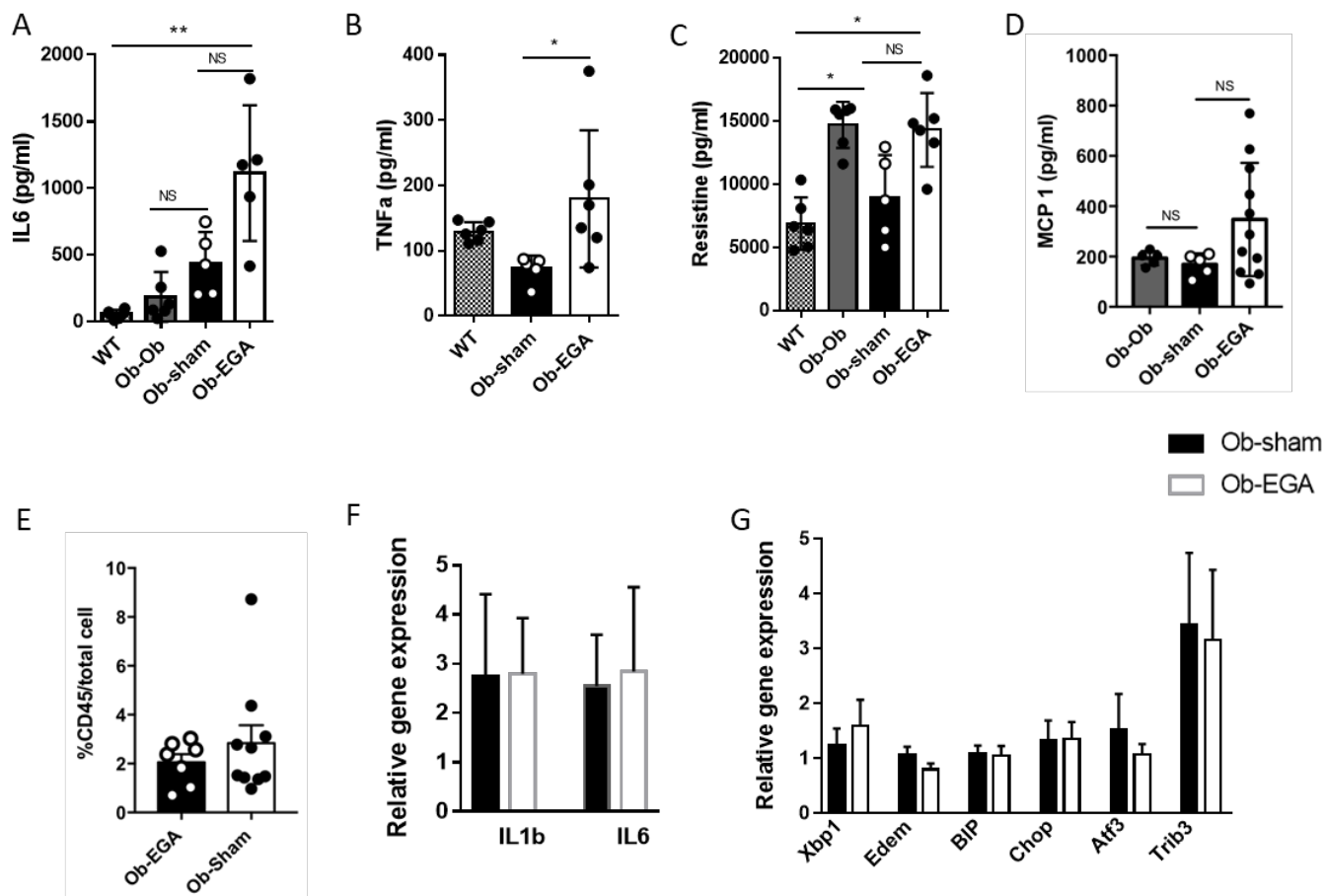


Figure S4: Contribution of inflammation

A-D: Systemic inflammation at the end of follow up. E: Intra islet proportion of immune cells attended by flow cytometry F: IL-1 β and IL6 gene expression in pancreatic islets G: Expression of genes related to endoplasmic reticulum stress in pancreatic islets. Data are represented as mean $\pm$ SEM (* p < 0,05 ** p < 0,01 by Mann and Whitney test or Kruskal Wallis test)

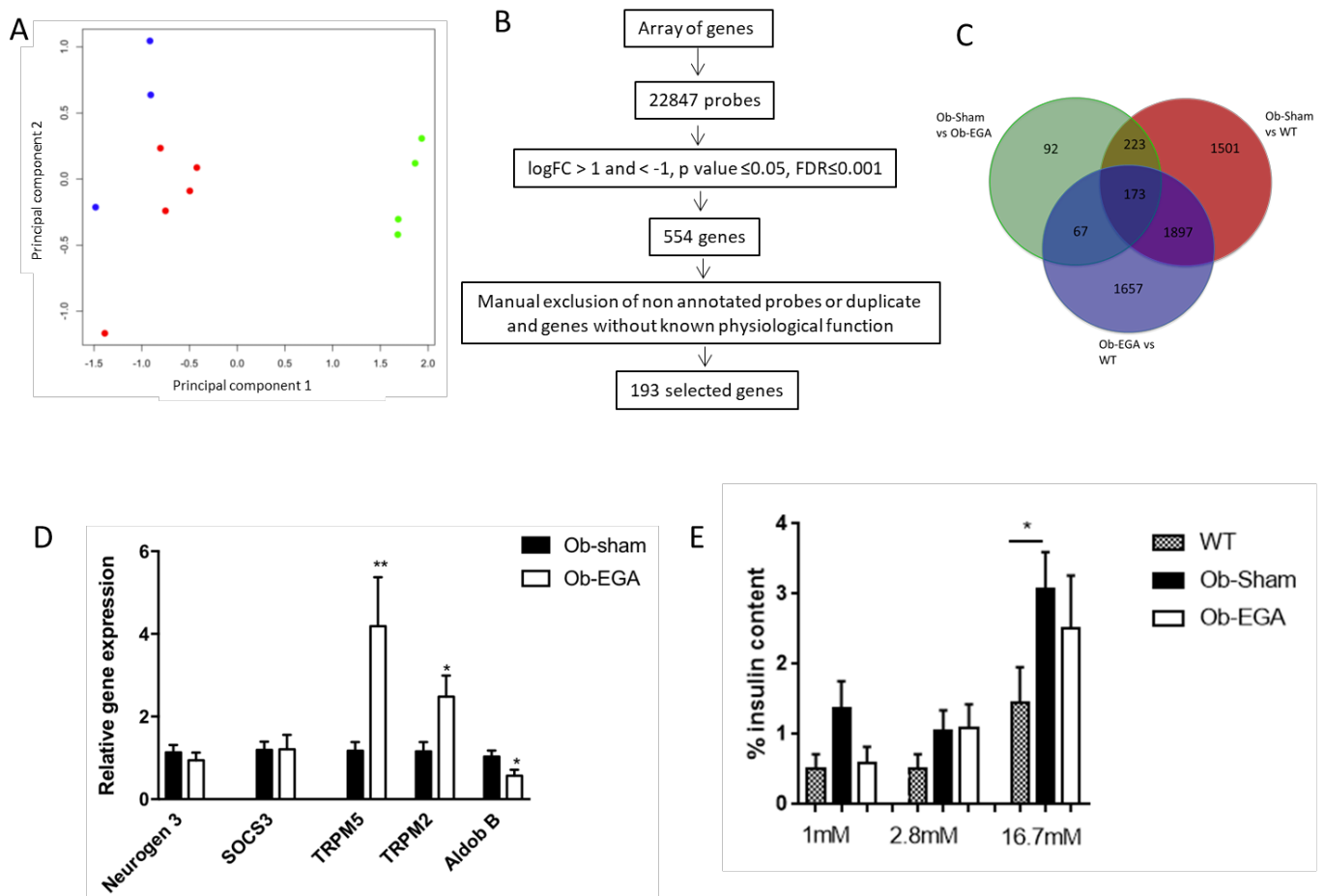


Figure S5: EGA transcriptomic analysis and GSIS

A: Principal component analysis based on 12 samples. In red: sham ob mice; in green: C57Bl6 wild type mice and in blue: EGA-ob mice B: Overview of our approach: Islets from wild type, sham and EGA-ob mice were analyzed by Affymetrix profiling to identify differentially expressed genes. We first identified 551 genes differentially expressed in sham and EGA-ob mice ($\log FC > 1$ and < -1 , $p \text{ value} \leq 0.05$, $FDR \leq 0.001$ as thresholds). Among then, we removed probes without genes name or duplicate genes, genes without known physiological functions or genes not expressed in beta cells. After these selections, 193 genes were differentially regulated when EGA-ob mice and sham-ob mice were compared. C: Venn diagram showing the number of differentially differentially expressed genes in islets from wild type, sham and EGA-ob mice, ($\log FC > 1$ and < -1 , $p \text{ value} \leq 0.05$, $FDR \leq 0.001$ as thresholds) D: Fold changes in the normalized expression of genes in islets from sham and EGA-ob mice. E: Glucose stimulated insulin secretion of isolated islets of WT, EGA and Sham-ob mice. Data are expressed as % of insulin content ($n=3-5$ animals experience in triplicate) Data are represented as mean $\pm$ SEM (* $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ by Mann and Whitney test)

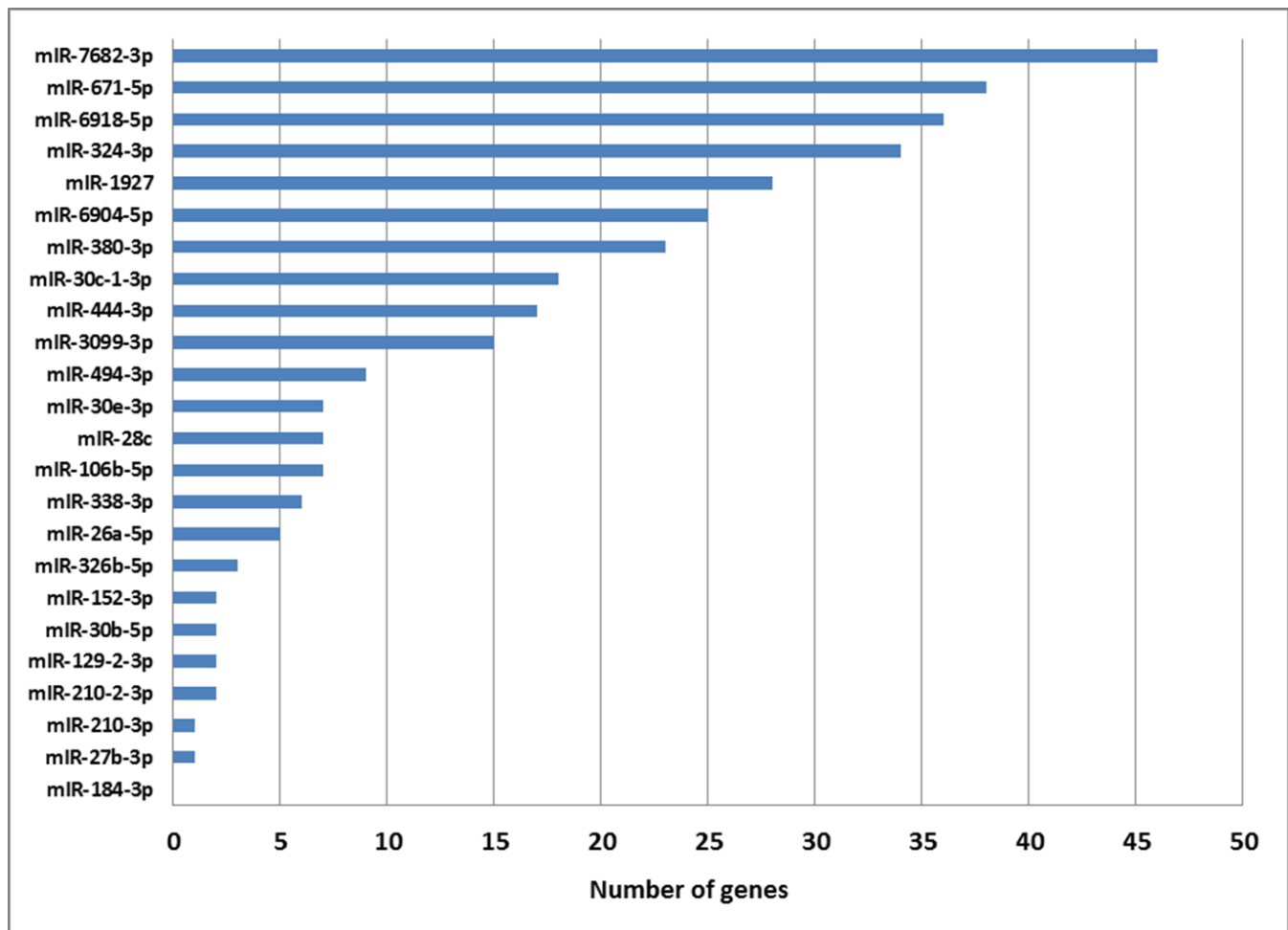


Figure S6: Representation of the number of genes predicted to be regulated by each 27 miRNAs differentially regulated in sham and EGA-ob mice.

This analysis was performed with TargetScanMouse database and included genes regulated by one or more miRNAs.

Table S1: Biological parameters of sham and EGA-ob mice.

	Overnight fasted		Fed	
	Ob-Sham n=5	Ob-EGA n=5	Ob-Sham n=11	Ob-EGA n=14
Glucose (mmol/l)	8,33 ± 1,1	5,15 ± 0,24 *	14,1 ± 1,93	10,35 ± 0,69
Insulin (ng/ml)	8,81 ± 2,96	5,10 ± 0,55	nd	nd
Glycerol (μM)	904,4 ± 500,4	nd	880,5 ± 190	632,3 ± 107
β-hydroxybutyrate (mM)	0,71 ± 0,1	1,21 ± 0,25	0,967 ± 0,23	0,787 ± 0,13
Free fatty acids (mM)	0,146 ± 0,02	0,898 ± 0,17 *	0,408 ± 0,12	0,21 ± 0,06
Triglyceride (mM)	0,53 ± 0,06	0,752 ± 0,12	0,847 ± 0,11	1,097 ± 0,04

Data are represented as mean ± SEM (*p< 0,05 by Mann and Whitney)

Nd : non disponible

Table S2: Top 30 up-regulated genes in EGA-ob mice

Genes showing differential regulation when sham and EGA-ob mice were compared

logFC	PValue	GeneSymbol	EntrezGeneID	Full Name
2,873	2.59E-47	Trpm5	56843	Transient receptor potential cation channel, subfamily M, member 5
2,824	1,41E-41	Gm129	229599	Circadian associated repressor of transcription (Ciart)
2,803	2,89E-32	Cnr1	12801	Cannabinoid receptor 1
2,793	2,31E-33	Hpse	15442	Heparanase
2,719	1,55E-43	Fos	14281	FBJ osteosarcoma oncogene
2,608	4,44E-39	Mt1	17748	Metallothionein 1
2,382	3,33E-35	Gad1	14415	Glutamate decarboxylase 1
2,352	1,90E-34	Egr1	13653	Early growth response 1
2,270	2,45E-32	Reg3b	18489	Regenerating islet-derived 3 beta
2,169	3,53E-30	Chac1	69065	ChaC, cation transport regulator 1
2,021	1,02E-26	Malat1	72289	Metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1 (non-coding RNA)
1,931	4,57E-21	Kcnf1	382571	Potassium voltage-gated channel, subfamily F, member 1
1,845	1,83E-16	Nnat	18111	Neuronatin
1,843	6,34E-23	Dbp	13170	D site albumin promoter binding protein
1,819	1,48E-22	Reg2	19693	Regenerating islet-derived 2
1,796	7,62E-20	Hspa1a	193740	Heat shock protein 1A
1,777	2,36E-19	Acvr1c	269275	Activin A receptor, type IC
1,771	3,42E-21	Dhcr24	74754	24 dehydrocholesterol reductase
1,763	3,02E-21	Tle3	21887	Transducin-like enhancer of split 3
1,723	2,49E-17	Kit	16590	KIT proto-oncogene receptor tyrosine kinase
1,722	1,27E-07	Olfr76	258677	Olfactory receptor 76
1,716	2,84E-20	Cdh22	104010	Cadherin 22
1,677	4,32E-17	Celsr1	12614	Cadherin, EGF LAG seven-pass G-type receptor 1
1,676	3,74E-19	Trib3	228775	Tribbles pseudokinase 3
1,627	5,86E-18	Reg3d	30053	Regenerating islet-derived 3 delta
1,621	4,56E-18	Pcsk9	100102	Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9
1,592	1,20E-17	Flrt1	396184	Fibronectin leucine rich transmembrane protein 1
1,587	7,01E-18	Tef	21685	Thyrotroph embryonic factor
1,566	2,79E-13	Trpm2	28240	Transient receptor potential cation channel, subfamily M, member 2
1,470	3,36E-08	Dcp2	70640	Decapping mRNA 2

(adjusted p value < 0,05, log FC < 0,001)

Table S3: Top 30 down-regulated genes in EGA-ob mice

Genes showing differential regulation when sham and EGA-ob mice were compared

logFC	PValue	GeneSymbol	EntrezGeneID	Full name
-4,318	8,84E-120	Aldob	230163	Aldolase B, fructose-bisphosphate
-3,411	6,26E-73	Ptger3	19218	Prostaglandin E receptor 3 (subtype EP3
-3,363	2,04E-32	Calb2	12308	Calbindin 2
-2,875	1,68E-18	Akap12	83397	A kinase (PRKA) anchor protein (gravin) 12
-2,265	9,71E-37	Rgs8	67792	Regulator of G-protein signaling 8
-2,108	1,49E-25	Sv2c	75209	Synaptic vesicle glycoprotein 2c
-2,083	1,18E-22	Olfm1	56177	Olfactomedine1
-2,072	1,34E-19	Wnt2	22413	wingless-type MMTV integration site family, member 2
-1,993	2,62E-30	Cartpt	27220	CART prepropeptide
-1,960	1,22E-28	C1qtnf1	56745	C1q and tumor necrosis factor related protein 1
-1,920	4,93E-17	Olfir1057	404325	Olfactory receptor 1057
-1,787	2,87E-26	Txnip	56338	Thioredoxin interacting protein
-1,751	1,28E-17	Kcnk10	72258	Potassium channel, subfamily K, member 10 (ou TREK2)
-1,734	1,13E-24	Rgs16	19734	Regulator of G-protein signaling 16
-1,709	6,00E-13	Cenpi	102920	centromere protein I
-1,692	5,61E-19	Egln3	112407	egl-9 family hypoxia-inducible factor 3 (PHD3)
-1,690	4,15E-17	Ctcf1	664799	CCCTC-binding factor (zinc finger protein)-like
-1,652	1,10E-22	Vgf	381677	VGF nerve growth factor inducible
-1,622	1,82E-17	Rad51	19361	RAD51 recombinase
-1,593	7,19E-15	Fbp2	14120	Fructose bisphosphatase 2
-1,523	1,90E-09	Cxcl10	15945	chemokine (C-X-C motif) ligand 10
-1,515	1,03E-18	Sik1	17691	Salt inducible kinase 1
-1,487	1,32E-18	Gpx3	14778	Glutathione peroxidase 3
-1,404	2,47E-11	Dapk2	13143	death-associated protein kinase 2
-1,403	3,48E-13	Figl1	60530	fidgetin-like 1
-1,403	4,29E-16	Arrdc4	66412	Arrestin domain containing 4
-1,389	1,16E-09	Cenph	26886	centromere protein H
-1,370	1,70E-14	E2f1	13555	E2F transcription factor 1
-1,367	7,37E-11	Slitrk3	386750	SLIT and NTRK-like family, member 3
-1,343	3,33E-11	Gins2	272551	GINS complex subunit 2 (Psf2 homolog)

(adjusted p value < 0,05, log FC < 0,001)

Table S4: The 23 first pathways differentially enriched in islets when sham and EGA-ob mice were compared (adjusted p value < 0,05)

ID	Description	p adjust	gene ID
GO:0009914	hormone transport	5,39E-09	Cnr1/Nnat/Acvt1c/Tpnm2/Sox4/Hmgcr/Pim3/Adora1/Gipr/Sytl4/Ccl5/Adora3/Aqp1/Tiam1/Gpr68/Arntl/Serpina7/Vgf/C1qtnf1/Cartpt/Ptger3
GO:0046879	hormone secretion	1,45E-08	Cnr1/Nnat/Acvt1c/Tpnm2/Sox4/Hmgcr/Pim3/Adora1/Gipr/Sytl4/Ccl5/Adora3/Aqp1/Tiam1/Gpr68/Arntl/Vgf/C1qtnf1/Cartpt/Ptger3
GO:0050796	regulation of insulin secretion	1,80E-08	Cnr1/Nnat/Acvt1c/Tpnm2/Sox4/Hmgcr/Pim3/Gipr/Sytl4/Ccl5/Tiam1/Gpr68/Arntl/Cartpt/Ptger3
GO:0030073	insulin secretion	1,82E-08	Cnr1/Nnat/Acvt1c/Tpnm2/Sox4/Hmgcr/Pim3/Gipr/Sytl4/Ccl5/Tiam1/Gpr68/Arntl/Vgf/Cartpt/Ptger3
GO:0030072	peptide hormone secretion	3,70E-08	Cnr1/Nnat/Acvt1c/Tpnm2/Sox4/Hmgcr/Pim3/Gipr/Sytl4/Ccl5/Aqp1/Tiam1/Gpr68/Arntl/Vgf/Cartpt/Ptger3
GO:0046883	regulation of hormone secretion	1,38E-07	Cnr1/Nnat/Acvt1c/Tpnm2/Sox4/Hmgcr/Pim3/Adora1/Gipr/Sytl4/Ccl5/Tiam1/Gpr68/Arntl/Vgf/Cartpt/Ptger3
GO:0090276	regulation of peptide hormone secretion	1,53E-07	Cnr1/Nnat/Acvt1c/Tpnm2/Sox4/Hmgcr/Pim3/Gipr/Sytl4/Ccl5/Tiam1/Gpr68/Arntl/Cartpt/Ptger3
GO:0014706	striated muscle tissue development	1,14E-06	Fos/Egr1/Nr4a1/Actn3/Cyp26b1/Rgs2/Hspg2/Hmgcr/Nr1d2/Rara/Dsg2/Tpm1/Hdac9/Ppara/Arntl/Atf3/Cdk1/Sik1/Wnt2
GO:0043434	response to peptide hormone	1,22E-06	Egr1/Reg3b/Reg2/Acvt1c/Trib3/Reg3d/Pcsk9/Nr4a1/Socs2/Pdk4/Hdac9/Enpp1/Ppara/Vgf/Pck1/Aldob
GO:0002791	regulation of peptide secretion	1,22E-06	Cnr1/Nnat/Acvt1c/Tpnm2/Sox4/Hmgcr/Pim3/Adora1/Gipr/Sytl4/Tgfb3/Ccl5/Il1r2/Tiam1/Gpr68/Arntl/Apoa2/Cartpt/Ptger3
GO:0060537	muscle tissue development	1,77E-06	Fos/Egr1/Nr4a1/Actn3/Cyp26b1/Rgs2/Hspg2/Hmgcr/Nr1d2/Rara/Dsg2/Tpm1/Hdac9/Ppara/Arntl/Atf3/Cdk1/Sik1/Wnt2
GO:1901652	response to peptide	7,58E-06	Egr1/Reg3b/Reg2/Acvt1c/Trib3/Reg3d/Pcsk9/Nr4a1/Socs2/Pdk4/Hdac9/Enpp1/Ppara/Vgf/Pck1/Aldob
GO:0050708	regulation of protein secretion	8,77E-06	Cnr1/Nnat/Acvt1c/Tpnm2/Sox4/Hmgcr/Pim3/Gipr/Sytl4/Tgfb3/Ccl5/Il1r2/Tiam1/Gpr68/Arntl/Apoa2/Cartpt/Ptger3
GO:0048871	multicellular organismal homeostasis	1,24E-05	Cnr1/Tie3/Tpnm2/Csf1/Nphpp4/Tfrc/Actn3/Cyp26b1/Pdk4/Adora1/Nr1d2/Ccl5/Aqp1/Rhd/Arntl/Ache/Cartpt/Ptger3
GO:0019216	regulation of lipid metabolic process	1,27E-05	Cnr1/Egr1/Kit/Trib3/Adora2b/Pdk4/Pcx/Adora1/Nr1d2/Rgn/Stard4/Insig1/Ppara/Apoa2/Sik1
GO:0062012	regulation of small molecule metabolic process	1,70E-05	Cnr1/Egr1/Kit/Trib3/Adora2b/Actn3/Pdk4/Rgn/Stard4/Insig1/Enpp1/Ppara/Cdk1/Sik1/C1qtnf1
GO:0019318	hexose metabolic process	4,11E-05	Actn3/Pdk4/Pcx/Rgn/Enpp1/Ppara/Atf3/Sik1/Fbp2/C1qtnf1/Pck1/Aldob
GO:0071496	cellular response to external stimulus	6,57E-05	Fos/Pcsk9/Jun/Adora2b/Tfrc/Pdk4/Aqp1/Col1a1/Klf10/Atf3/Sik1/Cartpt/Pck1
GO:0006006	glucose metabolic process	6,90E-05	Actn3/Pdk4/Pcx/Rgn/Enpp1/Ppara/Atf3/Sik1/Fbp2/C1qtnf1/Pck1
GO:0009991	response to extracellular stimulus	7,41E-05	Fos/Acvt1c/Pcsk9/Jun/Adora2b/Tfrc/Pdk4/Ppara/Klf10/Serpina7/Atf3/Sik1/Vgf/Cartpt/Pck1
GO:0009636	response to toxic substance	8,02E-05	Cnr1/Egr1/Reg3b/Tpnm2/Mt1/Nqo1/Gstm7/Rgn/Mt2/Rara/Ccl5/Aqp1/Ppara/Cdk1
GO:0015850	organic hydroxy compound transport	8,02E-05	Cnr1/Pcsk9/Adora2b/Stard4/MaoB/Sytl5/Aqp1/Apoa2/Lgals3/C1qtnf1/Cartpt/Ptger3
GO:0008202	steroid metabolic process	8,02E-05	Egr1/Dhcr24/Kit/Pcsk9/Vldlr/Hmgcs1/Adora2b/Cyp26b1/Hmgcr/Stard4/Insig1/Gc/Apoa2
GO:0005996	monosaccharide metabolic process	0,000115	Actn3/Pdk4/Pcx/Rgn/Enpp1/Ppara/Atf3/Sik1/Fbp2/C1qtnf1/Pck1/Aldob

