

# RECHERCHE FONDAMENTALE ET TRANSLATIONNELLE SUR L'APPAREIL DIGESTIF

## DIFFÉRENCES DANS L'ABSORPTION DE GLUCOSE ALIMENTAIRE ET L'ÉLIMINATION INTESTINALE DU GLUCOSE SANGUIN APRÈS UN BYPASS GASTRIQUE ROUX-EN-Y PAR RAPPORT À UNE SLEEVE GASTRECTOMIE



Jean-Baptiste Cavin,<sup>1</sup> Anne Couvelard,<sup>1,2</sup> Rachida Lebtahi,<sup>3</sup> Robert Ducroc,<sup>1</sup> Konstantinos Arapis,<sup>1,4</sup> Eglantine Voiteiller,<sup>1</sup> Françoise Cluzeaud,<sup>1</sup> Laura Gillard,<sup>1</sup> Muriel Hourseau,<sup>2</sup> Nidaa Mikail,<sup>3</sup> Lara Ribeiro-Parenti,<sup>4</sup> Nathalie Kapel,<sup>5</sup> Jean-Pierre Marmuse,<sup>4,§</sup> André Bado,<sup>1,§</sup> and Maude Le Gall<sup>1</sup>

<sup>1</sup>INSERM U1149, DHU Unity, Université Paris Diderot, Paris, France; <sup>2</sup>Service de pathologie; <sup>3</sup>Médecine nucléaire; et

<sup>4</sup>Chirurgie générale et digestive, Hôpital Bichat, Paris, France; et <sup>5</sup>Service de coprologie fonctionnelle, Groupe hospitalier Pitié Salpêtrière, Paris, France.

Voir l'éditorial à la page 309

**CONTEXTE ET OBJECTIFS:** les interventions bariatriques, comme le bypass gastrique Roux en-Y (RYGB) ou la sleeve gastrectomie (VSG), sont les approches les plus efficaces pour guérir le diabète de type 2 chez les personnes obèses. L'absorption alimentaire du glucose et l'élimination intestinale du glucose sanguin n'ont pas été comparées directement entre les individus ou les animaux qui ont subi un RYGB et une VSG. Nous avons évalué chez le rat et l'homme comment l'épithélium intestinal s'adapte après l'intervention chirurgicale et les conséquences sur l'absorption alimentaire du glucose et l'élimination intestinale du glucose sanguin.

**MÉTHODES:** Les rats mâles obèses ont subi des opérations RYGB, VSG ou des chirurgies simulées (témoins). Nous avons prélevé des segments intestinaux chez tous les rats; nous avons effectué des analyses histologiques et mesuré les niveaux d'ARN messagers codant pour les transporteurs de sucre SGLT1, GLUT1, GLUT2, GLUT3, GLUT4 et GLUT5. Le transport et la consommation de glucose ont été dosés à l'aide de boucles jéjunales ex vivo. Des analyses histologiques ont également été réalisées sur des sections de membres Roux de patients ayant subi un RYGB 1\_5 ans après la chirurgie. La consommation de glucose des membres Roux a été dosée après l'intervention chirurgicale par émission de positrons et tomographie par émission de positrons.

**RÉSULTATS:** Chez les rats et les humains qui ont subi un RYGB, la dérivation de Roux-en-Y est devenue hyperplasique, avec un nombre accru de cellules productrices d'incrétines comparativement au segment jéjunal correspondant des témoins.

De plus, l'expression des transporteurs de sucre et des gènes liés à l'hypoxie a augmenté et le transporteur de glucose non intestinal GLUT1 est apparu au niveau de la membrane basolatérale des entérocytes. Le glucose ingéré et en circulation a été piégé dans les cellules épithéliales intestinales de rats et d'humains qui ont subi un RYGB. En revanche, il n'y a pas eu d'hyperplasie de l'intestin après VSG, mais l'absorption intestinale du glucose alimentaire a été réduite et la densité des cellules endocrines sécrétant le glucagon-like peptide-1 a augmenté.

**CONCLUSIONS:** L'intestin s'adapte différemment au RYGB et à la VSG. Le RYGB augmente l'élimination intestinale du glucose et la VSG retarde l'absorption du glucose; les deux contribuent à l'amélioration observée du glucose sanguin.

La guérison du diabète de type 2 par la chirurgie bariatrique suscite un intérêt considérable depuis quelques années. Le diabète guérit rapidement après un bypass gastrique Roux-en-Y (RYGB) ou une sleeve gastrectomie (VSG). Au-delà de la perte de poids postopératoire, les interventions chirurgicales contribuent à la guérison du diabète de type 2. Les mécanismes décrits impliquent une restriction calorique, des changements hormonaux, une vidange gastrique accélérée et une signalisation des acides biliaires, mais nous n'avons pas encore une compréhension claire des mécanismes sous-jacents.

Le tractus gastro-intestinal est la cible directe des interventions bariatriques, et le remodelage intestinal précoce et l'adaptation déclenchés par de telles interventions pourraient être le point de départ d'une amélioration métabolique. Incontestablement, l'intestin grêle contribue au contrôle du glucose sanguin en orchestrant le transfert du glucose dans la circulation porte après la décomposition des glucides complexes en glucose. De plus, le tractus gastro-intestinal est un organe endocrinien important, les cellules entéroendocrines sécrétant des hormones intestinales, le glucagon-like peptide-1 (GLP-1) et le peptide insulinothèque dépendant du glucose (GIP), impliquées dans la sécrétion d'insuline induite par les glucoses. La plupart des hypothèses suggèrent qu'après un RYGB, l'accélération de l'apport de nutriments dans l'intestin distal, ainsi que l'exclusion duodénale, contribuent à modifier les concentrations des hormones intestinales circulantes et à améliorer l'homéostasie glucidique.

Le remodelage du tractus gastro-intestinal après RYGB a fait l'objet d'études approfondies chez le rat, et l'hyperplasie de la dérivation gastrique de Roux-en-Y (RL) a été décrite dans la plupart des rapports.<sup>16-21</sup> Cette hyperplasie était associée

Les auteurs se partagent la paternité de l'œuvre.

Abréviations utilisées dans cet article : IMC, indice de masse corporelle ; BPL, anse biliopancréatique ; [18F]-FDG, le fluorodésoxyglucose [18F] ; GIP, le peptide insulinothèque dépendant du glucose ; GLP-1, glucagon-like peptide-1 ; GLUT, transporteur de glucose, ARNm, ARN messager ; TEP/TDM, tomographie par émission de positrons et tomographie par émission de positrons ; RL, anse en Y de Roux ou anse alimentaire ; RYGB, bypass gastrique Roux-en-Y ; SGLT1, cotransporteur sodium-glucose 1 ; VSG, sleeve gastrectomie.

Article le plus actuel

**Mots-clés:** adaptation intestinale; cellules entéroendocrines; entérohormones; GIP.

© 2016 by the AGA Institute  
0016-5085/\$36.00

<http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2015.10.009>

## Traduction libre

à une reprogrammation du métabolisme intestinal du glucose en vue d'obtenir une augmentation de la consommation de glucose pour soutenir la croissance des tissus sur le modèle animal expérimentant le RYGB.<sup>19,21</sup> Ces observations récentes mettent en contraste des études antérieures faisant état soit d'une réduction des émissions de l'absorption du glucose par la lumière intestinale<sup>22</sup> ou aucun changement dans le taux d'absorption du glucose ex vivo dans l'intestin.<sup>23</sup> De plus, les résultats de l'étude de la littérature sur le mode d'expression du sucre intestinal Les transporteurs après chirurgie sont hétérogènes.<sup>17,19,22,24</sup>

La manipulation du glucose par l'intestin est en fait compartimentée en 2 circuits fonctionnels : pendant les repas, le glucose alimentaire est absorbé et transféré dans la circulation porte ; et à jeun, une partie du glucose est absorbée du sang artériel et utilisée pour le métabolisme intestinal.<sup>25</sup> Les études précédentes se sont concentrées uniquement sur certaines parties de ce processus complexe ; on ne sait toujours pas comment le remodelage intestinal absorbe et consomme le glucose alimentaire et sanguin après RYGB. Une publication récente n'a signalé aucune hyperplasie du jéjunum et aucune reprogrammation du métabolisme intestinal du glucose après VSG.<sup>21</sup> Toutefois, aucune étude n'examine vraiment les conséquences de l'administration de VSG sur la manipulation du glucose dans l'intestin.

Dans cette étude, nous avons directement comparé et fait ressortir les distinctions de l'impact des interventions RYGB et VSG sur la manipulation du glucose par l'intestin, en distinguant le transport alimentaire du glucose de l'absorption intestinale du glucose sanguin. Concernant les rats obèses suivant un régime alimentaire, les deux procédures modifient différemment la morphologie intestinale, la différenciation des cellules entéroendocrines et l'équilibre des cellules, et la manipulation du glucose par l'intestin d'une manière favorable à la régulation de l'homéostasie du glucose. Enfin, nous avons étendu nos résultats les plus importants à l'homme, démontrant que le RYGB induit une hypertrophie de la RL alimentaire avec un nombre accru de cellules productrices d'incrétines et une surexpression inhabituelle du transporteur de glucose GLUT-1 associée à une activité hypermétabolique de la protéine cellules épithéliales.

## Ressources et Méthodes

Voir [les ressources complémentaires](#) pour des descriptions détaillées.

## Expérimentation animale et interventions post-opératoires

Toute utilisation animale est conforme aux directives de la Communauté européenne et a été approuvée par le comité d'éthique local (n° 2011-14/773-0030 Comité d'Éthique Paris-Nord) et le ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche (n° 02285.01). Les rats obèses suivant un régime alimentaire ont subi une dérivation gastrique Roux-en-Y (RYGB), une sleeve gastrectomie (VSG) ou une chirurgie simulée comme décrit précédemment.<sup>26</sup>

## Échantillons humains jéjunaux

Huit patients traités par chirurgie de novembre 2013 à juillet 2015 ont été rétrospectivement sélectionnés à partir des dossiers du Service de pathologie de l'Hôpital Bichat, Paris, France. L'âge moyen était de  $46,8 \pm 12,7$  ans au moment de l'intervention chirurgicale et l'indice de masse corporelle (IMC) était de  $55 \pm 5,6$  kg/m<sup>2</sup> pour le groupe témoin obèse (n 3) et de  $35,9 \pm 4,8$  kg/m<sup>2</sup> pour les patients RYGB (n 5). Aucun n'était diabétique ou ne prenait de médicaments pour contrôler sa glycémie (voir le [tableau complémentaire 1](#)).

## Tomographie par émission de positrons

Sept patients ont été sélectionnés rétrospectivement à partir des fichiers du service de médecine nucléaire de l'hôpital Bichat. Trois patients atteints ayant subi un RYGB et quatre patients témoins (sans maladies gastro-intestinales ni cancer) ont fait l'objet d'une tomographie par émissions de positrons au [18F]-fluorodésoxyglucose ([18F]-FDG) et d'une tomodensitométrie (TEP/TDM). Dans le groupe ayant fait l'objet d'un RYGB, l'âge moyen était de  $55,7 \pm 7,6$  ans et l'IMC était de  $29,6 \pm 3,2$  kg/m<sup>2</sup> ; dans le groupe témoin, l'âge moyen était de  $64,5 \pm 14,4$  ans et l'IMC de  $30,6 \pm 4,2$  kg/m<sup>2</sup>. La TEP et la TDM ont été réalisées avec un système hybride TEP/TDM (Discovery 690 ; GE Healthcare, Little Chalfont, Royaume-Uni). Voir [le tableau complémentaire 2](#) et [les documents complémentaires](#) pour une description détaillée des patients, de l'intervention et des analyses d'images.

## Analyses statistiques

Toutes les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne  $\pm$  SEM. L'analyse unidirectionnelle de la variance avec correction de Bonferroni pour les comparaisons multiples a été utilisée pour comparer plus de deux groupes et des tests de Mann-Whitney non paramétriques ont été utilisés pour comparer deux groupes.  $P < 0,05$  a été considérée comme significative.

## Résultats

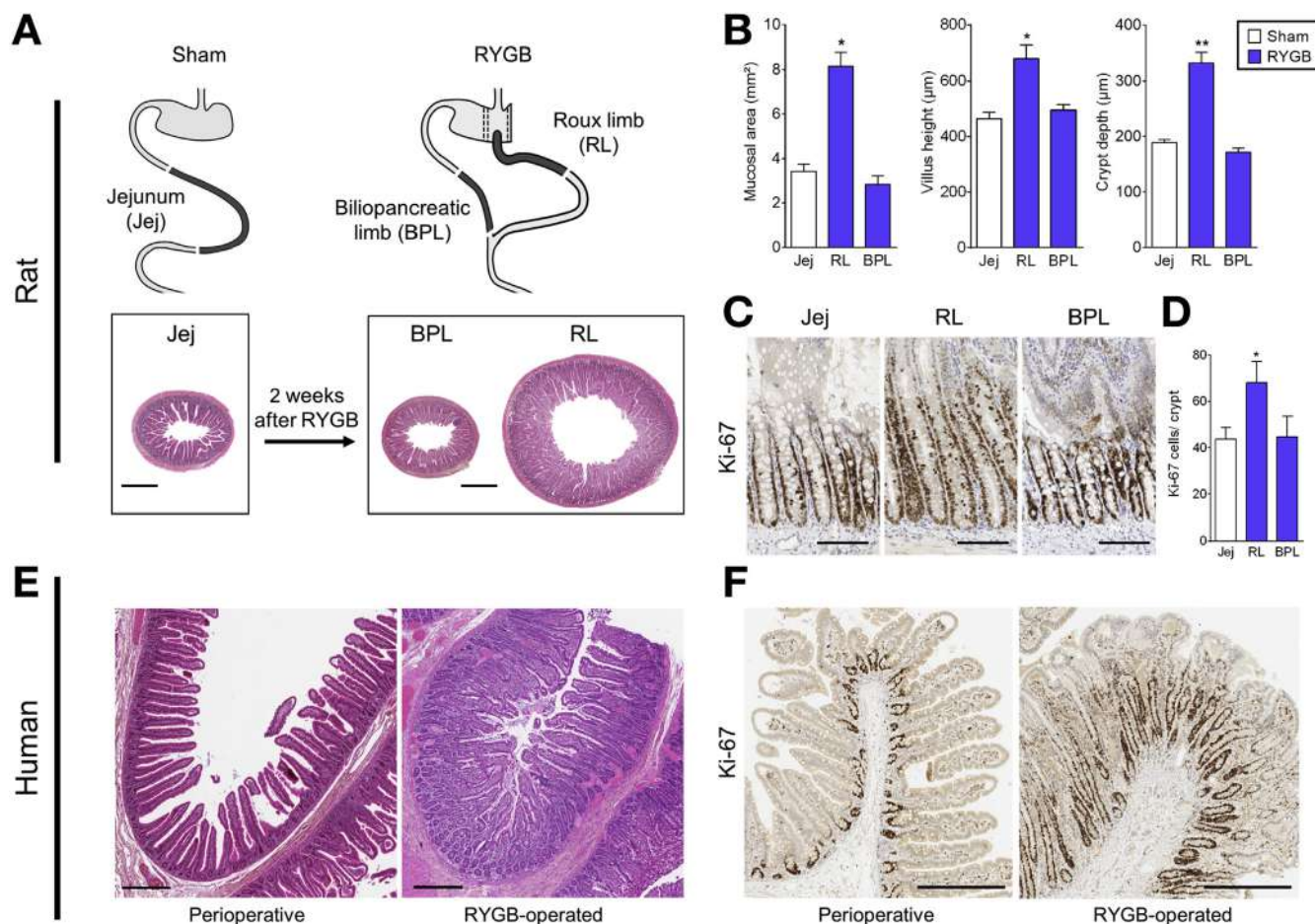
### Le bypass gastrique Roux-en-Y induit rapidement l'hypertrophie de l'anse alimentaire