Table S5: Non coding RNAs differentially expressed in islets of EGA-ob mice compared to Sham ob mice islets (adjusted p value < 0.05)

ID	logFC	FoldChange	P.Value	adj.P.Val
mmu-miR-184-3p	4,658951	25,26294994	7,86E-06	0,00327
mmu-miR-1927	1,376191	2,595820647	0,000433	0,027525
mmu-miR-210-3p	0,974238	1,964603258	0,000675	0,027525
mmu-miR-434-3p	0,720639	1,647911583	0,000329	0,027525
mmu-miR-27b-3p	0,684334	1,606960228	0,00068	0,027525
mmu-miR-380-3p	0,501098	1,415290409	0,000794	0,027525
mmu-miR-129-2-3p	0,492562	1,406941347	0,000487	0,027525
mmu-miR-101a-3p	0,49104	1,405457527	0,000522	0,027525
mmu-miR-487b-3p	0,413565	1,331973505	0,000724	0,027525
mmu-miR-455-5p	-0,59536	-1,51084886	0,000211	0,027525
mmu-miR-671-5p	-0,61552	-1,53211436	0,000686	0,027525
mmu-miR-152-3p	-0,66363	-1,58406668	0,000776	0,027525
mmu-miR-338-3p	0,669997	1,59106948	0,000907	0,029013
mmu-miR-203-3p	1,11937	2,172520362	0,001246	0,032108
mmu-miR-7682-3p	1,020519	2,028648584	0,001183	0,032108
mmu-miR-30c-1-3p	0,656528	1,576285043	0,001312	0,032108
mmu-miR-106b-5p	-0,51811	-1,43207539	0,001251	0,032108
mmu-miR-324-3p	0,42308	1,340787235	0,001454	0,033612
mmu-miR-3099-3p	0,529932	1,443861513	0,001565	0,034267
mmu-miR-26b-5p	0,350926	1,275379175	0,00188	0,039096
mmu-miR-6904-5p	1,619866	3,073463937	0,002336	0,042259
mmu-miR-26a-5p	0,448743	1,364850489	0,00228	0,042259
mmu-miR-30b-5p	0,350976	1,275422903	0,002336	0,042259
mmu-miR-494-3p	-0,51171	-1,42574075	0,002492	0,0432
mmu-miR-6918-5p	0,94073	1,919499868	0,003102	0,047797
mmu-miR-30e-3p	0,697844	1,622078912	0,002988	0,047797
mmu-miR-28c	0,485235	1,399814032	0,003072	0,047797

Conclusion-discussion

Avec ce travail, nous démontrons qu'il existe une signature moléculaire au sein des îlots pancréatiques de souris ob-ob de l'amélioration métabolique induite par la chirurgie bariatrique. Après l'EGA, la tolérance au glucose et l'insulinosécrétion *in-vivo* se sont améliorées de façon spectaculaire, et ce malgré la persistance d'une obésité massive. Certaines anomalies connues de la cellule bêta des souris déficientes en leptine (comme la baisse d'expression de *Glut2* (*Slc2a2*), *Trpm5*, *Trpm2* et de la protéine de jonction connexine 36 (*Gjd2*)) ainsi que l'expression de certains micro ARN insulaires indispensables au bon fonctionnement de la cellule bêta pancréatique ont également été restaurés par la chirurgie bariatrique. Par ailleurs, notre étude montre que 27 miRs et 193 gènes sont significativement modulés par l'EGA après chirurgie bariatrique. L'étude des fonctions biologiques, par l'analyse GO Term, démontre que les fonctions biologiques les plus significativement enrichies par l'EGA au sein de l'îlot sont impliquées dans la régulation de la sécrétion d'insuline.

Evolution métabolique après EGA – Importance de la leptine.

Effet de la chirurgie sur le poids, la prise alimentaire et la composition corporelle.

Nous montrons qu'il existe une dissociation entre l'effet de la chirurgie sur le poids et la prise alimentaire par rapport à l'effet sur le métabolisme glucidique. Contrairement au RYGB chez l'Homme, la procédure chirurgicale de l'EGA n'exclue pas l'estomac du circuit alimentaire, bien que le duodénum et le jéjunum proximal le soient. Le jéjunum distal est anastomosé à la grande anse de l'estomac (cf Figure 19 et Annexe 2), permettant le shunt du duodénum et du jéjunum proximal. Des données anatomiques au sacrifice (données non publiées) nous ont permis de valider que les aliments ne refluaient pas dans la boucle duodéno-jéjunale. Nous avons précédemment validé et publié que cette technique opératoire dans un modèle de souris soumises au régime gras produisait les mêmes effets métaboliques que ceux observés après le RYGB chez l'homme (210).

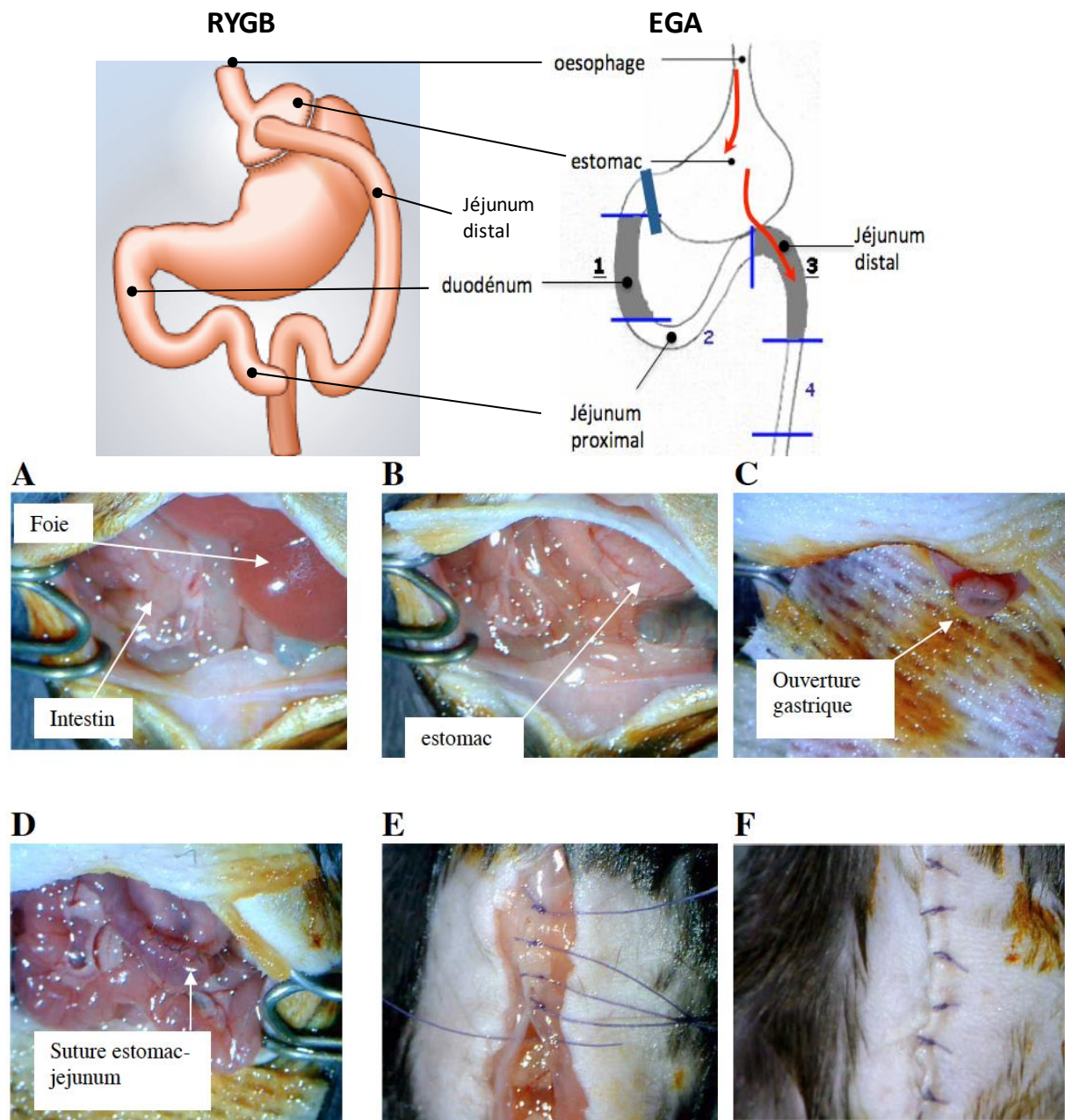


Figure 19 : Montage chirurgical de l'EGA

A : Laparotomie élargie, parois abdominales retenues par des écarteurs.

B : Le foie est protégé par des compresses, l'estomac est isolé.

C : Ouverture de 5mm de l'antré gastrique, après avoir ligaturé le pylore.

D : Après avoir ouvert le jéjunum sur 5 mm, l'estomac et le jéjunum distal sont suturés entre eux.

E : Suture de la paroi musculaire abdominale

F : Suture cutanée et fin de l'intervention.

En effet, nous démontrions au cours cette précédente étude que les rongeurs soumis au régime gras perdaient du poids de façon stable et continue après l'EGA, en lien avec une prise alimentaire significativement réduite (Figure 20). L'absence de réduction de la taille de l'estomac dans ce modèle n'empêchait donc pas une réduction drastique de la prise alimentaire et une perte de poids.

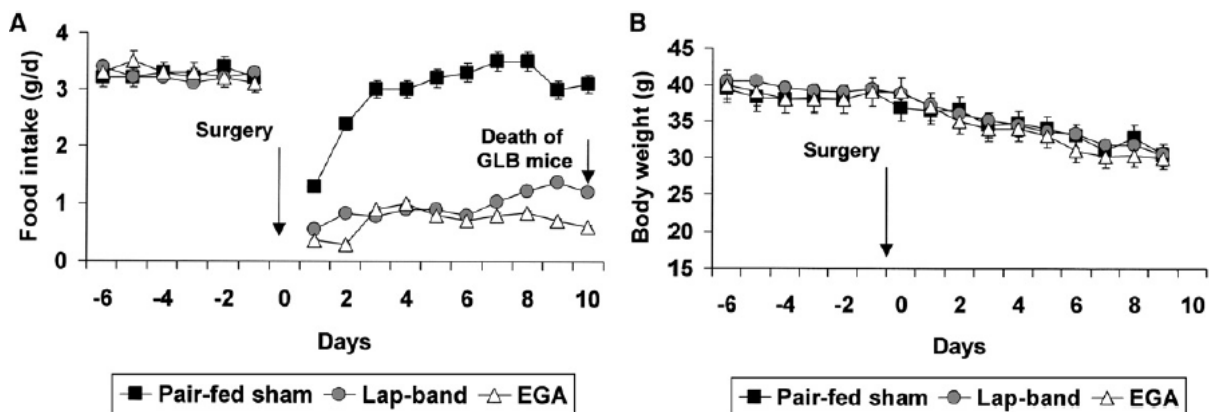


Figure 20 : Extrait de Troy et al. (210). Prise alimentaire (A) et évolution du poids (B) post EGA, anneau gastrique et contrôles (Sham) pair-fed

Les souris ob-ob, mutées pour le gène de la leptine, sont déficientes en cette hormone physiologiquement sécrétée par le tissu adipeux et ayant des fonctions satiétogènes puissantes bien reconnues (223). Chez ces animaux, l'EGA ne permet pas d'obtenir une réduction de la satiété et du poids permanentes. En effet, nous observons une baisse transitoire de la prise alimentaire et du poids dans les 2 semaines qui suivent la chirurgie bariatrique, suivie d'une re-augmentation progressive de ces 2 paramètres. Un mois après l'intervention, les animaux ont tous récupéré leur poids initial, et leur composition corporelle (masse maigre, masse grasse) ainsi que leur dépense énergétique ne diffèrent pas entre les différents groupes. Nous pouvons donc déduire de ces observations que la leptine est nécessaire aux effets de l'EGA sur la prise alimentaire et le poids.

De façon contradictoire avec nos résultats, Mokadem et al. montrent une réduction du poids 6 semaines après un RYGB chez des souris ob-ob sans amélioration de l'homéostasie glucidique,

ce qui suggère que la leptine serait nécessaire aux effets de la chirurgie bariatrique sur les niveaux glucidiques plus que sur le poids (224).

Ces résultats contrastent avec ceux obtenus par Hao et al. (225) qui ont comparé l'effet du RYGB chez la souris ob-ob et la souris C57Bl6 wild type (WT) soumise à un régime gras. De façon similaire à nos travaux, les auteurs montrent que le RYGB est capable de prévenir la reprise de poids uniquement chez les animaux nourris au régime gras et non chez les souris déficientes en leptine qui ont repris leur poids initial (majoré de 20% 8 semaines après la chirurgie). De plus, la dépense énergétique de repos, qui était augmentée après RYGB chez les animaux sous régime gras, n'était pas modifiée chez les souris ob-ob (4).

De façon intéressante, le RYGB appliqué à des souris déficientes pour le récepteur MC4R (récepteur de la mélanocortine 4 situé au niveau des noyaux ventro-médians hypothalamiques, impliqué dans la voie satiétogène induite par la leptine, cf. Figure 21) ne parvient pas non plus à induire une perte de poids et une réduction de la prise alimentaire durables (226). De plus, la dépense énergétique de repos n'augmente pas après RYGB chez ces mêmes rongeurs déficients. Ces résultats appuient nos travaux et pourraient suggérer que la leptine, dont l'action sur la dépense énergétique et la satiété passe par le récepteur MC4R est indispensable aux effets du bypass gastrique sur le poids et la composition corporelle. Cependant, afin de confirmer l'implication du récepteur MC4R dans les effets de la chirurgie bariatrique, des travaux complémentaires sont nécessaires car il n'y a que peu d'études sur ce sujet.

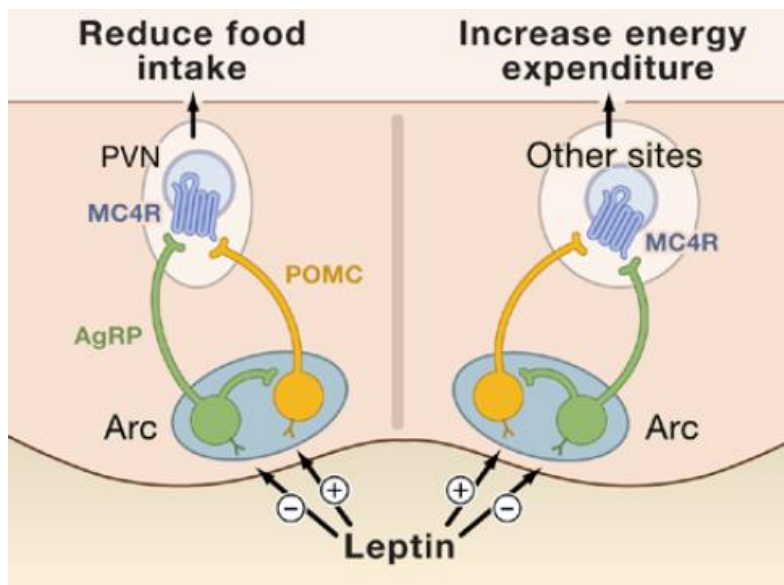


Figure 21 : Voie leptine/melanocortine dans l'hypothalamus. Extrait de Coll et al. 2007 (227)

PVN : Noyau para-ventriculaire, MC-4R : récepteur de la mélanocortine 4, AgRP : Agouti related protein, POMC : pro opio melanocortine, ARC : noyau arqué

Conséquences métaboliques de la chirurgie bariatrique chez la souris ob-ob

Au-delà de la persistance d'une obésité massive, nous constatons que la sensibilité globale à l'insuline (test de tolérance à l'insuline et indice HOMA-IR) ne s'est pas améliorée de façon significative après EGA chez les souris ob-ob. Ces résultats sont à l'inverse de ceux qui sont observés après EGA chez des souris WT soumises au régime gras (210). En effet, dans cette étude et à l'instar de l'homme, la chirurgie bariatrique induit une amélioration significative de la sensibilité à l'insuline hépatique mesurée par clamp euglycémique hyperinsulinémique, ainsi que du taux de triglycérides circulants et de la resistine (hormone produite par le tissu adipeux et augmentée en cas d'inflammation) (210) (Figure 22). Du fait de la fragilité du modèle ob-ob, nous n'avons pas réalisé de clamp euglycémique hyperinsulinémique. En effet, cette procédure nécessite une deuxième intervention avec anesthésie générale des animaux pour poser le cathéter veineux, suivi d'une héparinothérapie du cathéter quotidienne pour éviter le développement d'une thrombose veineuse. Les souris ob-ob sont très sensibles au stress, sont immunodéficientes et présentent des troubles de la thermorégulation, ce qui les rend bien plus fragiles aux interventions chirurgicales avec anesthésies itératives (228). Nous avons donc fait

le choix d'évaluer l'insulinosensibilité de manière indirecte par des tests de tolérance à l'insuline croissants (0,75ui/kg et 2 ui/kg, Figure 23) associés à l'utilisation de l'indice d'insulinorésistance HOMA-IR. De plus, l'inflammation systémique (taux circulants de TNFalpha, MCP-1, resistine, IL6) ainsi que le taux de triglycérides et d'acides gras libres circulants n'étaient pas différent entre les 2 groupes d'animaux. L'absence de perte de poids dans notre modèle peut probablement expliquer la persistance des paramètres de lipotoxicité. Une première conclusion de nos travaux est que la persistance d'une obésité, d'une inflammation systémique et d'une dyslipidémie après EGA peut expliquer l'absence d'amélioration significative de l'insulinosensibilité du modèle déficient en leptine.

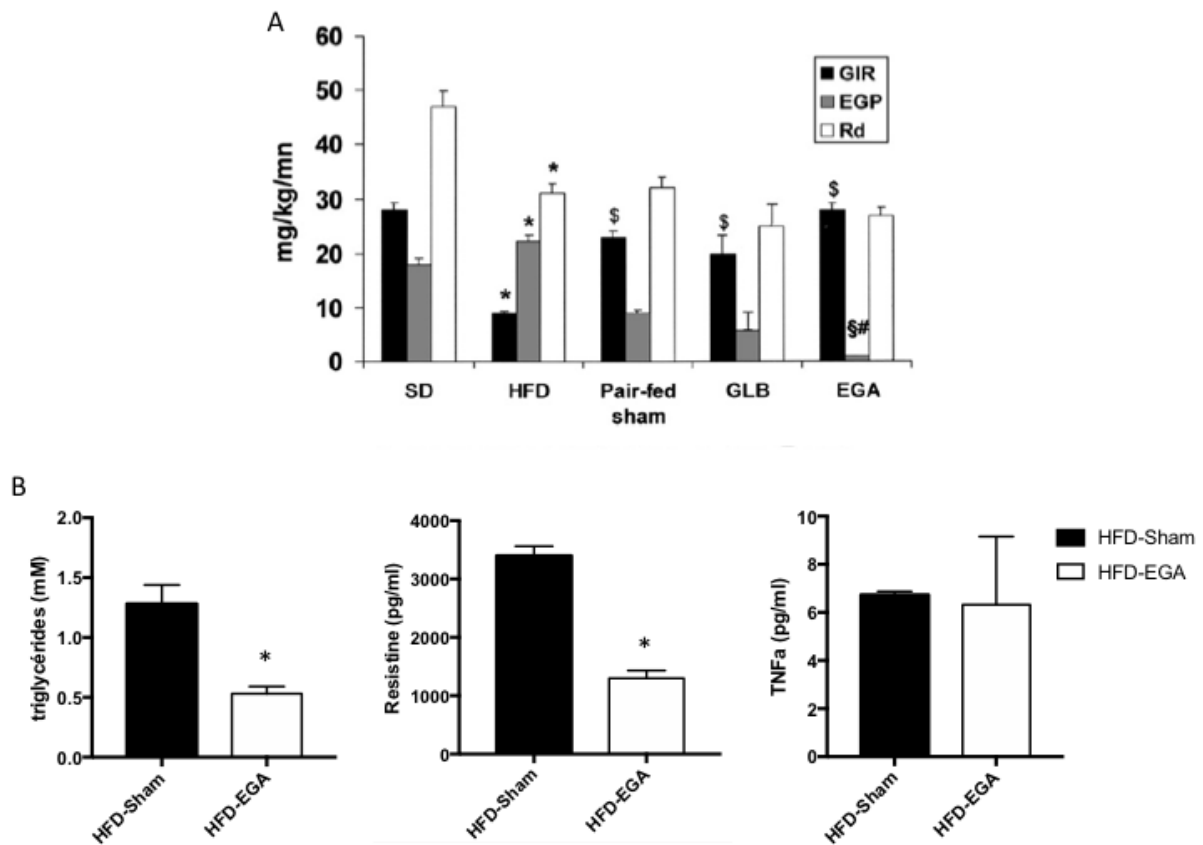


Figure 22 : Adapté de Troy et al. (210) Clamp euglycémique hyperinsulinémique (A), Taux de triglycérides, resistine et TNFalpha (B) mesurés à 10 jours post opératoire.

SD : régime normal, souris WT, HFD : souris au régime gras, GLB : anneau gastrique, GIR : glucose infusion rate = taux de glucose délivré, EGP : endogenous glucose production = production endogène du glucose (hépatique majoritairement), Rd : rate of glucose disappearance = taux de consommation de glucose par les tissus périphériques (surtout les muscles). Le GIR est augmenté après EGA ce qui signe l'amélioration de l'insulinosensibilité, l'EGP est effondrée alors que la Rd n'est pas modifiée ce qui signifie que l'effet est majoritairement hépatique et non musculaire.

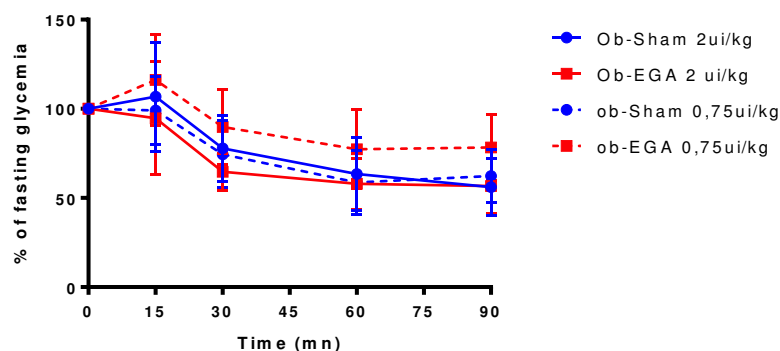


Figure 23 : Test de tolérance à l'insuline 0.75ui/kg et 2 ui/kg après EGA (en rouge) ou dans le groupe Sham (en bleu), un mois après la chirurgie.

Conséquences sur le métabolisme glucidique, in vivo, de la chirurgie bariatrique chez la souris ob-ob

Tolérance au glucose après EGA

Dans notre modèle, en dépit d'une insulino-résistance massive, de l'absence de modification de l'inflammation systémique et des paramètres de lipotoxicité, l'EGA améliore la tolérance au glucose des animaux de façon spectaculaire. Cet effet est principalement médié par une stimulation de l'insulinosécrétion. En d'autres termes, la chirurgie bariatrique appliquée aux souris ob-ob est capable de restaurer une capacité d'adaptation des cellules bêta pancréatiques au contexte métabolique défavorable persistant chez ces animaux, capacités que les cellules bêta pancréatiques n'avaient pas auparavant. Nous avons pu observer que l'excursion glycémique lors d'un test de tolérance au glucose des souris ob après chirurgie bariatrique mimait celle de souris normo tolérantes au glucose (souris WT au régime standard non hyper-lipidique). De plus, l'insulinosécrétion induite par la charge de glucose in vivo était fortement stimulée comparativement aux témoins sham. Cette réponse exacerbée permet de compenser l'insulino-résistance majeure de ces animaux et ainsi d'induire la normalisation de la tolérance au glucose.

Ceci confirme, comme ce qui avait déjà été démontré chez l'homme, que l'effet du bypass gastrique sur l'insulinosécrétion est indépendant du poids (111,229,230) et s'observe très rapidement après un RYGB (231).

Implication du GLP-1 après EGA

L'augmentation de la sécrétion d'insuline *in vivo* nous a conduit dans un premier temps à nous intéresser à l'implication des hormones incrétines dans notre modèle. Ces dernières années, le GLP-1, a été proposée par plusieurs auteurs comme candidat permettant d'expliquer en partie ou totalement l'effet de la chirurgie bariatrique sur l'insulinosécrétion (232,233). Cette hormone, de par ses fonctions insulínotropiques médiées par le glucose, est utilisée depuis maintenant une dizaine d'années comme traitement antidiabétique et a démontré son efficacité (233). Alors qu'en cas de DT2, la sécrétion endogène de cette hormone est altérée (170,234), il est maintenant bien démontré que son taux plasmatique s'élève après un RYGB ou une SG chez l'homme (111) et dans différents modèles animaux (192,196). L'élévation du taux circulant de GLP-1 post-opératoire pourrait ainsi participer à la stimulation de l'insulínosécrétion. De plus, il apparaît que le récepteur du GLP-1 soit surexprimé au sein des îlots pancréatiques dans différents modèles animaux de chirurgie bariatrique (190,193). Cependant lorsque ce dernier est invalidé totalement ou partiellement au sein des cellules bêta pancréatiques, l'effet bénéfique de la chirurgie bariatrique sur le métabolisme glucidique n'apparaît pas altéré (175–177). Au vu de ces résultats il est possible que le GLP-1 soit impliqué dans l'amélioration de la sécrétion d'insuline post chirurgie bariatrique, bien que cela ne soit le seul mécanisme en jeu. Ceci va dans le sens de ce que l'on observe dans notre modèle, puisque nous avons montré que le blocage de l'action systémique du GLP-1 par l'Exendine [9-39] amide, son agoniste compétitif, n'altère que très partiellement l'excursion glycémique de nos animaux, tout comme cela a déjà été montré chez l'homme (173,174) ou précédemment par notre équipe chez la souris soumise au régime gras (210).

De plus, il est intéressant de noter que l'insulínosécrétion des patients après une chirurgie bariatrique reste améliorée par une injection intra veineuse de glucose (IVGTT) (200,235) excluant donc un effet incrétine lors de ce test. Ces résultats évoquent, au-delà de l'implication du GLP-1, un possible changement de la fonctionnalité propre de la cellule beta pancréatique en post opératoire.

Evolution du pancréas endocrine, étude ex-vivo après chirurgie bariatrique chez la souris ob-ob

Une analyse transcriptomique des îlots des 2 groupes d'animaux ob-ob (ayant subi une EGA ou une laparotomie) et des îlots de souris WT a mis en évidence une différence d'expression de 554 gènes entre les souris EGA et le groupe Sham. Nous avons sélectionné 193 gènes (en retirant les doublons, les gènes non nommés et les gènes dont la fonction physiologique n'était pas connue). Parmi ces gènes, en comparaison aux souris WT, l'expression de 105 gènes était normalisée, 47 étaient surexprimés et 41 sous exprimés. De façon intéressante, nous constatons que la chirurgie bariatrique était capable de corriger plusieurs défauts d'expression de certains gènes clés impliqués dans la fonctionnalité de la cellule beta pancréatique dont l'expression est altérée chez la souris ob-ob.

Lipotoxicité pancréatique

Nous avons pu constater lors du test de tolérance au glucose que la sécrétion de peptide C était stimulée de façon équivalente à celle de l'insuline chez les animaux opérés d'une EGA. Cette donnée nous indique que la chirurgie dans ce modèle est capable de promouvoir le processus entier de maturation de l'insuline. Ce résultat est d'autant plus intéressant qu'il est connu que la cellule beta de la souris ob-ob, du fait de la lipotoxicité pancréatique, est sujette au stress de son réticulum endoplasmique, ce qui peut être à l'origine de la maturation incomplète de protéines (236,237). De plus, il semble que le RYGB chez l'homme améliore la lipotoxicité pancréatique des patients (238). En effet, la baisse de l'infiltration en triglycérides au niveau pancréatique observée après RYGB semble participer à l'amélioration de l'homéostasie glucidique après chirurgie bariatrique et serait principalement la conséquence des réductions calorique et pondérale concomitantes (183). Nous montrons chez les souris ob-ob, que l'infiltration immunitaire (cellules exprimant le marqueurs CD45) des îlots pancréatiques est inchangée après la chirurgie bariatrique. De plus, l'expression de certains gènes du stress du réticulum endoplasmique (*CHOP*, *Xbp1*, *Edem*, *Atf3*, *Trib3* ou de chaperone de la réponse UPR- *unfold protein response*- comme *BIP*) ainsi que celle de cytokines pro-inflammatoires (*IL1b*, *IL6*) ne sont pas modifiées par l'EGA, illustrant ainsi, la persistance d'une insulino-résistance au niveau pancréatique caractéristique de la souris ob-ob (236,237). De plus, l'expression d'*Ucp2* (uncoupling protein 2, régulateur négatif de la sécrétion d'insuline) au sein des îlots

pancréatiques, habituellement élevée chez la souris déficiente en leptine et témoin du stress oxydatif de la cellule beta (237) était similaire entre les souris opérées de l'EGA et les sham. Ces résultats témoignent de la persistance de la lipotoxicité au sein des ilots pancréatiques des 2 groupes d'animaux.

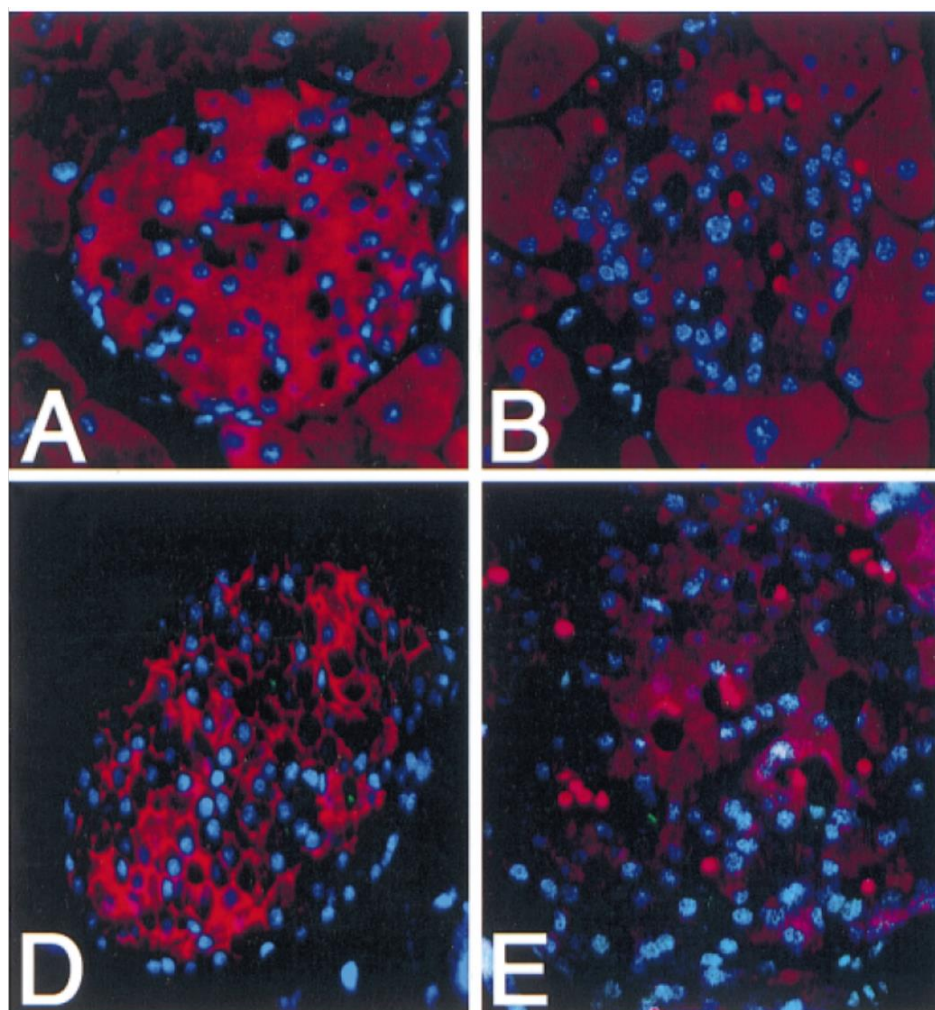
L'EGA corrige l'expression de gènes connue pour être altérée dans les ilots de souris ob-ob

Dans ce contexte métabolique défavorable du modèle ob-ob, la compensation du pancréas endocrine se traduit par une hyperplasie des ilots (239). Cependant l'insulinosécrétion, aussi élevée soit elle, n'est pas suffisante à obtenir une normoglycémie chez ces animaux. En effet, la cellule beta pancréatique de la souris ob-ob est sujette à plusieurs défauts de fonctionnalité (228) et l'EGA semble en corriger certains.

Nous avons pu observer que l'EGA appliquée aux souris ob-ob, corrige l'expression de certains gènes insulaires (*Trpm5*, *Trpm2*, GLUT2 (*Scl2a2*), Connexin 36 (*Gjd2*), Glucokinase (*Gck*)) dont l'expression altérée est responsable de défauts fonctionnels chez la souris ob-ob. En effet, les expressions géniques du transporteur de glucose GLUT2 et de la glucokinase (enzyme clé de la glycolyse, considérée comme le senseur de glucose de la cellule beta pancréatique (240)) sont abaissées chez les souris ob-ob (221) (Figure 24) mais augmentent significativement après EGA.

GLUT 2 en rouge

Marquage des noyaux
par Hoechst en bleu



GLUCOKINASE en
rouge

Marquage des noyaux
par Hoechst en bleu

Figure 24 : Coupes histologiques pancréatiques comparant les ilots de souris minces (WT) (A et D) et de souris ob-ob (B et E). C : intensité moyenne du marquage insuline. Extrait de Jetton et al. (221)

Plusieurs canaux ioniques perméables aux cations de la famille des TRP (transient receptor potential) sont présents dans la cellule beta pancréatique (Figure 25) et ont un rôle régulateur de la sécrétion d'insuline (241). Parmi eux, le TRPM2, canal ionique non sélectif, perméable au calcium, contribue à la sécrétion d'insuline induite par le glucose et les incrétines (242). Quant au TRPM5, canal ionique non sélectif monovalent, lorsque son expression est invalidée chez les rongeurs, l'insulinosécrétion induite par le glucose est altérée sans modification de l'insulinosensibilité (243). De plus, les cellules bêta de ces animaux délétés pour ce gène ont un ralentissement de la dépolarisation membranaire induite par l'entrée du glucose ainsi que des oscillations calciques intra cellulaires (243). Il a été montré que l'expression de ce gène est

The diagram illustrates a cell membrane with various ion channels and transporters. The channels shown are TRPV1-5, TRPM1-5, and TRPV2. TRPA1 is activated by Cinnamaldehyde, AITC, and Allicin. TRPC1 is activated by Ca^{2+} . TRPM2 is activated by Ca^{2+} and ADPR/H₂O₂. TRPM3 is activated by Ca^{2+} and Zn^{2+} . TRPM4 is activated by Na^{+} . TRPM5 is activated by Na^{+} . TRPV2 is activated by Ca^{2+} . GLUT2 is a glucose transporter. GLP1R is a G-protein coupled receptor. KATP is an ATP-gated K⁺ channel. VDC is a voltage-dependent Ca²⁺ channel. Insulin is shown as a hormone. The diagram illustrates the complex signaling pathways involving these channels and transporters.

De façon intéressante, nous observons une corrélation entre l'expression de ces gènes clés (*Trpm5*, *Trpm2*, GLUT2 (*Scl2a2*) et Connexin 36 (*Gjd2*)) et la sécrétion d'insuline induite par le glucose in vivo et issue d'ilots isolés pour *Trpm5* et GLUT2 (*Scl2a2*). La correction de ces

anomalies cellulaires pourrait expliquer en partie l'amélioration de sécrétion d'insuline observée in vivo après la chirurgie bariatrique.

Par ailleurs, nous retrouvons parmi les gènes les plus régulés par la chirurgie bariatrique, une augmentation d'expression des gènes de la famille *Reg* (*Reg2*, *Reg3d*, *Reg3b*) impliqués dans la compensation et la survie des ilots en condition lipotoxique (244–246), ainsi que de *Pcsk9*, gène codant pour une enzyme clé du métabolisme du cholestérol (PCSK9 : proprotéine convertase subtilisine/kexine de type 9). PCSK9 aurait un rôle protecteur de l'accumulation de cholestérol et dans la préservation de l'insulinosécrétion de l'îlot pancréatique d'après l'étude phénotypique du modèle de souris invalidées pour ce gène (247). Enfin, *AldobB*, gène dont l'expression est la plus réduite par l'EGA (parmi notre sélection de 193 gènes) est connu pour avoir un effet délétère sur la sécrétion d'insuline. En effet, son expression est corrélée négativement à la sécrétion d'insuline induite par le glucose (GSIS) d'ilots pancréatiques humains (248) et la réduction de son expression dans les ilots de souris induit une baisse du GSIS et de la production d'ATP (249).

Ainsi, on peut voir que l'EGA modifie l'expression de certains gènes clés de la fonctionnalité beta pancréatique comme les gènes impliqués dans le métabolisme du glucose de la cellule beta (GLUT2 et Glucokinase) mais également de certains canaux ioniques (TRPM5 et TRPM2) importants dans le maintien d'un équilibre ionique (dont le calcium) nécessaire à la sécrétion insulinaire, du gène *AldobB* impliqué dans le métabolisme oxydatif de la cellule beta mais encore du gène de certaines protéines de jonction cellulaire comme la connexine 36 nécessaire à la synchronisation cellulaire. Afin de confirmer le rôle de ces gènes clés, des études complémentaires sont nécessaires à savoir la mesure des flux calciques des ilots ainsi que la production d'ATP mais également l'étude de la connectivité cellulaire au sein des ilots des différents groupes. Il serait aussi intéressant (nous projetons de réaliser ce projet par la suite également) de d'évaluer l'effet de l'EGA chez des animaux déficients pour le gène *trpm5* afin de confirmer que la délétion de ce gène induit une perte des effets bénéfiques de la chirurgie bariatrique sur le métabolisme glucidique.

Contenu en insuline des ilots et sécrétion induite par le glucose ex vivo

Nous démontrons que les ilots pancréatiques se rechargent en insuline après la chirurgie bariatrique, comme en témoignent le marquage insuline des ilots sur les coupes histologiques du pancréas plus intense ainsi que l'augmentation significative du contenu en insuline des ilots.

De plus, nous constatons que le contenu en insuline des ilots pancréatiques est corrélé avec l'expression des gènes *Trpm2* et *Trpm5* après la chirurgie, témoignant une nouvelle fois de l'importance de ces gènes dans la fonctionnalité beta cellulaire. Il est connu chez la souris ob-ob, en dépit de la présence de larges ilots pancréatiques (239) majoritairement composés de cellules bêta (213), que l'intensité du marquage insuline au sein d'un îlot est proportionnellement plus faible que dans un îlot d'un animal WT (221,250) (Figure 26).

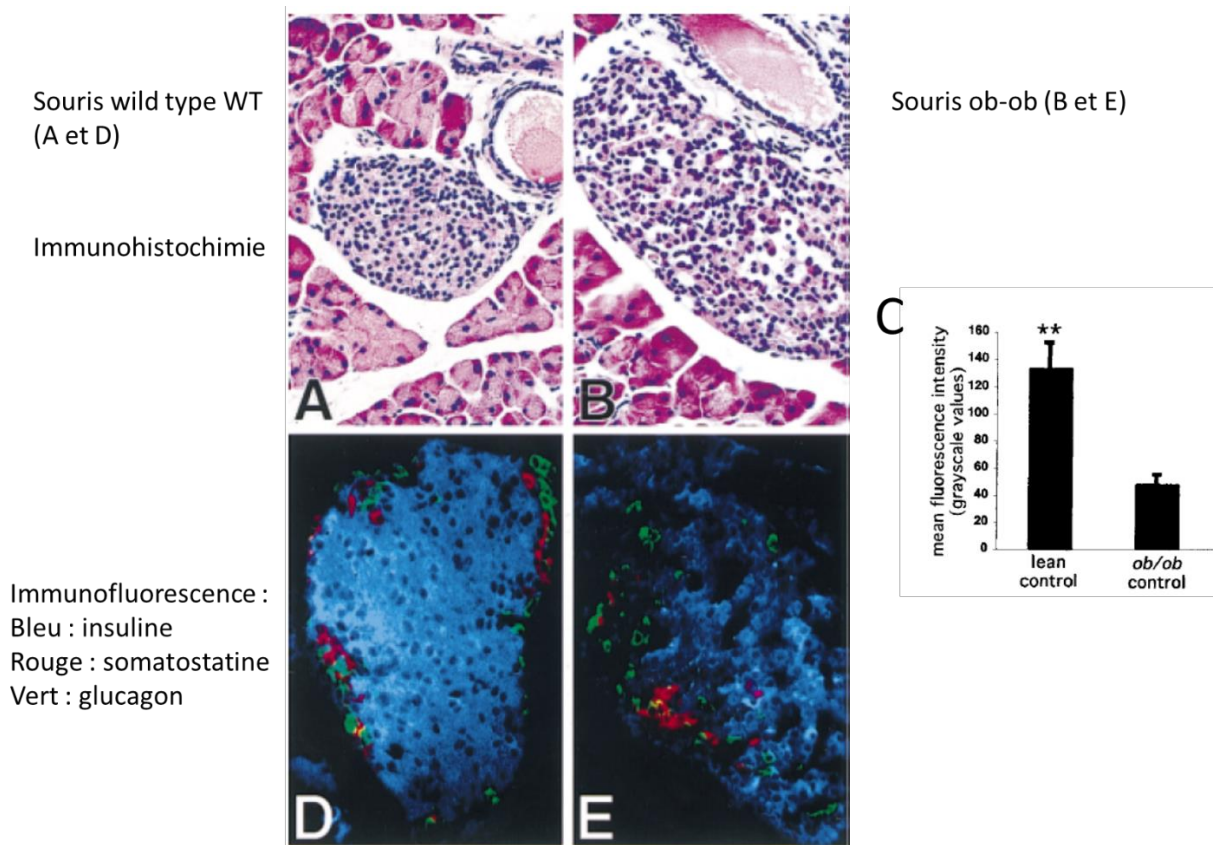


Figure 26 : Coupes histologiques pancréatiques comparant les ilots de souris minces (WT) (A et D) et de souris ob-ob (B et E). C : intensité moyenne du marquage insuline. Extrait de Jetton et al. (221)

En revanche, l'impact de la chirurgie bariatrique sur le contenu en insuline des îlots ne semble pas clairement établi, des résultats opposés ayant été publiés. En effet, certains auteurs retrouvent un contenu en insuline après SG chez des souris soumises à un régime gras inchangé à 2 semaines (198) et réduit à 5 semaines de suivi (177) ; et d'autres montrent une élévation du contenu en insuline insulaire dans un modèle de RYGB (189) ou de transposition iléale chez le rat (203).

Dans notre travail, l'augmentation du contenu pancréatique en insuline chez les souris ob-ob après chirurgie EGA démontre la capacité des îlots à modifier favorablement la balance synthèse/utilisation de l'insuline.

Nous avons testé l'hypothèse que l'augmentation du contenu pancréatique en insuline après la chirurgie pourrait être la conséquence d'une correction du phénomène de dédifférenciation beta cellulaire, qui fait partie des mécanismes pathogéniques du DT2 (56). L'expression de certains gènes clés de l'identité beta cellulaire mesurée par qPCR (*Mafa*, *SlcA030*), n'était pas modifiée par la chirurgie bariatrique dans notre modèle. De plus, l'étude du microarray montre que d'autres gènes de l'identité beta cellulaire (*Pdx1*, *Foxo 1*, *Pax6*, *Nkx6-1*) ne sont pas modifiés par l'EGA (cf Tableau 4). Il semble donc peu probable que l'élévation du contenu en insuline des îlots pancréatiques soit secondaire à une meilleure différenciation de cellules bêta pancréatiques.

Tableau 4 : Expression génique (microarray) au sein des îlots pancréatiques de gènes de l'identité beta cellulaire en comparant les souris contrôles Sham aux animaux après EGA

GeneSymbol	logFC	PValue	FDR
Pdx1	0,059	0,728	0,895
Foxo1	-0,437	0,015	0,105
Pax6	-0,446	0,022	0,137
Nkx6-1	-0,316	0,071	0,285

Bien que la différenciation ne soit pas affectée, une augmentation de la proportion beta cellulaire intra îlot pourrait expliquer l'augmentation du contenu pancréatique en insuline. Cependant, l'absence de changement du marquage par Ki67 des cellules bêta pancréatiques après EGA suggèrent également l'absence d'une prolifération cellulaire.

Par ailleurs, l'expression du gène de l'insuline (*Ins1 et Ins 2*, mesure confirmée par qPCR) n'est pas modifiée non plus par la chirurgie bariatrique dans notre modèle.

En revanche, nous avons observé, une baisse de l'hypersécrétion d'insuline en condition de bas glucose dans les îlots isolés après EGA. En effet, il est connu que la cellule beta pancréatique de la souris ob-ob a un seuil de stimulation par le glucose très faible, et a la capacité de sécréter de l'insuline même en condition de très bas glucose (<1 mmol/l) (214). De plus, les analyses morphologiques histologiques et microscopiques décrivent les îlots de souris ob-ob comme étant dégranulés (213). Ceci est associé à un marquage en insuline moins intense chez les souris ob-ob en comparaison aux animaux C57Bl6 WT (250) (Figure 27) suggérant que les cellules bêta pancréatiques des souris ob-ob ont une augmentation permanente de l'exocytose des granules d'insuline, provoquant ainsi une hyperinsulinémie (216). L'hypersensibilité au bas glucose des îlots de souris ob-ob est aussi expliquée par une réponse calcique exacerbée ex vivo lors de concentration basse (2.8 mM) ou modérée (5.6 mM et 8 mM) de glucose et n'est pas observée en conditions de haut glucose (16 mM) (216). L'ensemble des données suggère que la sécrétion d'insuline induite par le glucose, est augmentée et ce dès les basses concentrations de glucose chez la souris ob-ob. Cette hypersécrétion d'insuline à bas glucose est à l'origine d'une dégranulation excessive des vésicules d'insuline et d'un contenu en insuline relatif plus faible, ce qui contraste avec une hyperplasie de ces îlots.

Ainsi, dans notre modèle, après chirurgie bariatrique, la réduction de l'hypersensibilité aux concentrations basses de glucose des îlots pancréatiques des souris ob-ob, pourrait autoriser la cellule bêta à se recharger en insuline, comme illustré par l'augmentation du contenu en insuline des îlots et le marquage en insuline sur les coupes histologiques plus intense après EGA.

Morphologie des îlots après EGA

Nous avons étudié la morphologie des îlots pancréatiques dans notre modèle par 2 différentes techniques (étude histologique avec immunohistochimie et étude de proportions cellulaires par cytométrie en flux). Nos résultats ne nous permettent pas d'observer de changement dans la

taille ni dans le nombre des îlots pancréatiques après EGA. De plus, concernant les cellules bêta pancréatiques, outre l'absence de modification des paramètres de prolifération cellulaire (cellules exprimant le Ki67), ces dernières ne présentent pas de différence de taille après l'EGA (cf Figure 27A).

Cependant, nous observons une augmentation de la proportion des cellules alpha au sein des îlots comme cela a déjà été décrit (178). En revanche, ni les marqueurs de prolifération de la cellule alpha (cellules exprimant le Ki67-Figure 27B), ni les taux circulants de glucagon dans notre modèle n'étaient significativement différents entre les 2 groupes, bien qu'il y ait une tendance à un taux circulant de glucagon plus élevé à jeun après EGA.

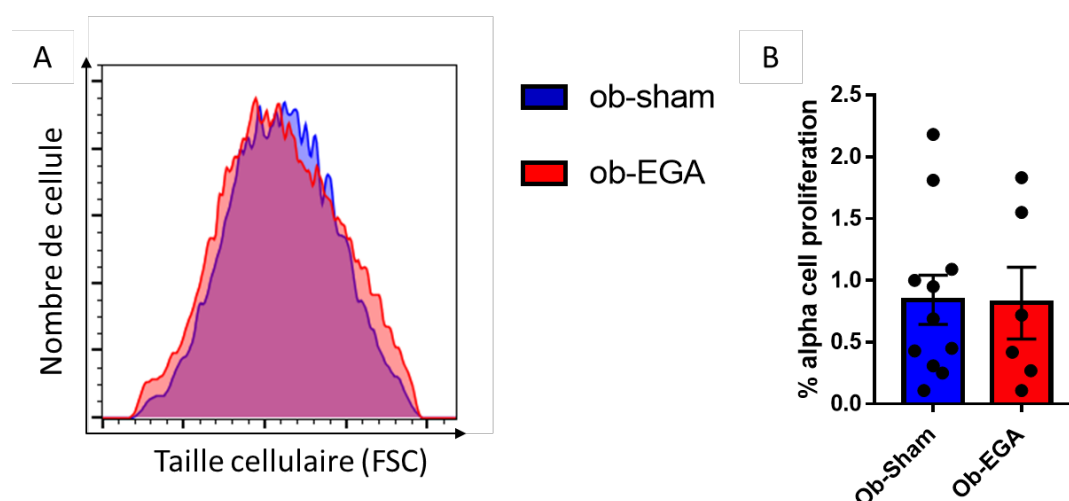


Figure 27 : Taille des cellules bêta (A) et prolifération des cellules alpha (% des cellules alpha exprimant le Ki67) (B) 1 mois après chirurgie Sham ou EGA chez les souris ob-ob. Analyse de cytométrie en flux. Données non publiées.

Ces résultats nous amènent à penser, puisque le contenu en insuline est augmenté au sein des îlots pancréatiques, sans modification de l'expression du gène de l'insuline ni du nombre ou de la taille des cellules bêta pancréatique, que l'effet de l'EGA sur la sécrétion d'insuline est un effet post transcriptionnel.

Les microARN sont de puissants modulateurs de l'expression des gènes particulièrement importants pour le fonctionnement de la cellule beta pancréatique (126,132). Nous avons donc mesuré leur expression au sein des ilots pancréatiques après EGA ainsi que chez les animaux contrôles.

Expression des micro ARN dans les ilots pancréatiques après EGA

L'expression des miRs intra- ilots pancréatiques n'a jamais été évaluée après la chirurgie bariatrique. Quelques auteurs se sont intéressés à l'expression des miRs circulants, chez l'homme principalement, dans le but de retrouver des biomarqueurs de la rémission du diabète ou de la perte de poids induite par la chirurgie bariatrique (161–168). Ces études sont difficilement comparables du fait de l'hétérogénéité de la cohorte sélectionnée et du protocole expérimental de l'étude. Dans un contexte de DT2, l'expression de certains miRs peut être dérégulée (dans le sang mais surtout au sein des ilots pancréatiques) et pourrait être à l'origine de certains défauts de fonctionnalité de la cellule beta pancréatique (126,132).