Nous avons étudié les événements précoces après une chirurgie RYGB, soit chez un modèle de rat obèse suivant un régime alimentaire ([texte complémentaire 1](#) et [figures complémentaires 1](#) et [2](#)). Au bout de seulement 2 semaines après l'intervention chirurgicale, l'anse alimentaire (RL) était hypertrophique et son diamètre a considérablement augmenté par rapport à celui de l'anse biliopancréatique (BPL) ou à celui du segment jéjunal correspondant de rats pseudo-opérés ([Figure 1A](#)). La taille des villosités et la profondeur de la crypte de la RL ont été augmentées, ce qui a entraîné une muqueuse plus épaisse, et aucune modification de la BPL n'a été observée ([Figure 1B](#)). L'augmentation de la surface moyenne des muqueuses a été maintenue pendant plus de 40 jours ([figure complémentaire 3A](#)). De plus, les cellules de la crypte de la RL hyperplasique étaient très prolifératives, comme en témoignent l'immunocoloration dense de la muqueuse par Ki67 ([figure 1C](#)) et l'augmentation du nombre de cellules Ki67 positives ([figure 1D](#)). Fait remarquable, chez l'humain, la RL était hypertrophique avec une augmentation évidente de la surface muqueuse ([figure 1E](#)) et une augmentation de la profondeur de la crypte ( $241 \pm 37$  mm vs  $163 \pm 10$  mm dans le groupe témoin), mais aucun changement dans la taille des villosités ( $674 \pm 35$  mm vs  $705 \pm 16$  mm dans le groupe témoin). Le nombre de cellules Ki67 positives a également augmenté ( $51 \pm 7$  cellules/crypte contre  $38 \pm 1$  cellules/crypte dans le groupe témoin) ([Figure 1F](#)).

### Augmentation du nombre de cellules endocrines dans le membre hypertrophique de l'anse alimentaire

Une conséquence directe de la surcroissance des NR a été une augmentation locale du nombre de cellules productrices de BPL1- ([figures 2A](#) et [B](#)) et de GIP ([figure 2C](#)). Par conséquent, la sécrétion de GLP-1 induite par le glucose a augmenté ([Figure 4 complémentaire](#)). Cependant, il n'y a jamais eu de changements dans la densité moyenne de ces cellules entéroendocrines ([Figure 2B](#) et [C](#)). Les mêmes observations ont été faites dans la RL chez





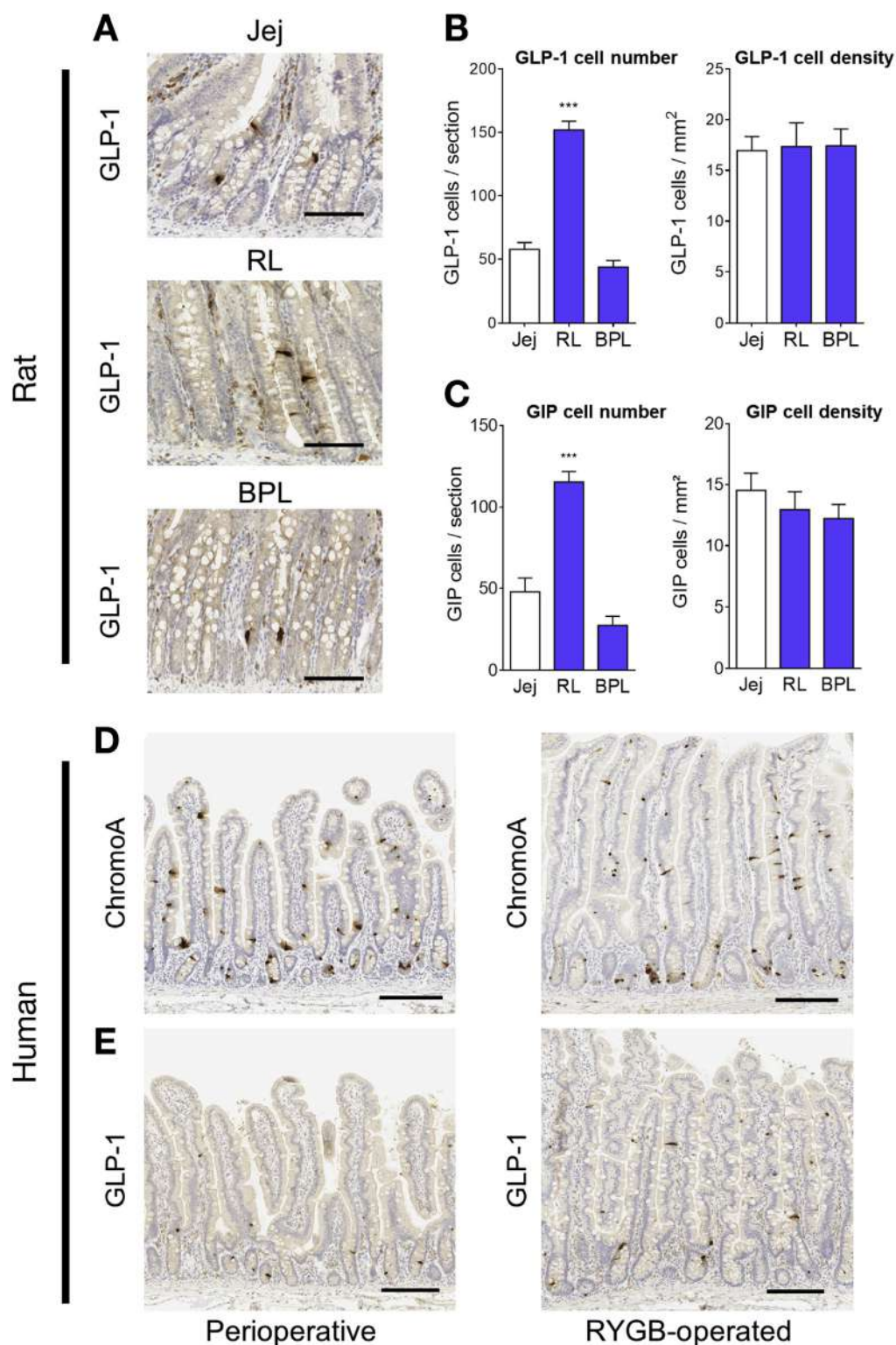
**Figure 1.** Hypertrophie et cellules de crypte hautement prolifératives dans la RL après chirurgie RYGB. (A, C) Images représentatives de la section (A) tachée d'hémaroxiline-phloxine-safran (HPS) ou de la section (C) non tachée de Ki67 de la LR et de la BPL alimentaires de rats RYGB et du segment jéjunal correspondant (Jej) de rats pseudo-opérés 14 jours après la chirurgie. Échelle graphique 1 mm en (A) et 100 μm en (C). (B, D) Analyses morphométriques montrant la surface muqueuse, la hauteur des villosités et la profondeur de la crypte (B) et le nombre de cellules immunoréactives Ki67 par crypte (D) dans la LR et la BPL des rats ayant subi un RYGB (n 4), et le jéjunum des rats pseudo-opérés (Jej) (n 5) 14 jours après la chirurgie. Les données sont représentées par les moyennes  $\pm$  SEM. \*P < 0,05, \*\*P < 0,01 vs chirurgie simulée, basées sur l'analyse de la variance avec correction de Bonferroni pour des comparaisons multiples. (E, F) Images représentatives d'une section de muqueuse de jéjunum (F) de la muqueuse de la RL teintée de HPS (E) et de Ki67-immunocolorée d'un patient qui a subi un RYGB (droite) 1 an après une chirurgie, comparativement à une section périopératoire du jéjunum chez un patient obèse (gauche). Échelle graphique 1/4 500 μm.

les humains RYGB, où aucune variation n'a été observée dans la densité moyenne des cellules entéroendocrines (c.-à-d. les cellules chromograniques A positives) ou des cellules sécrétant du GLP-1 (figures 2D et E).

### Expression précoce et inhabituelle du transporteur de glucose GLUT1 dans l'anse alimentaire du Roux-en-Y

Nous avons étudié l'expression de divers transporteurs de sucre dans la RL hyperplasique (Figure 3A et B) et la BPL non hyperplasique (Figure complémentaires 5A et B) après une chirurgie RYGB chez le rat. L'expression des gènes codant pour les transporteurs intestinaux prédominants, c'est-à-dire le co-transporteur 1 de glucose dépendant du sodium (SGLT1) et le transporteur GLUT2 de glucose facilitant le transport n'ont pas augmenté 2 semaines après l'intervention, et l'expression du transporteur GLUT5 de fructose a eu tendance à diminuer (Figure 3A). Toutefois, l'activité de transport SGLT1 mesurée dans une chambre de Ussing a doublé dans la RL à 14 jours (DIsc  $5,3 \pm 0,5$  mA/cm<sup>2</sup> en sham vs DIsc  $16,6 \pm 5,6$  mA/cm<sup>2</sup> en RL de RYGB ; P < 0,05). Le gène transporteur du glucose Glut1, habituellement à peine exprimé

dans l'intestin mature, a été surexprimé dans la RL hyperplasique (Figure 3A), mais pas dans la BPL (Figure 4A complémentaire). L'immunocoloration du GLUT1 sur des sections de muqueuse de la LR a révélé une forte expression baso-latérale de GLUT-1 chez les rats et les patients ayant fait l'objet d'un RYGB (Figure 3C et D), montrant une réponse adaptative similaire à la chirurgie chez les humains. Fait intéressant, 40 jours après l'intervention, les taux d'ARN messager (ARNm) de Glut1 sont demeurés élevés, mais l'expression des gènes codants pour SGLT1, GLUT2 et GLUT5 a également augmenté dans la RL (Figure 3B), mais pas dans la BPL (Figure 5B complémentaire). À l'inverse, l'ARNm de Glut3 est resté à un niveau basal (Figure 3A et B, Figure complémentaire 5A et B) et l'ARNm de Glut4 n'a jamais été détecté dans l'intestin (non montré). L'apparition de GLUT1 nous a incités à mesurer les niveaux d'expression des gènes hypoxiques inductibles. L'ARNm de HIF-1a a augmenté dans la RL et diminué dans la BPL 14 jours après l'intervention chez le rat (Figure 3A et Figure 5A complémentaire) et l'ARNm du VEGF, a augmenté de manière spécifique dans la RL 40 jours après l'intervention (Figure 3B et Figure 5B complémentaire).



**Figure 2.** Hausse du nombre de cellules entéroendocrines après chirurgie RYGB.

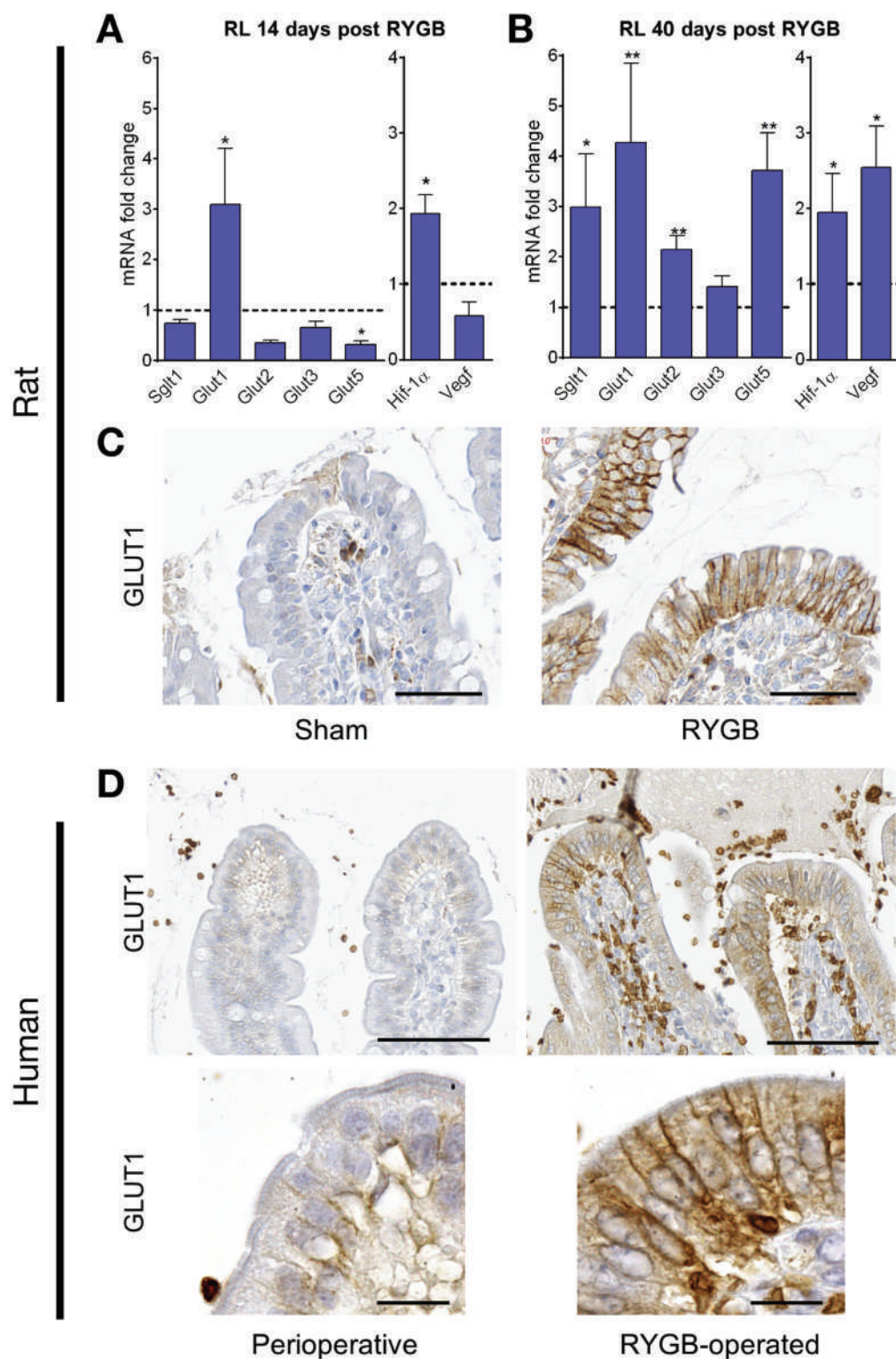
(A) Images représentatives de l'immunocoloration GLP1 dans les sections RL et BPL de rats RYGB et de jéjunum de rats pseudo-opérés 14 jours après la chirurgie. Échelle graphique 100  $\mu$ m. Nombre de BPL1(B) et GIP (C) par section et par  $\text{mm}^2$  dans la RL et la BPL des rats après chirurgie RYGB (n 4) ou dans le jéjunum de rats pseudo-opérés (n 5), 14 jours après la chirurgie. Les données sont représentées par les moyennes  $\pm$  SEM. \*\*\*P < 0,001 vs fausse chirurgie, en analyse de variance avec correction de Bonferroni pour des comparaisons multiples. (D,E) Images représentatives de l'immunocoloration de la chromogranine A (D) et du GLP1 (E) dans les sections RL d'un patient qui a subi un RYGB (à droite) un an après l'opération et dans les sections correspondantes du jéjunum d'un sujet obèse (à gauche). Échelle graphique 200  $\mu$ m.

### Augmentation de la séquestration du glucose dans l'anse en Y de Roux

Nous nous sommes ensuite interrogés sur l'impact fonctionnel de l'expression modifiée des transporteurs de sucre dans l'anse alimentaire (RL) sur la manipulation intestinale du glucose. Nous avons effectué des études ex vivo sur le transport ex vivo de segments RL de rats soumis à la RYGB et de segments jéjunaux de faux rats, avec du  $[^{14}\text{C}]$ -glucose radiomarké (figure 4). Le transport en fonction du temps du glucose du côté muqueux vers le côté séreux (imitant l'absorption alimentaire du glucose) était identique dans les groupes RYGB et faux, et sensible à la phlorétine (Figure 4A). Cependant, des quantités plus importantes de  $[^{14}\text{C}]$ -glucose ont été trouvées dans la muqueuse de la LR après

60 minutes (2,5 fois ; P < 0,001 vs sham ; figure 4B). Le transport du glucose du côté séreux au côté muqueux (imitant le transport du glucose sanguin) n'a pas été affecté par la chirurgie RYGB (Figure 4C), mais de plus grandes quantités de  $[^{14}\text{C}]$ -glucose ont été mesurées après 60 minutes dans la muqueuse RL à des niveaux 5 fois plus élevés que ceux des segments jéjunaux pseudo-opérés (P < .001 vs chirurgie simulée, Figure 4D). In vivo, la réponse glycémique observée après une charge orale de glucose chez les rats RYGB s'est améliorée dès 14 jours après la chirurgie RYGB, avec une cinétique similaire de l'apparition du glucose dans le sang, mais un retour accéléré à une glycémie normale comparativement aux rats ayant subi un simulacre d'intervention ou aux animaux n'ayant pas encore subi d'intervention (Figure 4E).





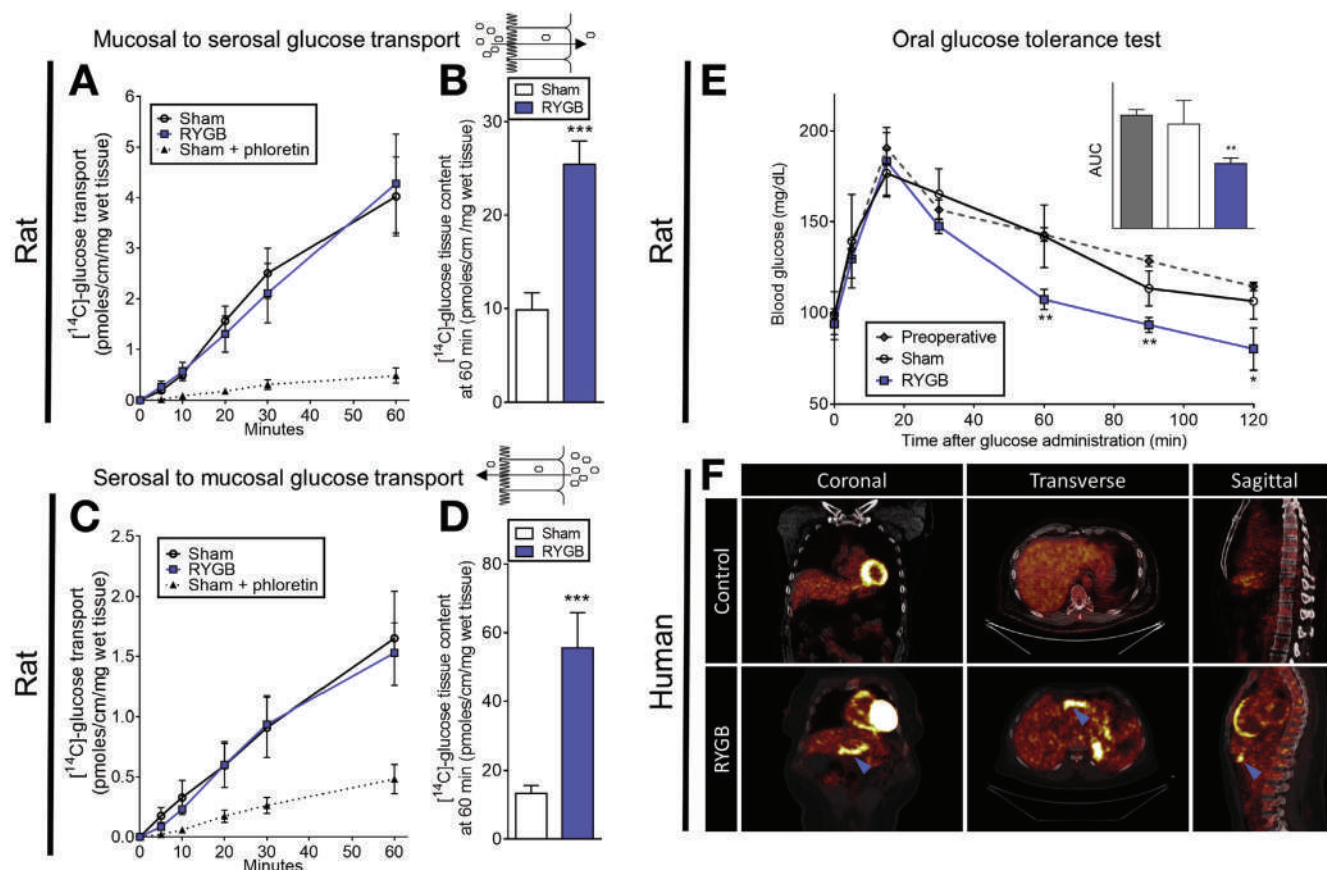
**Figure 3.** Induction précoce du transporteur de glucose GLUT1 dans la LR après une chirurgie RYGB. (A, B) Niveaux relatifs d'ARNm pour les transporteurs de sucre et les gènes inducibles par hypoxie dans la muqueuse de la LR à (A) 14 jours (n 4) ou (B) 40 jours (n 5) après RYGB. Les lignes pointillées indiquent les taux moyens d'ARNm des gènes correspondants dans la muqueuse jéjunale de rats pseudo-opérés (n 5). Les données sont représentées par les moyennes  $\pm$  SEM. \*P < 0,05, \*\*P < 0,01 par rapport à des rats pseudo-opérés, dans le test Mann-Whitney U. (C) Images représentatives de l'immunocoloration par GLUT1 dans des coupes de muqueuse RL de rats RYGB et de coupes jéjunales correspondantes de rats pseudo-opérés 14 jours après l'opération. Échelle graphique 50  $\mu$ m. (D) Images représentatives de l'immunocoloration par GLUT1 dans des sections RL d'un patient qui a subi un an après l'intervention chirurgicale RYGB et dans les sections correspondantes de la muqueuse du jéjunum d'un sujet obèse. Échelle graphique 100  $\mu$ m (panneaux supérieurs). Grossissement élevé : panneaux inférieurs. Échelle graphique 1/20  $\mu$ m.

Nous avons ensuite remis en question la pertinence physiologique de ces résultats pour les humains en examinant les données de la TEP/TDM pour les personnes qui avaient subi une chirurgie RYGB. Tous les patients analysés ayant subi une RYGB présentaient une absorption anormale de  $[^{18}\text{F}]$ -FDG par la RL intestinale. L'un d'eux présentait une forte activité hypermétabolique dans la RL, caractérisée par une absorption intense de  $[^{18}\text{F}]$ -FDG sur les images TEP corrigées par atténuation (Figure 4F et Vidéo complémentaire 1). Les deux autres patients ayant fait l'objet d'une RYGB présentaient également une absorption anormale de  $[^{18}\text{F}]$ -FDG par la RL intestinale, bien que plus limitée que le premier patient. En comparaison, aucune absorption anormale n'a été observée dans le jéjunum correspondant

de 4 patients témoins (appariés pour l'IMC) (figure 4F et Vidéo complémentaire 1).

### **La sleeve gastrectomie n'induit pas d'hypertrophie intestinale, mais augmente le nombre et la densité des cellules positives du glucagon-like peptide-1**

Nous avons ensuite étudié le remodelage jéjunale chez des rats sujets à la VSG (Texte complémentaire 2 et Figure complémentaire 6). Deux semaines après l'intervention, le jéjunum n'était pas hypertrophique et son diamètre n'a pas changé par rapport au jéjunum des rats pseudo-opérés (Figure 5A). La hauteur des villosités, mais pas la profondeur de la crypte, a été légèrement



**Figure 4.** L'augmentation de la consommation de glucose par le RL alimentaire après RYGB est associée à une meilleure tolérance orale au glucose.

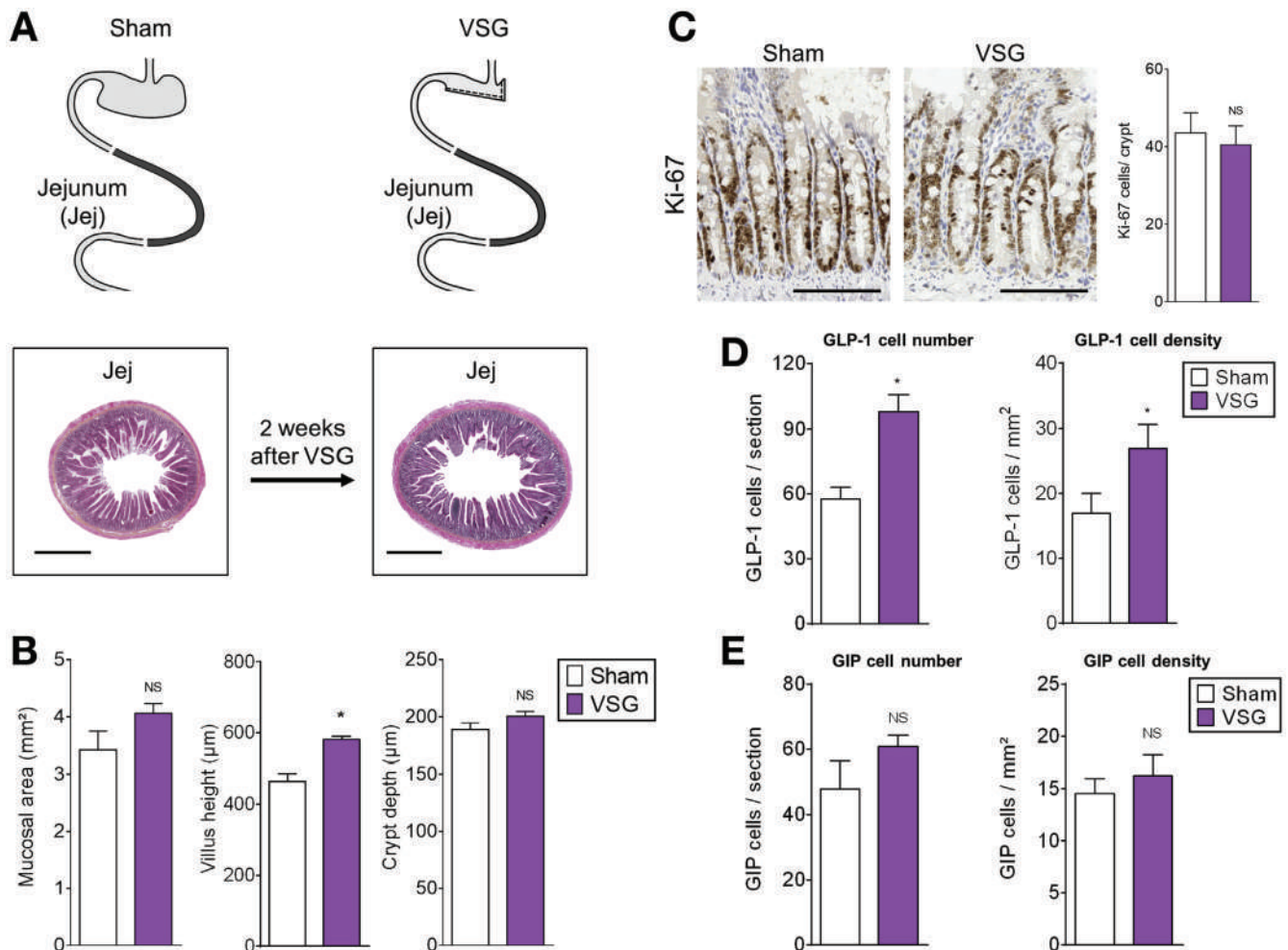
(A) Évolution temporelle du transport du glucose [ $^{14}\text{C}$ ] de la muqueuse au sérosal à travers la LR des rats RYGB (n=4) et le segment de jejunum correspondant chez des rats pseudo-opérés avec (n=3) et sans (n=8) phlorétine, 14 jours après la chirurgie. (B) Teneur en glucose des muqueuses [ $^{14}\text{C}$ ] des segments intestinaux à 60 minutes, montrant une plus grande séquestration du glucose alimentaire dans la LR chez les rats RYGB (n=4) que dans le segment jéjunal équivalent chez les rats pseudo-opérés (n=8). Les données sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM. \*\*\*P < 0,001 par rapport aux rats pseudo-opérés dans les tests Mann-Whitney U. (C) Évolution temporelle du transport sérique à muqueux du [ $^{14}\text{C}$ ]-glucose à travers la LR des rats RYGB (n=4) et le segment de jejunum correspondant chez des rats pseudo-opérés avec (n=3) et sans (n=8) phlorétine 14 jours après la chirurgie. (D) Teneur en glucose séreux [ $^{14}\text{C}$ ] des segments intestinaux à 60 minutes, montrant une plus grande séquestration du glucose périphérique dans la LR chez les rats RYGB (n=4) que dans le segment jéjunal équivalent chez les rats pseudo-opérés (n=8). Les données sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM. \*\*\*P < 0,001 par rapport aux rats pseudo-opérés dans les tests Mann-Whitney U. (E) Taux de glycémie après une charge orale de glucose (1 g/kg) et l'aire calculée correspondante sous la courbe (ASC, en médaillon) chez des rats obèses avant (préopératoire, n=12) et 12 jours après RYGB (n=4) ou une chirurgie placebo (n=5). Les données sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM. \*P < 0,05, \*\*P < 0,01, par rapport à la valeur préopératoire, dans une analyse bidirectionnelle de la variance suivie d'une correction de Bonferroni pour de multiples comparaisons. (F) Images représentatives d'un individu témoin et d'un patient RYGB à partir d'un scanner TEP/TDM [ $^{18}\text{F}$ ]-FDG du corps entier. La pointe de flèche bleue montre une forte absorption de [ $^{18}\text{F}$ ]-FDG par le RL chez un patient qui a subi un RYGB (signal jaune-blanc) comparé au signal indétectable dans le jejunum d'un patient témoin compatible IMC illustrant l'activité hypermétabolique du RL chez un patient RYGB.