Dans notre étude, l'EGA est capable de moduler significativement l'expression de 27 miRs sur 417 au niveau des ilots pancréatiques. Parmi eux, 15 n'ont pas de rôle connu dans la fonctionnalité beta pancréatique et n'ont jamais été décrits dans les études s'intéressant aux effets de la chirurgie bariatrique sur l'expression des miRs circulants. Il s'agit de miR-28c, miR-30c-1-3p, miR-30e-3p, miR-129-2-3p, miR-324-3p, miR-380-3p, miR-487b-3p, miR-1927, miR-3099-3p, miR-6904-5p, miR-6918-5p, miR-7682-3 dont l'expression est augmentée par la chirurgie bariatrique et de miR-455-5p, miR-494-3p, miR-671-5p dont l'expression est diminuée.

En ce qui concerne les 12 miRs dont la fonction beta cellulaire est déjà connue, certains sont sous exprimés en cas de diabète (miR-26a-5p, miR-26b-5p, miR-27b-5p, miR-434-3p dans le sang et miR-203-3p, miR-210-3p, miR-338-3p, miR-184-3p dans les ilots pancréatiques) (139,143,251,252) et d'autres sont surexprimés dans cette pathologie (miR-30b-5p, miR-101a-3p, miR-106b-5p et miR-152-3p au niveau des ilots pancréatiques) (141,142,147). **Nous décrivons pour la première fois, l'effet de la chirurgie bariatrique sur l'expression des miRs au niveau des ilots pancréatiques.** Nous pouvons constater que parmi les 8 miRs dont l'expression est dérégulée dans la condition diabétique au sein des ilots pancréatiques, l'EGA

modifiait favorablement le niveau d'expression de 6 d'entre eux (miR-203-3p, miR-210-3p, miR-338-3p, miR-184-3p sous-exprimés en cas de diabète étaient surexprimés après EGA (en comparaison aux animaux sham) et miR-106b-5p et miR-152-3p qui sont surexprimés en cas de diabète étaient rendus sous-exprimés après EGA).

Seuls les miR 30b-5p et 101a-3p n'avaient pas leur expression corrigée par la chirurgie bariatrique (habituellement sur exprimés dans les ilots de patients diabétiques, leur expression reste surexprimée après EGA en comparaison aux témoins). Il est important de souligner que ces 2 derniers miRs sont surexprimés en présence de la cytokine proinflammatoire IL1b dans la lignée de cellules bêta MIN6 (142). La surexpression de ces 2 miRs induit une baisse de la sécrétion stimulée par le glucose in vitro et une augmentation de l'apoptose dans cette lignée cellulaire. Nous avons souligné précédemment que la lipotoxicité au sein des ilots pancréatiques des souris ob-ob après chirurgie bariatrique n'était pas améliorée. Nous observons notamment une persistance d'expression des cytokines pro-inflammatoire IL6 et IL1b, ce qui peut expliquer que l'expression des miR 30b-5p et 101a-3p ne soit pas améliorée par la chirurgie bariatrique. Par ailleurs, le miR-152-3p dont l'expression insulaire est significativement réduite par la chirurgie bariatrique est connu pour être surexprimé dans les ilots de patients diabétiques (147). En outre, sa surexpression in vitro dans une lignée cellulaire beta, altère l'expression du gène de la glucokinase et la production d'ATP intra cellulaire (147). L'expression du gène de la glucokinase est positivement régulée par l'EGA dans notre étude et le miR-152-3p est significativement sousexprimé dans les ilots. Ces données suggèrent que la modulation d'expression du miR-152-3p après EGA pourrait participer à l'expression différentielle de la glucokinase observée après chirurgie bariatrique. Afin de confirmer cet effet dans le modèle ob-ob, il serait intéressant de moduler l'expression de ce miR (surexpression et inhibition d'expression) au sein d'ilots de souris ob-ob et d'analyser l'expression génique et particulièrement de la glucokinase, de ces ilots à la suite.

Des analyses complémentaires

de qPCR, nous ont permis de voir que l'expression de certains miRs insulaires (miR-184-3p, miR-203-3p, miR-106b-5p), après la chirurgie bariatrique, était restaurée à un niveau d'expression proche de celui observé chez les animaux WT.

Enfin, nous avons analysé l'interaction entre la régulation d'expression des miRs et des 193 gènes d'intérêts modifiés par l'EGA par une analyse en réseau. Nous pouvons constater que les miRs 324-3p, 380-3p, 671-5p, 1927, 6904-5p, 6918-5p et 7682-3p régulent plus de 20 gènes

d'intérêts, bien que leur fonction beta cellulaire ne soit pas actuellement connue suggérant pour la première fois leur participation à l'amélioration du diabète après chirurgie bariatrique.

Fonctions biologiques enrichies par l'EGA dans les ilots pancréatiques, analyse Go Term

Nous avons réalisé une analyse transcriptomique des ilots pancréatiques après chirurgie sham et EGA. Nous avons étudié l'enrichissement des différentes fonctions biologiques (étude GO Term) de 193 gènes sélectionnés, significativement régulés par l'EGA. Dix parmi les 15 premières fonctions biologiques enrichies après EGA concernent la régulation de la sécrétion d'insuline. La fonction biologique la plus enrichie selon l'analyse Go Term regroupe 21 gènes et s'intitule « Hormone transport » GO : 0009914 (*Cnr1/Nnat/Acvr1c/Trpm2/Sox4/Hmgcr/Pim3/Adora1/Gipr/Sytl4/Ccl5/Adora3/Aqp1/Tiam1/Gpr68/Arntl/Serpina7/Vgf/C1qtnf1/Cartpt/Ptger3*). Comme nous l'avons détaillé dans notre article, un grand nombre de ces gènes a un rôle connu dans la sécrétion d'insuline. Entre autres, nous notons le *Trpm2* déjà cité ci-dessus et le récepteur du GIP (*Gipr*). Cependant, contrairement à d'autres auteurs (190,193), nous ne retrouvons pas de modification d'expression du récepteur du GLP-1 dans les ilots de nos animaux opérés de l'EGA. Par ailleurs, nous observons, dans les ilots pancréatiques de souris ob-ob après EGA une régulation de l'expression de plusieurs aquaporines. En effet, le gène de l'aquaporine 1 (*Aqp1*) qui enrichit la fonction biologique « Hormone transport » GO : 0009914 est sous exprimé après bypass, en revanche, sa fonction au sein du pancréas endocrine n'est pas connue à l'heure actuelle. De plus, outre l'*Aqp 1*, l'EGA augmente significativement l'expression du gène de l'*Aqp 12* ($p < 0,05$) mais pas celui de l'*Aqp 7*. Il a récemment été montré que la sleeve gastrectomie était capable de restaurer l'expression de l'aquaporine 7 et 12 dans des modèles de rats obèses (194). Les auteurs suggèrent dans ce papier, en se basant sur les données phénotypiques des modèles animaux déficients en aquaporine 7 (253) ou 12 (254), que la correction d'expression de ces aquaporines après sleeve gastrectomie pourrait rendre compte de l'amélioration de la fonction pancréatique (insulinosécrétion) et de la réduction de la stéatose pancréatique observée dans leur modèle. La différence de régulation de l'expression des gènes *Aqp 7* et *12* dans notre modèle peut probablement s'expliquer par l'absence d'amélioration de la lipotoxicité au sein des ilots pancréatiques chez les souris ob. Il semble donc que cette famille, dont les rôles restent encore à définir au sein des ilots pancréatiques pour certains canaux, soit

en partie régulée par la chirurgie bariatrique. Par ailleurs, la fonction biologique « développement du muscle strié » GO : 0014706 (*Fos/Egr1/Nr4a1/Actn3/Cyp26b1/Rgs2/Hspg2/Hmgcr/Nr1d2/Rara/Dsg2/Tpm1/Hdac9/Ppara/Arntl/Atf3/Cdk1/Sik1/Wnt2*) fait également partie des fonctions les plus régulées par l'EGA.

L'ensemble des fonctions biologiques concernant le muscle strié que nous avons regroupées sous le terme métabolisme musculaire (figure 4 E du papier) constitue 13% des fonctions régulées par l'EGA. De façon intéressante, les 19 gènes constituant la voie biologique « développement du muscle strié » ont, pour la majorité, un rôle dans la régulation de la sécrétion d'insuline (détaillé dans notre article).

Nous constatons également que 9% des fonctions biologiques significativement enrichies après EGA concernent la régulation du calcium et le métabolisme des lipides.

Enfin, seules 2 études ont réalisé une analyse transcriptomique des ilots après chirurgie bariatrique. Il s'agissait de 2 modèles animaux différents : dans l'étude de Douros et al. (198), l'analyse transcriptomique des ilots se déroulait 2 semaines après sleeve gastrectomie chez des souris WT soumises au régime gras, tandis que Yu et al. (209) utilisaient un modèle de RYGB chez des rats diabétiques (Goto-Kakizaki), suivis pendant 4 semaines. Dans les 2 études, tout comme dans nos travaux, le profil d'expression génique était modifié par la chirurgie bariatrique. La signalisation calcique était une voie métabolique régulée dans les 2 études, confirmée par une augmentation des flux calciques intra cellulaires (198,209).

L'ensemble des données moléculaires montrent que l'EGA induit un changement de plusieurs fonctions biologiques au sein des ilots pancréatiques dont la tendance est de se rapprocher des fonctions physiologiques.

Conclusion

Avec notre étude, nous démontrons que la chirurgie bariatrique est capable de restaurer une insulinosécrétion pancréatique adaptée à un contexte métabolique défavorable (obésité massive, insulino-résistance et inflammation systémique persistants) au sein d'un modèle particulier d'obésité, de résistance à l'insuline et de tolérance au glucose massives. Nous assistons à une réelle dissociation poids/fonctionnalité beta cellulaire, cas rare, alors que la majorité des études humaines et animales sont réalisées dans des conditions de perte de poids drastique, ce qui est un facteur confondant majeur. Nous montrons pour la première fois que l'expression de plusieurs miRs insulaires est restaurée par la chirurgie bariatrique. De plus, le changement d'expression génique observé après chirurgie bariatrique, porte principalement sur la régulation de la sécrétion d'insuline et est en lien avec certains miRs différenciellement exprimés.

Bibliographie

1. Mathers CD, Loncar D. Projections of Global Mortality and Burden of Disease from 2002 to 2030. Samet J, editor. PLoS Med. 2006 Nov 28;3(11):e442.
2. Mandereau-Bruno L, F-ES. Prévalence du diabète traité pharmacologiquement (tous types) en France en 2015. Disparités territoriales et socio-économiques. Bull Epidemiol Hebd. 2017;(27-28):586-91. Available from:
<http://invs.santepubliquefrance.fr//beh/2015/34-35/index.html>
3. Association AD. Economic Costs of Diabetes in the U.S. in 2017. Diabetes Care. 2018 Mar 21;dc180007.
4. Institut de veille sanitaire [Internet]. [cited 2012 May 19]. Available from:
<http://www.invs.sante.fr/surveillance/diabete/default.htm>
5. ENTRED-Institut de veille sanitaire [Internet]. [cited 2012 May 19]. Available from:
<http://www.invs.sante.fr/surveillance/diabete/default.htm>
6. world health organization. global report on diabetes. Available from:
<https://www.who.int/diabetes/global-report/en/>
7. Haute Autorité de Santé - ALD n°8 - Diabète de type 2 [Internet]. [cited 2012 Jun 2]. Available from: http://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_419389/ald-n8-diabete-de-type-2
8. American Diabetes Association. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: *Standards of Medical Care in Diabetes—2018*. Diabetes Care. 2018 Jan;41(Supplement 1):S13–27.
9. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Lancet. 1998 Sep 12;352(9131):837–53.
10. Effect of intensive blood-glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Lancet. 1998 Sep 12;352(9131):854–65.

11. Stratton IM, Adler AI, Neil HA, Matthews DR, Manley SE, Cull CA, et al. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BMJ*. 2000 Aug 12;321(7258):405–12.
12. Fosse-Edorh S, Mandereau-Bruno L, Fosse-Edorh, Regnault N. Le poids des complications liées au diabète en France en 2013. Synthèse et perspectives. *Bull Epidemiol Hebd* 2015;(34-35):619-25.
13. Kopelman PG. Obesity as a medical problem. *Nature*. 2000 Apr 6;404(6778):635–43.
14. Sturm R, Hattori A. Morbid obesity rates continue to rise rapidly in the United States. *Int J Obes* 2005. 2013 Jun;37(6):889–91.
15. WHO. World health organization. Obesity : preventing and managing the global epidemic . Report of the WHO consultation on obesity. Geneva 1997. 1998.
16. obepi_2012.pdf [Internet]. [cited 2019 Mar 15]. Available from: http://www.roche.fr/content/dam/roche_france/fr_FR/doc/obepi_2012.pdf
17. Enquête nationale ObEpi-Roche 2009 [Internet]. Available from: http://www.roche.fr/portal/roche-fr/obepi_
18. Gelber RP, Gaziano JM, Orav EJ, Manson JE, Buring JE, Kurth T. Measures of Obesity and Cardiovascular Risk Among Men and Women. *J Am Coll Cardiol*. 2008 Aug;52(8):605–15.
19. Logue J, Murray HM, Welsh P, Shepherd J, Packard C, Macfarlane P, et al. Obesity is associated with fatal coronary heart disease independently of traditional risk factors and deprivation. *Heart Br Card Soc*. 2011 Apr;97(7):564–8.
20. Xu H, Cupples LA, Stokes A, Liu C-T. Association of Obesity With Mortality Over 24 Years of Weight History: Findings From the Framingham Heart Study. *JAMA Netw Open*. 2018 Nov 2;1(7):e184587.
21. Nguyen NT, Magno CP, Lane KT, Hinojosa MW, Lane JS. Association of hypertension, diabetes, dyslipidemia, and metabolic syndrome with obesity: findings from the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999 to 2004. *J Am Coll Surg*. 2008 Dec;207(6):928–34.

22. Tremmel M, Gerdtham U-G, Nilsson PM, Saha S. Economic Burden of Obesity: A Systematic Literature Review. *Int J Environ Res Public Health* [Internet]. 2017 Apr [cited 2019 Mar 15];14(4). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5409636/>
23. Wolf AM, Colditz GA. The cost of obesity: the US perspective. *Pharmacoeconomics*. 1994;5(Suppl 1):34–7.
24. Cersosimo E, Triplitt C, Solis-Herrera C, Mandarino LJ, DeFronzo RA. Pathogenesis of Type 2 Diabetes Mellitus. In: Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, Chrousos G, Dungan K, Grossman A, et al., editors. *Endotext* [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000 [cited 2019 Mar 21]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279115/>
25. Capeau J. [Insulin signaling: mechanisms altered in insulin resistance]. *Médecine Sci MS*. 2003 Sep;19(8–9):834–9.
26. Groop LC, Bonadonna RC, DelPrato S, Ratheiser K, Zyck K, Ferrannini E, et al. Glucose and free fatty acid metabolism in non-insulin-dependent diabetes mellitus. Evidence for multiple sites of insulin resistance. *J Clin Invest*. 1989 Jul;84(1):205–13.
27. Utriainen T, Takala T, Luotolahti M, Rönnemaa T, Laine H, Ruotsalainen U, et al. Insulin resistance characterizes glucose uptake in skeletal muscle but not in the heart in NIDDM. *Diabetologia*. 1998 May;41(5):555–9.
28. Engin AB. Adipocyte-Macrophage Cross-Talk in Obesity. *Adv Exp Med Biol*. 2017;960:327–43.
29. Pedersen HK, Gudmundsdottir V, Nielsen HB, Hyötylainen T, Nielsen T, Jensen BAH, et al. Human gut microbes impact host serum metabolome and insulin sensitivity. *Nature*. 2016 Jul;535(7612):376–81.
30. Vrieze A, Nood EV, Holleman F, Salojärvi J, Kootte RS, Bartelsman JFWM, et al. Transfer of Intestinal Microbiota From Lean Donors Increases Insulin Sensitivity in Individuals With Metabolic Syndrome. *Gastroenterology*. 2012 Oct 1;143(4):913–916.e7.

31. Cani PD, Amar J, Iglesias MA, Poggi M, Knauf C, Bastelica D, et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes*. 2007 Jul;56(7):1761–72.
32. Magnan C, Ktorza A. Production et sécrétion de l'insuline par la cellule β pancréatique. *EMC - Endocrinol*. 2005 Dec 1;2(4):241–64.
33. Rutter GA, Pullen TJ, Hodson DJ, Martinez-Sanchez A. Pancreatic β -cell identity, glucose sensing and the control of insulin secretion. *Biochem J*. 2015 Mar 1;466(2):203–18.
34. Newsholme P, Cruzat V, Arfuso F, Keane K. Nutrient regulation of insulin secretion and action. *J Endocrinol*. 2014 Jun;221(3):R105-120.
35. Rorsman P, Braun M. Regulation of insulin secretion in human pancreatic islets. *Annu Rev Physiol*. 2013;75:155–79.
36. LeRoith D. Beta-cell dysfunction and insulin resistance in type 2 diabetes: role of metabolic and genetic abnormalities. *Am J Med*. 2002 Oct 28;113 Suppl 6A:3S-11S.
37. Leibowitz G, Uçkaya G, Oprescu AI, Cerasi E, Gross DJ, Kaiser N. Glucose-regulated proinsulin gene expression is required for adequate insulin production during chronic glucose exposure. *Endocrinology*. 2002 Sep;143(9):3214–20.
38. Poitout V, Robertson RP. Glucolipotoxicity: fuel excess and beta-cell dysfunction. *Endocr Rev*. 2008 May;29(3):351–66.
39. DeFronzo RA, Abdul-Ghani MA. Preservation of β -cell function: the key to diabetes prevention. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011 Aug;96(8):2354–66.
40. Rosengren AH, Braun M, Mahdi T, Andersson SA, Travers ME, Shigeto M, et al. Reduced insulin exocytosis in human pancreatic β -cells with gene variants linked to type 2 diabetes. *Diabetes*. 2012 Jul;61(7):1726–33.
41. Del Prato S. Loss of early insulin secretion leads to postprandial hyperglycaemia. *Diabetologia*. 2003 Mar;46 Suppl 1:M2-8.

42. Bruttomesso D, Pianta A, Mari A, Valerio A, Marescotti MC, Avogaro A, et al. Restoration of early rise in plasma insulin levels improves the glucose tolerance of type 2 diabetic patients. *Diabetes*. 1999 Jan;48(1):99–105.
43. Fehse F, Trautmann M, Holst JJ, Halseth AE, Nanayakkara N, Nielsen LL, et al. Exenatide augments first- and second-phase insulin secretion in response to intravenous glucose in subjects with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005 Nov;90(11):5991–7.
44. Kahn SE, Montgomery B, Howell W, Ligueros-Saylan M, Hsu CH, Devineni D, et al. Importance of early phase insulin secretion to intravenous glucose tolerance in subjects with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001 Dec;86(12):5824–9.
45. Xue A, Wu Y, Zhu Z, Zhang F, Kemper KE, Zheng Z, et al. Genome-wide association analyses identify 143 risk variants and putative regulatory mechanisms for type 2 diabetes. *Nat Commun*. 2018 Jul 27;9(1):2941.
46. Flannick J, Thorleifsson G, Beer NL, Jacobs SBR, Grarup N, Burt NP, et al. Loss-of-function mutations in SLC30A8 protect against type 2 diabetes. *Nat Genet*. 2014 Apr;46(4):357–63.
47. Halban PA, Polonsky KS, Bowden DW, Hawkins MA, Ling C, Mather KJ, et al. β -cell failure in type 2 diabetes: postulated mechanisms and prospects for prevention and treatment. *Diabetes Care*. 2014 Jun;37(6):1751–8.
48. Stitzel ML, Sethupathy P, Pearson DS, Chines PS, Song L, Erdos MR, et al. Global epigenomic analysis of primary human pancreatic islets provides insights into type 2 diabetes susceptibility loci. *Cell Metab*. 2010 Nov 3;12(5):443–55.
49. Dayeh T, Volkov P, Salö S, Hall E, Nilsson E, Olsson AH, et al. Genome-wide DNA methylation analysis of human pancreatic islets from type 2 diabetic and non-diabetic donors identifies candidate genes that influence insulin secretion. *PLoS Genet*. 2014 Mar;10(3):e1004160.
50. Lalloyer F, Vandewalle B, Percevault F, Torpier G, Kerr-Conte J, Oosterveer M, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha improves pancreatic adaptation to

- insulin resistance in obese mice and reduces lipotoxicity in human islets. *Diabetes*. 2006 Jun;55(6):1605–13.
51. Poitout V, Amyot J, Semache M, Zarrouki B, Hagman D, Fontés G. Glucolipotoxicity of the pancreatic beta cell. *Biochim Biophys Acta*. 2010 Mar;1801(3):289–98.
 52. White MG, Shaw JAM, Taylor R. Type 2 Diabetes: The Pathologic Basis of Reversible β -Cell Dysfunction. *Diabetes Care*. 2016;39(11):2080–8.
 53. Steven S, Hollingsworth KG, Small PK, Woodcock SA, Pucci A, Aribisala B, et al. Weight Loss Decreases Excess Pancreatic Triacylglycerol Specifically in Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*. 2016 Jan;39(1):158–65.
 54. Butler AE, Janson J, Soeller WC, Butler PC. Increased beta-cell apoptosis prevents adaptive increase in beta-cell mass in mouse model of type 2 diabetes: evidence for role of islet amyloid formation rather than direct action of amyloid. *Diabetes*. 2003 Sep;52(9):2304–14.
 55. Rahier J, Guiot Y, Goebbels RM, Sempoux C, Henquin JC. Pancreatic beta-cell mass in European subjects with type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab*. 2008 Nov;10 Suppl 4:32–42.
 56. Talchai C, Xuan S, Lin HV, Sussel L, Accili D. Pancreatic β cell dedifferentiation as a mechanism of diabetic β cell failure. *Cell*. 2012 Sep 14;150(6):1223–34.
 57. White MG, Marshall HL, Rigby R, Huang GC, Amer A, Booth T, et al. Expression of mesenchymal and α -cell phenotypic markers in islet β -cells in recently diagnosed diabetes. *Diabetes Care*. 2013 Nov;36(11):3818–20.
 58. Brereton MF, Iberl M, Shimomura K, Zhang Q, Adriaenssens AE, Proks P, et al. Reversible changes in pancreatic islet structure and function produced by elevated blood glucose. *Nat Commun*. 2014 Aug 22;5:4639.
 59. Marroqui L, Masini M, Merino B, Grieco FA, Millard I, Dubois C, et al. Pancreatic α Cells are Resistant to Metabolic Stress-induced Apoptosis in Type 2 Diabetes. *EBioMedicine*. 2015 May;2(5):378–85.

60. Marselli L, Suleiman M, Masini M, Campani D, Bugliani M, Syed F, et al. Are we overestimating the loss of beta cells in type 2 diabetes? *Diabetologia*. 2014 Feb;57(2):362–5.
61. Brereton MF, Rohm M, Ashcroft FM. β -Cell dysfunction in diabetes: a crisis of identity? *Diabetes Obes Metab*. 2016;18 Suppl 1:102–9.
62. argumentaire_epidemiologie.pdf [Internet]. [cited 2019 Mar 15]. Available from: https://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2013-03/argumentaire_epidemiologie.pdf
63. Isabelle LP. Haute Autorité de santé. 2014;71.
64. reco2clics__diabete_type_2.pdf [Internet]. [cited 2019 Mar 15]. Available from: https://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2013-02/reco2clics__diabete_type_2.pdf
65. Hosker JP, Rudenski AS, Burnett MA, Matthews DR, Turner RC. Similar reduction of first- and second-phase B-cell responses at three different glucose levels in type II diabetes and the effect of gliclazide therapy. *Metabolism*. 1989 Aug;38(8):767–72.
66. Shapiro ET, Van Cauter E, Tillil H, Given BD, Hirsch L, Beebe C, et al. Glyburide enhances the responsiveness of the beta-cell to glucose but does not correct the abnormal patterns of insulin secretion in noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 1989 Sep;69(3):571–6.
67. Gumbiner B, Polonsky KS, Beltz WF, Griver K, Wallace P, Brechtel G, et al. Effects of weight loss and reduced hyperglycemia on the kinetics of insulin secretion in obese non-insulin dependent diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 1990 Jun;70(6):1594–602.
68. Quddusi S, Vahl TP, Hanson K, Prigeon RL, D'Alessio DA. Differential effects of acute and extended infusions of glucagon-like peptide-1 on first- and second-phase insulin secretion in diabetic and nondiabetic humans. *Diabetes Care*. 2003 Mar;26(3):791–8.
69. Osei K, Rhinesmith S, Gaillard T, Schuster D. Beneficial metabolic effects of chronic glipizide in obese African Americans with impaired glucose tolerance: implications for primary prevention of type 2 diabetes. *Metabolism*. 2004 Apr;53(4):414–22.

70. Adler AI, Shaw EJ, Stokes T, Ruiz F. Newer agents for blood glucose control in type 2 diabetes: summary of NICE guidance. *BMJ*. 2009;338:b1668.
71. Ismail-Beigi F. Glycemic Management of Type 2 Diabetes Mellitus. *N Engl J Med*. 2012 Apr 5;366(14):1319–27.
72. Dyson PA. The therapeutics of lifestyle management on obesity. *Diabetes Obes Metab*. 2010 Nov;12(11):941–6.
73. Wing RR, Phelan S. Long-term weight loss maintenance. *Am J Clin Nutr*. 2005;82(1 Suppl):222S–225S.
74. Angrisani L, Santonicola A, Iovino P, Vitiello A, Zundel N, Buchwald H, et al. Bariatric Surgery and Endoluminal Procedures: IFSO Worldwide Survey 2014. *Obes Surg*. 2017;27(9):2279–89.
75. Haute Autorité de Santé - Obésité : prise en charge chirurgicale chez l’adulte [Internet]. [cited 2012 Jun 2]. Available from: http://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_765529/obesite-prise-en-charge-chirurgicale-chez-l-adulte
76. Snow JM, Severson PA. Complications of adjustable gastric banding. *Surg Clin North Am*. 2011 Dec;91(6):1249–64, ix.
77. Zellmer JD, Mathiason MA, Kallies KJ, Kothari SN. Is laparoscopic sleeve gastrectomy a lower risk bariatric procedure compared with laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass? A meta-analysis. *Am J Surg*. 2014 Dec;208(6):903–10; discussion 909–910.
78. Reges O, Greenland P, Dicker D, Leibowitz M, Hoshen M, Gofer I, et al. Association of Bariatric Surgery Using Laparoscopic Banding, Roux-en-Y Gastric Bypass, or Laparoscopic Sleeve Gastrectomy vs Usual Care Obesity Management With All-Cause Mortality. *JAMA*. 2018 16;319(3):279–90.
79. Brethauer SA. Sleeve gastrectomy. *Surg Clin North Am*. 2011 Dec;91(6):1265–79, ix.
80. Scopinaro N. Thirty-five years of biliopancreatic diversion: notes on gastrointestinal physiology to complete the published information useful for a better understanding and clinical use of the operation. *Obes Surg*. 2012 Mar;22(3):427–32.

81. Chang S-H, Stoll CRT, 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 Mar;149(3):275–87.
82. Sawaya RA, Jaffe J, Friedenber L, Friedenber FK. Vitamin, mineral, and drug absorption following bariatric surgery. *Curr Drug Metab.* 2012 Nov;13(9):1345–55.
83. Ogawa R, Echizen H. Drug-drug interaction profiles of proton pump inhibitors. *Clin Pharmacokinet.* 2010 Aug;49(8):509–33.
84. Seaman JS, Bowers SP, Dixon P, Schindler L. Dissolution of common psychiatric medications in a Roux-en-Y gastric bypass model. *Psychosomatics.* 2005 Jun;46(3):250–3.
85. Amouyal C, Buyse M, Lucas-Martini L, Hirt D, Genser L, Torcivia A, et al. Sleeve Gastrectomy in Morbidly Obese HIV Patients: Focus on Anti-retroviral Treatment Absorption After Surgery. *Obes Surg.* 2018 Sep;28(9):2886–93.
86. Sjöström L, Lindroos A-K, Peltonen M, Torgerson J, Bouchard C, Carlsson B, et al. Lifestyle, diabetes, and cardiovascular risk factors 10 years after bariatric surgery. *N Engl J Med.* 2004 Dec 23;351(26):2683–93.
87. Adams TD, Gress RE, Smith SC, Halverson RC, Simper SC, Rosamond WD, et al. Long-Term Mortality after Gastric Bypass Surgery. *N Engl J Med.* 2007 Aug 23;357(8):753–61.
88. Adams TD, Davidson LE, Litwin SE, Kim J, Kolotkin RL, Nanjee MN, et al. Weight and Metabolic Outcomes 12 Years after Gastric Bypass. *N Engl J Med.* 2017 Sep 21;377(12):1143–55.
89. Courcoulas AP, King WC, Belle SH, Berk P, Flum DR, Garcia L, et al. Seven-Year Weight Trajectories and Health Outcomes in the Longitudinal Assessment of Bariatric Surgery (LABS) Study. *JAMA Surg.* 2018 May 1;153(5):427.
90. Schauer PR, Bhatt DL, Kirwan JP, Wolski K, Aminian A, Brethauer SA, et al. Bariatric Surgery versus Intensive Medical Therapy for Diabetes - 5-Year Outcomes. *N Engl J Med.* 2017 16;376(7):641–51.

91. Sjöström L, Peltonen M, Jacobson P, Sjöström CD, Karason K, Wedel H, et al. Bariatric surgery and long-term cardiovascular events. *JAMA*. 2012 Jan 4;307(1):56–65.
92. Sjöström L, Narbro K, Sjöström CD, Karason K, Larsson B, Wedel H, et al. Effects of bariatric surgery on mortality in Swedish obese subjects. *N Engl J Med*. 2007 Aug 23;357(8):741–52.
93. Osland E, Yunus RM, Khan S, Memon B, Memon MA. Weight Loss Outcomes in Laparoscopic Vertical Sleeve Gastrectomy (LVSG) Versus Laparoscopic Roux-en-Y Gastric Bypass (LRYGB) Procedures: A Meta-Analysis and Systematic Review of Randomized Controlled Trials. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech*. 2017 Feb;27(1):8–18.
94. Pories WJ, Swanson MS, MacDonald KG, Long SB, Morris PG, Brown BM, et al. Who would have thought it? An operation proves to be the most effective therapy for adult-onset diabetes mellitus. *Ann Surg*. 1995 Sep;222(3):339–50; discussion 350-352.
95. Rodieux F, Giusti V, D'Alessio DA, Suter M, Tappy L. Effects of gastric bypass and gastric banding on glucose kinetics and gut hormone release. *Obes Silver Spring Md*. 2008 Feb;16(2):298–305.
96. Buse JB, Caprio S, Cefalu WT, Ceriello A, Del Prato S, Inzucchi SE, et al. How do we define cure of diabetes? *Diabetes Care*. 2009 Nov;32(11):2133–5.
97. Buchwald H, Avidor Y, Braunwald E, Jensen MD, Pories W, Fahrbach K, et al. Bariatric surgery: a systematic review and meta-analysis. *JAMA J Am Med Assoc*. 2004 Oct 13;292(14):1724–37.
98. Pournaras DJ, Aasheim ET, Sjøvik TT, Andrews R, Mahon D, Welbourn R, et al. Effect of the definition of type II diabetes remission in the evaluation of bariatric surgery for metabolic disorders. *Br J Surg*. 2012 Jan;99(1):100–3.
99. Mingrone G, Panunzi S, De Gaetano A, Guidone C, Iaconelli A, Leccesi L, et al. Bariatric surgery versus conventional medical therapy for type 2 diabetes. *N Engl J Med*. 2012 Apr 26;366(17):1577–85.

100. Schauer PR, Kashyap SR, Wolski K, Brethauer SA, Kirwan JP, Pothier CE, et al. Bariatric surgery versus intensive medical therapy in obese patients with diabetes. *N Engl J Med*. 2012 Apr 26;366(17):1567–76.
101. Chikunguwo SM, Wolfe LG, Dodson P, Meador JG, Baugh N, Clore JN, et al. Analysis of factors associated with durable remission of diabetes after Roux-en-Y gastric bypass. *Surg Obes Relat Dis Off J Am Soc Bariatr Surg*. 2010 Jun;6(3):254–9.
102. Schauer PR, Burguera B, Ikramuddin S, Cottam D, Gourash W, Hamad G, et al. Effect of laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass on type 2 diabetes mellitus. *Ann Surg*. 2003 Oct;238(4):467–84; discussion 84–85.
103. Mingrone G, Panunzi S, Gaetano AD, Guidone C, Iaconelli A, Nanni G, 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. *The Lancet*. 2015 Sep 5;386(9997):964–73.
104. Debédát J, Sokolovska N, Coupaye M, Panunzi S, Chakaroun R, Genser L, et al. Long-term Relapse of Type 2 Diabetes After Roux-en-Y Gastric Bypass: Prediction and Clinical Relevance. *Diabetes Care*. 2018;41(10):2086–95.
105. Rubino F, Nathan DM, Eckel RH, Schauer PR, Alberti KGMM, Zimmet PZ, et al. Metabolic Surgery in the Treatment Algorithm for Type 2 Diabetes: A Joint Statement by International Diabetes Organizations. *Diabetes Care*. 2016 Jun 1;39(6):861–77.
106. Andreelli F, Amouyal C, Magnan C, Mithieux G. What can bariatric surgery teach us about the pathophysiology of type 2 diabetes? *Diabetes Metab*. 2009 Dec;35(6 Pt 2):499–507.
107. Laurenus A, Werling M, Le Roux CW, Fändriks L, Olbers T. More symptoms but similar blood glucose curve after oral carbohydrate provocation in patients with a history of hypoglycemia-like symptoms compared to asymptomatic patients after Roux-en-Y gastric bypass. *Surg Obes Relat Dis Off J Am Soc Bariatr Surg*. 2014 Dec;10(6):1047–54.

108. le Roux CW, Welbourn R, Werling M, Osborne A, Kokkinos A, Laurenus A, et al. Gut hormones as mediators of appetite and weight loss after Roux-en-Y gastric bypass. *Ann Surg.* 2007 Nov;246(5):780–5.
109. Fery F, d’Attellis NP, Balasse EO. Mechanisms of starvation diabetes: a study with double tracer and indirect calorimetry. *Am J Physiol.* 1990 Dec;259(6 Pt 1):E770-777.
110. Holter MM, Dutia R, Stano SM, Pigeon RL, Homel P, McGinty JJ, et al. Glucose Metabolism After Gastric Banding and Gastric Bypass in Individuals With Type 2 Diabetes: Weight Loss Effect. *Diabetes Care.* 2017;40(1):7–15.
111. Laferrière B, Teixeira J, McGinty J, Tran H, Egger JR, Colarusso A, et al. Effect of weight loss by gastric bypass surgery versus hypocaloric diet on glucose and incretin levels in patients with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008 Jul;93(7):2479–85.
112. Nannipieri M, Mari A, Anselmino M, Baldi S, Barsotti E, Guarino D, et al. The role of beta-cell function and insulin sensitivity in the remission of type 2 diabetes after gastric bypass surgery. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011 Sep;96(9):E1372-1379.
113. Salehi M, Gastaldelli A, D’Alessio DA. Beta-cell sensitivity to glucose is impaired after gastric bypass surgery. *Diabetes Obes Metab.* 2018;20(4):872–8.
114. Cavin J-B, Couvelard A, Lebtahi R, Ducroc R, Arapis K, Voiteiller E, et al. Differences in Alimentary Glucose Absorption and Intestinal Disposal of Blood Glucose After Roux-en-Y Gastric Bypass vs Sleeve Gastrectomy. *Gastroenterology.* 2016 Feb;150(2):454-464.e9.
115. Baud G, Daoudi M, Hubert T, Raverdy V, Pigeys M, Hervieux E, et al. Bile Diversion in Roux-en-Y Gastric Bypass Modulates Sodium-Dependent Glucose Intestinal Uptake. *Cell Metab.* 2016 Mar 8;23(3):547–53.
116. McGavigan AK, Garibay D, Henseler ZM, Chen J, Bettaieb A, Haj FG, et al. TGR5 contributes to glucoregulatory improvements after vertical sleeve gastrectomy in mice. *Gut.* 2017;66(2):226–34.

117. 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 May 8;509(7499):183–8.
118. Aron-Wisnewsky J, Prifti E, Belda E, Ichou F, Kayser BD, Dao MC, et al. Major microbiota dysbiosis in severe obesity: fate after bariatric surgery. *Gut*. 2019;68(1):70–82.
119. Kong L-C, Tap J, Aron-Wisnewsky J, Pelloux V, Basdevant A, Bouillot J-L, et al. Gut microbiota after gastric bypass in human obesity: increased richness and associations of bacterial genera with adipose tissue genes. *Am J Clin Nutr*. 2013 Jul;98(1):16–24.
120. Guo Y, Huang Z-P, Liu C-Q, Qi L, Sheng Y, Zou D-J. Modulation of the gut microbiome: a systematic review of the effect of bariatric surgery. *Eur J Endocrinol*. 2018;178(1):43–56.
121. Genser L, Aguanno D, Soula HA, Dong L, Trystram L, Assmann K, et al. Increased jejunal permeability in human obesity is revealed by a lipid challenge and is linked to inflammation and type 2 diabetes. *J Pathol*. 2018 Oct;246(2):217–30.
122. Trøseid M, Nestvold TK, Rudi K, Thoresen H, Nielsen EW, Lappegård KT. Plasma Lipopolysaccharide Is Closely Associated With Glycemic Control and Abdominal Obesity: Evidence from bariatric surgery. *Diabetes Care*. 2013 Nov 1;36(11):3627–32.
123. Samaras K, Viardot A, Botelho NK, Jenkins A, Lord RV. Immune cell-mediated inflammation and the early improvements in glucose metabolism after gastric banding surgery. *Diabetologia*. 2013 Dec;56(12):2564–72.
124. Poitou C, Dalmás E, Renovato M, Benhamo V, Hajduch F, Abdenmour M, et al. CD14^{dim}CD16⁺ and CD14⁺CD16⁺ monocytes in obesity and during weight loss: relationships with fat mass and subclinical atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011 Oct;31(10):2322–30.
125. Chen H, Qian L, Lv Q, Yu J, Wu W, Qian H. Change in gut microbiota is correlated with alterations in the surface molecule expression of monocytes after Roux-en-Y gastric bypass surgery in obese type 2 diabetic patients. *Am J Transl Res*. 2017;9(3):1243–54.

126. Osmai M, Osmai Y, Bang-Berthelsen CH, Pallesen EMH, Vestergaard AL, Novotny GW, et al. MicroRNAs as regulators of beta-cell function and dysfunction. *Diabetes Metab Res Rev*. 2016 May;32(4):334–49.
127. Friedman RC, Farh KK-H, Burge CB, Bartel DP. Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. *Genome Res*. 2009 Jan;19(1):92–105.
128. Baulande S, Criqui A, Duthieuw M. Les microARN circulants, une nouvelle classe de biomarqueurs pour la médecine. *médecine/sciences*. 2014 Mar;30(3):289–96.
129. Arroyo JD, Chevillet JR, Kroh EM, Ruf IK, Pritchard CC, Gibson DF, et al. Argonaute2 complexes carry a population of circulating microRNAs independent of vesicles in human plasma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011 Mar 22;108(12):5003–8.
130. Valadi H, Ekström K, Bossios A, Sjöstrand M, Lee JJ, Lötvall JO. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol*. 2007 Jun;9(6):654–9.
131. Vickers KC, Palmisano BT, Shoucri BM, Shamburek RD, Remaley AT. MicroRNAs are transported in plasma and delivered to recipient cells by high-density lipoproteins. *Nat Cell Biol*. 2011 Apr;13(4):423–33.
132. LaPierre MP, Stoffel M. MicroRNAs as stress regulators in pancreatic beta cells and diabetes. *Mol Metab*. 2017;6(9):1010–23.
133. Esguerra JLS, Nagao M, Ofori JK, Wendt A, Eliasson L. MicroRNAs in islet hormone secretion. *Diabetes Obes Metab*. 2018;20 Suppl 2:11–9.
134. Lynn FC, Skewes-Cox P, Kosaka Y, McManus MT, Harfe BD, German MS. MicroRNA expression is required for pancreatic islet cell genesis in the mouse. *Diabetes*. 2007 Dec;56(12):2938–45.
135. Kalis M, Bolmeson C, Esguerra JLS, Gupta S, Edlund A, Tormo-Badia N, et al. Beta-cell specific deletion of Dicer1 leads to defective insulin secretion and diabetes mellitus. *PloS One*. 2011;6(12):e29166.

136. Mandelbaum AD, Melkman-Zehavi T, Oren R, Kredo-Russo S, Nir T, Dor Y, et al. Dysregulation of Dicer1 in beta cells impairs islet architecture and glucose metabolism. *Exp Diabetes Res*. 2012;2012:470302.
137. Poy MN, Hausser J, Trajkovski M, Braun M, Collins S, Rorsman P, et al. miR-375 maintains normal pancreatic alpha- and beta-cell mass. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Apr 7;106(14):5813–8.
138. Tattikota SG, Rathjen T, McAnulty SJ, Wessels H-H, Akerman I, van de Bunt M, et al. Argonaute2 Mediates Compensatory Expansion of the Pancreatic β Cell. *Cell Metab*. 2014 Jan;19(1):122–34.
139. Jacovetti C, Abderrahmani A, Parnaud G, Jonas J-C, Peyot M-L, Cornu M, et al. MicroRNAs contribute to compensatory β cell expansion during pregnancy and obesity. *J Clin Invest*. 2012 Oct;122(10):3541–51.
140. Jacovetti C, Matkovich SJ, Rodriguez-Trejo A, Guay C, Regazzi R. Postnatal β -cell maturation is associated with islet-specific microRNA changes induced by nutrient shifts at weaning. *Nat Commun [Internet]*. 2015 Dec [cited 2019 Mar 14];6(1). Available from: <http://www.nature.com/articles/ncomms9084>
141. Tsukita S, Yamada T, Takahashi K, Munakata Y, Hosaka S, Takahashi H, et al. MicroRNAs 106b and 222 Improve Hyperglycemia in a Mouse Model of Insulin-Deficient Diabetes via Pancreatic β -Cell Proliferation. *EBioMedicine*. 2017 Feb;15:163–72.
142. Zheng Y, Wang Z, Tu Y, Shen H, Dai Z, Lin J, et al. miR-101a and miR-30b contribute to inflammatory cytokine-mediated β -cell dysfunction. *Lab Invest*. 2015 Dec;95(12):1387–97.
143. Nesca V, Guay C, Jacovetti C, Menoud V, Peyot M-L, Laybutt DR, et al. Identification of particular groups of microRNAs that positively or negatively impact on beta cell function in obese models of type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2013 Oct;56(10):2203–12.
144. Melkman-Zehavi T, Oren R, Kredo-Russo S, Shapira T, Mandelbaum AD, Rivkin N, et al. miRNAs control insulin content in pancreatic β -cells via downregulation of transcriptional repressors. *EMBO J*. 2011 Mar 2;30(5):835–45.

145. Xu G, Chen J, Jing G, Shalev A. Thioredoxin-interacting protein regulates insulin transcription through microRNA-204. *Nat Med*. 2013 Aug 25;19:1141.
146. Baroukh N, Ravier MA, Loder MK, Hill EV, Bounacer A, Scharfmann R, et al. MicroRNA-124a Regulates Foxa2 Expression and Intracellular Signaling in Pancreatic β -Cell Lines. *J Biol Chem*. 2007 Jul 6;282(27):19575–88.
147. Ofori JK, Salunkhe VA, Bagge A, Vishnu N, Nagao M, Mulder H, et al. Elevated miR-130a/miR130b/miR-152 expression reduces intracellular ATP levels in the pancreatic beta cell. *Sci Rep [Internet]*. 2017 Dec [cited 2019 Mar 14];7(1). Available from: <http://www.nature.com/articles/srep44986>
148. Mraz M, Malinova K, Mayer J, Pospisilova S. MicroRNA isolation and stability in stored RNA samples. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009 Dec 4;390(1):1–4.
149. Guay C, Regazzi R. Circulating microRNAs as novel biomarkers for diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol*. 2013 Sep;9(9):513–21.
150. Ghai V, Baxter D, Wu X, Kim T-K, Kuusisto J, Laakso M, et al. Circulating RNAs as predictive markers for the progression of type 2 diabetes. *J Cell Mol Med*. 2019 Feb 7;
151. Seyhan AA, Nunez Lopez YO, Xie H, Yi F, Mathews C, Pasarica M, et al. Pancreas-enriched miRNAs are altered in the circulation of subjects with diabetes: a pilot cross-sectional study. *Sci Rep*. 2016 25;6:31479.
152. Yang Z-M, Chen L-H, Hong M, Chen Y-Y, Yang X-R, Tang S-M, et al. Serum microRNA profiling and bioinformatics analysis of patients with type 2 diabetes mellitus in a Chinese population. *Mol Med Rep*. 2017 Apr;15(4):2143–53.
153. Nunez Lopez YO, Retnakaran R, Zinman B, Pratley RE, Seyhan AA. Predicting and understanding the response to short-term intensive insulin therapy in people with early type 2 diabetes. *Mol Metab*. 2019 Feb;20:63–78.
154. Ortega FJ, Mercader JM, Moreno-Navarrete JM, Rovira O, Guerra E, Esteve E, et al. Profiling of circulating microRNAs reveals common microRNAs linked to type 2 diabetes that change with insulin sensitization. *Diabetes Care*. 2014;37(5):1375–83.

155. Nunez Lopez YO, Garufi G, Seyhan AA. Altered levels of circulating cytokines and microRNAs in lean and obese individuals with prediabetes and type 2 diabetes. *Mol Biosyst.* 2016 Dec 20;13(1):106–21.
156. de Candia P, Spinetti G, Specchia C, Sangalli E, La Sala L, Uccellatore A, et al. A unique plasma microRNA profile defines type 2 diabetes progression. *PloS One.* 2017;12(12):e0188980.
157. Pescador N, Pérez-Barba M, Ibarra JM, Corbatón A, Martínez-Larrad MT, Serrano-Ríos M. Serum circulating microRNA profiling for identification of potential type 2 diabetes and obesity biomarkers. *PloS One.* 2013;8(10):e77251.
158. Zhu H, Leung SW. Identification of microRNA biomarkers in type 2 diabetes: a meta-analysis of controlled profiling studies. *Diabetologia.* 2015 May;58(5):900–11.
159. Liang Y-Z, Li J-J-H, Xiao H-B, He Y, Zhang L, Yan Y-X. Identification of stress-related microRNA biomarkers in type 2 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. *J Diabetes.* 2018 Jan 17;
160. He Y, Ding Y, Liang B, Lin J, Kim T-K, Yu H, et al. A Systematic Study of Dysregulated MicroRNA in Type 2 Diabetes Mellitus. *Int J Mol Sci.* 2017 Feb 28;18(3):456.
161. Alkandari A, Ashrafian H, Sathyapalan T, Sedman P, Darzi A, Holmes E, et al. Improved physiology and metabolic flux after Roux-en-Y gastric bypass is associated with temporal changes in the circulating microRNAome: a longitudinal study in humans. *BMC Obes [Internet].* 2018 Dec [cited 2019 Mar 15];5(1). Available from: <https://bmcobes.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40608-018-0199-z>
162. Atkin SL, Ramachandran V, Yousri NA, Benurwar M, Simper SC, McKinlay R, et al. Changes in Blood microRNA Expression and Early Metabolic Responsiveness 21 Days Following Bariatric Surgery. *Front Endocrinol [Internet].* 2019 Jan 4 [cited 2019 Mar 15];9. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fendo.2018.00773/full>
163. Hubal MJ, Nadler EP, Ferrante SC, Barberio MD, Suh J-H, Wang J, et al. Circulating adipocyte-derived exosomal MicroRNAs associated with decreased insulin resistance

- after gastric bypass: Gastric Bypass Alters Exosomal MicroRNAs. *Obesity*. 2017 Jan;25(1):102–10.
164. Wu Q, Li JV, Seyfried F, le Roux CW, Ashrafian H, Athanasiou T, et al. Metabolic phenotype-microRNA data fusion analysis of the systemic consequences of Roux-en-Y gastric bypass surgery. *Int J Obes*. 2015 Jul;39(7):1126–34.
 165. Lirun K, Sewe M, Yong W. A Pilot Study: The Effect of Roux-en-Y Gastric Bypass on the Serum MicroRNAs of the Type 2 Diabetes Patient. *Obes Surg*. 2015 Dec;25(12):2386–92.
 166. Zhu Z, Yin J, Li DC, Mao ZQ. Role of microRNAs in the treatment of type 2 diabetes mellitus with Roux-en-Y gastric bypass. *Braz J Med Biol Res [Internet]*. 2017 [cited 2019 Mar 15];50(3). Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-879X2017000300705&lng=en&tlng=en
 167. Nunez Lopez YO, Coen PM, Goodpaster BH, Seyhan AA. Gastric bypass surgery with exercise alters plasma microRNAs that predict improvements in cardiometabolic risk. *Int J Obes*. 2017 Jul;41(7):1121–30.
 168. Bae Y-U, Kim Y, Lee H, Kim H, Jeon JS, Noh H, et al. Bariatric Surgery Alters microRNA Content of Circulating Exosomes in Patients with Obesity: Exosomal miRNA Profiling in Patients with Obesity. *Obesity*. 2019 Feb;27(2):264–71.
 169. Combettes MMJ. GLP-1 and type 2 diabetes: physiology and new clinical advances. *Curr Opin Pharmacol*. 2006 Dec;6(6):598–605.
 170. Vilsbøll T, Krarup T, Deacon CF, Madsbad S, Holst JJ. Reduced postprandial concentrations of intact biologically active glucagon-like peptide 1 in type 2 diabetic patients. *Diabetes*. 2001 Mar;50(3):609–13.
 171. Jørgensen NB, Dirksen C, Bojsen-Møller KN, Jacobsen SH, Worm D, Hansen DL, et al. Exaggerated Glucagon-Like Peptide 1 Response Is Important for Improved β -Cell Function and Glucose Tolerance After Roux-en-Y Gastric Bypass in Patients With Type 2 Diabetes. *Diabetes*. 2013 Sep;62(9):3044–52.