augmentée (Figure 5B). La surface muqueuse moyenne n'a changé ni après 14 jours (Figure 5B) ni après 40 jours (Figure complémentaire 3B). Par conséquent, le nombre de cellules Ki67-positives est demeuré semblable à celui des rats pseudo-opérés (Figure 5C). Cependant, le nombre et la densité des cellules sécrétant le GLP-1, mais non les cellules sécrétant le GIP, ont augmenté dans le jejunum du rat opéré par VSG après 14 jours (Figure 5D et E). Par conséquent, les taux plasmatiques de GLP-1 ont augmenté 30 minutes après une charge de glucose par voie orale chez les rats opérés par VSG comparativement aux rats pseudo-opérés (Figure complémentaire 4).

### La sleeve gastrectomie n'induit pas de GLUT1 et réduit l'absorption intestinale de glucose

Contrairement à ce que nous avons observé pour la RL hyperplasique après RYGB, aucun changement dans le niveau d'expression du transporteur de sucre jéjunale dominant n'est survenu après VSG et l'induction de GLUT1 n'a été détectée ni 14 jours ni 40 jours après la chirurgie (Figure 6A). Le transport du glucose en fonction du temps du côté muqueux vers le côté séreux (imitant l'absorption alimentaire du glucose) a nettement diminué après la VSG (Figure 6B). De plus, le transport séreux-muqueux du [ $^{14}\text{C}$ ]-glucose (imitant l'absorption de glucose sanguin) a été légèrement amélioré (Figure 6D). Contrairement au RYGB, où des quantités plus élevées de [ $^{14}\text{C}$ ]-glucose ont été mesurées dans la muqueuse de la RL après 60 minutes, les quantités





**Figure 5.** La VSG n'induit pas d'hypertrophie intestinale, mais augmente la densité et le nombre de cellules GLP1-positives. (A) Coupe transversale représentative du jéjunum d'un rat VSG et d'un rat pseudo-opéré, 14 jours après l'opération. Échelle graphique=1 mm. (B) Analyses morphométriques du jéjunum montrant la surface muqueuse des sections, la hauteur des villosités et la profondeur de la crypte chez des rats VSG (n=5) par rapport aux rats pseudo-opérés (n=5) 14 jours après l'intervention chirurgicale. Les données sont exprimées en moyenne ± SEM. \*P < 0,05, pas significatives en comparaison des rats pseudo-opérés, dans le test de Mann-Whitney U. (C) Images représentatives de coupes immunostatiques de Ki67 et de quantification de cellules proliférantes positives de Ki67 dans les cryptes du jéjunum de rats soumis à une chirurgie VSG ou à une fausse chirurgie, 14 jours après la chirurgie. Échelle graphique=¼ 100 mm. Pas significative en comparaison des rats pseudo-opérés, dans le test de Mann-Whitney U. (D, E) Quantification de (D) GLP1 et (E) GIP-cellules immunoréactives par section et par mm<sup>2</sup> de sections de jéjunum de rats VSG (n=¼ 4) et de rats pseudo-opérés (n=¼ 5). Échelle graphique=¼ 100 mm. Les données sont exprimées en moyenne ± SEM. \*P < 0,05, pas significatives par rapport aux rats pseudo-opérés, dans le test Mann-Whitney U.

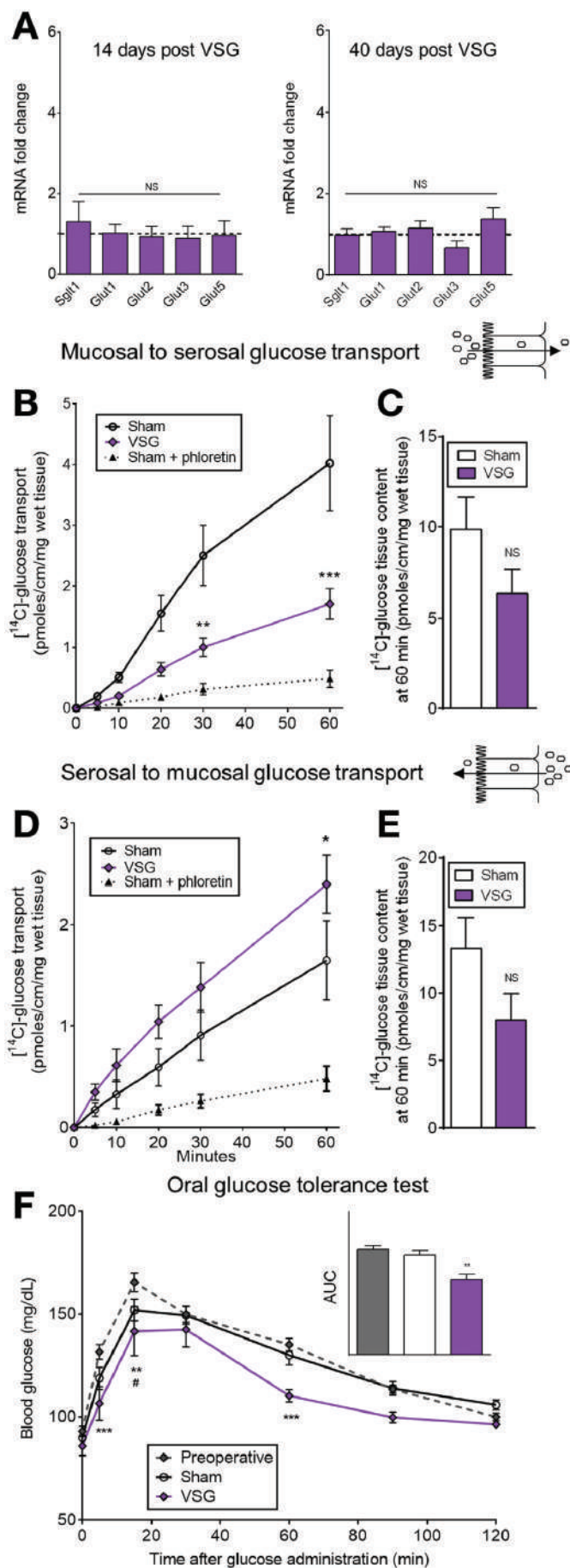
de [<sup>14</sup>C]-glucose n'étaient pas différentes dans la muqueuse du jéjunum des rats opérés par VSG (peu importe leur origine alimentaire ou sanguine) (Figure 6C et E). In vivo, la réponse glycémique observée après une charge orale de glucose chez des rats opérés par VSG s'est améliorée, mais avec une apparition retardée du glucose dans le sang (absorption réduite) et un retour accéléré à la normale, comparativement aux animaux pseudo-opérés artificiellement ou n'ayant pas encore subi d'interventions (Figure 6F).

## Discussion

Dans cette étude, nous avons directement comparé l'impact de deux interventions bariatriques sur la capacité de transport du glucose de l'intestin chez des rats obèses suivant un régime alimentaire. Nous avons identifié 2 ajustements distincts, mais rapides affectant la morphologie intestinale et la manipulation du glucose (Figure 7). En réponse à la VSG, la capacité de transport

du glucose est réduite et la densité des cellules sécrétant le GLP-1 est augmentée. En réponse au RYGB, l'intestin est devenu hyperplasique, augmentant de facto le nombre de cellules sécrétant le GLP-1, mais, plus important encore, détournant le glucose de ses propres besoins de croissance. Ces deux mécanismes sont concomitants avec une tolérance au glucose améliorée après l'intervention chirurgicale. Enfin, la pertinence physiologique de ces données a été étendue aux personnes obèses après RYGB.

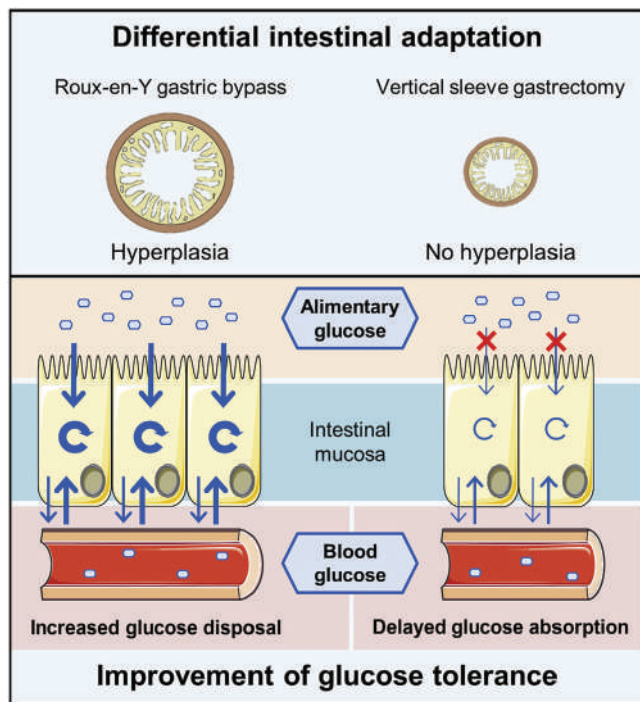
Il est généralement admis que les entérohormones, en particulier les GLP-1 en particulier, jouent un rôle dans l'amélioration du glucose sanguin après chirurgie bariatrique.<sup>27</sup> Dans nos études sur les rats, nous avons confirmé qu'il n'y avait aucun changement dans la densité moyenne des cellules GLP-1 entéroendocrines productrices après chirurgie RYGB.<sup>21</sup> Les mêmes observations ont été faites concernant l'anse alimentaire à propos des humains ayant subi un RYGB, où aucune variation ne fut observée quant à la densité moyenne de ces cellules (par exemple, les cellules



chromogranines A positives) et les cellules GLP-. Ces résultats contrastent avec les observations récentes faites par deux groupes différents qui ont signalé une augmentation de la densité des cellules GLP1 et GIP un an après RYGB chez l'humain.<sup>28,29</sup> Cependant, une conséquence directe de la surcroissance de RL après RYGB était une augmentation locale du nombre de cellules produisant des GLP1 et GIP. Ainsi, même en l'absence d'une modification de la densité cellulaire, l'augmentation de la masse intestinale entraîne directement une augmentation de la population de cellules sécrétrices, ce qui pourrait à son tour contribuer à une augmentation de la sécrétion incrétine en réponse à un stimulus, comme nous l'avons déjà signalé.<sup>3,18,30</sup> Fait intéressant, dans notre modèle du rat opéré par VSG, le nombre et la densité des cellules GLP-1 ont augmenté dans le jéjunum après 14 jours. Cette observation contraste avec les données récentes montrant que le nombre de cellules sécrétant le GLP-1 n'a pas changé 3 mois après la VSG chez le rat.<sup>21</sup> Néanmoins, ce serait une explication raisonnable du taux plus élevé de sécrétion de GLP-1 que nous avons observé avec d'autres.<sup>12</sup> Globalement, nos résultats suggèrent une amélioration précoce du glucose sanguin après chirurgie, mais la manière dont les interventions impactent la distribution cellulaire entéroendocrine reste controversée. Des analyses cinétiques permettraient de déterminer si l'augmentation signalée de la densité des cellules GLP-1 et GIP est un phénomène transitoire et pourraient expliquer l'écart entre les observations aux stades précoce et avancé.