172. Salehi M, Gastaldelli A, D'Alessio DA. Blockade of glucagon-like peptide 1 receptor corrects postprandial hypoglycemia after gastric bypass. *Gastroenterology*. 2014 Mar;146(3):669-680.e2.
173. Vetter ML, Wadden TA, Teff KL, Khan ZF, Carvajal R, Ritter S, et al. GLP-1 plays a limited role in improved glycemia shortly after Roux-en-Y gastric bypass: a comparison with intensive lifestyle modification. *Diabetes*. 2015 Feb;64(2):434–46.
174. Shah M, Law JH, Micheletto F, Sathananthan M, Dalla Man C, Cobelli C, et al. Contribution of endogenous glucagon-like peptide 1 to glucose metabolism after Roux-en-Y gastric bypass. *Diabetes*. 2014 Feb;63(2):483–93.
175. Mokadem M, Zechner JF, Margolskee RF, Drucker DJ, Aguirre V. Effects of Roux-en-Y gastric bypass on energy and glucose homeostasis are preserved in two mouse models of functional glucagon-like peptide-1 deficiency. *Mol Metab*. 2014 Apr;3(2):191–201.
176. Wilson-Pérez HE, Chambers AP, Ryan KK, Li B, Sandoval DA, Stoffers D, et al. Vertical sleeve gastrectomy is effective in two genetic mouse models of glucagon-like Peptide 1 receptor deficiency. *Diabetes*. 2013 Jul;62(7):2380–5.
177. Douros JD, Lewis AG, Smith EP, Niu J, Capozzi M, Wittmann A, et al. Enhanced Glucose Control Following Vertical Sleeve Gastrectomy Does Not Require a β -Cell Glucagon-Like Peptide 1 Receptor. *Diabetes*. 2018;67(8):1504–11.
178. Garibay D, Lou J, Lee SA, Zaborska KE, Weissman MH, Sloma E, et al. β Cell GLP-1R Signaling Alters α Cell Proglucagon Processing after Vertical Sleeve Gastrectomy in Mice. *Cell Rep*. 2018 Apr 24;23(4):967–73.
179. Garibay D, McGavigan AK, Lee SA, Ficorilli JV, Cox AL, Michael MD, et al. β -Cell Glucagon-Like Peptide-1 Receptor Contributes to Improved Glucose Tolerance After Vertical Sleeve Gastrectomy. *Endocrinology*. 2016;157(9):3405–9.
180. Service GJ, Thompson GB, Service FJ, Andrews JC, Collazo-Clavell ML, Lloyd RV. Hyperinsulinemic hypoglycemia with nesidioblastosis after gastric-bypass surgery. *N Engl J Med*. 2005 Jul 21;353(3):249–54.

181. Dadheech N, Garrel D, Buteau J. Evidence of unrestrained beta-cell proliferation and neogenesis in a patient with hyperinsulinemic hypoglycemia after gastric bypass surgery. *Islets*. 2018;10(6):213–20.
182. Meier JJ, Butler AE, Galasso R, Butler PC. Hyperinsulinemic Hypoglycemia After Gastric Bypass Surgery Is Not Accompanied by Islet Hyperplasia or Increased β -Cell Turnover. *Diabetes Care*. 2006 Jul 1;29(7):1554–9.
183. Lautenbach A, Wernecke M, Riedel N, Veigel J, Yamamura J, Keller S, et al. Adaptive changes in pancreas post Roux-en-Y gastric bypass induced weight loss. *Diabetes Metab Res Rev*. 2018 Oct;34(7):e3025.
184. Zhang S, Guo W, Wu J, Gong L, Li Q, Xiao X, et al. Increased β -Cell Mass in Obese Rats after Gastric Bypass: A Potential Mechanism for Improving Glycemic Control. *Med Sci Monit Int Med J Exp Clin Res*. 2017 May 6;23:2151–8.
185. Camacho-Ramírez A, Blandino-Rosano M, Segundo-Iglesias MC, Lechuga-Sancho AM, Aguilar-Diosdado M, Pérez-Arana GM, et al. Bariatric surgery influences β -cell turnover in non obese rats. *Histol Histopathol*. 2017 Dec;32(12):1341–50.
186. Grong E, Kulseng B, Arbo IB, Nord C, Eriksson M, Ahlgren U, et al. Sleeve gastrectomy, but not duodenojejunostomy, preserves total beta-cell mass in Goto-Kakizaki rats evaluated by three-dimensional optical projection tomography. *Surg Endosc*. 2016 Feb;30(2):532–42.
187. Lindqvist A, Spégel P, Ekelund M, Garcia Vaz E, Pierzynowski S, Gomez MF, et al. Gastric bypass improves β -cell function and increases β -cell mass in a porcine model. *Diabetes*. 2014 May;63(5):1665–71.
188. Liu T, Zhong M-W, Liu Y, Sun D, Wei M, Huang X, et al. Diabetes recurrence after metabolic surgeries correlates with re-impaired insulin sensitivity rather than beta-cell function. *World J Gastroenterol*. 2017 May 21;23(19):3468–79.
189. Qian B, Zhou X, Li B, Li B, Liu Z, Wu J, et al. Reduction of pancreatic β -cell dedifferentiation after gastric bypass surgery in diabetic rats. *J Mol Cell Biol*. 2014 Dec;6(6):531–4.

190. Seyfried F, Miras AD, Rotzinger L, Nordbeck A, Corteville C, Li JV, et al. Gastric Bypass-Related Effects on Glucose Control, β Cell Function and Morphology in the Obese Zucker Rat. *Obes Surg*. 2016 Jun;26(6):1228–36.
191. Wang T, Zhang P, Zhang X, Cao T, Zheng C, Yu B. Duodenal-jejunal bypass attenuates progressive failure of pancreatic islets in streptozotocin-induced diabetic rats. *Surg Obes Relat Dis Off J Am Soc Bariatr Surg*. 2017 Feb;13(2):250–60.
192. Zhou X, Qian B, Ji N, Lui C, Liu Z, Li B, et al. Pancreatic hyperplasia after gastric bypass surgery in a GK rat model of non-obese type 2 diabetes. *J Endocrinol*. 2016 Jan;228(1):13–23.
193. Sun X, Zheng M, Song M, Bai R, Cheng S, Xing Y, et al. Ileal interposition reduces blood glucose levels and decreases insulin resistance in a type 2 diabetes mellitus animal model by up-regulating glucagon-like peptide-1 and its receptor. *Int J Clin Exp Pathol*. 2014;7(7):4136–42.
194. Méndez-Giménez L, Becerril S, Camões SP, da Silva IV, Rodrigues C, Moncada R, et al. Role of aquaporin-7 in ghrelin- and GLP-1-induced improvement of pancreatic β -cell function after sleeve gastrectomy in obese rats. *Int J Obes* 2005. 2017;41(9):1394–402.
195. Cummings BP, Bettaieb A, Graham JL, Kim J, Ma F, Shibata N, et al. Bile-acid-mediated decrease in endoplasmic reticulum stress: a potential contributor to the metabolic benefits of ileal interposition surgery in UCD-T2DM rats. *Dis Model Mech*. 2013 Mar;6(2):443–56.
196. Woods M, Lan Z, Li J, Wheeler MB, Wang H, Wang R. Antidiabetic effects of duodenojejunal bypass in an experimental model of diabetes induced by a high-fat diet. *Br J Surg*. 2011 May;98(5):686–96.
197. de Luis D, Domingo M, Romero A, Gonzalez Sagrado M, Pacheco D, Primo D, et al. Effects of duodenal-jejunal exclusion on beta cell function and hormonal regulation in Goto-Kakizaki rats. *Am J Surg*. 2012 Aug;204(2):242–7.
198. Douros JD, Niu J, Sdao SM, Gregg T, Fisher-Wellman KH, Bharadwaj MS, et al. Sleeve gastrectomy rapidly enhances islet function independently of body weight. *JCI Insight*

[Internet]. 2019 Feb 19 [cited 2019 Apr 4]; Available from:
<http://insight.jci.org/articles/view/126688>

199. Cantelli KR, Soares GM, Ribeiro RA, Balbo SL, Lubaczeuski C, Boschero AC, et al. Duodenal-jejunal bypass normalizes pancreatic islet proliferation rate and function but not hepatic steatosis in hypothalamic obese rats. *Braz J Med Biol Res Rev Bras Pesqui Medicas E Biol*. 2017 Mar 30;50(5):e5858.
200. Polyzogopoulou EV, Kalfarentzos F, Vagenakis AG, Alexandrides TK. Restoration of euglycemia and normal acute insulin response to glucose in obese subjects with type 2 diabetes following bariatric surgery. *Diabetes*. 2003 May;52(5):1098–103.
201. Dutia R, Brakoniecki K, Bunker P, Paultre F, Homel P, Carpentier AC, et al. Limited recovery of β -cell function after gastric bypass despite clinical diabetes remission. *Diabetes*. 2014 Apr;63(4):1214–23.
202. Chai F, Wang Y, Zhou Y, Liu Y, Geng D, Liu J. Adiponectin downregulates hyperglycemia and reduces pancreatic islet apoptosis after roux-en-y gastric bypass surgery. *Obes Surg*. 2011 Jun;21(6):768–73.
203. Cummings BP, Strader AD, Stanhope KL, Graham JL, Lee J, Raybould HE, et al. Ileal interposition surgery improves glucose and lipid metabolism and delays diabetes onset in the UCD-T2DM rat. *Gastroenterology*. 2010 Jun;138(7):2437–46, 2446.e1.
204. Guida C, McCulloch LJ, Godazgar M, Stephen SD, Baker C, Basco D, et al. Sitagliptin and Roux-en-Y gastric bypass modulate insulin secretion via regulation of intra-islet PYY. *Diabetes Obes Metab*. 2018 Mar;20(3):571–81.
205. Li Z. Roux-en-Y gastric bypass promotes expression of PDX-1 and regeneration of β -cells in Goto-Kakizaki rats. *World J Gastroenterol*. 2010;16(18):2244.
206. Mendes MC, Bonfleur ML, Ribeiro RA, Lubaczeuski C, Fêo AFJ, Vargas R, et al. Duodeno-jejunal bypass restores β -cell hypersecretion and islet hypertrophy in western diet obese rats. *Endocrine*. 2018;60(3):407–14.

207. 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 Jan 4;
208. Wu D, Yan Z, Cheng Y, Zhong M, Liu S, Zhang G, et al. Deactivation of the NLRP3 inflammasome in infiltrating macrophages by duodenal-jejunal bypass surgery mediates improvement of beta cell function in type 2 diabetes. *Metabolism*. 2018 Apr;81:1–12.
209. Yu H, Zheng X, Zhang Z. Mechanism of Roux-en-Y gastric bypass treatment for type 2 diabetes in rats. *J Gastrointest Surg Off J Soc Surg Aliment Tract*. 2013 Jun;17(6):1073–83.
210. Troy S, Soty M, Ribeiro L, Laval L, Migrenne S, Fioramonti X, et al. Intestinal gluconeogenesis is a key factor for early metabolic changes after gastric bypass but not after gastric lap-band in mice. *Cell Metab*. 2008 Sep;8(3):201–11.
211. Edvell A, Lindström P. Development of insulin secretory function in young obese hyperglycemic mice (Umeå ob/ob). *Metabolism*. 1995 Jul;44(7):906–13.
212. Bock T, Pakkenberg B, Buschard K. Increased islet volume but unchanged islet number in ob/ob mice. *Diabetes*. 2003 Jul;52(7):1716–22.
213. Baetens D, Stefan Y, Ravazzola M, Malaisse-Lagae F, Coleman DL, Orci L. Alteration of islet cell populations in spontaneously diabetic mice. *Diabetes*. 1978 Jan;27(1):1–7.
214. Chen NG, Tassava TM, Romsos DR. Threshold for glucose-stimulated insulin secretion in pancreatic islets of genetically obese (ob/ob) mice is abnormally low. *J Nutr*. 1993 Sep;123(9):1567–74.
215. Ravier MA, Sehlin J, Henquin JC. Disorganization of cytoplasmic Ca(2+) oscillations and pulsatile insulin secretion in islets from ob/ obmice. *Diabetologia*. 2002 Aug;45(8):1154–63.
216. Irls E, Ñeco P, Lluesma M, Villar-Pazos S, Santos-Silva JC, Vettorazzi JF, et al. Enhanced glucose-induced intracellular signaling promotes insulin hypersecretion: pancreatic beta-cell functional adaptations in a model of genetic obesity and prediabetes. *Mol Cell Endocrinol*. 2015 Mar 15;404:46–55.

217. Colsoul B, Jacobs G, Philippaert K, Owsianik G, Segal A, Nilius B, et al. Insulin downregulates the expression of the Ca²⁺-activated nonselective cation channel TRPM5 in pancreatic islets from leptin-deficient mouse models. *Pflugers Arch*. 2014 Mar;466(3):611–21.
218. Saleh MC, Wheeler MB, Chan CB. Endogenous islet uncoupling protein-2 expression and loss of glucose homeostasis in ob/ob mice. *J Endocrinol*. 2006 Sep;190(3):659–67.
219. Rodríguez-Comas J, Moreno-Asso A, Moreno-Vedia J, Martín M, Castaño C, Marzà-Florensa A, et al. Stress-Induced MicroRNA-708 Impairs β -Cell Function and Growth. *Diabetes*. 2017;66(12):3029–40.
220. Chan JY, Luzuriaga J, Bensellam M, Biden TJ, Laybutt DR. Failure of the adaptive unfolded protein response in islets of obese mice is linked with abnormalities in β -cell gene expression and progression to diabetes. *Diabetes*. 2013 May;62(5):1557–68.
221. Jetton TL, Liang Y, Cincotta AH. Systemic treatment with sympatholytic dopamine agonists improves aberrant beta-cell hyperplasia and GLUT2, glucokinase, and insulin immunoreactive levels in ob/ob mice. *Metabolism*. 2001 Nov;50(11):1377–84.
222. Hinoi E, Gao N, Jung DY, Yadav V, Yoshizawa T, Myers MG, et al. The sympathetic tone mediates leptin's inhibition of insulin secretion by modulating osteocalcin bioactivity. *J Cell Biol*. 2008 Dec 29;183(7):1235–42.
223. Schwartz MW, Woods SC, Porte D, Seeley RJ, Baskin DG. Central nervous system control of food intake. *Nature*. 2000 Apr;404(6778):661–71.
224. 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.
225. Hao Z, Münzberg H, Rezai-Zadeh K, Keenan M, Coulon D, Lu H, et al. Leptin deficient ob/ob mice and diet-induced obese mice responded differently to Roux-en-Y bypass surgery. *Int J Obes* 2005. 2015 May;39(5):798–805.
226. Zechner JF, Mirshahi UL, Satapati S, Berglund ED, Rossi J, Scott MM, et al. Weight-Independent Effects of Roux-en-Y Gastric Bypass on Glucose Homeostasis via

- Melanocortin-4 Receptors in Mice and Humans. *Gastroenterology*. 2013 Mar;144(3):580-590.e7.
227. Coll AP, Farooqi IS, O'Rahilly S. The Hormonal Control of Food Intake. *Cell*. 2007 Apr;129(2):251–62.
 228. Lindström P. The physiology of obese-hyperglycemic mice [ob/ob mice]. *ScientificWorldJournal*. 2007;7:666–85.
 229. Cohen RV, Pinheiro JC, Schiavon CA, Salles JE, Wajchenberg BL, Cummings DE. Effects of Gastric Bypass Surgery in Patients With Type 2 Diabetes and Only Mild Obesity. *Diabetes Care*. 2012 Jul 1;35(7):1420–8.
 230. Salinari S, Bertuzzi A, Guidone C, Previti E, Rubino F, Mingrone G. Insulin Sensitivity and Secretion Changes After Gastric Bypass in Normotolerant and Diabetic Obese Subjects: *Ann Surg*. 2013 Mar;257(3):462–8.
 231. Pories WJ, Swanson MS, MacDonald KG, Long SB, Morris PG, Brown BM, et al. Who Would Have Thought It? An Operation Proves to Be the Most Effective Therapy for Adult-Onset Diabetes Mellitus: *Ann Surg*. 1995 Sep;222(3):339–52.
 232. Vidal J, de Hollanda A, Jiménez A. GLP-1 is not the key mediator of the health benefits of metabolic surgery. *Surg Obes Relat Dis*. 2016 Jul;12(6):1225–9.
 233. Amouyal C, Andreelli F. Increasing GLP-1 Circulating Levels by Bariatric Surgery or by GLP-1 Receptor Agonists Therapy: Why Are the Clinical Consequences so Different? *J Diabetes Res*. 2016;2016:1–10.
 234. Knop FK, Vilsbøll T, Højberg PV, Larsen S, Madsbad S, Vølund A, et al. Reduced incretin effect in type 2 diabetes: cause or consequence of the diabetic state? *Diabetes*. 2007 Aug;56(8):1951–9.
 235. Lin E, Liang Z, Frediani J, Davis SS, Sweeney JF, Ziegler TR, et al. Improvement in β -cell function in patients with normal and hyperglycemia following Roux-en-Y gastric bypass surgery. *Am J Physiol-Endocrinol Metab*. 2010 Nov;299(5):E706–12.
 236. Chan JY, Luzuriaga J, Maxwell EL, West PK, Bensellam M, Laybutt DR. The balance between adaptive and apoptotic unfolded protein responses regulates β -cell death under

- ER stress conditions through XBP1, CHOP and JNK. *Mol Cell Endocrinol*. 2015 Sep;413:189–201.
237. Saleh MC. Endogenous islet uncoupling protein-2 expression and loss of glucose homeostasis in ob/ob mice. *J Endocrinol*. 2006 Sep 1;190(3):659–67.
 238. Steven S, Hollingsworth KG, Small PK, Woodcock SA, Pucci A, Aribasala B, et al. Calorie restriction and not glucagon-like peptide-1 explains the acute improvement in glucose control after gastric bypass in Type 2 diabetes. *Diabet Med*. 2016 Dec;33(12):1723–31.
 239. Bleisch VR, Mayer J, Dickie MM. Familial diabetes mellitus in mice, associated with insulin resistance, obesity, and hyperplasia of the islands of langerhans. *Am J Pathol*. 1952 Jun;28(3):369–85.
 240. Matschinsky FM, Wilson DF. The Central Role of Glucokinase in Glucose Homeostasis: A Perspective 50 Years After Demonstrating the Presence of the Enzyme in Islets of Langerhans. *Front Physiol*. 2019;10:148.
 241. Philippaert K, Vennekens R. The Role of TRP Channels in the Pancreatic Beta-Cell. In: Emir TLR, editor. *Neurobiology of TRP Channels* [Internet]. 2nd ed. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis; 2017 [cited 2019 Apr 17]. (Frontiers in Neuroscience). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK476117/>
 242. Uchida K, Dezaki K, Damdindorj B, Inada H, Shiuchi T, Mori Y, et al. Lack of TRPM2 impaired insulin secretion and glucose metabolisms in mice. *Diabetes*. 2011 Jan;60(1):119–26.
 243. Brixel LR, Monteilh-Zoller MK, Ingenbrandt CS, Fleig A, Penner R, Enklaar T, et al. TRPM5 regulates glucose-stimulated insulin secretion. *Pflugers Arch*. 2010 Jun;460(1):69–76.
 244. Li Q, Li B, Miao X, Ramgattie C, Gao Z-H, Liu J-L. Reg2 Expression Is Required for Pancreatic Islet Compensation in Response to Aging and High-Fat Diet-Induced Obesity. *Endocrinology*. 2017 01;158(6):1634–44.

245. Siddique T, Awan FR. Effects of Reg3 Delta Bioactive Peptide on Blood Glucose Levels and Pancreatic Gene Expression in an Alloxan-Induced Mouse Model of Diabetes. *Can J Diabetes*. 2016 Jun;40(3):198–203.
246. Xiong X, Wang X, Li B, Chowdhury S, Lu Y, Srikant CB, et al. Pancreatic islet-specific overexpression of Reg3 β protein induced the expression of pro-islet genes and protected the mice against streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2011 Apr;300(4):E669-680.
247. Da Dalt L, Ruscica M, Bonacina F, Balzarotti G, Dhyani A, Di Cairano E, et al. PCSK9 deficiency reduces insulin secretion and promotes glucose intolerance: the role of the low-density lipoprotein receptor. *Eur Heart J*. 2019 Jan 21;40(4):357–68.
248. Gerst F, Jaghutriz BA, Staiger H, Schulte AM, Lorza-Gil E, Kaiser G, et al. The Expression of Aldolase B in Islets Is Negatively Associated With Insulin Secretion in Humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 2018 Dec 1;103(12):4373–83.
249. Ni Q, Gu Y, Xie Y, Yin Q, Zhang H, Nie A, et al. Raptor regulates functional maturation of murine beta cells. *Nat Commun*. 2017 09;8:15755.
250. Starich GH, Zafirova M, Jablenska R, Petkov P, Lardinois CK. A morphological and immunohistochemical investigation of endocrine pancreata from obese ob+/ob+ mice. *Acta Histochem*. 1991 Jan;90(1):93–101.
251. He Y, Ding Y, Liang B, Lin J, Kim T-K, Yu H, et al. A Systematic Study of Dysregulated MicroRNA in Type 2 Diabetes Mellitus. *Int J Mol Sci*. 2017 Feb 28;18(3):456.
252. Liang Y-Z, Li J-J-H, Xiao H-B, He Y, Zhang L, Yan Y-X. Identification of stress-related microRNA biomarkers in type 2 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis: Stress-related microRNAs in T2DM. *J Diabetes [Internet]*. 2018 Feb 13 [cited 2019 Apr 23]; Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/1753-0407.12643>
253. Matsumura K, Chang BH-J, Fujimiya M, Chen W, Kulkarni RN, Eguchi Y, et al. Aquaporin 7 Is a -Cell Protein and Regulator of Intraislet Glycerol Content and Glycerol Kinase Activity, -Cell Mass, and Insulin Production and Secretion. *Mol Cell Biol*. 2007 Sep 1;27(17):6026–37.

254. Ohta E, Itoh T, Nemoto T, Kumagai J, Ko SBH, Ishibashi K, et al. Pancreas-specific aquaporin 12 null mice showed increased susceptibility to caerulein-induced acute pancreatitis. *Am J Physiol-Cell Physiol*. 2009 Dec;297(6):C1368–78.

Annexe 1

Article original : Sleeve gastrectomy in morbidly obese HIV patients : Focus on anti-retroviral treatment absorption after surgery. Chloé Amouyal, Marion Buyse, Lea Lucas-Martini, Déborah Hirt, Laurent Genser, Adriana Torcivia, Jean-Luc Bouillot, Jean-Michel Oppert, Judith Aron-Wisnewsky, Obesity Surgery, 2018)



Sleeve Gastrectomy in Morbidly Obese HIV Patients: Focus on Anti-retroviral Treatment Absorption After Surgery

Chloé Amouyal^{1,2} · Marion Buyse³ · Lea Lucas-Martini⁴ · Déborah Hirt^{3,5} · Laurent Genser^{1,6} · Adriana Torcivia⁶ · Jean-Luc Bouillot⁷ · Jean-Michel Oppert^{2,4} · Judith Aron-Wisnewsy^{1,2,4} 

Published online: 20 May 2018

© Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2018

Abstract

Context Anti-retroviral therapy (ART) dramatically reduced AIDS development, thus enabling patients to live as long as the general population. New challenges have emerged particularly cardiometabolic diseases and weight gain, with some HIV patients seeking bariatric surgery (BS). However, BS outcomes during HIV remain poorly described, with scarce data on ART pharmacokinetic post-BS.

Objective Describing sleeve gastrectomy (SG) results in HIV patients in terms of ART pharmacokinetic, HIV control, weight loss, and metabolic outcomes.

Design, Setting, and Patients Prospective study of HIV patients undergoing SG in a referral academic center, with at least 6 months follow-up.

Main Outcome Measure Clinical and biological parameters, HIV medical history, and ART pharmacokinetics were gathered before and post-SG.

Results Seventeen patients (mean BMI = 44.2 ± 5.7 kg m⁻²) and major obesity-related diseases (47% type-2 diabetes, 64% obstructive sleep apnea, 70% hypertension) underwent SG during a mean 2 years of follow-up. They displayed an average of 20% reduction of initial BMI and improved body composition, similarly to obese non-HIV patients. SG improved metabolic status. All patients had undetectable viral load before BS. Upon HIV follow-up, 12 patients had undetectable viral load with correct ART kinetic parameters (3 and 6 months); 4 displayed detectable viral load along with significant decrease in raltegravir and atazanavir treatment exposure, leading to ART change with subsequent undetectable viral load; and 1 had persistent detectable viral load despite ART change.

Conclusions SG seems effective and safe in obese HIV patients. However, ART treatment should be monitored post-SG to control HIV infection. We suggest that some ART should be adapted before SG conjoints with infectious disease specialists.

Keywords Bariatric surgery · Sleeve gastrectomy · HIV · Pharmacokinetics · Anti-retroviral therapy

Electronic supplementary material The online version of this article (<https://doi.org/10.1007/s11695-018-3308-7>) contains supplementary material, which is available to authorized users.

✉ Judith Aron-Wisnewsy
judith.aron-wisnewsy@aphp.fr

¹ INSERM, UMRS, NutriOmicsTeam, Sorbonne Université, Paris, France

² Institute of Cardiometabolism and Nutrition, Institut E3M, 83 boulevard de l'Hôpital, 75013 Paris, France

³ INSERM, Saint-Antoine Research Center, Saint-Antoine Hospital, Sorbonne Université, Paris, France

⁴ Nutrition Department, Pitié-Salpêtrière Hospital, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Sorbonne Université, Paris, France

⁵ Pharmacology Department, Cochin Hospital, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Paris, France

⁶ Visceral Surgery Department, Pitié-Salpêtrière Hospital, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Sorbonne Université, Paris, France

⁷ Visceral Surgery Department, Ambroise Paré Hospital, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Saint Quentin Versailles University, Paris, France

Introduction

Combination anti-retroviral therapy (ART) has significantly increased survival among HIV-positive adults from 1996 to 2005, although with large interindividual variability [1]. However, the new ART generation induce weight gain, as early as 1 year post-treatment initiation [2, 3]. Therefore, both HIV infection and ART are associated with metabolic diseases such as dyslipidemia, hypertension, and insulin resistance [4], increasing patients' cardiovascular risk. Consequently, weight-reduction management is becoming a critical clinical issue in HIV patients, with the pending question of bariatric surgery (BS) safety and outcomes [5]. In the general obese population, the number of BS, reserved in severely obese individuals, has dramatically increased worldwide [6]. BS induces major weight loss, maintained in the longer term [7], and obesity metabolic-related disturbance improvements (hypertension, dyslipidemia [7, 8]), and can even induce diabetes remission (DR) in around 60% of type-2 diabetes (T2D) patients [9, 10]. Sleeve gastrectomy (SG) is the most performed BS [6] since it provides sustained weight loss [11] and limited morbidity [12].