**Figure 6.** La VSG diminue l'absorption intestinale du glucose. (A) Niveaux relatifs d'ARNm des transporteurs de sucre dans la muqueuse jéjunale de rats soumis à la VSG 14 jours (n=4) ou 40 jours (n=5) après la chirurgie. La ligne pointillée indique les niveaux moyens d'ARNm chez les rats opérés artificiellement (n=5). Les données sont représentées par les moyennes  $\pm$  SEM. (B, D) Évolution temporelle du transport du glucose de la muqueuse au sérosal (B) et du sérosal au muqueux (D) [<sup>14</sup>C]-glucose à travers le jéjunum de rats soumis à une VSG (n=6) et à une fausse chirurgie, avec (n=3) ou sans (n=8) phlorétine, 14 jours après la chirurgie. Les données sont représentées par les moyennes  $\pm$  SEM. \*P < .05, \*\*P < .01, \*\*\*P < .001 par rapport aux faux rats, dans l'analyse de variance à deux voies avec correction Bon-Ferroni pour des comparaisons multiples. (C-E) [14C]-teneur en glucose des segments intestinaux à 60 minutes. Aucune différence dans la séquestration du glucose alimentaire (C) ou périphérique (E) dans les segments jéjunaux n'a été observée entre le VSG et les faux rats. Les données sont représentées par les moyennes  $\pm$  SEM. NS, et non significatives, dans le test de Mann-Whitney U. (F) Taux de glycémie après administration d'une charge orale de glucose (1 g/kg) et surface calculée correspondante sous la courbe (ASC, insérer) chez des rats obèses avant (préopératoire, n=16) et 12 jours après VSG (n=5) ou une fausse chirurgie (n=9). Les données sont représentées par les moyennes  $\pm$  SEM. #P < 0,05 (simulacre ou préopératoire), \*\*P < 0,05,01, \*\*\*P < 0,001 (VSG vs préopératoire), en analyse bidirectionnelle de la variance avec correction de Bonferroni pour des comparaisons multiples.





**Figure 7.** Vue schématique des adaptations intestinales différentielles après RYGB et VSG conduisant à une amélioration de la tolérance au glucose. En réponse au RYGB, l'intestin est devenu hyperplasique, le transport alimentaire du glucose et l'absorption du glucose sanguin a augmenté, mais le glucose a été séquestré par les cellules épithéliales pour leur propre usage. En réponse à la VSG, la capacité de transport du glucose alimentaire a été réduite et une légère augmentation du transport trans-épithélial du glucose du sang au lumen a été détectée. Les deux adaptations intestinales contribuent à améliorer la tolérance au sucre après la chirurgie.

L'hypertrophie de la RL après RYGB a déjà été signalée chez de nombreux modèles de rats.<sup>16-21</sup> La surface muqueuse moyenne similaire observée 14 et 40 jours après la chirurgie dans notre modèle de rats RYGB suggère que la surcroissance de la RL est un processus très rapide réalisé dans les 2 semaines suivant la chirurgie. Les nouvelles caractéristiques morphométriques de la RL sont maintenues au fil du temps, pendant au moins un an après l'intervention chirurgicale chez les rongeurs.<sup>18,19</sup> Cette réponse précoce de la RL était caractérisée par la surexpression d'un seul transporteur de sucre, GLUT-1, qui est normalement mal exprimé dans le jéjunum mature.<sup>31</sup> Il a été démontré que le GLUT-1 augmentait l'apport de glucose aux cellules cancéreuses proliférantes en réponse à l'hypoxie<sup>32</sup>. Par conséquent, les taux d'ARNm codant pour le facteur HIF1 inducible par hypoxie ont augmenté dans les 14 jours suivant l'intervention chez le rat. Cela suggère que l'approvisionnement en oxygène pourrait être insuffisant pour soutenir l'hyperplasie massive. Cette hypothèse a été renforcée par la surexpression supplémentaire de l'ARNm de VEGF après 40 jours. Le facteur de transcription HIF1 régule directement le GLUT-1.<sup>33,34</sup> Il pourrait donc déclencher la reprogrammation du métabolisme du glucose signalée précédemment,<sup>19,21</sup> fournissant l'énergie supplémentaire nécessaire. Parallèlement à l'aspect basolatéral du GLUT-1, une amélioration de l'activité SGLT1 apicale a été mesurée au niveau de la RL

des rats ayant subi un RYGB. Ainsi, le SGLT1 apical peut agir avec le GLUT-1 basolatéral pour augmenter l'absorption du glucose par l'épithélium RL et permettre de répondre aux besoins énergétiques. Des études sur le transport intestinal ont révélé que de plus grandes quantités de glucose absorbé demeuraient dans la muqueuse de la RL, ce qui suggère que la RL alimentaire augmente l'absorption du glucose de la lumière pendant la digestion et le consomme pour satisfaire ses propres besoins énergétiques. L'augmentation de l'absorption et de la consommation de glucose alimentaire et circulant par les cellules épithéliales de la RL peut améliorer l'élimination du glucose pendant et entre les repas, améliorant ainsi le contrôle glycémique. Une étude antérieure analysant la biodistribution du [<sup>18</sup>F]-FDG chez le rat<sup>19</sup> a classé l'intestin remodelé au deuxième rang des consommateurs de glucose après le cerveau. Nous étendons ensuite ces résultats aux humains. L'hyperplasie intestinale après une chirurgie RYGB, avec apparition du transporteur de glucose GLUT-1 à la membrane basolatérale, entraîne une augmentation de la consommation de glucose par la RL. L'élimination du glucose qui en résulte pourrait contribuer à une meilleure tolérance au glucose observée chez le rat et à la guérison du diabète signalé chez l'humain.<sup>1</sup> L'une des limites de la présente étude est le petit nombre de patients qui rend délicate la formulation de conclusions solides sur l'adaptation intestinale humaine. Cependant, la surexpression du GLUT-1 et l'activité hypermétabolique de la RL observées chez des patients ayant subi un RYGB à différents stades post-chirurgicaux ont fourni des preuves de la pertinence physiologique potentielle de ces résultats chez les humains.

Alors que l'induction précoce de GLUT-1 peut être cruciale pour soutenir la surcroissance énergétique de l'intestin après RYGB, la surexpression subséquente des autres transporteurs intestinaux, SGLT1, GLUT2 et GLUT5, pourrait permettre l'augmentation de l'absorption de sucre pour contrebalancer la malabsorption générée par le raccourcissement intestinal. Ces deux étapes du processus d'adaptation intestinale peuvent contribuer différemment aux effets précoces et à long terme de la chirurgie RYGB. Ils pourraient réconcilier les observations controversées antérieures sur les schémas d'expression des transporteurs de sucre après chirurgie.<sup>17,19,22,24</sup>

Par rapport au RYGB, la VSG est une intervention moins intrusive impliquant une résection chirurgicale d'une grande partie de l'estomac, mais qui entraîne une amélioration similaire des concentrations de glucose à jeun indépendamment de la perte de poids.<sup>3,4</sup> Grâce à de faibles taux de complications et de courts séjours hospitaliers, la VSG devient la chirurgie bariatrique la plus populaire des pays développés. Néanmoins, on en sait peu sur ses mécanismes d'action et, à ce jour, aucune étude ne s'est penchée sur les conséquences de cette chirurgie sur la manipulation intestinale du glucose, à l'exception d'une publication récente faisant état d'une absence d'augmentation de l'expression de la protéine hexokinase II après VSG comparativement au RYGB.<sup>21</sup> Nous avons directement comparé et mis en évidence des adaptations intestinales en réponse à une chirurgie VSG vs RYGB, en utilisant nos modèles pour rats. Aucune hypertrophie de la muqueuse du jéjunum, aucune induction de GLUT-1 et aucun changement dans

Traduction libre le niveau d'expression du transporteur de sucre jéjunale prédominant n'est survenu 14 jours ou 40 jours après la VSG. Cette absence d'hypertrophie intestinale, confirmée après 3 mois dans une étude récente<sup>21</sup>, montre qu'une augmentation de l'élimination du glucose par l'intestin hypertrophique n'est pas susceptible d'expliquer les améliorations à court ou à long terme du glucose sanguin provoquées par la VSG. Aucune augmentation de la séquestration du glucose, quelle que soit son origine (alimentaire ou sanguine), n'a été observée dans le jéjunum des rats opérés par VSG. Cependant, le transport du glucose alimentaire a nettement diminué après la VSG, ce qui suggère que le jéjunum VSG avait une capacité d'absorption inférieure du glucose alimentaire. Une légère, mais significative augmentation du transport transepithélial du glucose du sang vers le lumen a également été détectée. L'origine de cette régulation est inconnue, mais la VSG peut améliorer la tolérance au glucose en retardant l'entrée du glucose alimentaire, et éventuellement en libérant une partie du glucose sanguin dans le lumen. Ces résultats concordaient avec la réponse glycémique retardée observée après une charge orale de glucose chez nos rats et rapportée chez les humains.<sup>35</sup> Le remodelage expérimental pourrait jouer un rôle majeur dans l'amélioration initiale de l'homéostasie du glucose après les deux interventions, non seulement par une meilleure sécrétion d'insuline, mais aussi par la manipulation du glucose intestinal. Une autre conséquence du remodelage gastro-intestinal par chirurgie bariatrique que nous n'avons pas abordée dans cette étude est l'accélération de la vidange gastrique, bien qu'elle puisse être importante pour l'augmentation de la sécrétion et du glucose sanguin.<sup>11-13</sup> D'autres études interventionnelles chez le rat seront nécessaires pour évaluer les contributions relatives de chacun de ces paramètres dans la régulation du glucose sanguin.

Dans cette étude, nous rapportons que les interventions bariatriques induisent des changements profonds dans la manipulation du glucose par l'intestin, bien que les mécanismes sous-jacents diffèrent considérablement entre la VSG et le RYGB (Figure 7). Dans le RYGB, le glucose alimentaire et le glucose sanguin sont séquestrés par les cellules épithéliales pour leur propre usage, tandis que dans la VSG, l'absorption du glucose alimentaire par l'intestin est réduite. Des études supplémentaires auprès d'un plus grand nombre de patients sont nécessaires pour comprendre si ces mécanismes adaptatifs sont des déterminants clés de la résolution du diabète chez les humains. Nos résultats, néanmoins, révèlent l'intestin reconfiguré comme un contributeur supposé de l'amélioration du glucose sanguin et contrecarrent l'idée intuitive que le RYGB et la VSG doivent partager un mécanisme d'action commun pour une efficacité similaire.

## Ressources complémentaires

Remarque : pour accéder aux ressources complémentaires accompagnant cet article, visitez la version en ligne de Gastroentérologie l'adresse [www.gastrojournal.org](http://www.gastrojournal.org), et à <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2015.10.009>.

## Références

1. Rubino F, Schauer PR, Kaplan LM, et al. Metabolic surgery to treat type 2 diabetes: clinical outcomes and mechanisms of action. *Annu Rev Med* 2010;61:393–411.
2. Pournaras DJ, Osborne A, Hawkins SC, et al. Remission of type 2 diabetes after gastric bypass and banding: mechanisms and 2 year outcomes. *Ann Surg* 2010;252:966–971.
3. Chambers AP, Jessen L, Ryan KK, et al. Weight-independent changes in blood glucose homeostasis after gastric bypass or vertical sleeve gastrectomy in rats. *Gastroenterology* 2011;141:950–958.
4. Schauer PR, Bhatt DL, Kirwan JP, et al. Bariatric Surgery versus intensive medical therapy for diabetes—3-year outcomes. *N Engl J Med* 2014;370:2002–2013.
5. Ardestani A, Rhoads D, Tavakkoli A. Insulin cessation and diabetes remission after bariatric surgery in adults with insulin-treated type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2015;38:659–664.
6. Isbell JM, Tamboli RA, Hansen EN, et al. The importance of caloric restriction in the early improvements in insulin sensitivity after Roux-en-Y gastric bypass surgery. *Diabetes Care* 2010;33:1438–1442.
7. Lingvay I, Guth E, Islam A, et al. Rapid improvement in diabetes after gastric bypass surgery. *Diabetes Care* 2013;36:2741–2747.
8. Lips MA, de Groot GH, van Klinken JB, et al. Calorie restriction is a major determinant of the short-term metabolic effects of gastric bypass surgery in obese type 2 diabetic patients. *Clin Endocrinol (Oxford)* 2014;80:834–842.
9. Sweeney TE, Morton JM. Metabolic surgery: action via hormonal milieu changes, changes in bile acids or gut microbiota? A summary of the literature. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2014;28:727–740.
10. Holst JJ. Enteroendocrine secretion of gut hormones in diabetes, obesity and after bariatric surgery. *Curr Opin Pharmacol* 2013;13:983–988.
11. Marathe CS, Rayner CK, Jones KL, et al. Relationships between gastric emptying, postprandial glycemia, and incretin hormones. *Diabetes Care* 2013;36:1396–1405.
12. Chambers AP, Smith EP, Begg DP, et al. Regulation of gastric emptying rate and its role in nutrient-induced GLP-1 secretion in rats after vertical sleeve gastrectomy. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2014;306:E424–E432.
13. Seeley RJ, Chambers AP, Sandoval DA. The role of gut adaptation in the potent effects of multiple bariatric surgeries on obesity and diabetes. *Cell Metab* 2015;21:369–378.
14. Campbell JE, Drucker DJ. Pharmacology, physiology, and mechanisms of incretin hormone action. *Cell Metab* 2013;17:819–837.
15. Mingrone G, Castagneto-Gissey L. Mechanisms of early improvement/resolution of type 2 diabetes after bariatric surgery. *Diabetes Metab* 2009;35:518–523.
16. Bueter M, Löwenstein C, Olbers T, et al. Gastric bypass increases energy expenditure in rats. *Gastroenterology* 2010;138:1845–1853.e1.
17. Taqi E, Wallace LE, de Heuvel E, et al. The influence of nutrients, biliary-pancreatic secretions, and systemic trophic hormones on intestinal adaptation in a Roux-en-Y bypass model. *J Pediatr Surg* 2010;45:987–995.
18. Mumphy MB, Patterson LM, Zheng H, et al. Roux-en-Y gastric bypass surgery increases number but not density of CCK-, GLP-1-, 5-HT-, and neurotensin-expressing enteroendocrine cells in rats. *Neurogastroenterol Motil* 2013;25:e70–e79.