To date, BS feasibility and safety in HIV patients seems reassuring [13–15]. However, only two prospective studies including no more than ten patients have yet been published [13, 16], along with small-size retrospective studies and case reports [14–23]. Thus, larger studies are needed for confirmatory results. Importantly, BS impact on ART bioavailability has been poorly described [13, 16, 20, 24] and mostly relied on ART residual drug concentration assessment [13, 20, 24]. Yet, it was shown that BS-induced major digestive tract modifications, alters some treatments drug disposition [25]. The available literature suggests that clinicians should monitor patients in the short and longer term to assess drug efficacy and eventually adjust medications [26]. Therefore, additional and more complete pharmacokinetic data are much needed to support such recommendations and inform prescription guidelines.

We aimed to assess the impact of SG on ART absorption and HIV control by performing complete ART pharmacokinetic and plasma HIV load profiles before and post-surgery. Furthermore, we aimed to compare weight reduction and metabolic improvement in HIV patients as compared with non-HIV obese individuals undergoing SG.

Material and Methods

Patients

We prospectively included all HIV obese patient's candidate for BS according to the international BS guidelines (i.e., body mass index (BMI) ≥ 40 or ≥ 35 kg m⁻² with at least one severe obesity-related comorbidity [7]) followed (for at least 6 months) at the Nutrition Department, Pitié-Salpêtrière

University Hospital, Paris, France. Only SG was performed (a procedure chosen since it does not induce any malabsorption). The decision was subsequently validated by our multidisciplinary panel and the patient. Evolution in obesity-related diseases, treatments, and viral load were obtained before surgery and during follow-up at 3 (T3), 6 (T6), and 12 months (T12) and annually post-SG, as described in [27]. We used ADA definition [9] for DR (i.e., reaching normoglycemia, HbA1c < 6% without anti-T2D treatment at 1 year). Body composition (total fat-free mass (FFM; kg) and total fat mass (FM; kg)) was measured by whole-body fan-beam DXA scanning (Hologic Discovery W, software v12.6, 2; Bedford, MA), as described in [27]. To compare the outcomes of SG in HIV patients, we recruited a non-HIV obese control group, matched on BMI, weight, age, and sex (1 control patient per 1 HIV patient) selected from a prospective ongoing BS cohort registered in clinical trial website NCT01655017. All patients are part of a BS registry where they signed an informed consent, so their data can be used for research. Ethical approval was obtained from the Research Ethics Committee of Pitié-Salpêtrière Hospital (CPP Ile de France).

Biochemical Analyses

Blood samples were collected after an overnight fast to measure biochemical parameters using routine techniques (i.e., glucose homeostasis, lipid, and liver profile). All measurements were conducted at baseline, T3, T6, T12, and until the last follow-up.

HIV Drug Pharmacokinetics

The complete kinetic concentration profiles of abacavir, atazanavir, efavirenz, emtricitabine, lamivudine, darunavir, raltegravir, ritonavir, and tenofovir in serum samples were determined using the system of exactive plus orbitrap MS (Thermo Fisher Scientific). The limit of quantification was 10 ng mL⁻¹ for all the molecules except for efavirenz which was 40 ng mL⁻¹. The value of intra-day ($n = 6$) accuracy ranged from -4.72 to 11.65%, and for the inter-day ($n = 18$) accuracy, the value ranged from -3.52 to 9.29%. The intra- and inter-precision value ranged from 0.57 to 6.00% and from 2.81 to 10.04%, respectively.

Pharmacokinetic parameters were calculated by a noncompartmental method (WinNonlin; Pharsight Corporation, Mountain View, CA). The area under the plasma concentration-time curve from 0 h to the last sampling time detectable (AUC) was determined at steady state and calculated according to the linear up/log down trapezoidal rule (WinNonlin; Pharsight, CA). The maximum concentration of drug in plasma ($C_{\max}$), the minimal concentration ($C_{\min}$), and the time to reach the $C_{\max}$ ($T_{\max}$) were the observed values.

Statistical Analyses

Continuous variables are presented as mean and standard deviation and frequencies as percentages. We used a one-way ANOVA with repeated measurements of each patient for continuous variables. Mann-Whitney and chi-square tests were used to compare continuous variables and categorical variables, respectively, between two different time points. All analyses were performed using Statistical Analysis Systems statistical software package version 9.3 (SAS Institute, Cary, NC, SA).

Results

Clinical Characteristics and Metabolic Improvement Post-SG in HIV Patient

In our center, between 2008 and 2015, 17 obese HIV patients underwent SG and were followed up for at least 6 months (T6) post-surgery with a mean 36 months of follow-up (12–60 months). Their clinical characteristics at baseline are displayed in Table 1 and show a high prevalence of obesity-related metabolic diseases. SG induced a significant weight loss, reaching 20% of initial weight at T6, maintained thereafter over the follow-up (Fig. 1a). Moreover, SG induced favorable changes in body composition: moderate reduction of fat-free mass at T3 ($-10 \pm 7.5\%$) that stabilized thereafter and

by contrast, significant and continuous decrease of fat mass until T6 ($-29 \pm 11\%$), with a further non-significant decrease at T12 (Fig. 1b).

Among T2D patients ($N = 8$), 7 (88%) improved their glucose homeostasis up to T12 (Tables 2) and 62% experienced DR at 1 year and remained normoglycemic without treatment thereafter. Only one T2D patient with terminal kidney insufficiency treated by hemodialysis, deteriorated her glycemic levels subsequently leading to increase anti-T2D treatment. Lipid profile improved post-SG with a significant triglyceride reduction and HDL-cholesterol increase. Statins were continued in 66% of patients who were initially treated. LDL-cholesterol increased post-SG however remained in the target values for their cardiovascular risk.

BS Outcomes

Few complications post-SG were observed in our HIV population. Two patients displayed initial dysphagia, but morphological examination by upper gastrointestinal radiologic procedure and follow-up were normal. One patient presented a gastric ulcer at T3 which was efficiently treated with pump proton inhibitor (PPI). Finally, unrelated to the surgery, one patient developed a myocardial infarction, treated medically with a safe follow-up.

Anti-retroviral Therapy

We aimed to evaluate ART pharmacokinetic before and post-surgery. Baseline and follow-up ART regimen of all patients are shown in Table 3. The kinetic parameters were assessed in only a subsample of our cohort. Most of the molecules assayed displayed adequate drug plasma concentrations both at baseline and during follow-up (T3 and T6 post-SG) (Fig. 2 and Supplemental Fig. 1). Indeed, lamivudine ($n = 2$) [28], abacavir ($n = 2$) [29], darunavir ($n = 2$) [30] tenofovir ($n = 7$ at baseline and $n = 5$ at T3) [31], and emtricitabine ($n = 7$ at baseline and $n = 5$ at T3) [31, 32] exhibited the same range of C_{min} , C_{max} , and AUC as described in the literature.

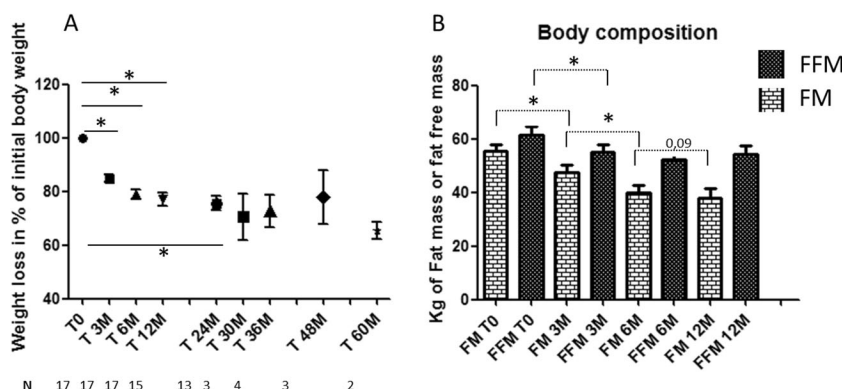
By contrast, two molecules displayed pharmacokinetic profile alterations. Firstly, raltegravir pharmacokinetic profile, assessed for four patients, displayed a large inter-individual variability of C_{max} and AUC at baseline in the obese state as well as at 6 M post-SG ($n = 3$) (Fig. 3a). Importantly, one patient already displayed a AUC of $4753 \mu\text{g h}^{-1} \Gamma^{-1}$, thus largely below the literature standards ($14000\text{--}26,460 \mu\text{g h}^{-1} \Gamma^{-1}$) at baseline [33], as well as at 6 M post-SG; period when both C_{max} and AUC ($5274 \mu\text{g h}^{-1} \Gamma^{-1}$) were below the standard values, as seen in Fig. 3b. Secondly, C_{max} and AUC of atazanavir, measured in three patients were under the literature standard values [34] at baseline during obesity. Worryingly, this worsened post-SG ($n = 2$) as displayed in Fig. 3c.

Table 1 Baseline clinical characteristics of HIV obese and non-HIV obese patients

Baseline	HIV obese patients	Non-HIV obese patients	<i>p</i> value
<i>N</i>	17	17	
Female <i>n</i> (%)	12 (70%)	11 (63%)	ns
Age (years)	44.4 ± 9.9	44.4 ± 10.6	ns
BMI (kg m^{-2})	44.2 ± 5.7	43.7 ± 6.1	ns
Weight (kg)	123.2 ± 18.8	124.3 ± 20.8	ns
Type-2 diabetes <i>n</i> (%)	8 (47%)	7 (41%)	ns
Metformin <i>n</i> (%)	6 (35%)		
Insulin <i>n</i> (%)	2 (11%)		
Glucose intolerance <i>n</i> (%)	4 (23%)	1 (5%)	ns
OSA <i>n</i> (%)	11 (63%)	8 (47%)	ns
CPAP <i>n</i> (%)	5 (29%)	6 (35%)	ns
Hypertension <i>n</i> (%)	12 (70%)	5 (29%)	ns
TT (<i>n</i>)	2.3 ± 1.8	2.8 ± 0.8	ns
Dyslipidemia <i>n</i> (%)	16 (94%)	14 (82%)	ns
TT (<i>n</i>)	6 (35%)	4 (23%)	ns
PPI <i>n</i> (%)	4 (23%)	4 (23%)	ns

BMI, body mass index; OSA, obstructive sleep apnea; CPAP, continuous positive airway pressure; TT, treatment; PPI, proton pump inhibitor

Fig. 1 Corpulence evolution after sleeve gastrectomy in HIV obese patients. **a** Weight evolution expressed as the percentage of weight loss compared with baseline weight during the follow-up. **b** Body composition evolution after SG. Fat mass (FM) and fat-free mass (FFM) are expressed in kilograms at baseline and during the follow-up. * $p < 0.05$, significant differences between time points



Finally, ritonavir used to boost atazanavir concentrations also displayed large C_{max} inter-individual variability during obesity ($n = 4$) [34, 35]. Post-SG, C_{max} and AUC were found within the normal range ($n = 3$) as seen in Fig. 3d. Interestingly, despite ritonavir use, atazanavir C_{max} and AUC post-surgery did not reach the expected concentrations.

HIV Evolution

Among the 17 patients, 12 (70%) remained with undetectable viral load during follow-up with no modification in ART therapy (Table 3). Those 12 patients took lamivudine, abacavir, tenofovir, and emtricitabine, associated with other ART, for which we were not able to assay the pharmacokinetic profile. The viral load turned positive for four patients under either raltegravir or atazanavir, although the viral load was undetectable before surgery. Therefore, their treatment was modified leading to undetectable viral load and normal follow-up without adverse secondary effects. Only one patient, under hemodialysis treatment, displayed detectable viral load along the whole follow-up despite change of treatment. However, her

CD4 cell count remained within the normal range and she has not developed any secondary infection.

SG Outcomes: Comparison Between HIV and Non-HIV Obese Subjects

HIV patients and 17 obese non-HIV patients were matched on weight, BMI, age, and sex. As displayed in Table 1, general clinical and anthropometric characteristics and metabolic complications were comparable at baseline in both groups. Interestingly, both groups displayed similar weight loss at 1 year. Importantly, changes in body composition were similar between the two groups, and no difference was observed in fat mass or fat-free mass reduction during the first year (Supplementary Fig. 2).

Discussion

To our knowledge, our prospective study, is the first to have assessed the complete pharmacokinetic profile of ART in the larger cohort of HIV obese patients undergoing SG. All

Table 2 Metabolic improvement in HIV obese patients during the first year after surgery

N	Baseline 17	T 3 months 17	T 6 months 17	T 12 months 15
Glycemia (mmol l ⁻¹)	5.6 ± 1.2	5.08 ± 1.5	5.18 ± 1.1	4.9 ± 1.1
Insulinemia (UI l ⁻¹)	17.4 ± 11.9			
HbA1c (%)	6.6 ± 1.2	5.9 ± 0.6*	5.85 ± 1.1*	5.8 ± 1.1
Type-2 diabetes patient (N)	8			
Patients with anti-diabetic drugs (N)	8	6	5	3
Total cholestrol (mmol l ⁻¹)	3.4 ± 1.7	4.8 ± 1.5	4.58 ± 1.1*	4.55 ± 1.2
Triglycerides (mmol l ⁻¹)	1.5 ± 0.97	1.13 ± 0.55	1.01 ± 0.4*	0.93 ± 0.4*
HDL-cholesterol (mmol l ⁻¹)	0.83 ± 0.36	1.25 ± 0.31*	1.23 ± 0.33*	1.47 ± 0.4*
LDL-cholesterol (mmol l ⁻¹)	1.9 ± 1.2	2.26 ± 0.96	2.84 ± 0.9*	2.5 ± 1.2*
Patients with statins (N)	6	4	4	4

HbA1c, glycated hemoglobin; HDL, high-density lipoprotein; LDL, low-density lipoprotein

* $p < 0.05$, significant differences between the time at follow-up as compared with baseline

Table 3 ART treatment of the patients included in the pharmacokinetic study

Patient	Sex	ART drugs	Drug modification after positive viral load
1	F	TDF/FTC ^{a, b} , ATZ/r ^{a, b}	
2	M	3TC/ABC ^{a, b} , NVP ^a , RGV	3TC/ABC ^{a, b} , DRV ^b /r
3	F	TDF/FTC ^{a, b} , RGV ^{a, b}	TDF/FTC ^{a, b} , ETV
4	F	TDF/FTC ^a , RGV ^a	
5	M	TDF/FTC ^a , RGV ^a	
6	F	TDF/FTC/EFV ^{a, b}	
7	F	TDF/FTC/EFV ^a	
8	F	NVP ^a , RGV ^a , DRV ^a /r	
9	F	TDF/FTC ^a , DRV ^a /r	
10	F	3TC/ABC ^a , ATZ/r	TDF/FTC ^b , DRV ^b /r
11	F	ATZ ^{a, b} , RGV ^{a, b}	ETV, RGV
12	F	3TC/ABC ^b , RGV ^b	
13	F	TDF/FTC ^b , ATZ/r ^b	

ABC, abacavir; ATZ, atazanavir; DRV, darunavir; EFV, efavirenz; FTC, emtricitabine; ETV, etavirine; 3TC, lamivudine; LPV, lopinavir; NVP, nevirapine; RGV, raltegravir; r, ritonavir; TDF, tenofovir; F, female; M, male

^a Monitored before SG

^b Monitored after SG

subjects underwent the same bariatric procedure (i.e., SG) and were followed up for 36 months on average. Our data confirm that SG is efficient and safe in HIV obese individuals. However, we suggest that caution should be taken for some drugs such as atazanavir and raltegravir since SG dramatically decreased their absorption with subsequent increase in viral load that led to drug modifications post-SG.

Our study adds to current literature where most studies only evaluated residual concentrations and not the complete

pharmacokinetic drug profile [20, 24]. Only one study highlighted that tenofovir absorption was temporarily decreased early post-SG, yet increased thereafter without any consequence on viral load [16]. We herein did not observe any decrease in tenofovir absorption, yet our pharmacokinetic analyses were not performed as early post-SG (1 M) [16], and we might have missed that initial decrease. By contrast, atazanavir or raltegravir pharmacokinetic profiles were altered post-SG with subsequent negative clinical impact (i.e., detectable viral load leading to switch ART to control the disease).

Several previous publications suggested that the absorption and half-life of several medications may be altered post-BG [36]. These modifications appeared to be drug dependent and probably also bariatric technic dependent. SG merely reduces the volume of the stomach and induces changes in gastrointestinal physiology like increase in gastric pH and accelerated gastric emptying which might also impact on drug absorption [37]. Furthermore, patients in the short-term post-surgery are prescribed with PPI to avoid ulcers [38] although PPI might decrease ART bioavailability [39]. The altered atazanavir pharmacokinetic profile observed herein could originate from the concomitant use of PPI or from an increased gastric pH, acidity being an essential condition for absorption of this molecule [40]. Guidelines recommend taking atazanavir more than 12 h after PPI [41]. Interestingly, in line with our results, atazanavir concentrations were also decreased post-BG in one other study, however remaining within the therapeutic zone with normal HIV evolution [20]. Importantly, this study only evaluated the C_{min} of the ART. Therefore, they might have missed the AUC or C_{max} decrease we herein observe. Usually, C_{min} is used to evaluate therapeutic inobservance [42] rather than demonstrate potential gut malabsorption. Finally, since atazanavir concentrations were already low at

Fig. 2 Pharmacokinetic profile for safe ART at baseline and post-sleeve: C_{min} , C_{max} , and AUC are represented for each drug at baseline (black) compared with literature optimal concentrations (red) and 3 months post-SG (blue). Data expressed in boxplot or mean $\pm$ min and max: **a** pre- and post-surgery and literature [31] of tenofovir; **b** pre- and post-surgery and literature [31, 32] of emtricitabine; and **c** efavirenz pharmacokinetic at baseline and 3 and 6 months post-surgery in one patient

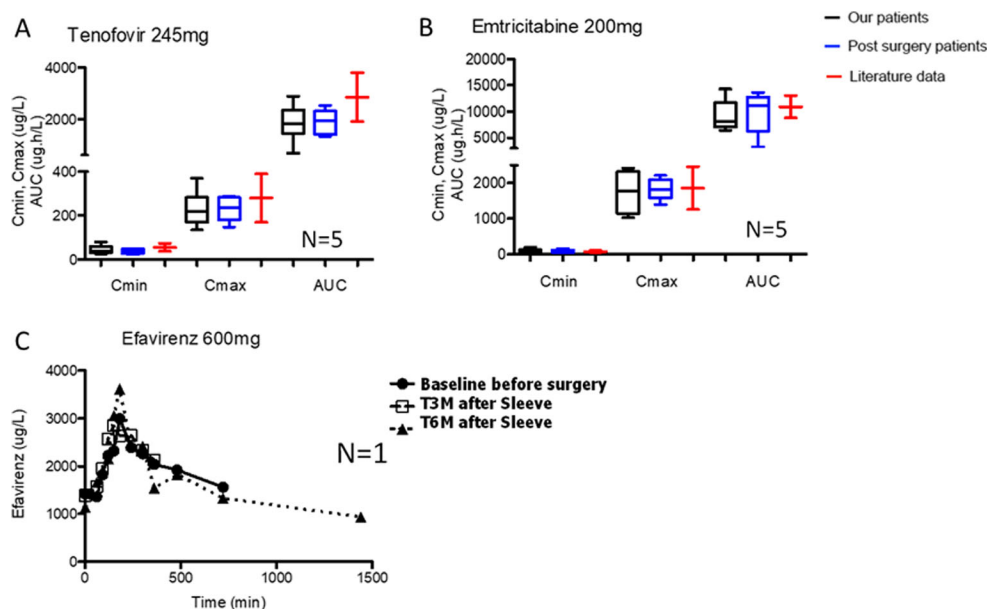
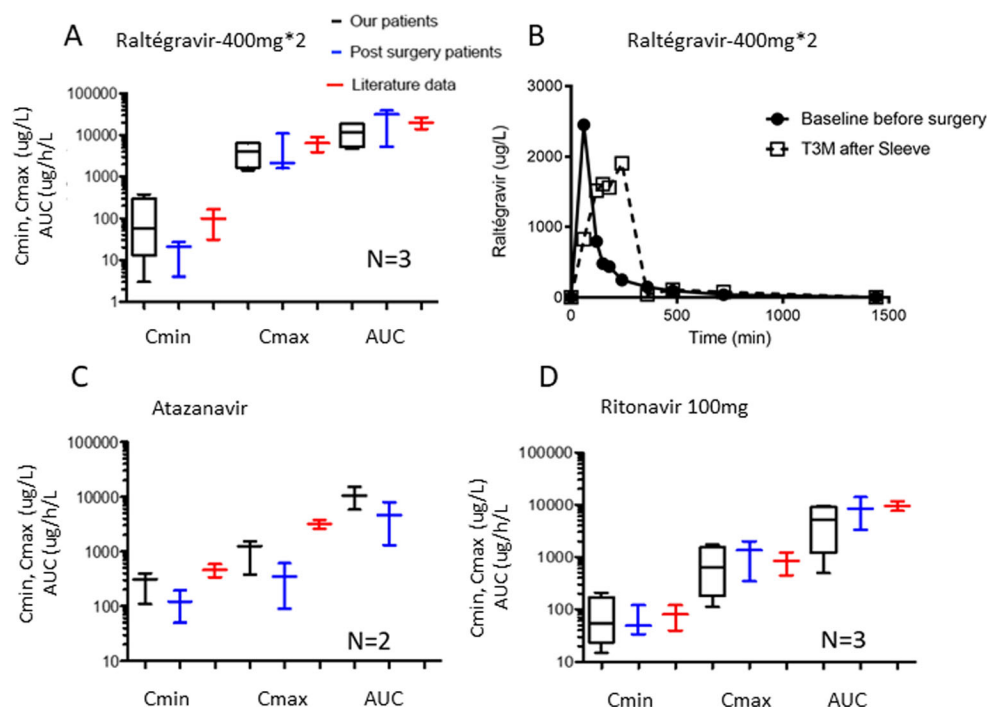


Fig. 3 Pharmacokinetic for drugs with impaired profile at baseline or post-sleeve: C_{min} , C_{max} , and AUC are represented for each drug at baseline (black) compared with literature optimal concentrations (red) and 3 months post-SG (blue). Data expressed in boxplot or mean $\pm$ min and max: **a** pre- and post-surgery and literature [33] of raltegravir; **b** raltegravir pharmacokinetic at baseline and 3 months post-surgery in one patient; **c** pre- and post-surgery and literature [34]; and **d** pre- and post-surgery and literature [34, 35] of ritonavir



baseline, we cannot exclude that during extreme obesity, the doses do not meet the increased distribution volume or that this molecule is stored in the adipose tissue and therefore does not reach the optimal systemic concentrations.

Virolgic failure of patients treated with raltegravir may be caused by a concomitant administration of calcium. Indeed, in vitro calcium binds to the divalent metal-chelating motif of raltegravir [43] and may thus lead to subtherapeutic raltegravir levels in patients, since, after all bariatric procedures, multivitamin, and oligoelements including calcium supplements are systematically prescribed to prevent nutritional deficiencies [27].

Our HIV obese cohorts displayed a high prevalence of metabolic diseases which were improved post-SG. Noteworthy, we were able to confirm that DR in our HIV obese patients is observed similarly to that of non-HIV obese individuals [10]. This is concordant with recent data where similar post-surgical and beneficial metabolic outcomes were observed in HIV obese patients as compared with a non-HIV obese control cohort [14]. Indeed, Sharma et al. [14] have included 11 HIV obese patients and a large group of controls (i.e., 55 non-HIV obese) matched on age, gender, preoperative BMI, bariatric procedure, type-2 diabetes, hypertension, hyperlipidemia, and sleep apnea. They did not observe any differences in 1-year postoperative BMI in both groups. More importantly, in their patients with high prevalence of obesity-related comorbidities, bariatric surgery induced a non-significantly different metabolic improvement in HIV+ and HIV- obese patients (i.e., improvement in T2D (66%) in hypertension (75%), in obstructive apnea (66%), and in dyslipidemia (50%)). Also to reinforce our results, safety and efficiency of

SG in HIV patient have been reported in several recent small sample-size studies [13–15, 44]. Since HIV patients experience an increased cardiovascular burden [4], our beneficial results on metabolism suggest that BS can be proposed in that cardiovascular disease context.

Another important HIV patients characteristic's is the presence of lipoatrophy/lipohypertrophy [45]. In our hands, obese HIV patients displayed the same amount of total fat mass at baseline and the same body composition evolution changes as the general obese population undergoing BS [46] and most specifically SG [27]. Indeed, in our HIV cohort, weight loss mostly concerned fat mass, whereas fat-free mass underwent a slight reduction with subsequent stabilization. Therefore, SG did not only induce a significant weight reduction but also a body composition improvement.

Our study displays some limitations such as the lack of longer-term follow-up and the small number of patients taking each class of ART. However, to our knowledge, it remains the largest cohort available with complete pharmacokinetic exploration before and post-SG.

Conclusions

Overall, our study shows that SG seems suitable and safe in HIV obese patients because SG has little impact on viral load, induces weight reduction and body composition and metabolic improvements, similarly to those observed in non-HIV obese patients undergoing SG. Importantly, our pharmacokinetic study provides new data on ART absorption and efficacy

post-surgery. Most ART seem correctly absorbed. Caution seems however warranted for atazanavir and raltegravir, during the first 6 months post-BS. Thus, we suggest that either those two drugs should be replaced, before undergoing SG, by others whose absorption remains unchanged, or add a pharmacokinetic follow-up post-sleeve in order to adapt the doses. In the future, clinical practice guidelines regarding ART use in obese HIV patients undergoing SG should be established.

Acknowledgements The authors wish to thank Ms. Valentine Lemoine for her help in data collection and Dr. Florence Marchelli, MD, for her contribution to management of the clinical and biological database.