19. Saeidi N, Meoli L, Nestoridi E, et al. Reprogramming of intestinal glucose metabolism and glycemic control in rats after gastric bypass. *Science* 2013;341:406–410.
20. Hansen CF, Bueter M, Theis N, et al. Hypertrophy dependent doubling of L-cells in Roux-en-Y gastric bypass operated rats. *PLoS One* 2013; 8:e65696.
21. Mumphrey MB, Hao Z, Townsend RL, et al. Sleeve gastrectomy does not cause hypertrophy and reprogramming of intestinal glucose metabolism in rats. *Obes Surg* 2015:1–6.
22. Stearns AT, Balakrishnan A, Tavakkolizadeh A. Impact of Roux-en-Y gastric bypass surgery on rat intestinal glucose transport. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2009;297:G950–G957.
23. Bhutta HY, Deelman TE, le Roux CW, et al. Intestinal sweet-sensing pathways and metabolic changes after Roux-en-Y gastric bypass surgery. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2014;307:G588–G593.
24. Nguyen NQ, Debrececi TL, Bambrick JE, et al. Upregulation of intestinal glucose transporters after Roux-en-Y gastric bypass to prevent carbohydrate malabsorption. *Obesity* 2014;22:2164–2171.
25. Fernández-López JA, Casado J, Argilés JM, et al. Intestinal handling of a glucose gavage by the rat. *Mol Cell Biochem* 1992;113:43–53.
26. Arapis K, Cavin JB, Gillard L, et al. Remodeling of the residual gastric mucosa after Roux-En-Y gastric bypass or vertical sleeve gastrectomy in diet-induced obese rats. *PLoS One* 2015;10:e0121414.
27. Salehi M, D'Alessio DA. Effects of glucagon like peptide-1 to mediate glycemic effects of weight loss surgery. *Rev Endocr Metab Disord* 2014;15:171–179.
28. Rhee NA, Wahlgren CD, Pedersen J, et al. Effect of Roux-en-Y gastric bypass on the distribution and hormone expression of small-intestinal enteroendocrine cells in obese patients with type 2 diabetes. *Diabetologia* 2015;58:2254–2258.
29. Nergård BJ, Lindqvist A, Gislason HG, et al. Mucosal glucagon-like peptide-1 and glucose-dependent insulinotropic polypeptide cell numbers in the super-obese human foregut after gastric bypass. *Surg Obes Relat Dis* 2015 Apr 2. pii: S1550-7289(15)00095-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.soard.2015.03.021> [Epub ahead of print].
30. Papamargaritis D, Miras AD, Roux CW le. Influence of diabetes surgery on gut hormones and incretins. *Nutr Hosp* 2013;28(Suppl 2):95–103.
31. Thorens B. Glucose transporters in the regulation of intestinal, renal, and liver glucose fluxes. *Am J. Physiol Gastrointest Liver Physiol* 1996;270:G541–G553.
32. Szablewski L. Expression of glucose transporters in cancers. *Biochim Biophys Acta* 2013;1835:164–169.
33. Ebert BL, Firth JD, Ratcliffe PJ. Hypoxia and mitochondrial inhibitors regulate expression of glucose transporter-1 via distinct Cis-acting sequences. *J Biol Chem* 1995;270:29083–29089.
34. Chen C, Pore N, Behrooz A, et al. Regulation of glut1 mRNA by hypoxia-inducible factor-1 interaction between H-ras and hypoxia. *J Biol Chem* 2001;276:9519–9525.
35. Jiménez A, Ceriello A, Casamitjana R, et al. Remission of type 2 diabetes after Roux-en-Y gastric bypass or sleeve gastrectomy is associated with a distinct glycemic profile. *Ann Surg* 2015;261:316–322.

Les noms en caractères gras désignent les auteurs qui se partagent le droit à la paternité de l'œuvre.

Reçu le 24 juillet 2015. Accepté le 7 octobre 2015.

#### Demandes de réimpression

Veuillez adresser vos demandes de réimpression à : Dr Maude Le Gall, Dysfonctionnements gastro-intestinaux et métaboliques en pathologies nutritionnelles, Centre de recherche sur l'inflammation Paris Montmartre, Inserm UMRS 1149, Université Paris Diderot Paris 7, Faculté de médecine Site Bichat 16, rue Henri Huchard, 75890 Paris CEDEX 18, France. E-mail : [maude.le-gall@inserm.fr](mailto:maude.le-gall@inserm.fr); fax : (33) (0) 157 277 471.

#### Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier l'équipe de Nathalie Kapel du Service de coprologie fonctionnelle de l'APHP pour les analyses de selles ; le professeur D. Le Guludec, responsable de la plateforme d'imagerie FRIM et chef du Service de physique nucléaire ; O. Thibaudet et S. Ameur pour leur aide dans les expériences histologiques ; I. Descatoire pour l'aide aux analyses histologiques ; L. Aline pour l'aide technique ; et J. Le Beyec, H. Duboc et S. Ledoux pour leurs commentaires. Maude Le Gall remercie L. Arnaud pour son soutien constant.

#### Conflits d'intérêt

Les auteurs ne déclarent aucun conflit.

#### Financement

Ces travaux ont été financés par le ministre français de l'Enseignement supérieur et de la Recherche, l'INSERM et l'Université Paris Diderot.

## Procédures expérimentales complémentaires

### Chirurgie animale et procédures post-chirurgicales

Des rats Wistar mâles pesant 220 240 g ont été nourris avec une alimentation riche en matières grasses (Altromin C45) pendant 16 semaines. Les rats obèses suivant un régime alimentaire pesant  $675 \pm 50$  g ont été divisés en groupes RYGB, VSG et pseudo-opérés. Ils ont jeûné la nuit précédant l'opération. L'anesthésie a été induite par injection intrapéritonéale de pentobarbital (Ceva, Libourne, France). Des procédures aseptiques standard ont été utilisées tout au long du processus. Après laparotomie, l'estomac a été isolé à l'extérieur de la cavité abdominale. Des connexions gastriques lâches avec la rate et le foie ont été libérées le long de la plus grande courbure et le ligament de suspension supportant le fond supérieur a été sectionné.

### Bypass gastrique Roux-en-Y

Le préestomac a été réséqué à l'aide d'un pistolet agrafeur Échelon 45 mm à cartouche bleue (Ethicon, Issy-les-Moulineaux, France). Puis la poche gastrique a été créée avec une agrafeuse TA-DST 30 mm-3,5 mm (Covidien, Courbevoie, France) préservant l'apport artériel et veineux. Le jéjunum a été coupé à 15 cm du pylore. La RL a été anastomosée à la poche gastrique et l'anse biliopancréatique a été anastomosée de manière distale à 20 cm de l'anastomose gastro-jéjunale avec des sutures courantes en polydioxanone 6-0.

### ***Sleeve gastrectomie***

Après la résection du préestomac telle que décrite, 80 % de l'estomac a été réséqué avec une application d'agrafeuse Echelon de 45 mm, laissant une mince sonde gastrique en continuité avec l'œsophage et maintenant l'antrum en place.

### ***Pseudo-chirurgie***

Pour imiter la chirurgie, l'estomac a été retouché avec un pistolet à agrafes non armé pour le pseudo-RYGB et la pseudo-VSG, et le jéjunum a été coupé et réparé pour le pseudo-RYGB.

Pour toutes ces interventions, la laparotomie a été fermée par suture au polyglycolide 5.0 en 2 couches.

### ***Soins postopératoires***

La santé et le comportement de chaque animal ont été évalués quotidiennement. Les rats opérés par RYGB ont été privés de nourriture pendant 48 heures après l'opération. Ils ont reçu des injections sous-cutanées de 12 mL de Bionolyte G5 (Baxter, Maurepas, France) deux fois par jour pendant cette période. Dès le 35<sup>e</sup> jour, ils ont eu accès à une alimentation liquide (C-0200 ; Altromin ; Genestil, Royaucourt, France), qui correspond à 50 kcal/j (50 % de l'apport préopératoire). Le libre accès à un régime alimentaire solide normal (Altromin 1324 ; Genestil) a été autorisé dès le 6<sup>e</sup> jour.

Les rats opérés par VSG ont été maintenus sans nourriture pendant 24 heures après l'opération, mais ils ont reçu des injections sous-cutanées de Bionolyte G5 de 12 mL (Baxter, Maurepas, France) deux fois par jour. Du 2<sup>e</sup> au 3<sup>e</sup> jour, ils ont eu accès à une alimentation liquide (Altromin C-0200 ; Genestil), qui correspond à 50 kcal/j (50 % de l'apport préopératoire). Le libre accès à un régime alimentaire solide normal (Altromin 1324 ; Genestil) a été autorisé dès le quatrième jour.

Les rats pseudo-opérés ont reçu les mêmes soins postopératoires que le groupe chirurgical correspondant.

### ***Analyses postopératoires***

Le poids corporel et l'apport alimentaire ont été mesurés quotidiennement et l'apport calorique quotidien moyen a été calculé. Quatorze ou 40 jours après l'intervention chirurgicale, les rats ont été euthanasiés après une privation nocturne de nourriture et des segments de l'intestin ont été échantillonnés comme illustré ([Figure 1 complémentaire](#)).

### ***Analyses des selles***

Dix jours après l'opération, les rats ont été transférés dans des cages métaboliques. La quantité totale de nourriture consommée a été enregistrée chaque jour. Les selles ont été recueillies tous les jours et entreposées à -20°C. Les selles recueillies pendant 3 jours ont été regroupées et des analyses ont été effectuées sur des échantillons homogénéisés. La teneur énergétique totale a été déterminée par une bombe calorimétrique (Bombe caloriométrique PARR 1351; société Parr Instrument, Moline, IL). La perte calorique fécale représentait la proportion de l'énergie ingérée récupérée dans les selles.

### ***Test de tolérance au glucose par voie orale***

Les rats ont été à jeun pendant 16 heures avant d'être soumis à un test oral de tolérance au glucose. Le sang a été prélevé dans la veine de la queue avant (t=0) et 5, 15, 30, 60, 90 et 120 minutes après la charge orale de glucose (1 g/kg de poids corporel). Les taux de glycémie ont été mesurés avec le système AccuChek (Roche Diagnostics, Meylan, France) et exprimés en mg/dL.

### ***Mesure de la concentration plasmatique du glucagon-like peptide-1***

Les rats ont été à jeun pendant 16 heures avant d'être soumis à une charge orale de glucose (1 g/kg de poids corporel). Du sang (200 µL), prélevé dans la veine caudale avant (t 0) et 30 minutes et demie après le gavage, a été prélevé en présence d'un inhibiteur de la DPP-IV (Roche, Indianapolis, IN) pour limiter la dégradation du GLP-1 actif. Les concentrations plasmatiques de GLP-1 actif dans le plasma de rats étaient quantifiées sur un analyseur Luminex MagPix200 utilisant un panneau d'hormone intestinale de rat Milliplex (RMHMAG-84K ; Merck Millipore, Billerica, MA).

### ***Histologie et immunohistochimie***

De manière habituelle, lorsque les patients obèses subissent une chirurgie RYGB, un échantillon est prélevé dans le jéjunum en contact étroit avec l'anastomose. Lorsque les patients sont opérés pour des complications après RYGB, l'anastomose gastro-jéjunale est réséquée et un échantillon de jéjunum est prélevé à 5 cm de l'anastomose pour analyse. Les patients faisant l'objet d'un RYGB subissaient de nouvelles opérations pour des ulcères persistants, un syndrome de déversement ou des dilatations de la poche 15 ans après la chirurgie RYGB initiale ([Tableau complémentaire 1](#) pour une description détaillée des patients). Chez le rat, les segments intestinaux ont été échantillonnés comme illustré ([Figure 1 supplémentaire](#)) 14 jours ou 40 jours après l'opération. Les échantillons de rats et d'humains ont été immédiatement fixés à la formaline pendant la nuit. Des lames brutes de trois micromètres ont été découpées dans chaque bloc pour effectuer soit une coloration au safran à l'hématoxyline-phloxine-phloxine, soit une coloration immunologique avec des anticorps Ki67, GLP-1, chromogranine A, GIP et GLUT-1. L'immunohistochimie a été réalisée à l'aide d'un colorant immunohistochimique automatisé selon les directives du fabricant (Bond-Max Autostainer ; Leica, Wetzlar, Allemagne), après déparaffinage et réhydratation des sections paraffin et récupération des antigènes par prétraitement à température élevée à pH 9. Après la récupération de l'antigène, les sections tissulaires ont été immunomarquées avec des anticorps primaires utilisés comme suit : rat Ki67 (M7248 ; Dako, Carpinteria, CA) : dilué 1:25, p H6 ; humain Ki67 (M7240 ; Dako) : dilué 1:100, pH 9 ; rat GLUT-1 (E2844 ; Spring Bioscience, Pleasanton, CA) : dilué 1 :200, pH 6 ; GLUT1 humain (53519 ; Freemont, CA) : dilué à 1:200, pH 6 ; chromogranine A humaine (M0869 ; Dako) : dilué à 1:250, pH 6 ; GIP rat (T-4053 ; Peninsula Laboratories, San Carlos, CA) : dilué 1:3000, pH 6 ; GLP1 rat (AB26278 ; Abcam, Cambridge, MA) : dilué 1:3000, pH 9. La substitution de l'anticorps primaire par une solution



saline tamponnée au phosphate a été utilisée comme témoin négatif. Par la suite, les tissus ont été incubés avec un polymère d'anticorps secondaire pendant 10 minutes (Bond Polymer Refine détection ; DS9800 ; Leica Microsystems, Wetzlar, Allemagne) et développés avec du chromogène DAB pendant 10 minutes. Les contrôles positifs internes consistaient en des globules rouges pour GLUT-1 et le noyau des cellules de la crypte pour Ki67. Les immunocolorations ont été évaluées par deux pathologistes ignorant les données cliniques (A.C. et M.H., Service de pathologie, hôpital Bichat). Chaque lame a été numérisée avec un système Aperio ScanScope CS (Leica Microsystems SAS, Nanterre, France). Les analyses morphométriques ont été effectuées à l'aide du logiciel Calopix (TRIBVN, Chatillon, France) sur 3 à 4 sections distantes par échantillon provenant de rats. Le nombre de cellules immunoréactives Ki67 par crypte a été évalué dans 3 à 4 cryptes à partir de 3 à 4 sections transversales de chaque anse intestinale pour chaque animal. Des moyens ont été utilisés pour les analyses statistiques.

### Transcription inverse et réaction quantitative en chaîne de la polymérase en temps réel

L'ARN total a été extrait de prélèvements de muqueuses intestinales congelées avec un réactif TRIzol (Invitrogen, Saint Aubin, France). Un microgramme de chaque échantillon a été converti en ADN complémentaire à l'aide du kit de synthèse d'ADNc Verso (Thermo Scientific, Waltham, MA). Les amorces ont été conçues à l'aide du centre de conception des essais de Roche ou basées sur des études antérieures ; elles ont toutes été synthétisées par Eurogentec (Angers, France). L'amplification en chaîne par polymérase en temps réel a été réalisée à l'aide du système Light Cycler 480 (Roche Diagnostics, Indianapolis, IN) selon les instructions du fabricant et dans les conditions suivantes : 15 minutes de dénaturation à 95°C, suivies de 50 cycles de 10 secondes à 95°C, 45 secondes à 60°C et 10 secondes à 72°C. Des courbes de fusion ont été réalisées pour chaque réaction, de 55°C à 95°C à 0,11°C/s. Les valeurs Ct du gène d'intérêt ont été normalisées avec 2 gènes de référence différents (L19 et HPRT), qui ont été choisis après de multiples comparaisons avec de nombreux gènes de référence. Les amorces utilisées dans cette étude sont présentées ici.

Gene	NCBI accession no.	Sequence
<i>Glut1</i>	NM_138827	GTGCTCGGATCCCTGCAGTTCG GGGATGGACTCTCCATAGCGGTG
<i>Glut2</i>	NM_012879	AAAGCCCCAGATACCTTTACCT TGCCCTTAGTCTTTCAAGC
<i>Glut3</i>	NM_017102	GCGCAGCCCTTCCGTTTTGC CGCTGGAGGATCTCCGTCGC
<i>Glut5</i>	NM_031741	GCCTTCGGAGTGTCTTGG GGCAGGGACTCCAGTCAG
<i>Hif1<math>\alpha</math></i>	NM_024359	AAGCACTAGACAAAGCTCACCTG TTGACCATATCGCTGTCCAC
<i>Hprt</i>	NM_012583	GACCGGTTCTGTCATGTGCG ACCTGGTTTCATCATCACTAATCAC
<i>L19</i>	NM_031103	TGCCGGAAGAACACCTTG GCAGGATCCTCATCCTTCG
<i>Sglt1</i>	NM_013033	GAAGGGTGCATCGGAGAAG CAATCAGCACGAGGATGAAC
<i>Vegf</i>	NM_031836	GAGTTAAACGAACGTAAGTGCAGA TCTAGTTCGCCGAACCCCTGA

### Mesure de l'activité de SGLT1

Des segments intestinaux ont été ouverts le long du bord mésentérique et placés entre les 2 moitiés d'une chambre d'Ussing (Easy Mount P2312 ; Physiologic Instrument, San Diego, CA ; zone exposée : 0,50 cm<sup>2</sup>). Les tissus ont été baignés avec 4 mL de solution KRB avec 10 mM de glucose dans le compartiment sérologique et 10 mM de mannitol dans le compartiment muqueux. Les solutions ont été gazées avec 95 % d'O<sub>2</sub> et 5 % de CO<sub>2</sub> et maintenues à une température constante de 37°C. Le transport d'ions électrogènes a été surveillé en continu en tant que courant de court-circuit (Isc) par un appareil automatique à pince de tension (DVC 1000 ; WPI, Aston, UK) relié par une interface Lab-Trax-4 à un ordinateur. La conductance ionique des tissus a été calculée selon la loi d'Ohm. Le transporteur de glucose sodo-dépendant SGLT1 a été stimulé par 10 mM de glucose. Les résultats ont été exprimés sous forme de différence (DIsc) entre le pic Isc (mesuré dans les 10 minutes) et l'Isc basal (mesuré juste avant l'addition de glucose).

### Transport du glucose et dosage de la consommation

Le transport du glucose a été analysé ex vivo à l'aide d'une anse jéjunale comme décrit précédemment.<sup>1</sup>

En résumé, quatre segments intestinaux de 3 cm étaient remplis avec une solution tampon de Krebs-Ringer au bicarbonate contenant 30 mM de D-glucose avec 0,1 mCi/mL [<sup>14</sup>C]- glucose (activité spécifique 49,5 mCi/mmol) et avec ou sans phlorétine 100 mM, un inhibiteur du transporteur de glucose. Chaque segment a été ligaturé aux deux extrémités et incubé dans un bain contenant un tampon de Krebs thermostaté à 37°C à pH 7,4 avec un gaz à 95 % O<sub>2</sub> 5 % CO<sub>2</sub>. Le transport du glucose d'une muqueuse à l'autre a été surveillé respectivement au moyen d'anses intestinales isolées inversées et non inversées. Le transport du glucose en fonction du temps [<sup>14</sup>C] a été déterminé par échantillonnage dans le bain à 0, 5, 10, 20, 30 et 60 minutes. Après 60 minutes, des anses intestinales isolées ont été collectées, rincées, pesées et homogénéisées avec Ultra-Turrax (Ika, Wilmington, NC) pour quantification de radioactivité. La radioactivité a été mesurée à l'aide d'un compteur bêta (compteur à scintillation liquide Beckman LS 6000 TA). La perméabilité apparente (Papp) a été utilisée pour évaluer le transport selon l'équation suivante Papp (dQ / dt) \$ (V / Q0 \$ A), où V est le volume du milieu d'incubation, A est la surface de l'anse, Q0 est le glucose total radiomarqué introduit dans l'anse et dQ/dt est le flux dans l'anse intestinale.

### Tomographie par émission de positrons

Sept patients ont été sélectionnés rétrospectivement à partir des dossiers du Service de médecine nucléaire de l'hôpital Bichat. Trois patients ayant fait l'objet d'un RYGB et quatre patients témoins (sans maladies gastro-intestinales ni cancer) ont été évalués avec [<sup>18</sup>F]-FDG PET/CT pour la détection du bilan des tumeurs thoraciques, de la maladie de Horton ou la détection de site d'infection ou d'inflammation. Les patients ont fait l'objet d'examens d'imagerie médicale, en moyenne 4 ans après l'intervention chirurgicale ([Tableau complémentaire 2](#) pour

## *Traduction libre*

une description détaillée des patients). Le TEP et la TDM ont été réalisés avec un système hybride TEP/TDM (Discovery 690 ; GE Health- care). L'imagerie a débuté 60 minutes après l'injection de  $^{18}\text{F}$ -FDG par un tomodensitogramme non amélioré à faible dose (120 kV, 80 mA), qui a été suivi d'un TEP du corps entier en mode tridimensionnel avec un temps d'acquisition de 4 minutes par position du lit. L'imagerie TEP n'a été effectuée que si le glucose sanguin à jeun était  $< 7,7$  mmol/L avant l'injection de  $^{18}\text{F}$ -FDG. le glucose sanguin moyenne était de  $4,9 \pm 0,4$  mmol/L dans le groupe RYGB et de  $5,9 \pm 1,1$  mmol/L dans le groupe témoin. Le  $^{18}\text{F}$ -FDG a été injecté par voie intraveineuse à une dose de 4 MBq/kg ; la dose moyenne était de  $295 \pm 66$  MBq dans le groupe RYGB et  $361 \pm 110$  MBq dans le groupe témoin. Les questions du TEP $^{18}\text{F}$ -FDG ont été interprétées à l'aide du Advantage Work-station du TEP/TDM (GE Healthcare) par deux médecins expérimentés en médecine nucléaire qui ignoraient le statut du groupe

des sujets. Les deux médecins ont travaillé séparément, puis, en cas de divergences, ils ont examiné les images ensemble pour parvenir à un consensus. L'analyse des images était basée sur l'interprétation visuelle et la mesure semi-quantitative de l'absorption du  $^{18}\text{F}$ -FDG. Il ressort de l'analyse visuelle que l'activité hypermétabolique anormale dans les zones abdominales a été classée comme positive ou négative et une augmentation de l'absorption du  $^{18}\text{F}$ -FDG dans ces zones a été confirmée sur des images TEP non atténuées/corrigées.

## *Analyses statistiques*

Des analyses statistiques ont été effectuées avec GraphPad Prism version 6.0 (GraphPad Software, San Diego, CA). Les superficies sous les courbes ont été calculées à l'aide de la méthode des trapèzes.



**Supplementary Table 1.**Patients Included for Histologic Analyses

	Patient no.	Sex	Age, y	BMI, kg/m <sup>2</sup>	Indication for reoperation	Time after RYGB surgery, mo
RYGB operated group <sup>a</sup>	1	F	30	37	Persistent ulcer	12
	2	M	32	36	Dumping syndrome	29
	3	F	46	38.8	Weight regain and pouch dilation	36
	4	F	50	39.9	Persistent ulcer	53
	5	F	56	27.8	Persistent ulcer	60
Obese control group	1	F	65	54.2	N/A	N/A
	2	M	38	49.8	N/A	N/A
	3	M	58	61	N/A	N/A

N/A, not applicable.  
<sup>a</sup>None of those patients have experienced intestinal obstruction or any other known issues that could have directly impacted the histologic characteristics of the samples.

**Supplementary Table 2.**Patients included for [<sup>18</sup>F]-FDG PET/CT Scan Analyses

Group	Patient no.	Sex	Age, y	BMI, kg/m <sup>2</sup>	Time after RYGB surgery, mo
RYGB operated	1	F	54	27.7	48
	2	F	49	27.8	38
	3	F	64	33.3	50
Control	1	M	73	28.8	N/A
	2	F	80	29.1	N/A
	3	F	56	36.7	N/A
	4	M	49	27.7	N/A

N/A, not applicable.

## Texte complémentaire 1

Pour évaluer l'adaptation histologique et fonctionnelle de la LR alimentaire après l'intervention chirurgicale, nous avons effectué des RYGB chez des rats obèses induits par l'alimentation (figures 2A et B supplémentaires). Les rats Wistar mâles nourris à haute teneur en matières grasses pendant 4 mois ont été opérés et soumis à des soins postopératoires pendant 6 jours avant d'avoir accès ad libitum à une alimentation solide normale. La combinaison d'une intervention chirurgicale et de soins postopératoires avec un régime alimentaire liquide (restriction calorique) a entraîné une perte de poids substantielle, qui était plus élevée chez les rats RYGB que chez les rats pseudo-opérés (figure 2C complémentaire). La perte de poids était principalement due à une diminution de l'apport alimentaire (Figure complémentaire 2D) plutôt qu'à une malabsorption, car la perte calorique fécale n'a pas changé après la chirurgie (Figure complémentaire 2E). Le rôle accessoire joué par la malabsorption, comparativement à la diminution de l'apport alimentaire, sur la perte de poids a déjà été décrit dans quelques études.<sup>2,3</sup> Les rats traités par RYGB ont montré une meilleure tolérance orale au glucose comparativement à l'état préopératoire 12 jours après l'intervention (figure 4). La restriction calorique pendant la période de soins postopératoires intensifs, la perte de poids et le changement de régime alimentaire n'étaient pas indiqués sur le site ne suffisaient pas à déclencher une amélioration de la tolérance au glucose chez les rats pseudo-opérés par rapport à l'état préopératoire (Figure 4). Ces données soulignent le rôle crucial de la chirurgie dans l'amélioration initiale du glucose sanguin postopératoire.

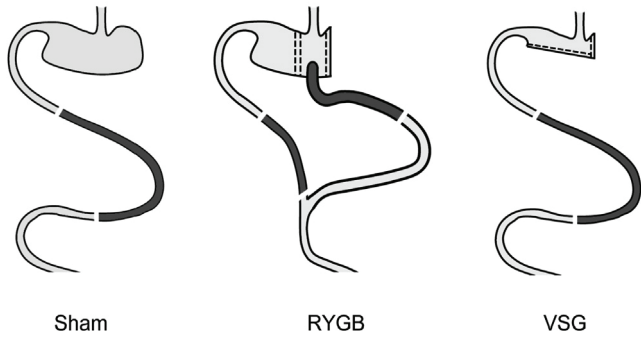
## Texte complémentaire 2

Pour comparer directement l'adaptation histologique et fonctionnelle du jéjunum après VSG et RYGB, nous avons réalisé une VSG chez des rats obèses suivant un régime alimentaire (Figure 6 complémentaire). Les rats opérés par VSG et les rats pseudo-opérés ont été soumis à des soins postopératoires pendant 3 jours avant d'avoir accès ad libitum à un régime alimentaire solide et normal. La combinaison de l'intervention chirurgicale et des soins postopératoires avec un régime alimentaire liquide

(restriction calorique) a entraîné une perte de poids substantielle, qui était plus élevée chez les rats opérés par VSG que chez les rats pseudo-opérés (Figure complémentaire 6A). La perte de poids était principalement due à une diminution de l'apport alimentaire (Figure 6B complémentaire). Chez les rats pseudo-opérés 12 jours après l'intervention chirurgicale, la restriction calorique pendant la période de soins postopératoires intensifs, la perte de poids et le changement de régime alimentaire ne suffisaient pas à améliorer la tolérance au glucose par rapport à l'état préopératoire (Figure 6F). Au contraire, les rats opérés par VSG présentaient une tolérance au glucose par voie orale améliorée par rapport à l'état préopératoire 12 jours après l'opération (Figure 6F). Ces données mettent en lumière le rôle crucial de la chirurgie dans l'amélioration initiale de la tolérance au glucose sanguin postopératoire. Il est à noter que la différence dans la perte de poids et l'apport alimentaire chez les rats pseudo-opérés par VSG et pseudo-opérés par RYGB est due à des différences dans les soins postopératoires. Les rats pseudo-opérés par VSG avaient accès à de la nourriture normale dès les 4 jours suivant l'intervention chirurgicale et perdaient moins de poids que les rats pseudo-opérés par RYGB qui n'avaient accès à de la nourriture normale ad libitum que 6 jours après l'intervention (Figure complémentaire 2C et Figure complémentaire 6A). Toutefois, l'adaptation jéjunale et la manipulation du glucose intestinal 2 semaines après l'intervention n'étaient pas différentes entre les pseudo-opérés par RYGB et VSG, confirmant que la perte de poids et la restriction calorique en soi n'étaient pas responsables de l'adaptation intestinale et d'une meilleure tolérance au glucose observées après RYGB ou VSG.