Financial Support This study is supported by CRC fibrota (AP-HP).

Compliance with Ethical Standards

Conflict of Interest The authors declare that they have no conflict of interest.

Ethical Statement All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional and/or national research committee and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards.

Informed Consent Informed consent was obtained from all individual participants included in the study.

References

- Antiretroviral Therapy Cohort Collaboration. Life expectancy of individuals on combination antiretroviral therapy in high-income countries: a collaborative analysis of 14 cohort studies. *Lancet Lond Engl*. 2008;372:293–9.
- Lahey W, Yang L-Y, Yancy W, et al. Short communication: from wasting to obesity: initial antiretroviral therapy and weight gain in HIV-infected persons. *AIDS Res Hum Retrovir*. 2013;29:435–40.
- Crum-Cianflone N, Roediger MP, Eberly L, et al. Increasing rates of obesity among HIV-infected persons during the HIV epidemic. *PLoS One*. 2010;5:e10106.
- Nsagha DS, Assob JCN, Njunda AL, et al. Risk factors of cardiovascular diseases in HIV/AIDS patients on HAART. *Open AIDS J*. 2015;9:51–9.
- Pourcher G, Costagliola D, Martinez V. Obesity in HIV-infected patients in France: prevalence and surgical treatment options. *J Visc Surg*. 2015;152:33–7.
- Angrisani L, Santonicola A, Iovino P, et al. Bariatric surgery and endoluminal procedures: IFSO worldwide survey 2014. *Obes Surg*. 2017;27:2279–89.
- Sjöström L, Peltonen M, Jacobson P, et al. Bariatric surgery and long-term cardiovascular events. *JAMA J Am Med Assoc*. 2012;307:56–65.
- Sjöström L, Narbro K, Sjöström CD, et al. Effects of bariatric surgery on mortality in Swedish obese subjects. *N Engl J Med*. 2007;357:741–52.
- Buse JB, Caprio S, Cefalu WT, et al. How do we define cure of diabetes? *Diabetes Care*. 2009;32:2133–5.
- Aron-Wisniewsky J, Sokolovska N, Liu Y, et al. The advanced-DiaRem score improves prediction of diabetes remission 1 year post-roux-en-Y gastric bypass. *Diabetologia*. 2017;60:1892–902.
- Reges O, Greenland P, Dicker D, et al. Association of Bariatric Surgery Using Laparoscopic Banding, roux-en-Y gastric bypass, or laparoscopic sleeve gastrectomy vs usual care obesity management with all-cause mortality. *JAMA*. 2018;319:279–90.
- Zellmer JD, Mathiason MA, Kallies KJ, et al. Is laparoscopic sleeve gastrectomy a lower risk bariatric procedure compared with laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass? A meta-analysis. *Am J Surg*. 2014;208:903–10. discussion 909–910.
- Pourcher G, Peytavin G, Schneider L, et al. Bariatric surgery in HIV patients: experience of an obesity reference center in France. *Surg Obes Relat Dis Off J Am Soc Bariatr Surg*. 2017;13:1990–6.
- Sharma G, Strong AT, Boules M, Tu C, Szomstein S, Rosenthal R, et al. Comparative outcomes of bariatric surgery in patients with and without human immunodeficiency virus. *Obes Surg*. 2017;28:1070–79.
- Alfa-Wali M, Seechurn S, Ayodeji O, et al. Outcomes of bariatric surgery in human immunodeficiency virus positive individuals: a single center experience. *Minerva Chir*. 2016;71:233–8.
- Muzard L, Alvarez J-C, Gbedo C, et al. Tenofovir pharmacokinetic after sleeve-gastrectomy in four severely obese patients living with HIV. *Obes Res Clin Pract*. 2017;11:108–13.
- Selke H, Norris S, Osterholzer D, et al. Bariatric surgery outcomes in HIV-infected subjects: a case series. *AIDS Patient Care STDs*. 2010;24:545–50.
- Zivich S, Cauterucci M, Allen S, et al. Long-term virologic outcomes following bariatric surgery in patients with HIV. *Obes Res Clin Pract*. 2015;9:633–5.
- Panko N, Dunford G, Lutfi R. HIV infection is not a contraindication to laparoscopic sleeve gastrectomy for morbid obesity. *Obes Surg*. 2018;28:464–8.
- Fysekidis M, Cohen R, Bekheit M, et al. Sleeve gastrectomy is a safe and efficient procedure in HIV patients with morbid obesity: a case series with results in weight loss, comorbidity evolution, CD4 count, and viral load. *Obes Surg*. 2015;25:229–33.
- Flancaum L, Drake V, Colarusso T, et al. Initial experience with bariatric surgery in asymptomatic human immunodeficiency virus-infected patients. *Surg Obes Relat Dis Off J Am Soc Bariatr Surg*. 2005;1:73–6.
- Eddy F, Elvin S, Sanmani L. Bariatric surgery: an HIV-positive patient's successful journey. *Int J STD AIDS*. 2015;27:70–1.
- Fazylov R, Soto E, Merola S. Laparoscopic gastric bypass surgery in human immunodeficiency virus-infected patients. *Surg Obes Relat Dis Off J Am Soc Bariatr Surg*. 2007;3:637–9.
- MacBrayne CE, Blum JD, Kiser JJ. Tenofovir, emtricitabine, and darunavir/ritonavir pharmacokinetics in an HIV-infected patient after Roux-en-Y gastric bypass surgery. *Ann Pharmacother*. 2014;48:816–9.
- Malone M. Altered drug disposition in obesity and after bariatric surgery. *Nutr Clin Pract Off Publ Am Soc Parenter Enter Nutr*. 2003;18:131–5.
- Edwards A, Ensom MHH. Pharmacokinetic effects of bariatric surgery. *Ann Pharmacother*. 2012;46:130–6.
- Verger EO, Aron-Wisniewsky J, Dao MC, Kayser BD, Oppert J-M, Bouillot J-L, et al. Micronutrient and protein deficiencies after gastric bypass and sleeve gastrectomy: a 1-year follow-up. *Obes Surg*. 2015;26:785–96.
- Yuen GJ, Lou Y, Bumgarner NF, et al. Equivalent steady-state pharmacokinetics of lamivudine in plasma and lamivudine triphosphate within cells following administration of lamivudine at 300 milligrams once daily and 150 milligrams twice daily. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48:176–82.
- Wang LH, Chittick GE, McDowell JA. Single-dose pharmacokinetics and safety of abacavir (1592U89), zidovudine, and lamivudine administered alone and in combination in adults with

- human immunodeficiency virus infection. *Antimicrob Agents Chemother.* 1999;43:1708–15.
30. Curran A, Martí R, López RM, et al. Darunavir and ritonavir Total and unbound plasmatic concentrations in HIV-HCV-Coinfected patients with hepatic cirrhosis compared to those in HIV-monoinfected patients. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59: 6782–90.
 31. Blum MR, Chittick GE, Begley JA, et al. Steady-state pharmacokinetics of emtricitabine and tenofovir disoproxil fumarate administered alone and in combination in healthy volunteers. *J Clin Pharmacol.* 2007;47:751–9.
 32. Zong J, Chittick GE, Wang LH, et al. Pharmacokinetic evaluation of emtricitabine in combination with other nucleoside antivirals in healthy volunteers. *J Clin Pharmacol.* 2007;47:877–89.
 33. Iwamoto M, Wenning LA, Mistry GC, et al. Atazanavir modestly increases plasma levels of raltegravir in healthy subjects. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 2008;47:137–40.
 34. von Hentig N, Babacan E, Lennemann T, et al. The steady-state pharmacokinetics of atazanavir/ritonavir in HIV-1-infected adult outpatients is not affected by gender-related co-factors. *J Antimicrob Chemother.* 2008;62:579–82.
 35. Ofotokun I, Chuck SK, Binongo JN, et al. Lopinavir/ritonavir pharmacokinetic profile: impact of sex and other covariates following a change from twice-daily to once-daily therapy. *J Clin Pharmacol.* 2007;47:970–7.
 36. Sawaya RA, Jaffe J, Friedenberg L, et al. Vitamin, mineral, and drug absorption following bariatric surgery. *Curr Drug Metab.* 2012;13:1345–55.
 37. Mans E, Serra-Prat M, Palomera E, et al. Sleeve gastrectomy effects on hunger, satiation, and gastrointestinal hormone and motility responses after a liquid meal test. *Am J Clin Nutr.* 2015;102:540–7.
 38. Ying VWC, Kim SHH, Khan KJ, et al. Prophylactic PPI help reduce marginal ulcers after gastric bypass surgery: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Surg Endosc.* 2015;29: 1018–23.
 39. Ogawa R, Echizen H. Drug-drug interaction profiles of proton pump inhibitors. *Clin Pharmacokinet.* 2010;49:509–33.
 40. Ray JE, Marriott D, Bloch MT, et al. Therapeutic drug monitoring of atazanavir: surveillance of pharmacotherapy in the clinic. *Br J Clin Pharmacol.* 2005;60:291–9.
 41. Dybul M, Fauci AS, Bartlett JG, et al. Guidelines for using antiretroviral agents among HIV-infected adults and adolescents recommendations of the Panel on Clinical Practices for Treatment of HIV. *MMWR Recomm Rep Morb Mortal Wkly Rep Recomm Rep Cent Dis Control.* 2002;51:1–55.
 42. Acosta EP, Gerber JG, Adult Pharmacology Committee of the AIDS Clinical Trials Group. Position paper on therapeutic drug monitoring of antiretroviral agents. *AIDS Res Hum Retrovir.* 2002;18:825–34.
 43. Moss DM, Siccardi M, Murphy M, et al. Divalent metals and pH alter raltegravir disposition in vitro. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56(6):3020–6.
 44. Kassir R, Huart E, Tiffet O, et al. Feasibility of bariatric surgery in the HIV-infected patients. *Obes Surg.* 2017;27:818–9.
 45. Soares LR, da Silva DC, Gonzalez CR, et al. Discordance between body mass index and anthropometric measurements among HIV-1-infected patients on antiretroviral therapy and with lipoatrophy/lipohypertrophy syndrome. *Rev Inst Med Trop São Paulo.* 2015;57:105–10.
 46. Ciangura C, Bouillot J-L, Lloret-Linares C, et al. Dynamics of change in total and regional body composition after gastric bypass in obese patients. *Obes Silver Spring Md.* 2010;18:760–5.

Annexe 2

Technique chirurgicale de l'entéro-gastro-anastomose

Le Pr ANDREELLI a mis au point une technique chirurgicale de bypass gastrique adaptée au modèle murin, ayant montré les mêmes effets métaboliques que le RYGB chez l'homme (210). Au cours de cette chirurgie, l'estomac n'est pas exclu du tractus alimentaire, mais le duodénum et le jéjunum proximal le sont puisque le jéjunum distal est anastomosé à la grande anse gastrique : c'est l'entéro-gastro-anastomose (EGA).

Technique chirurgicale (cf figure 19)

Une demi-heure avant la chirurgie, les souris reçoivent une antibioprophylaxie large spectre : Ceftriaxone : 20µl soit 5mg (soit 100mg/kg, Hospira, USA) en sous cutané ainsi qu'une antalgie par Buprenorphine, 0.03mg/kg (Axience SAS, France). Les souris à jeun depuis 6 heures sont anesthésiées par un mélange Isoflurane 2% (Abbott, Rungis, France) et oxygène 0,4l/min et installées en décubitus dorsal sur une plaque chauffante maintenue à 37°C préalablement recouverte d'un champ opératoire stérile. L'intervention est réalisée sous microscope opératoire Leica® à un grossissement variant de 6 à 40 fois selon les stades de la chirurgie.

Une incision abdominale médiane est réalisée après désinfection large de la paroi abdominale à la Betadine®. Après localisation, l'estomac ainsi que la partie distale du jéjunum sont isolés. La grande courbure de l'estomac ainsi que le jéjunum distal sont ouverts sur 5 mm et les faces externes de l'estomac et du jéjunum sont anastomosées entre elles (fils 9-0, Ethicon Inc, USA). L'étanchéité de l'anastomose est vérifiée.

Le pylore est ligaturé par du fil 2-0 (Ethicon Inc, USA) non résorbable afin d'assurer le court-circuit alimentaire. L'abdomen est lavé à l'aide de sérum physiologique bétadiné.

La paroi musculaire ainsi que la peau sont suturées avec du fil 6.0 (Ethicon Inc, USA) résorbables par points séparés.

Les souris reposent sur un tapis chauffant à 37°C, jusqu'au réveil.

Les souris témoins (groupe Ob-Sham) subissent une laparotomie sans manipulation de l'intestin. La durée de l'anesthésie par l'Isofluane est la même que pour les souris opérées d'une entéro-gastro-anastomose et les traitements sont identiques (antibiothérapie, antalgie).

Prise en charge post opératoire précoce

Pour poursuivre l'antalgie en post opératoire, dès la fin des sutures, du Ketoprofen (Merial, 1%, dilué au 1/100 soit 200 µL par souris) est injecté en sous cutané. Les souris ne rejoignent leurs cages qu'une fois réveillées.

En post opératoire précoce, des croquettes écrasées plus molles que le régime normale (Régime à 60% de lipide) sont délivrées aux animaux pendant 48h.

Les croquettes usuelles (régime standard) sont réintroduites dès l'apparition des premières selles. Pour éviter que les animaux ne se déshydratent, une injection sous-cutanée de 100µl de sérum physiologique est réalisée quotidiennement pendant les 3 jours suivants l'opération.

Dans les jours suivants, l'état de la cicatrice abdominale est vérifié jusqu'à cicatrisation complète. En cas d'écoulement, une nouvelle dose d'antibiotique est administrée par voie intra-péritonéale.

Annexe 3 :

Isolement d'îlot de Langerhans, étude de la sécrétion d'insuline induite par le glucose et cytométrie en flux

Isolement d'îlot de Langerhans

Après sacrifice, une solution de collagénase P (Sigma Aldrich, France) est injectée dans le pancréas via le canal du cholédoque et l'organe est retiré du cadavre. La digestion du pancréas est effective après 10 min d'incubation au bain marie à 37°C et la réaction est stoppée par l'adjonction du tampon riche en protéine (HBSS : Gibco, Invitrogen, France ; BSA, Interchim SA, BSA and Hepes : Gibco, Invitrogen, France). Après 3 lavages successifs, les îlots sont séparés du culot par un gradient successif d'Histopaque 1119 et HBSS (Histopaque® 1119 Sigma Aldrich, France).

Après un dernier lavage, les îlots sont placés dans une boîte de pétri et sélectionnés un à un manuellement.

En fonction des analyses réalisées par la suite les îlots sont soit :

- Placés dans l'incubateur pour 24h dans un milieu de culture RPMI 1640 à 11 mmol/l de glucose (Invitrogen, Gibco), avec 10% de sérum de veau fœtal (Invitrogen), 1% d'Hepes (Invitrogen) et 1% d'antibiotique (penicilline 100 IU/ml–streptomycine 100 µg/ml-Invitrogen) avant le test de sécrétion d'insuline induite par le glucose
- Récupérés en culots secs et dissous dans 350ul RLT buffer (Qiagen, Cat No./ID 79216) avec 1% de beta-mercaptoethanol pour analyses qPCR
- Récupérés en culots secs et dissociés dans une solution de Trypsine/EDTA à 0,25% (Gibco) pendant 6min au bain marie pour analyses FACS.

Sécrétion d'insuline induite par le glucose

Le test de sécrétion d'insuline induite par le glucose est réalisé le lendemain de l'isolement d'îlot. Les analyses sont faites en triplicats ou quadruplicats (en fonction du nombre d'îlots disponibles) par condition. Cinq îlots sont placés dans un tube Eppendorff contenant 500ul de tampon KRBH (Krebs Ringer Bicarbonate) à 1% de BSA, pH 7,4 et 1 mM de glucose.

Après 30 min d'incubation dans l'incubateur à 37°C, le test commence, les 5 îlots en triplicat (ou quadruplicat) sont placés dans 500ul de tampon KRBH-BSA à différentes concentrations

de glucose : 1 ; 2,8 et 16,7 mmol/l pendant 1h à l'incubateur. Le surnagent est récupéré et les 5 ilots sont lysés dans un tampon de lyse (contenant de l'Igepal 40 CA-630, Sigma Aldrich, France et du Trisma base 0,5 mol/l à pH 7,4) pour analyse du contenu total en insuline.

L'insuline est mesurée dans le surnagent et le tampon de lyse par kit ELISA insulin high range (Eurobio, AlpcO) selon le protocole constructeur.

Analyse de la composition cellulaire de l'îlot de Langerhans par cytométrie en flux

Après dissociation par la trypsine, la réaction est stoppée par une solution de PBS (Gibco) à 1% de BSA. Après lavage, les cellules sont incubées avec un marqueur de mort cellulaire Viability 405/520- Miltenyi (1/100) pendant 30 min dans l'obscurité. Après lavage et blocage des récepteurs non spécifiques par Fc block (Miltenyi), le marquage extra cellulaire des cellules immunitaires est réalisé avec l'anticorps anti-CD45 APC-ef780 (1/200) (Ebiosciences) pendant 30 min dans l'obscurité. Après lavage, les cellules sont fixées et perméabilisées par le kit fix/perm (Ebiosciences) pendant 20 min dans l'obscurité. Enfin, après lavage, le marquage intra cellulaire des cellules peut avoir lieu avec les anticorps anti-insuline (Cell signaling-A647 (1/100)), anti-glucagon (BD-BV421 (1/200)), anti-Ki67 (Miltenyi-PE (1/100)) pendant 30 min dans l'obscurité.

S'en suit 2 lavages successifs avant passage au cytomètre (Fortessa LSRII, BD) qui selon les expériences a lieu dans les 48 à 72h après les marquages.

Table des illustrations

Figure 1: Répartition par âge et sexe de la prévalence du diabète traité pharmacologiquement en France en 2015. Extrait du Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire 2015 (2).	8
Figure 2 : Indice de masse corporelle (IMC), extrait de Obepi 2012 (16)	11
Figure 3 : Insulinorésistance, conséquences sur les tissus cibles	15
Figure 4 : Biosynthèse de l'insuline dans la cellule bêta pancréatique. Extrait de Magnan C. et al. (32).	16
Figure 5 : Sécrétion d'insuline biphasique.	17
Figure 6 : Sécrétion d'insuline par la cellule bêta pancréatique. Adapté de Rutter G. et al. (33)	18
Figure 7 : Pathogénicité du diabète de type 2. Facteurs conduisant à la dysfonction bêta cellulaire. Adapté de Halban et al, (47).	23
Figure 8 : Dédifférenciation et trans-différenciation de la cellule bêta pancréatique. Extrait de Brereton, et al (61)	24
Figure 9 : Anneau gastrique ajustable, extrait de l'HAS	27
Figure 10 : Sleeve gastrectomie, adapté de l'HAS	28
Figure 11 : Bypass gastrique selon la technique de Roux en Y, adapté de l'HAS	29
Figure 12 : Dérivation biliopancréatique, extrait de l'HAS	30
Figure 13 : Mécanismes participant à l'amélioration du diabète post RYGB décrits dans la littérature, adapté de Debédât J., Amouyal C et al (in press)	37
Figure 14 : Schéma explicatif, miR, Extrait de Baulande S et al. (128)	54
Figure 15 : Export dans le milieu extra cellulaire des miRs, Extrait de Baulande S et al. (128)	55
Figure 16 : miRs impliqués dans la fonctionnalité bêta pancréatique. Adapté de Lapierre et al (132), Osmi et al (126), Esguerra et al (133)	57
Figure 17 : Diagramme de Venn, illustrant les principaux miRs de la cellule bêta pancréatique dont la fonctionnalité cellulaire est connue (126,132,133) ; les principaux miRs circulants biomarqueurs du DT2 (158–160) ; les principaux miRs différentiellement exprimés en post chirurgie bariatrique (3 à 12 mois) chez le patient DT2 (161,162,165,166)	59
Figure 18 : Schéma de l'entéro-gastro-anastomose : EGA	66
Figure 19 : Montage chirurgical de l'EGA	114

Figure 20 : Extrait de Troy et al. (210). Prise alimentaire (A) et évolution du poids (B) post EGA, anneau gastrique et contrôles (Sham) pair-fed.....	115
Figure 21 : Voie leptine/melanocortine dans l'hypothalamus. Extrait de Coll et al. 2007 (227)	117
Figure 22 : Adapté de Troy et al. (210) Clamp euglycémique hyperinsulinémique (A), Taux de triglycérides, resistine et TNFalpha (B) mesurés à 10 jours post opératoire.....	119
Figure 23 : Test de tolérance à l'insuline 0.75ui/kg et 2 ui/kg après EGA (en rouge) ou dans le groupe Sham (en bleu), un mois après la chirurgie.	120
Figure 24 : Coupes histologiques pancréatiques comparant les ilots de souris minces (WT) (A et D) et de souris ob-ob (B et E). C : intensité moyenne du marquage insuline. Extrait de Jetton et al. (221).....	124
Figure 25 : Famille des canaux ioniques TRP au sein de la cellule beta pancréatique et leur régulation et action cellulaire. Extrait de Philippaert et al. (241)	125
Figure 26 : Coupes histologiques pancréatiques comparant les ilots de souris minces (WT) (A et D) et de souris ob-ob (B et E). C : intensité moyenne du marquage insuline. Extrait de Jetton et al. (221).....	127
Figure 27 : Taille des cellules bêta (A) et prolifération des cellules alpha (% des cellules alpha exprimant le Ki67) (B) 1 mois après chirurgie Sham ou EGA chez les souris ob-ob. Analyse de cytométrie en flux. Données non publiées.	130

Table des tableaux

Tableau 1 : Diagnostic de diabète selon les différentes conditions (HAS et OMS (7)).....	9
Tableau 2 : Différentes classes thérapeutiques antidiabétiques disponibles en France en 2019	26
Tableau 3 : Modèles animaux de chirurgie bariatrique portant sur l'effet de la chirurgie bariatrique sur le pancréas endocrine	63
Tableau 4 : Expression génique (microarray) au sein des ilots pancréatiques de gènes de l'identité beta cellulaire en comparant les souris contrôles Sham aux animaux après EGA .	128

Restoration of pancreatic beta cell function of leptin deficient mice by bariatric surgery

Abstract

EGA (entero-gastro-anastomosis) is a gastric bypass procedure adapted to rodent. EGA in leptin deficient ob/ob mice improves glucose tolerance by increasing pancreatic insulin content and glucose stimulated insulin secretion in vivo without persistent body weight loss dietary restriction, modification of body composition / energy expenditure. We do not observe differences in islets 'number or size after EGA. Insulin gene expression, beta-cell proliferation (Ki67 index) and insular immune infiltration are also unchanged. Transcriptomic analysis of pancreatic islets showed that bariatric surgery differentially regulated 193 genes and 27 miRs. Interestingly, the surgery normalized molecular defects (down regulation of TRPM5, GLUT2, GCK, connexin 36) and functional alteration (high sensitivity of islets to low glucose levels) observed in diabetic ob pancreatic islets. In addition, the surgery promoted the enrichment of 227 biological process, composed of genes with known or undetermined beta cell function, especially 21 genes are involved in the hormone transport and 20 genes in the hormone secretion biological process. Computational analysis predicted that 7 of 27 miRs (324-3p, 380-3p, 671-5p, 1927, 6904-5p, 6918-5p and 7682-3p) are hubs in the miRs-gene interaction network. Altogether, our data highlighted novel molecular mechanisms in the resolution of diabetes after bariatric surgery. Overall, diabetes resolution in our model appears to be totally independent of body weight.

Keywords : bariatric surgery, insulin secretion, microRNA, ob-ob mice

Restaurer la fonction bêta pancréatique de la souris leptine déficiente par la chirurgie bariatrique

Résumé :

Le bypass gastrique (RYGB) a démontré un effet bénéfique métabolique, particulièrement sur le diabète de type 2. L'EGA (entéro-gastro-anastomose) est une procédure de bypass gastrique adaptée au modèle murin. Chez les souris ob-ob (déficientes pour la leptine), l'EGA améliore la tolérance au glucose en augmentant le contenu pancréatique en insuline et la sécrétion d'insuline induite par le glucose in vivo en l'absence de perte de poids, de restriction alimentaire, de modification de composition corporelle/dépense énergétique. Nous n'observons pas de différence dans le nombre ni dans la taille des îlots après l'EGA. L'expression du gène de l'insuline, la prolifération beta cellulaire (index Ki67) et l'infiltration immunitaire insulaire sont également inchangés. L'analyse transcriptomique des îlots a montré que la chirurgie bariatrique régule l'expression de 193 gènes et 27 miRs intra-îlots. De plus, certaines anomalies moléculaires observées dans les îlots pancréatiques des souris ob-ob (régulation négative du canal ionique TRPM5, du transporteur GLUT2, de la glucokinase, de la connexine 36) et fonctionnelles (sensibilité élevée des îlots à de faibles taux de glucose) ont été modulées par la chirurgie bariatrique. En outre, la chirurgie a favorisé l'enrichissement de 227 processus biologiques, composés de gènes dont la fonction bêta cellulaire est connue ou indéterminée, notamment 21 gènes impliqués dans le transport hormonal et 20 gènes impliqués dans le processus biologique de sécrétion hormonale. Une analyse informatique a prédit que 7 des 27 miRs (324-3p, 380-3p, 671-5p, 1927, 6904-5p, 6918-5p et 7682-3p) sont des noyaux dans le réseau d'interaction gène-miRs. Globalement, nos données ont mis en évidence de nouveaux mécanismes moléculaires dans la résolution du diabète après une chirurgie bariatrique. De manière importante, notre modèle démontre que la résolution du diabète après la chirurgie bariatrique peut être indépendante de la perte de poids.

Mots clés : bypass gastrique- insulinosécrétion-microRNA- souris ob-ob