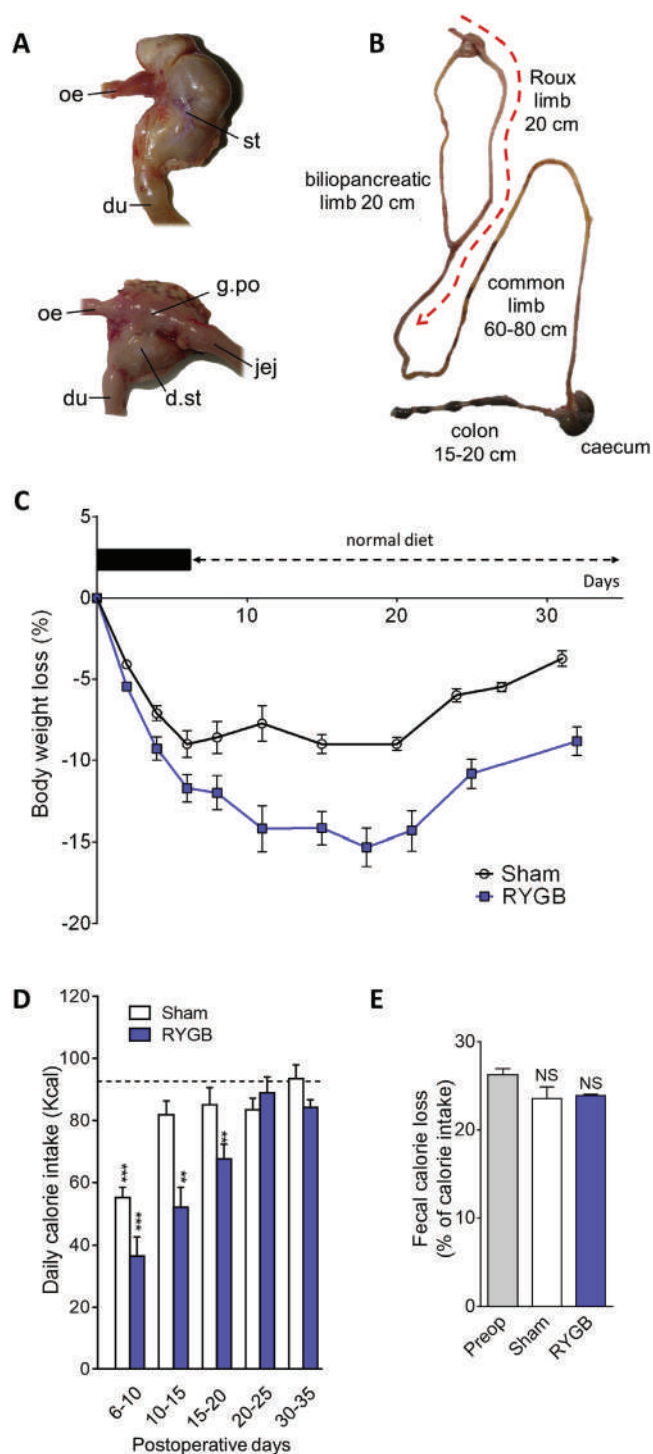
## Références

1. Tavernier A, Cavin J-B, Gall ML, et al. Intestinal deletion of leptin signaling alters activity of nutrient transporters and delayed the onset of obesity in mice. *FASEB J* 2014; 28:4100–4110.
2. Odstrcil EA, Martinez JG, Ana CAS, et al. The contribution of malabsorption to the reduction in net energy absorption after long-limb Roux-en-Y gastric bypass. *Am J Clin Nutr* 2010;92:704–713.
3. Sandoval D. Bariatric surgeries: beyond restriction and malabsorption. *Int J Obes* 2011;35(Suppl 3):S45–S49.



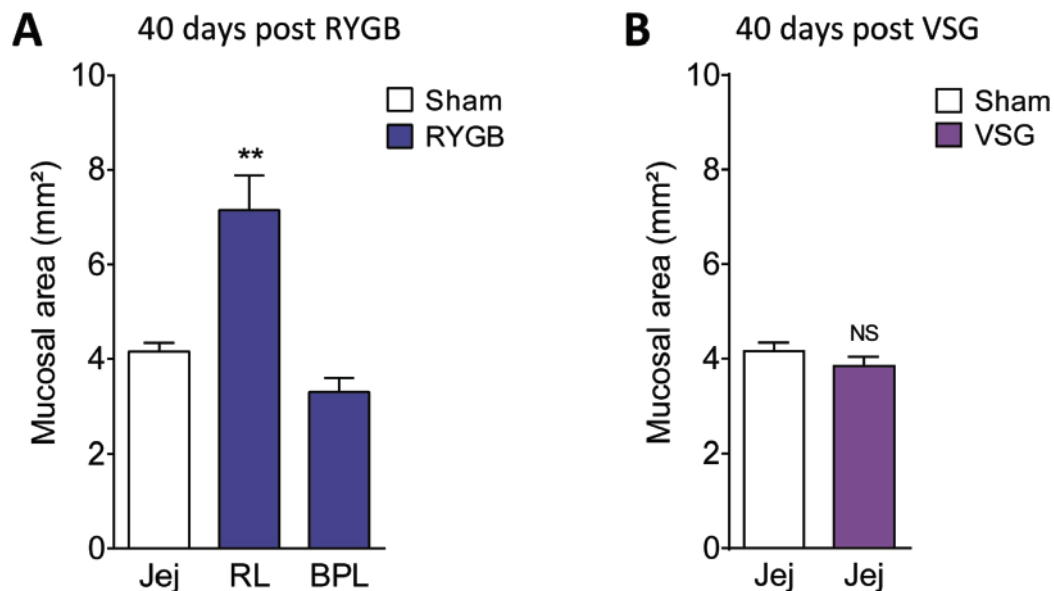
**Supplementary Figure 1.** Sampling of intestinal segments.





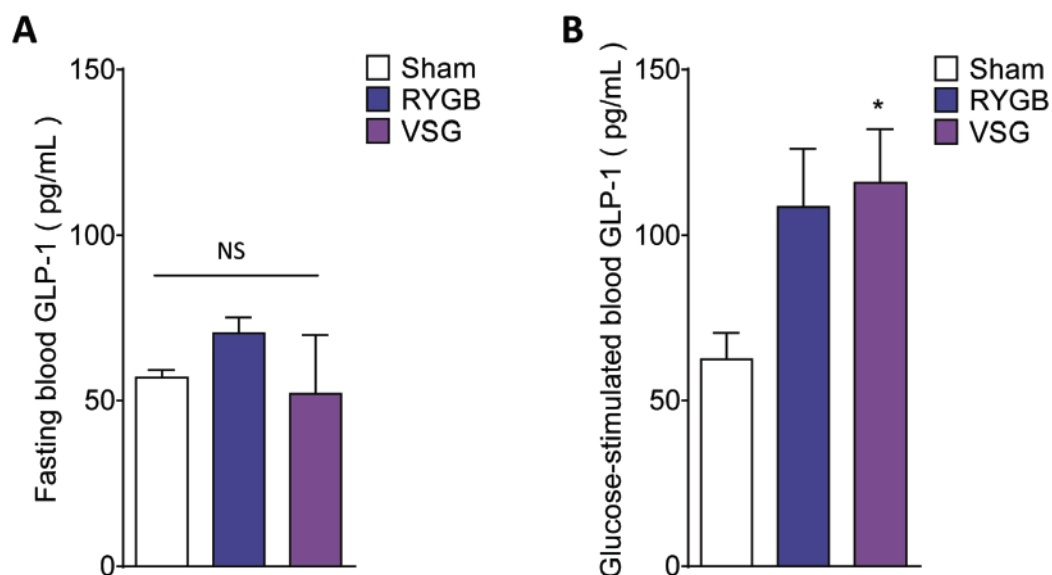
## Figure complémentaire 2.

(A) Vues macroscopiques post-mortem de l'estomac d'un rat 14 jours après chirurgie simulée (panneau supérieur) ou RYGB (panneau inférieur). La chirurgie RYGB entraîne l'ingestion d'aliments à partir de l'œsophage (oe) jusqu'à la poche gastrique (g.po), puis directement au jéjunum (jej) du RL, en contournant l'estomac distal (d.st), le duodénum (du), et une partie du jéjunum proximal. (B) Vue post-mortem du tractus gastro-intestinal d'un rat après une chirurgie RYGB, montrant les longueurs du RL, de l'anse biliopancréatique (qui draine les sécrétions gastriques, hépatobiliaires et pancréatiques) et de l'anse commune après RYGB avec, dans la continuité, le caecum et le colon. La ligne pointillée rouge indique le nouveau chemin suivi par les aliments. (C) Perte de poids corporel après une intervention chirurgicale chez les rats subissant un RYGB- (n 11) et les rats pseudo-opérés (n 9). La boîte noire correspond à la période de soins postopératoires (5 jours) avant que les animaux n'aient librement accès à une alimentation solide et normale. Les données indiquées sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM. (D) Changements dans l'apport calorique quotidien après la chirurgie. La ligne pointillée indique l'apport calorique moyen avant chirurgie. Les données indiquées sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM. \*\*P < 0,01, \*\*\*P < 0,001, par rapport à la valeur préopératoire, dans les essais Mann-Whitney U. (E) Perte de calories fécales, déterminée par des analyses faites au moyen d'une bombe calorimétrique sur les selles recueillies le 12e jour après l'opération. Les résultats sont exprimés en pourcentage de l'apport calorique.



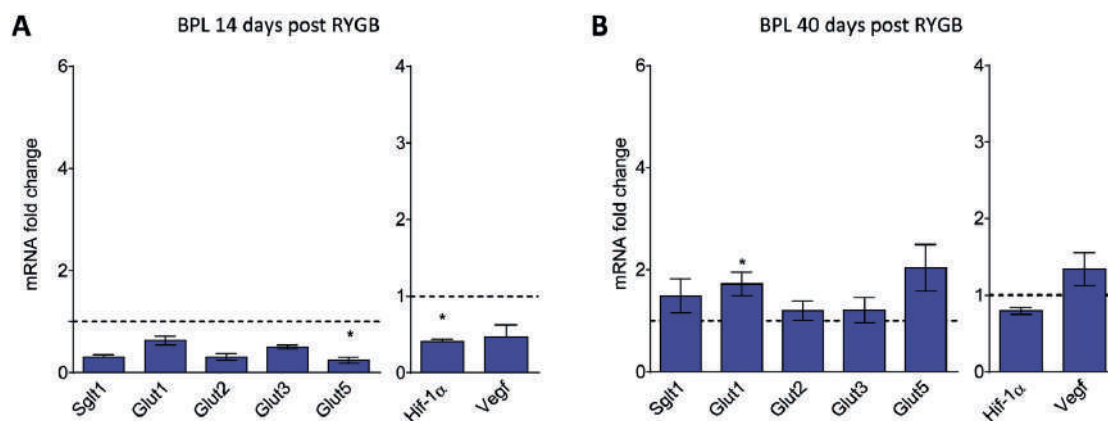
**Figure 3 complémentaire.**

(A) Analyses morphométriques montrant la surface muqueuse des sections RL et BPL de rats soumis à une chirurgie RYGB (n=5) en comparaison du segment de jéjunum correspondant de rats pseudo-opérés (Jej) (n=5) 40 jours après la chirurgie. Les données sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM. \*\* $P < 0,01$  par rapport aux rats pseudo-opérés, d'après l'analyse de la variance avec correction de Bonferroni pour des comparaisons multiples. (B) Analyses morphométriques montrant la surface muqueuse des coupes de rats VSG (n=5) par rapport au segment jéjunum correspondant de rats pseudo-opérés (n=5) 40 jours après la chirurgie. Les données sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM. NS dans les tests de Mann-Whitney U.



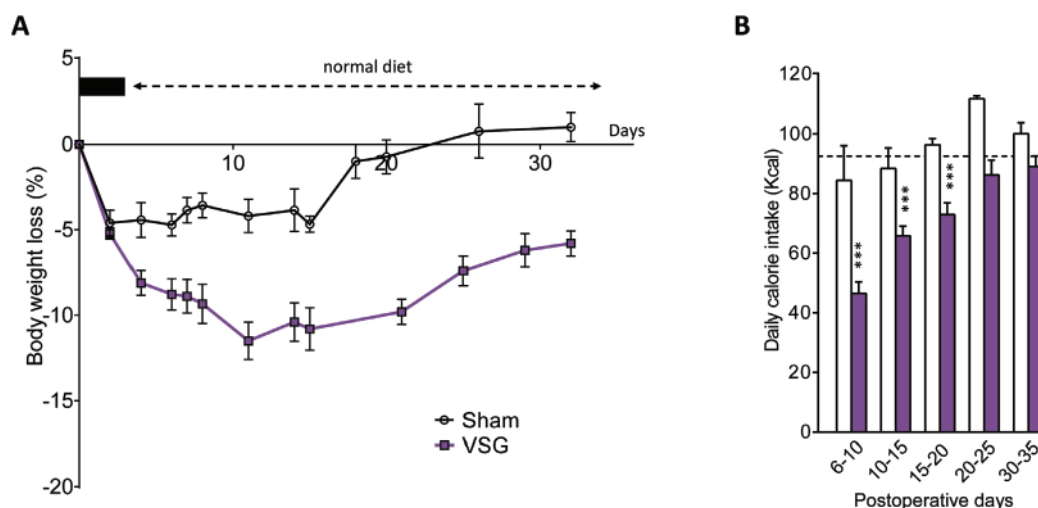
**Figure complémentaire 4.**

Taux plasmatiques actifs de GLP-1 chez les rats à jeun (A) ou 30 minutes après une charge orale de glucose (1 g/kg) (B) 12 jours après RYGB (n=5) VSG (n=4) ou chirurgie simulée (n=3). Les données sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM. \* $P < 0,05$  (vs chirurgie simulée), en analyse bidirectionnelle de la variance avec correction de Bonferroni pour des comparaisons multiples.



### Figure complémentaire 5.

(A, B) Niveaux relatifs d'ARNm des transporteurs de sucre et des gènes inductibles par hypoxie dans la muqueuse BPL (A) 14 jours (n=4) et (B) 40 jours (n=6) après RYGB. La ligne pointillée indique le taux moyen d'ARNm des gènes correspondants dans la muqueuse jéjunale de rats pseudo-opérés (n=5). Les données sont exprimées en moyennes  $\pm$  SEM. \*P < 0,05, par rapport aux rats pseudo-opérés, dans les tests de Mann-Whitney U.



### Figure complémentaire 6.

(A) Perte de poids corporel après une intervention chirurgicale chez les rats faisant l'objet d'une VSG- (n=9) et les rats pseudo-opérés (n=7). La boîte noire correspond à la période de soins postopératoires intensifs (3 jours) avant que les animaux n'aient librement accès à une alimentation solide et normale. Les données indiquées sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM. (B) Changements dans l'apport calorique quotidien après la chirurgie. La ligne pointillée indique l'apport calorique moyen avant chirurgie. Les données indiquées sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM. \*\*\*P < 0,001, par rapport à la valeur préopératoire, dans les tests de Mann-Whitney U.